

Міністерство охорони здоров'я України

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія»

АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ

СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ: Том 9, Випуск 2 (26) 2009

ВІСНИК Української медичної стоматологічної академії

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Заснований в 2001 році

Виходить 4 рази на рік

Зміст

Статті Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Питання експериментального використання лабораторних тварин у медицині, біології, ветеринарії»

ЕФЕКТИ КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ НЕСТАЧІ МЕЛАТОНІНУ ТА ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ НА ПЕЧІНКУ. <i>Антонова О.І., Луценко Б.О., Щирих О.В., Міщенко А.В.</i>	4
ВИЗНАЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ 2% МАЗІ ТІОТРИАЗОЛІНУ В КРОВІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН <i>Бучковська А.Ю., Сулим Ю.В.</i>	7
ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОМАЛЬНИХ ТА ПАРЕНХІМАТОЗНИХ КОМПОНЕНТІВ ПІДНЕБІННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ <i>Вільхова О.В.</i>	10
МОРФОЛОГІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ В УМОВАХ ТЕХНОГЕННИХ МІКРОЕЛЕМЕНТОЗІВ ЯМПІЛЬСЬКОГО РАЙОНУ. <i>Волкогон А.Д.</i>	15
НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ СОЛКОСЕРИЛА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА У КРЫС <i>Волохова Г.А., Стоянов А.Н.</i>	20
ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ТРЬОХ МОДЕЛЕЙ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ, ЗУМОВЛЕНОГО ЇЇ ХРОНІЧНИМ ТОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ <i>Гаврилюк І.М., Гаврилюк О.М., Чикайло І.П., Нектегасє І.О.</i>	27
ВИКОРИСТАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ПРИ ВИКЛАДАННІ ПАТОЛОГІЧНОЇ ФІЗІОЛОГІЇ: ІСТОРІЯ ТА СЬОГОДЕННЯ <i>Гоженко А.І., Котюжинська С.Г.</i>	30
ПРЕНАТАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ НОВОРОЖДЕННОГО И ВЗРОСЛОГО ПОТОМСТВА. <i>Губина-Вакулик Г.И., Денисенко С.А.</i>	32
ЕКСПЕРИМЕНТИ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ЯК ПЕРЕДУМОВА ДЛЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ СТРЕСПРОТЕКТОРІВ <i>Дев'яткіна Т.О., Дев'яткіна Н.М.</i>	35
БІОЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН В ЕКСПЕРИМЕНТІ <i>Денисенко С.В., Денисенко М.В. Передера С.Б.</i>	39
ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НІТРАТОМ НАТРІЮ НА РЕПАРАТИВНУ РЕГЕНЕРАЦІЮ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ <i>Должкова К.П.</i>	44
МЕХАНІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ШОВНОГО МАТЕРІАЛУ, СТВОРЕНОГО НА ОСНОВІ ВУГЛЕЦЕВИХ ВОЛОКОН <i>Єршов В.Ю., Ковальський М.П.</i>	46
ОСОБЛИВОСТІ СУБМІКРОСКОПІЧНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ НЕЙРОГІПОФІЗУ В НОРМІ ТА ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ <i>Жураківська О.Я., Левицький В.А.</i>	48
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ДОКЛИНИЧЕСКОМ ИЗУЧЕНИИ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА АМКЕСОЛА ДЛЯ ТЕРАПИИ БРОНХО-ЛЕГОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ <i>Звягинцева Т.В., Киричек Л.Т., Миронченко С.И., Стороженко Е.В.</i>	50
ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ МОРФОГЕНЕЗА ТИМУСА У ПОТОМСТВА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГЕСТАЦИОННЫМ ДИАБЕТОМ <i>Камышный А.М.</i>	53

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ЕКСПЕРИМЕНТИ З ВИКОРИСТАННЯМ ТВАРИН В КРАЇНАХ ЄВРОСОЮЗУ ТА США Ковальський М.П., Прокопець К.О.	58
ДИНАМІКА ФОРМУВАННЯ КОГНІТИВНИХ ДИСФУНКЦІЙ ЯК ОДНА З ХАРАКТЕРИСТИК МОДЕЛІ СПОНТАННИХ СУДОМ ЗА УМОВ ПІЛОКАРПІН-СПРИЧИНЕНОЇ ХРОНІЧНОЇ ЕПІЛЕПСІЇ Копйова Н.В.	62
ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОТОПОГРАФІЇ ПЕРІОДОНТАЛЬНОЇ ЩІЛИНИ ЗУБА У СОБАК Король Д.М., Гасюк П.А.	66
ХІРУРГІЧНА КОРЕКЦІЯ ПОРТАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ. Костюк Г.Я., Дусик А.В., Пустовий І. Г., Хмільовий Д. А.	69
МОДЕЛЬ ПОВЕРХНЕВОГО РАКУ СЕЧОВОГО МІХУРА В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ Костюк О.Г.	72
МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ В ЩУРІВ ТА ЙОГО МЕДИКАМЕНТОЗНА КОРЕКЦІЯ Кошельник О.Л., Попов О.Г., Десятський В.В., Горovenko В.І.	75
ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ МИКРОПОЛЯРИЗАЦИИ НЕОКОРТЕКСА СЛАБЫМ АНОДОМ ПОСТОЯННОГО ТОКА И ТРОФИНОТРОПИНА «ЦЕРЕБРАЛ» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕМОРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ (СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ) Кульчиков А.Е., Косицын Н.С., Макаренко А.Н.	78
СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ Левещицький В.А., Міськіє В.А.	82
ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН У ТКАНИНАХ ТОНКОЇ КИШКИ ЗА УМОВ ЇЇ ГОСТРОЇ НЕПРОХІДНОСТІ ТА ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ NO-СИНТАЗ Левков А.А.	86
ИЗУЧЕНИЕ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО АУТОГЕМОРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ Макаренко А.Н., Савосько С.И.	91
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ ПРИ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ МЕСТНЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ КОЖИ Миронченко С. І.	96
БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ТИПУ РЕАГУВАННЯ ТА ІНДИВІДУАЛЬНОЇ СТРЕСОСТІЙКОСТІ ОРГАНІЗМУ Омельченко О.Є.	101
МОДЕЛЮВАННЯ КИШКОВОЇ НЕПРОХІДНОСТІ Півторак В.І., Булько М.П., Бурков М.В.	105
МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ МЕМБРАН МІТОХОНДРІЙ НЕЙРОЦИТІВ У ЩУРЯТ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ГІПОКСІЇ Похилько В.І., Розова К.В.	109
РОЗРОБКА НОВИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЕЙ ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ КРОВОПОСТАЧАННЯ ВАСКУЛЯРИЗОВАНИХ КЛАПТІВ. Радомський О.А., Радомська Н.Ю., Пархоменко М.В., Хворостяна Т.Т.	113
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ХРОНІЧНОГО ТЕТРАХЛОРЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ ТА ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ У НЕСТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ Рикало Н.А.	116
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ МОДЕЛІ У ВИЗНАЧЕННІ КРИТИЧНИХ ПЕРІОДІВ КАРДІОГЕНЕЗУ Савенкова О.О., Шаторна В.Ф.	119
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВІДТВОРЕННЯ ВИРАЗКИ ШЛУНКА ТА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ І ТИПУ У ЩУРІВ Скрипник І.М., Непорада К.С., Голко А.Ф., Давиденко С.В., Давиденко О.О., Вахненко А.В.	122
РЕПРОДУКТИВНА ЗДАТНІСТЬ БІЛИХ ЩУРІВ-САМЦІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ВІДПРАЦЬОВАНОГО АВТОМОБІЛЬНОГО МАСЛА Соловйова Н.В.	124
ВІДМІННОСТІ ГЕМОДИНАМІЧНИХ І ВАЗОМОТОРНИХ ЕФЕКТІВ ДОРОСЛИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ НОВОГО ВІТЧИЗНЯНОГО АКТИВАТОРА АТФ - ЗАЛЕЖНИХ КАЛІЄВИХ КАНАЛІВ – ФТОРОВІСНОГО АНАЛОГУ ДІАЗОКСИДУ Тарасова К.В., Шевчук В.Г., Лісова Г.О., Французова С.Б.	127
ХІРУРГІЧНІ МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ БЕЗМІКРОБНИХ ТА ВПФ ТВАРИН Хандкарян В.М., Курман А.Ф., Ксьонз І.М., Лепета Л.В.	131
БІОХІМІЧНІ МОДЕЛІ ОЦІНКИ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК Чекман І.С., Горчакова Н.О., Дяченко В.Ю., Максимчук О.О.	134
СПОНТАННА АРТЕРІАЛЬНА ГІПЕРТЕНЗІЯ – ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ В ХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ Чекман І.С., Горчакова Н.О., Небесна Т.Ю., Загородний М.І., Довгань Р.С.	137
ДОКЛІНІЧНЕ ВИВЧЕННЯ НООТРОПНОЇ АКТИВНОСТІ ТА СУПУТНІХ ПСИХОТРОПНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОХІДНИХ 2- ОКСОІНДОЛІНУ Шатілов О.В., Штриголь С.Ю., Колісник С.В., Болотов В.В.	139
ТРАВМАТИЧНЕ УШКОДЖЕННЯ МОЗКУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТУ: ХАРАКТЕРИСТИКА МОДЕЛІ Щербаков Т.В., Мироненко Т.В.	143

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

СУЧАСНІ АСПЕКТИ ЛІКУВАННЯ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЇ

Громова А.М., Тарановська О.О., Афанасьєва О.Є. 147

ФАРМАКОЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗБУДНИКІВ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНОЇ ІНФЕКЦІЇ ХІРУРГІЧНИХ ВІДДІЛЕНЬ
ЗАГАЛЬНОГО ПРОФІЛЮ

Должковий С.В. 150

МЕДИКАМЕНТОЗНА ТЕРАПІЯ У ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОМУ ПЕРІОДІ У ХВОРИХ З ГОСТРИМ ДЕСТРУКТИВНИМ ХОЛЕЦИСТИТОМ

Кучеренко Д.О. 152

МОНІТОРИНГ ВНУТРІШНЬОЧЕРЕВНОГО ТИСКУ ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ ВЕНТРАЛЬНИХ ГРИЖ З ОЖИРІННЯМ

Лавренко Д.О. 154

ОСОБЛИВОСТІ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ РЕЦИДИВІВ ГРИЖ МІЖХРЕБЦЕВИХ ДИСКІВ ПОПЕРЕКОВОГО ВІДДІЛУ ХРЕБТА

Педаченко Є.Г., Єрошкін О.А. 157

ЛІКУВАННЯ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ПЕРИТОНІТУ ПІСЛЯ ПЕРВИННОЇ САНАЦІЇ ПРИ ГОСТРІЙ АБДОМІНАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ.

Ситнік Д.А. 162

МОРФОЛОГІЯ ТА ФІЗІОЛОГІЯ

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИ ГЛИБОКІЙ ІНВАЗІЇ МАЛОДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ
ГОРТАНІ СКЛАДКОВОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ

Гасюк А. П., Гасюк Ю.А. 165

ОСОБЛИВОСТІ СОСОЧКОВОГО ТИПУ ВНУТРІШНЬОПРОТОКОВОГО РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ В АСПЕКТІ ОНТОГЕНЕЗУ

Ніколенко Д.Є. 168

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОЕНИЯ ЗАЧАТКОВ ПЕРВЫХ И ВТОРЫХ МОЛОЧНЫХ МОЛЯРОВ НА РАННИХ
ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА.

Старченко И.И. 172

СТРОЕНИЕ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ КОЖИ СВОДА ЧЕРЕПА ЧЕЛОВЕКА

Тихонова О.А. 175

НЕЙРОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИЧНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПРОФИЛЯ
МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ (ПРАВШЕСТВА И ЛЕВШЕСТВА)

Ткаченко Е.В., Фазели Н.М., Махмуди А, Луценко Б.А., Щиров А.В. 178

- С Т А Т Т І -

Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Питання експериментального використання лабораторних тварин у медицині, біології, ветеринарії»

УДК: 616.36-002:615.322

ЕФЕКТИ КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ НЕСТАЧІ МЕЛАТОНІНУ ТА ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ НА ПЕЧІНКУ.

Антонова О.І.*, Луценко Б.О.**, Щириков О.В.**, Міщенко А.В.**

*Полтавський інститут економіки і права Відкритого міжнародного університету розвитку людини «Україна» м. Кременчук, **Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтава

В роботі вивчено вплив інтоксикації пероксобо́ратом натрі́я на тлі нестачі мелатоніну на функціонування печінки. Виявлено, що внаслідок комплексної дії нестачі мелатоніну та інтоксикації пероксобо́ратом вирішальним є токсична дія пероксобо́рату. Комплексна дія посилює пероксидацію, послабила активність антиоксидантних ферментів та детоксикаційні функції печінки, але не сприяла змінам загальної протеолітичної активності. Це вказує на суттєву антиоксидантну роль мелатоніну.

Ключові слова: мелатонін, печінка, прооксидантно-антиоксидантна система, інтоксикація пероксобо́ратом.

В останні роки увагу багатьох дослідників привертає мелатонін, який виробляється епіфізом, максимально в темряві та уві сні, а також дифузними нейроендокринними клітинами кишечника та сітківки ока. Мелатонін є нейромедіатором, гормоном, імуномедіатором, антиоксидантом, стимулятором сну та імуногенезу. Мелатонін має рецептори як на мембрані клітин, так і в ядрі (впливають на експресію генів). Мелатонін гальмує процеси старіння та патології, пов'язані з віком, – онкологічні та нейродегенеративні захворювання [2, 3, 4, 7, 8, 9].

Печінка виконує найважливіші метаболічні функції – перетворює всі речовини, які до неї надходять, в сполуки, необхідні або для видалення їх з організму, або для постачання для інших органів. Печінка бере участь в підтримці гомеостазу шляхом регуляції білкового, вуглеводного, ліпідного обміну, детоксикації та жовчоутворення [10].

Вплив мелатоніну на печінку описаний нечисленними дослідженнями, вплив нестачі мелатоніну на печінку описаний ще менше [1]. Стан пе-

чінки при індукції пероксидації найбільш досліджений при дії тетрахлорметану. Однак, встановлено, що пероксобо́рат натрію є індуктором спалаху у печінці неферментативного вільнорадикального перекисного окиснення біополімерів. Ця речовина використовується як сильний окислювач для відбілювання зубів. Відсутні праці стосовно комплексному впливу нестачі мелатоніну та інтоксикації прооксидантом у старих організмів. Тому **метою** цієї роботи було дослідити вплив нестачі мелатоніну при дії прооксидантної гепатотропної отрути на стан печінки.

Матеріали та методи дослідження.

У 10-ти денному досліді використані щури-самці лінії Wistar, середньою масою 320-350 г. Інтактну групу склали 8 тварин. У тварин 2-ї (контрольної) групи відтворювали гіпомелатонінемію шляхом цілодобового освітлення (1000-1500 лк) терміном 10 діб [5]. Тварин 3-ї (контрольної) групи інтоксикували 10 днів: їм вводили перорально водний розчин пероксобо́рату натрію (ПОБ) у дозі 0,05ЛД₁₀₀ (60 мг/кг маси тіла на добу). Дослідну 4-ту групу склали теж 8 тварин, яким про-

тяом 10-ти діб вводили перорально водний розчин перексодоборату натрія у дозі 60 мг/кг маси тіла на добу та цілодобово витримували при освітленні (1000-150 лк).

По завершенню експерименту здійснювали евтаназію під легким ефірним та гексеналовим наркозом, шляхом відбирання крові з правого шлуночка серця. Об'єктами дослідження були кров та печінка. У сироватці крові визначали вміст загального білірубіну як показника функціонального стану печінки при її ушкодженні [8], при цьому використовували набори реактивів. В тканинах печінки визначали вміст первинних (дієнові кон'югати) та вторинних (малоновий діальдегід – МДА) продуктів пероксидації (ПО), загальну протеолітичну активність, а також активність супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази та каталази [6]. Отримані під час дослідження цифрові дані були статистично опрацьовані з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента. Обчислення проводили на ПЕОМ IBM PC Pentium з використанням програми Statistica for Windows Release 4.3.

Результати та їх обговорення

Дані експерименту репрезентовані в таблиці 1. Виявилося, що в печінці вміст дієнових кон'югатів при комплексній дії нестачі мелатоніну та інтоксикації перексодоборатом збільшився на 130% в порівнянні з нормою ($p < 0,01$), в порівнянні з величинами контролю на гіпомелатонінемію на 51% ($p < 0,001$), в порівнянні з величинами контролю на інтоксикацію ПОБ змін не ви-

явилось. Концентрація МДА при комплексній дії нестачі мелатоніну та інтоксикації перексодоборатом збільшилася на 70% в порівнянні з нормою, але це збільшення не достовірне, в порівнянні з величинами контролю на гіпомелатонінемію на 143% ($p < 0,01$), в порівнянні з величинами контролю на інтоксикацію ПОБ змін не виявилось. Активність СОД зменшилась у 2,7 рази ($p < 0,05$) в порівнянні з величинами норми, в порівнянні з величинами контролю на гіпомелатонінемію та інтоксикацію ПОБ не змінилась. Активність каталази зменшилась у 2,5 рази в порівнянні з величинами норми ($p < 0,001$), в 2,5 рази проти контролю на гіпомелатонінемію ($p < 0,01$), і залишилась на рівні значень контролю на інтоксикацію ПОБ. Активність глутатіонпероксидази знизилась на 34% по відношенню до норми ($p < 0,001$), по відношенню до значень контролю на гіпомелатонінемію знизилась на 27% ($p < 0,02$), зберегла значення до контролю на інтоксикацію. Загальна протеолітична активність залишилась на рівні до контролю показників норми, гіпомелатонінемії та інтоксикації ПОБ. Концентрація білірубіна в сироватці крові збільшилась на 82% по відношенню до норми ($p < 0,001$), в 2,4 рази по відношенню до величин контролю на гіпомелатонінемію та зберегла значення, характерні для інтоксикації ПОБ. Таким чином, комплексна дія нестачі мелатоніну та інтоксикація ПОБ посилила явища пероксидації, антиоксидантній недостатності та порушила функції печінки.

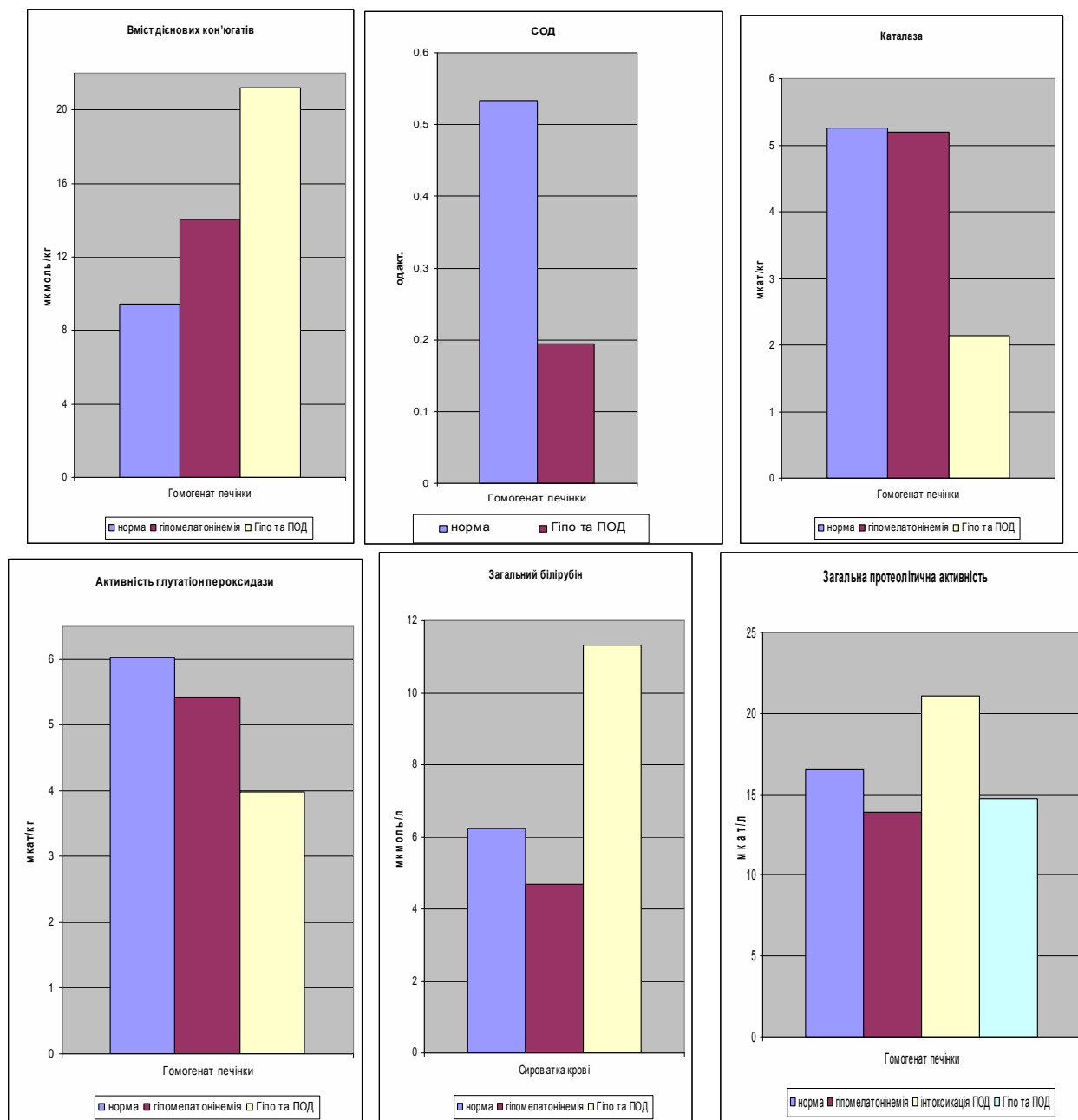
Таблиця 1.

Комплексна дія нестачі мелатоніну та пероксидації перексодоборату

Показники	Норма	Гіпомелатонінемія	ПОБ	Гіпомелатонінемія + ПОБ
Вміст дієнових кон'югатів, мкмоль/кг:	9,44±0,15	14,04±2,26 $P_1 < 0,05$	17,92±1,51 $P_1 < 0,01$	21,20±2,02 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$
Вміст МДА, мкмоль/кг:	45,89±5,55	31,89±5,37 $P_1 < 0,1$	92,85±26,70 $P_1 < 0,1$	77,53±21,11 $P_2 < 0,01$
СОД, од.акт.	0,534±0,133	0,361±0,10	0,205±0,068 $P_1 < 0,05$	0,195±0,049 $P_1 < 0,05$
Каталаза, мкат/кг	5,25±0,17	5,20±0,77	2,70±0,30 $P_1 < 0,01$	2,14±0,45 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,01$
Активність глутатіонпероксидази мкат/кг	6,03±0,35	5,43±0,46	3,89±0,21 $P_1 < 0,001$	3,98±0,26 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,02$
Загальна протеолітична активність, нкат/кг мкат/л	16,57±4,03	13,84±4,19	21,11±4,91	14,75±2,28

Примітка: P_1 – порівняння до показників норми, p_2 – порівняння до гіпомелатонінемії, p_3 – порівняння до інтоксикації ПОБ. $p > 0,1$ не вказане.

Графіки стану окремих показників печінки при комплексній дії нестачі мелатоніну та підвищеної пероксидації (які змінюються в порівнянні з нормою, гіпомелатоніемією, інтоксикацією пероксиборатом)



Висновки

1. Внаслідок комплексної дії нестачі мелатоніну та інтоксикації ПОБ вирішальним є токсична дія ПОБ, яка в більшості випадків підсилюється за рахунок нестачі мелатоніну. Можливо, було заблоковано ферменти обміну глутатіону (глутатіонтрансфераза, яка потрібна до глутатіонпероксидази та УДФ-глюкуронідтрансферази), що порушило перетворення білірубину для виходу у жовч і він накопичувався у крові.

2. При нестачі мелатоніну на тлі інтоксикації пероксиборатом ведучим фактором виявилась дія пероксиборату, яка посилила пероксидацію, послабила активність антиоксидантних ферментів та детоксикаційні функції печінки, але не

сприяла змінам загальної протеолітичної активності. Це вказує на суттєву антиоксидантну роль мелатоніну.

Літератури

1. Антонова О.І. Вплив хронічної гіпомелатоніемії на стан печінки щурів// Світ медицини та біології.-Полтава.-2007. - № 2. - С. 11 - 14.
2. Барабой В.А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т.72, №3. – С. 5–11.
3. Бондаренко Л.А. Некоторые биохимические аспекты функционирования пинеальной железы крысы в онтогенезе // Онтогенез. – 1991. – Т.22, №1. – С. 57–62.
4. Бондаренко Л.А. Современные представления о физиологии эпифиза // Нейрофизиология. – 1997. –Т.29, №3. – С. 212–237.

5. Гуралюк В.М. Стрес-індуковані морфофункціональні зміни надниркових залоз за різної довжини фотоперіоду: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 „Патологічна фізіологія” / Гуралюк Валентин Миколайович ; Буковинський держ. мед. ун-т МОЗ України. – Одеса, 2008. – 20 [1] с., включ. обкл. : іл. – Бібліогр.: с. 17-18.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С.16-19.
7. Малиновская Н.К. Роль мелатонина в организме человека // Клиническая медицина. – 1998. – №10. – С. 15–22.
8. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації. – Чернівці: Медакадемія, 2003. – 152с.
9. Смирнов А.Н. Ядерные рецепторы мелатонина // Биохимия. – 2001. – Т.66, №1. – С. 28–36.
10. Хазанов А.И. Функциональная диагностика болезней печени. – М.: Медицина, 1988. – 304с.

Реферат

ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕКСНОГО ДЕЙСТВИЯ НЕДОСТАТКА МЕЛАТОНИНА И ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ НА ПЕЧЕНЬ.

Антонова Е.И., Луценко Б.А., Шчыров А.В., Мищенко А.В.

Ключевые слова: мелатонин, печень, прооксидантно-антиоксидантная система, интоксикация пероксиборатом.

В работе исследовалось влияние интоксикации пероксиборатом натрия при недостатке мелатонина на функционирование печени. Установлено, что вследствие комплексного действия недостатка мелатонина и интоксикации пероксиборатом главным является токсическое действие пероксибората. Комплексное действие усилило пероксидацию, ослабило активность антиоксидантных ферментов и детоксикационные функции печени, но не изменило общей протеолитической активности.

Summary

EFFECT OF COMBINED ACTION OF MELATONIN INSUFFICIENCY AND TOXIC AFFECTION ON LIVER.

Antonova Ye.I., Lutsenko B.O., Shchyrov O.V. Mishchenko A.V.

Key words: melatonin, liver, prooxidant-antioxidant system, intoxication with peroxiborate.

The paper is devoted to the effect of sodium peroxiborate intoxication under the melatonin insufficiency on the liver functioning. It has been found out that due to the complex action of melatonin insufficiency and sodium peroxiborate intoxication the key action is considered to be the peroxiborate influence. The complex action intensifies peroxidation, reduces the activity of antioxidant enzymes' activity and detoxifying liver functions but doesn't change the general proteolytic activity.

УДК: 615.274:615.015.4]:616-092.4/9

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ 2% МАЗІ ТІОТРИАЗОЛІНУ В КРОВІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Бучковська А.Ю., Сулим Ю.В.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Нормалізуючий вплив тіотриазоліну обумовлений підвищенням активності ферментативної системи детоксикації ліпідних перекисів. Протизапальний ефект тіотриазоліну полягає в покращенні обміну, регулюванні проникності, оптимізації активності фосфоліпідзалежних ферментів. Застосування тіотриазоліну забезпечує сприятливий перебіг регенеративних процесів, зумовлений структурно підкріпленою повноцінною трофікою клітинних та субклітинних мембранних структур.

Ключові слова: антиоксиданти, перекисне окислення ліпідів, тіотриазолін, експериментальні тварини.

Вступ

Дослідження, проведені за останні роки, дозволили розширити і поглибити знання про механізми розвитку деструктивних змін у пародонті.

Усі процеси, пов'язані з пошкодженням клітин вільними радикалами кисню, зумовлюються активацією систем, що генерують супероксидний радикал, або пригніченням систем антиоксидантного захисту, які безпосередньо беруть участь в молекулярних механізмах неспецифічної резистентності організму до пошкоджуючих факторів зовнішнього середовища. Посилення перекисного окислення ліпідів мембран клітинних структур призводить до зміни проникності, порушення осмотичних властиво-

стей мембран, виходу і підвищення активності лізосомальних гідролітичних ферментів з наступним аутолізом клітин [3].

Механізм руйнівної дії вільних радикалів полягає у зміні конформації і величини молекул, що призводить до порушення їх функцій. Впливу вільних радикалів можуть піддаватися білки, вуглеводи і найбільш чутливі до них ліпіди і нуклеїнові кислоти.

Стимуляторами процесів перекисного окислення ліпідів може бути надлишкове надходження у клітину кальцію, антибіотиків, препаратів нітрофуранового ряду, сульфаніламідів, завищених доз вітамінів А і D, адреналіну, токсинів мікроорганізмів, лізосомальних ферментів. Одним з

* Тема науково-дослідної роботи кафедри: „Клініко-експериментальне обґрунтування застосування засобів і розробка методів профілактики, терапії та реабілітації хворих з ендо- та пародонтальною патологією”

найважливіших ферментів в низці антиоксидантної системи є супероксиддисмутаза, яка прискорює спонтанну дисмутацію супероксиданіона. 2% мазь тіотриазоліну активує антиоксидантну систему ферментів і гальмує процеси перекисного окислення ліпідів, посилює компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, зменшує ступінь пригнічення окисних процесів в циклі Кребса зі збереженням внутрішньоклітинного фонду АТФ, сповільнює згортання крові, проявляє фібринолітичну активність і мембраностабілізуючу дію [4].

Тіотриазоліну властива висока ранозагоювальна активність, він зменшує розвиток запального набряку, покращує енергетичний статус клітин, зменшує вираженість їх ішемічного пошкодження [1].

Мета дослідження. Матеріали і методи дослідження

Матеріалом дослідження була кров експериментальних тварин (кролів породи Шиншила одного віку, вагою 2,0-3,0 кг). Кров для біохімічного дослідження забирали стерильним шприцом з крайової вени вуха.

Антиоксидантні властивості 2% мазі тіотриазоліну при лікуванні експериментальних гінгівітів визначали з допомогою біохімічних методів [2].

Модель катарального гінгівіту відтворювали за допомогою аліментарного фактора (А.У. Євдокімова), суть якої полягала в утриманні

кролів на дієті легкої консистенції з високим вмістом вуглеводів.

Модель експериментальної виразки отримували у тварин, викликаючи опікову виразку, яка виникала внаслідок прикладання кінчика сталевого стержня електропаяльника, нагрітого до 100°C на слизову оболонку ясен в ділянці нижніх передніх зубів на 1 секунду.

Вивчення активності супероксиддисмутази проводили спектрофотометричним методом (Костюк В.А., і ін., 1990). Метод базується на встановленні ступеня гальмування реакції окислення кварцетину.

Визначення в крові експериментальних тварин активності супероксиддисмутази до лікування показало, що як в основній, так і в контрольній групах тварин активність ферменту була достовірно нижчою при експериментальній виразці у порівнянні з катаральним гінгівітом. Таким чином, вища інтенсивність процесів ліпопероксидації при глибшому ураженні ясен, властивому для виразкового процесу, може бути свідченням виснаження ферментативних механізмів антиокислювального захисту.

Результати та їх обговорення

Згідно з даними таблиці 1.1. під час проведення протизапальної терапії у тварин з експериментальною виразкою спостерігається активація ферментів антиоксидантного захисту.

*Таблиця 1.1.
Активність супероксиддисмутази крові (од. акт./мл хв) основної та контрольної груп експериментальних тварин*

Умови експерименту		Інтактні тварини	1 доба	3 доба	5 доба	7 доба	14 доба	21 доба
Експериментальна (виразка)	Основна група	247,3 ±6,0*	175,2 ±4,5*	190,6 ±2,8*	334,6 ±5,0*	341,2 ±4,5*	285,6 ±14,0*	252,3 ±6,2*
	контрольна група	251,7 ±6,1*	175,4 ±5,3*	181,4 ±4,5*	303,2 ±8,1*	383,6 ±4,5*	322,2 ±10,4*	264,7 ±9,2*
Катаральний гінгівіт	Основна група	250,8 ±5,3*	206,6 ±2,2*	235,0 ±2,4*	324,2 ±3,3*	287,4 ±2,8*	264,6 ±6,7*	256,3 ±3,2*
	контрольна група	253,6 ±2,2*	192,0 ±4,7*	223,8 ±3,2*	299,8 ±2,0*	300,0 ±3,0*	269,8 ±1,7*	258,4 ±2,2*

При зниженні активності супероксиддисмутази, відзначене в 1-3 добу запального процесу, значно меншими були зміни активності фермента при катаральному гінгівіті, що спричинене, очевидно вищою компенсаторною здатністю тканин.

Зростання активності супероксиддисмутази відзначено на 5-7 добу експерименту. Судячи з характеру змін досліджуваних показників, формування запальних процесів в яснах експериментальних тварин обумовлена нагромадженням проміжних та кінцевих продуктів вільнорадикального окислення ліпідів. Протизапальна терапія, підвищуючи активність ферментів антиоксидантного захисту, одночасно коригує вміст продуктів перекисного окислення ліпідів.

В основній групі тварин з експериментальною виразкою показники активності супероксиддисмутази наближались до вихідних (285,6±14,0

од.акт./мл.хв.) на 14 добу лікування. У цей період у контрольній групі вони були значно вищі і становили 322,2±10,4 од.ак./мл.хв. При катаральному гінгівіті в основній групі тварин найвищий показник супероксиддисмутази спостерігався на 5 добу експерименту (324,2±3,3 од.ак./мл.хв.), в той час як у контрольній групі з аналогічним діагнозом на 7 добу він дорівнював 300,0±3,0 од.ак./мл.хв.

При запальних процесах в яснах виявлені порушення в регіональному мікроциркуляторному руслі. Ця ланка є найбільш чутливим індикатором, який реагує на патологічний процес ще до появи клінічних симптомів. Мембрани еритроцитів, не зважаючи на їх високоспецифічні властивості, відображають структурно-функціональний стан мембран інших клітин, а також обмінних процесів на рівні цілого організму. Для оцінки резистентності еритроци-

тарних мембран до розвитку запального процесу, ми застосовували метод визначення стійкості мембран еритроцитів до перекисного гемолізу.

Аналіз показників перекисної резистентності еритроцитів свідчить про пряму кореляційну залежність між ступенем нагромадження продуктів перекисного окислення ліпідів та

підвищенням проникності еритроцитарних мембран. Показник стійкості еритроцитів до перекисного гемолізу може бути інтегральним тестом, що характеризує порушення співвідношення рівня ліпопероксидації та активації антиоксидантного стану організму.

Таблиця 1.2.

Перекисна резистентність еритроцитів (%) в основній та контрольній групах експериментальних тварин

Умови експерименту		Інтактні тварини	1 доба	3 доба	5 доба	7 доба	14 доба	21 доба
Експериментальна (виразка)	основна група	8,7±1,5*	17,8±1,1*	17,0±1,4*	14,6±1,4*	11,4±1,4*	10,0±1,4*	8,8±1,1*
	контрольна група	9,4±1,1*	18,2±0,8*	17,2±1,1*	16,6±1,4*	13,2±1,4*	12,8±1,3*	10,1±1,1*
Катаральний гінгівіт	основна група	8,2±1,1*	10,0±1,4*	11,6±1,7*	10,1±1,4*	9,0±1,4*	8,4±1,1*	8,3±1,1*
	контрольна група	8,6±1,7*	11,8±2,0*	12,4±1,7*	11,2±1,1*	10,6±1,7*	9,2±1,1*	8,6±1,1*

Показники перекисного гемолізу при катаральному гінгівіті значно нижчі, ніж у відповідний період при експериментальній виразці, що корелює з тяжкістю процесу. Через 3 доби виявлено виражене зниження резистентності еритроцитів.

Нормалізація показників перекисної резистентності еритроцитів збігається у часі з відновленням в межах норми активності одного з основних ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази.

Висновки

Таким чином, на основі проведених досліджень можна зробити висновок, що нормалізуючий вплив тіотриазоліну в значній мірі обумовлений підвищенням активності ферментативної системи детоксикації ліпідних перекисів. Разом з тим невисока резистентність ендогенних ліпідів еритроцитів до пероксидації в умовах розвитку катарального гінгівіту та експериментальної виразки суттєво підвищується при включенні в лікувальний комплекс тіотриазоліну. Нормалізуючий протизапальний ефект тіотриазоліну полягає в покращенні обміну, регулюванні проникності, оптимізації, активності фосфоліпідзалежних ферментів, детоксикаційної здатності та

активності системи місцевого імунітету [5].

Застосування тіотриазоліну забезпечує сприятливий перебіг регенеративних процесів, зумовлений структурно підкріпленою повноцінною трофікою клітинних та субклітинних мембранних структур.

Література

1. Паращук Б.М. Стан вільнорадикальних процесів у хворих на псоріаз та застосування тіотриазоліну для їх корекції // Актуальні питання фармацевтичної науки та практики: Збірник наукових статей. – Запоріжжя: Видавництво ЗДМУ, 2002. – С. 184-189.
2. Перспективы применения нового иммуномодулирующего препарата – титотриазолина /Н.А. Волошин, В.А. Малышев, И.А. Мазур та ін. // 36. тез. 1-го Національного конгресу України з імунології, алергології та імунореабілітації. – Алушта, 1998. – С. 42.
3. Різник С.С., Ссотнікова І., Вихрист О. Ефективність застосування антиоксидантів в поєднанні з ангіопротектором при лікуванні пародонтиту // Стоматологічні новини. – Львів, 1997. – С. 11-12.
4. Стан антиоксидантної системи при запальних захворюваннях пародонта та її фармакологічна корекція /С. Кухта, Л. Цвих, С. Бібік, Б. Гриник // Нові методи та технології в стоматології: Праці міжнар. наук.-практ. конф. – Львів, 1997. – С. 33.
5. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение /И.А. Мазур, Н.А. Волошин, И.С. Чекман и др. – Запорожье, 2005. – 160 с.

Резюме

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ 2% МАЗИ ТИОТРИАЗОЛИНА В КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Бучковска А.Ю., Сулым Ю.В.

Ключевые слова: антиоксиданты, перекисное окисление липидов, тиотриазолин, экспериментальные животные.

Нормализующее влияние тиотриазолина обусловлено повышением активности ферментативной системы детоксикации липидных перекисей. Противовоспалительный эффект тиотриазолина состоит в улучшении обмена, регуляции проницаемости, оптимизации активности фосфолипидзависимых ферментов. Применение тиотриазолина обеспечивает благоприятное течение регенеративных процессов, обусловленных структурно подкрепленной трофикой клеточных и субклеточных мембранных структур.

Summary

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF 2% OINTMENT OF THIOTRIAZOLINUM IN BLOOD OF EXPERIMENTAL ANIMALS

A. Buchkovska, Y. Sulym

Key words: antioxidants, lipids' peroxide oxydation, thiotriazolini, experimental animals.

Normalization influence of thiotriazolinum is caused by increase of enzyme system activity, detoxication of lipid peroxides. Anti-inflammatory effect of thiotriazolinum is in improve of metabolism, regulation of penetration, optimization of phospholipids enzymes activation. Using of thiotriazolinum ensure favorable course of reparative processes, conditioned by trophy of cellular and subcellular membrane structures.

УДК 616.315-092.9:618.36-001.18-089.43

ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОМАЛЬНИХ ТА ПАРЕНХІМАТОЗНИХ КОМПОНЕНТІВ ПІДНЕБІННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

Вільхова О.В.

Вищий державний навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія" м. Полтава

Вивчення морфологічних змін структурних компонентів піднебінних залоз щурів дало змогу встановити, що підшкірна трансплантація кріоконсервованих тканин плаценти викликає реакцію стромальних компонентів піднебінних слинних залоз, які знаходиться в межах фізіологічної регенерації.

Ключові слова: піднебінні залози, мукоцити, головні клітини, трансплантація, кріоконсервована плацента.

Вступ.

Слинні залози забезпечують порожнину рота необхідною кількістю рідини та біологічно активних речовин потрібних для процесів перетравлення їжі [5, 6, 13, 16, 21, 22]. Як відомо, слинні залози продукують більше 1000 мл слини за добу, 30% якої виробляється малими слинними залозами, це дозволяє при деяких екстремальних станах компенсувати функціональну недостатність великих слинних залоз [5, 6]. Видалення трьох пар великих слинних залоз в експерименті на собаках показало, що тварини після операції відчували себе не гірше, ніж тварини інтактної групи [9].

В доступній нам літературі є дані, які описують ферментативний склад секрету слинних залоз. Досить цікавими є дані про наявність місцевого «каліментарного імунітету», який може існувати незалежно від циркулюючих в крові антитіл. Особливу увагу привертає наявність в секреті Ig A, що продукується плазматичними клітинами, які утворились із місцевих В-лімфоцитів в підслизовій основі слизової оболонки порожнини рота [7, 9-12, 14, 15, 18, 19].

Таким чином, піднебінні залози беруть участь в імунологічній реакції проти як локальних антигенних подразників, так і при загальній антигенній стимуляції [20, 23, 24, 27].

Нашу увагу привернула трансплантація кріоконсервованої плаценти саме тому, що трансплантат, адаптуючись і відповідаючи на місцеві органічні і тканинні регуляторні сигнали, може виступати в ролі «пластичного будівельного» матеріалу, реалізуючи функцію морфогенезу і відновлюючи структуру пошкодженої ділянки [1, 2, 8, 17].

Метою нашого дослідження було вивчення стромальних та паренхіматозних компонентів піднебінних залоз щурів в нормі та при одноразовій підшкірній трансплантації кріоконсервованої плаценти.

Матеріали та методи дослідження.

Об'єктом дослідження була слизова оболонка твердого піднебіння статевозрілих щурів лінії «Вістар». Контрольна група налічувала 5 тварин, а група тварин із трансплантацією кріоконсерво-

ваної плаценти – 20 тварин. Фрагмент плацентарної тканини перед трансплантацією розморожували на водяній бані при температурі 38°C в умовах малої операційної виварію ВДНЗУ "Української медичної стоматологічної академії" з дотриманням всіх умов асептики й антисептики [3, 4]. Кріоконсервована плацента була розмірами 0,5x0,5x0,5 см, об'ємом - 0,125 см³. Операційне поле попередньо обробляли розчином спирту і йоду, обкладали стерильними серветками. Після проведеного внутрішньоочеревного наркозу гексеналом з розрахунку 0,1 мг на 1 кг маси тіла на плечі щура робили розріз шкіри довжиною 1,5 см, відсепаровували підшкірну кишеню, у яку поміщали трансплантат. Розріз шкіри зашивали вузлуватими кетгуттовими швами. На рану накладали асептичну пов'язку. Експерименту проводили на 2, 7, 14 та 30 доби експерименту. Після взяття матеріалу шматочки тканини ущільнювали в ЕПОН-812. Напівтонкі зрізи робили на ультрамикротомі УТМП-7 і забарвлювали поліхромним барвником та метиленовим синім. Мікрофотографування проводилось за допомогою мікроскопа «Olimpus» C 3040-ADU. Ультратонкі зрізи були отримані методом прицільного мікротомування на ультратомі УМТП-7. Контрастування тканин проводилось спочатку в насиченому розчині ураніацетата, а потім цитратом свинцю [25, 26]. Ультратонкі зрізи вкладали на паладієві опірні сіточки. Вивчення та фотографування об'єктів здійснювалось за допомогою електронного мікроскопу МБР-100Л при прискорюючій напрузі 50-75 кВт.

Результати дослідження та їх обговорення

В результаті проведеного нами дослідження було встановлено, що піднебінні залози щурів можна віднести до складних альвеолярно-трубчастих залоз. Вони складаються із кінцевих відділів та системи вивідних проток. Кінцеві відділи представлені системою трубок, що розгалужуються, та альвеолами, які розміщені в товщі власної пластинки слизової оболонки твердого піднебіння. Ці залози продукують слизово-білковий секрет.

Вивчення серійних напівтонких зрізів залозистої частини слизової оболонки твердого підне-

* Робота є фрагментом НДР: «Розробка нових методів кріобіологічних технологій, використання кріоконсервованих ембріональних тканин, тканин людини та тварин в медицині» № держ. реєстрації 0199U000323.

біння контрольної групи щурів дало змогу встановити, що кожна піднебінна залоза була оточена сполучнотканинною капсулою. Остання містила в своєму складі волокнисті структури, представлені тонкими пучками колагенових та еластичних волокон. Клітинний склад стромального компонента був представлений фібробластами, макрофагами, плазмочитами та невеликою кількістю тканинних базофілів. На напівтонких зрізах, забарвлених толуюдиновим синім, колагенові волокна мали хвилясту форму, між ними чітко контурувались ядра фібробластів. Також капсула містила значну кількість судин ГМЦР.

Від капсули в середину залози відходили трабекули, що розділяли залозу на часточки. Кожна залоза мала 3-4 часточки. Внутрішньочасточковий інтерстицій був представлений колагеновими та еластичними волокнами, між якими чітко контурувались ядра фібробластів. В місцях сполучення трьох кінцевих відділів інтерстицій розширювався у вигляді трикутника. Серед клітинних компонентів сполучної тканини визначались макрофаги та тканинні базофіли. Окрім цього виявлялись безмієлінові нервові волокна. Спостерігалось витончення інтерстицію між сусідніми кінцевими відділами (рис. 1).

При вивченні серійних напівтонких зрізів залозистої частини слизової оболонки твердого піднебіння контрольної групи щурів серед судин ГМЦР можна було виявити артеріоли, капіляри та венули.

Артеріоли мали звичайну будову, стінка їх складалась із трьох оболонок. Внутрішній шар був представлений ендотеліальними клітинами різної форми. Середній шар був представлений одним рядом гладких міоцитів, які розміщувались циркулярно під невеликим кутом до поздовжньої вісі судини. Між ендотелієм та шаром міоцитів була розташована добре виражена еластична мембрана. Ззовні артеріоли були оточені сполучною тканиною (рис. 2).

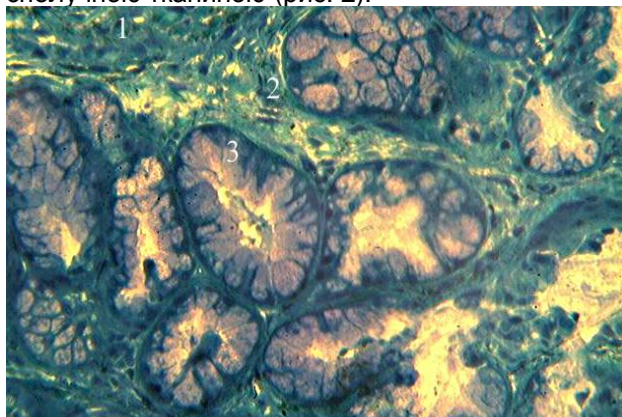


Рис. 1 Кінцеві відділи піднебінної залози щурів контрольної групи тварин. Напівтонкий зріз. Забарвлення: толуюдиновим синім. Зб.: об. 40, ок. 15

1 – сполучнотканинна капсула
2 – внутрішньочасточковий інтерстицій
3 – кінцеві відділи піднебінної залози

На ультратонких зрізах кровоносні капіляри мали вигляд ендотеліальної трубки. Ендотелій був утворений однією або двома клітинами, що були розташовані на базальній мембрані. В товщі базальної мембрани залягали перицити. Ззовні капіляри були оточені шаром пухкої сполучної тканини, відмежованої фібробластами від загального об'єму інтерстиційної тканини (рис. 3).

Венули мали значно більші розміри, ніж інші ланки ГМЦР. На поперечних зрізах просвіт венул був більш широким, а ендотеліальний шар більш тонким. Ендотелій був утворений двома і більше клітинами однакової форми, що розміщувались на базальній мембрані. В стінках венул збільшувалась кількість сполучної тканини.

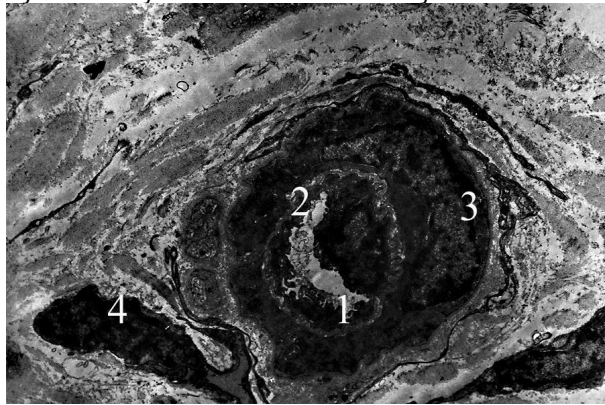


Рис. 2 Артеріола піднебінної залози щурів контрольної групи. Електронорама. Зб.: х5000

1 – ендотеліальна клітина
2 – еластична мембрана
3 – гладкий міоцит
4 – фібробласт

Нами проведений морфометричний аналіз діаметрів артеріальної, капілярної та венозної ланок ГМЦР. Встановлено, що діаметр артеріол контрольної групи тварин в середньому становив $18,52 \pm 0,48$ мкм, діаметр капілярів – $5,44 \pm 0,31$ мкм, діаметр венул – $29,18 \pm 0,58$ мкм.

Проведений кореляційний аналіз діаметрів ланок ГМЦР показав, що між артеріальною і венозною ланками виявляється прямий сильний кореляційний зв'язок (коефіцієнт кореляції 0,760 при $p < 0,01$). Кореляційний зв'язок між артеріальною та капілярною ланкою дещо менший (прямий середній), але залишається на межі із сильним (коефіцієнт кореляції 0,650 при $p < 0,01$). Встановлений прямий сильний кореляційний зв'язок між діаметрами венозної та капілярної ланок ГМЦР (коефіцієнт кореляції 0,780 при $p < 0,01$).

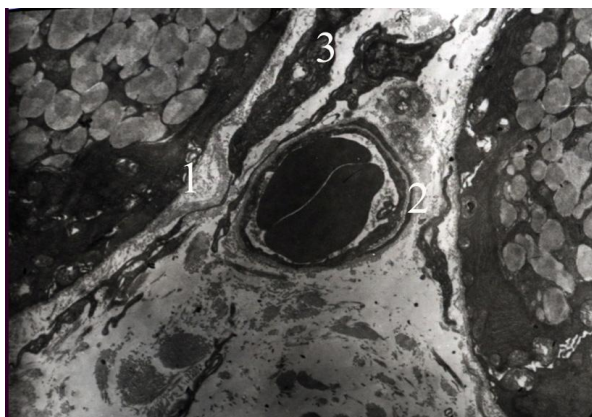


Рис. 3 Капіляр піднебінної залози щурів контрольної групи. Електронорами. 36.: x5000

1 – мукоцити, 2 – стінка капіляра, 3 – фібробласт

Кінцеві відділи піднебінних залоз були представлені мукоцитами, які мали вигляд трикутника. Верхівки були спрямовані до центру, а розширена частини прилягали до базальної мембрани. Висота мукоцитів переважала над шириною.

В світлій цитоплазмі мукоцитів знаходилися добре виражені гранули, які були рівномірно розміщені по всій площі цитоплазми. Темні ядра мукоцитів мали сплюснену, майже дископодібну форму та розташовувались в базальній частині. Можна було побачити ядерце. Між мукоцитами відмічені тісні міжклітинні контакти (рис. 4).

Просвіти кінцевих відділів піднебінних залоз мали овальну форму і були заповнені слизовим секретом низької оптичної щільності.

Секреторні одиниці були оточені міоепітеліальними клітинами, які займали базальне положення по відношенню до мукоцитів. Клітини мали витягнуту форму з певною кількістю цитоплазматичних відростків. Цитоплазма цих клітин містила тонкі фібрили, які були розташовані у різних напрямках. Це може свідчити про здатність клітин до виведення секрету із секреторних одиниць в просвіт протоки. Ядра овальної форми займали центральну частину клітини.

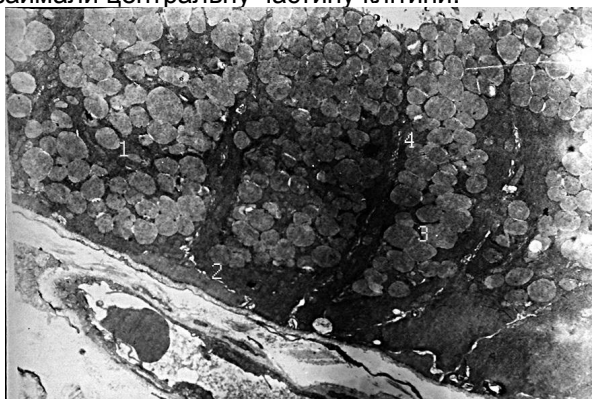


Рис. 4. Мукоцити піднебінної залози щурів контрольної групи. Електронорами. 36.: x5000

1 – мукоцити, 2 – ядро мукоцитів, 3 – секреторні гранули
4 – міжклітинні контакти

Морфометричний аналіз показав, що висота мукоцитів контрольної групи тварин в середньо-

му становила $22,84 \pm 0,97$ мкм, зовнішній діаметр кінцевих відділів – $63,47 \pm 1,21$ мкм, діаметр просвітів кінцевих відділів – $20,28 \pm 1,1$ мкм.

Проведений кореляційний аналіз дав змогу встановити, що між показниками висоти мукоцитів і зовнішнього діаметру кінцевого відділу кореляційний зв'язок є прямим середнім ($r=0,371$ і $0,487$ при $p<0,05$). Встановлено прямий сильний кореляційний зв'язок між показниками зовнішнього діаметру і діаметру просвіту кінцевих відділів піднебінних залоз щурів ($r=0,923$ при $p<0,01$).

Напівтонкі зрізи дають можливість визначити принцип будови піднебінних залоз щурів контрольної групи щурів. Загальна вивідна протока утворена в результаті злиття трьох або чотирьох проток меншого калібру. Вивідні протоки піднебінних залоз оточені базальною мембраною. З одного боку базальна мембрана контактувала із міжацинарною сполучною тканиною, а на іншому її боці був розташований багаторядний призматичний епітелій. Серед клітин можна було виділити головні клітини циліндричної форми та невеликі базальні клітини. Головні клітини мали світлу цитоплазму, в апікальній частині якої були розташовані гранули. Ядра були розміщені в центральній частині клітини. Бічні поверхні сусідніх клітин утворюють тісні міжклітинні контакти.

При вивченні напівтонких зрізів залозистої частини слизової оболонки твердого піднебіння щурів контрольної групи можна було побачити просвіти вивідних проток піднебінних залоз округлої форми, які були заповнені слизовим секретом низької оптичної щільності (рис 5).

Проведений морфометричний аналіз показав, що висота головних клітин в середньому становила $15,56 \pm 1,23$ мкм, зовнішній діаметр вивідних проток – $74,24 \pm 1,54$ мкм, діаметр просвіту вивідних проток в середньому сягав $39,56 \pm 1,86$ мкм.

Кореляційний аналіз показав, що між показниками висоти головних клітин і зовнішнім діаметром вивідних проток кореляційний зв'язок є прямим середнім ($r=0,672$ при $p<0,01$). Встановлено прямий сильний кореляційний зв'язок між показниками висоти головних клітин і зовнішнього діаметру та зовнішнім діаметром і діаметром просвіту вивідних проток піднебінних залоз щурів ($r=0,839$ і $0,895$ при $p<0,01$).

Другим етапом нашого дослідження було вивчення дії одноразової підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти на структурні компоненти піднебінних залоз. В результаті нами було встановлено, що одноразова підшкірна трансплантація кріоконсервованої плаценти викликала зміни з боку стромальних компонентів піднебінних залоз щурів. Відмічалось наростання набряку сполучної тканини. На 2-гу добу експерименту відмічалось збільшення кількості тканинних базофілів, більшість з яких була в стані дегрануляції та збільшення кількості плазмоцитів.

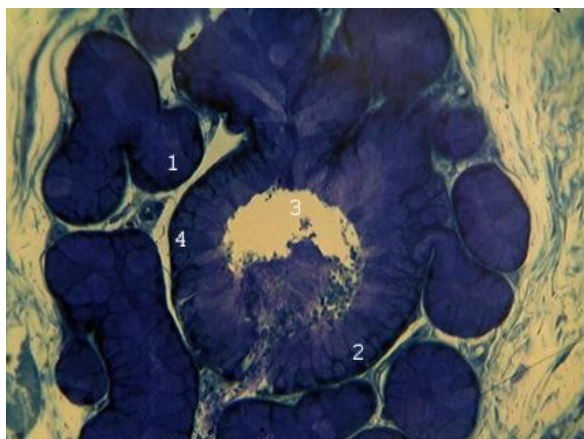


Рис. 5 Вивідні протоки піднебінної залози щурів контрольної групи тварин. Напівтонкий зріз. Забарвлення: толуїдиновим синім. Зб.: об. 40, ок. 15

- 1 – кінцеві відділи піднебінної залози
- 2 – вивідні протоки
- 3 – просвіт вивідної протоки
- 4 – головні клітини вивідної протоки

Проведений морфометричний аналіз показав, що реакція з боку ГМЦР проявлялись на 2-гу та 7-му добу у вигляді зменшення діаметру артеріол на 18,9% (при $p < 0,001$) в порівнянні з показниками контрольної групи тварин та збільшення діаметрів венул і капілярів спостерігались на 7-му добу експерименту і становили для венул 30,7%, для капілярів 47,64% (при $p < 0,001$) в порівнянні з показниками контрольної групи тварин.

Проведений кореляційний аналіз діаметрів ланок ГМЦР показав, що в період 2-7-ої діб виявлений прямий зв'язок між артеріолами і венулами та зворотній зв'язок між капілярами і венулами, та артеріолами і капілярами. Коефіцієнт кореляції в межах слабого. На 14-30 доби цей показник знаходився в межах середніх величин ($r = 0,581, 0,447$ та $0,470$ при $p < 0,05$).

При вивченні кінцевих відділів піднебінних залоз щурів нами було встановлено, що найбільших змін зазнали мукоцити на 2-гу добу експерименту, які проявлялись в достовірному збільшенні висоти мукоцитів до $29,53 \pm 1,25$ мкм при $p < 0,001$. Також на 2-гу добу діаметр просвіту кінцевого відділу був найменший і становив $15,81 \pm 1,14$ мкм при $p < 0,01$. Зміни зовнішнього діаметру найбільш виражені були на 7-му добу ($73,17 \pm 1,0$ мкм при $p < 0,001$).

Кореляційний аналіз висоти мукоцитів та діаметрів кінцевого відділу показує, що в період 2-7 діб коефіцієнт кореляції знаходиться в межах слабких показників при $p > 0,05$. На 14-30 доби коефіцієнт кореляції підвищується до середніх значень ($r = -0,645, 0,424$ та $-0,432$ при $p < 0,05$).

При вивченні вивідних проток піднебінних залоз щурів нами було встановлено, що головні клітини найбільших змін зазнали на 2-гу добу. Висота даних клітин збільшилась до $20,4 \pm 0,76$ мкм при $p < 0,01$. Зміни зовнішнього діаметру та діаметру просвіту вивідних проток також найбільш виражені були на 2-гу добу. Зовнішній діаметр вивідних проток піднебінних залоз в середньому становив

$79,11 \pm 1,35$ мкм при $p < 0,05$, а діаметр просвіту складав $43,07 \pm 1,0$ мкм при $p < 0,05$.

Проведений кореляційний аналіз дав змогу встановити, що коефіцієнт кореляції на 2-гу добу знаходився в межах слабких показників при $p > 0,05$. На 30-ту добу показник наближався до середніх показників ($r = 0,462, 0,241$ та $-0,368$ при $p < 0,05$).

Встановлено, що одноразова підшкірна трансплантація кріоконсервованої плаценти в ранніх термінах (2-7 діб) призводить до незначних змін з боку як стромальних так і паренхіматозних компонентів піднебінних залоз, що проявляється в реакції зі сторони ГМЦР у вигляді збільшення кровонаповнення та незначної стимуляції секреції піднебінних залоз щурів.

Висновки

1. Структура піднебінних слинних залоз щурів в нормі включає в себе стромальний компонент представлений сполучною тканиною, яка в своєму складі містить всі ланки ГМЦР. Встановлено, що діаметр артеріол контрольної групи тварин в середньому становив $18,52 \pm 0,48$ мкм, діаметр капілярів – $5,44 \pm 0,31$ мкм, діаметр венул – $29,18 \pm 0,58$ мкм. Паренхіматозний компонент представлений округлими кінцевими відділами (висота мукоцитів контрольної групи тварин в середньому становила $22,84 \pm 0,97$ мкм, зовнішній діаметр кінцевих відділів – $63,47 \pm 1,21$ мкм, діаметр просвітів кінцевих відділів – $20,28 \pm 1,1$ мкм) та вивідними протоками (висота головних клітин в середньому становила $15,56 \pm 1,23$ мкм, зовнішній діаметр вивідних проток – $74,24 \pm 1,54$ мкм, діаметр просвіту вивідних проток в середньому сягав $39,56 \pm 1,86$ мкм).

2. Підшкірна трансплантація кріоконсервованих тканин плаценти викликає реакцію стромальних компонентів піднебінних слинних залоз, які знаходяться в межах фізіологічної регенерації. Було виявлено деяке потовщення капсули залози за рахунок набряку.

Реакція з боку ГМЦР проявляється на 2-7 добу (ранні терміни дослідження). Відбувалось статистично достовірне зменшення діаметру артеріол та розширення венул і капілярів (при $p < 0,001$). На 14 – 21 добу (пізні терміни дослідження) відбувалось відновлення параметрів ланок ГМЦР до значень контрольної групи, різниця не достовірна (при $p > 0,05$). Кореляційний аналіз показав, що в ранні терміни виявлявся як прямий, так і зворотній слабкий рівень кореляційних взаємовідносин між діаметрами ланок ГМЦР, в той час як у пізні терміни виявлявся середній прямий рівень кореляційних взаємовідношень. В ранні терміни виявлялось збільшення кількості тканинних базofilів, більшість в стадії дегрануляції, та плазматичних клітин.

3. При підшкірній трансплантації кріоконсервованих тканин плаценти в паренхіматозному відділі піднебінних слинних залоз, які представлені кінцевими відділами, реакція стромальних ком-

понентів знаходиться в межах фізіологічної регенерації. Встановлено, що зовнішній діаметр кінцевого відділу збільшувався в ранні терміни експерименту, найбільш виражено на 7-му добу експерименту ($73,17 \pm 1,0$ мкм при $p < 0,001$). Висота мукоцитів збільшувалась також в ранні терміни, найбільш виражено на 2-гу добу експерименту ($29,53 \pm 1,25$ мкм при $p < 0,001$). В ці ж терміни виявлялось зменшення діаметру просвіту кінцевого відділу ($15,81 \pm 1,14$ мкм при $p < 0,01$). Кореляційний аналіз показав слабкий рівень кореляційних взаємовідношень між цими параметрами ($p > 0,05$). В той час як в пізні терміни дослідження вивчені параметри наближались до значень контрольної групи, кореляційний аналіз показав середній рівень кореляційних взаємовідношень ($p < 0,05$).

В вивідних протоках піднебінних залоз при підшкірній трансплантації кріоконсервованої плаценти також відмічалась реакція в межах фізіологічної регенерації. В ранні терміни дослідження (2-7 д.) відмічалось статистично достовірне збільшення зовнішнього діаметру протоки ($79,11 \pm 1,53$ мкм при $p < 0,05$), висоти головних клітин ($20,4 \pm 0,76$ мкм при $p < 0,01$) та просвіту вивідних проток ($43,07 \pm 1,0$ мкм при $p < 0,05$). Кореляційний аналіз показав слабкий рівень кореляційних взаємовідношень між цими параметрами ($p > 0,05$). В пізні терміни дослідження (14-21 д.) відбувалось статистично достовірне наближення значень досліджених параметрів до значень контрольної групи, кореляційний аналіз показав середній рівень кореляційних взаємовідношень ($p < 0,05$).

Перспективи подальших розробок

В роботі показані та розширено представлені структурні особливості піднебінних залоз щурів в нормі та при трансплантації кріоконсервованої плаценти. Дані можуть використовуватись як в навчальному, так і науково-дослідному процесі.

Література

- Використання кріоконсервованої плаценти в лікувальній практиці / Грищенко В. І., Прокопюк О. С., Шепітько В. І. [та ін.] // Трансплантологія. – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 32 – 37.
- Гольцев А. Н. Возможные причины развития аутоиммунной патологии и поиск путей ее лечения / А. Н. Гольцев // Пробл. мед. науки та освіти. 2000. – № 1. – С. 22 – 37.
- Грищенко В. І. Модифікація стану лімфо-гемопоетичного комплексу організму в умовах застосування продуктів фетоплацентарного комплексу / В. І. Грищенко, А. М. Гольцев // Трансплантологія. – 2001. – № 3. – С. 5.
- Грищенко В. І. Роль кріобіології в створенні біотехнологій кліткової та тканинної трансплантації / В. І. Грищенко // Пробл. кріобіології. – 2001. – № 3. – С. 7 – 9.
- Костиленко Ю. П. Базисная функция слюнных желез. / Ю. П. Костиленко – Полтава, 1999. – 55 с.
- Костиленко Ю. П. Макро- и микроскопическая характеристика желез твердого неба в возрастном аспекте / Ю. П. Костиленко // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1972. – Т. 62, Вып. 5. – С. 71–76.
- Куцевляк В. В. Местный иммунитет полости рта при множественном твердого зубов у детей / В. В. Куцевляк, Е. Г. Денисова // Вісник стоматології. – 1998. – №2. – С. 61–62.
- Пат. 30723А України МПК 6 А 61 К 35/50. Спосіб лікування аутоімунних захворювань / А. М. Гольцев, В. І. Грищенко, Т. Г. Дубрава та ін. заявл. 28. 04. 98 ; опубл. 15. 12. 2000, Бюл. № 7 (II ч.)
- Рабинович И. М. Иммуносупрессивная терапия и реакция малых слюнных желез при пересадке почки / И. М. Рабинович, Г. М. Могилевская, А. Н. Балашов [и др.] // Стоматология. – 1990. – №6. – С. 20–23.
- Рабинович И. М. Малые слюнные железы слизистой оболочки полости рта при трансплантации органов / И. М. Рабинович, Г. В. Банченко, С. Н. Игнатенко // Стоматология. – 1993. – №4. – С. 87–89.
- Рабинович И. М. Роль малых слюнных желез в патогенезе заболеваний слизистой оболочки полости рта: Дис... д-ра мед. наук: 14. 00. 21. – Москва, 1991. – 212с.
- Романенко И. Г. Содержание лизоцима в слюне у больных хейлитом, протекающих на фоне сахарного диабета / И. Г. Романенко // Вісник стоматології. – 1998. – №2. – С. 35–38.
- Тимофеев А. А. Руководство по челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии. / А. А. Тимофеев 1-том. – Киев: "Червона Рута-Турс", 1999. – 360 с.
- Ферменты смешанной слюны и слизистой оболочки полости рта при акриловом стоматите / Ю. Е. Живин, С. И. Рузутдинов., Ю. А. Петрович [и др.] // Стоматология. – 1975. – №6. – С. 30 – 34.
- Цимбалюк Р. Ю. Общий белок и белковые фракции смешанной слюны у больных красным плоским лишаем / Р. Ю. Цимбалюк // Вісник стоматології. – 1999. – №1. – С. 17–19.
- Шерстюк О. А. Пространственная организация эпителиальных комплексов и кровеносного микроциркуляторного русла небных желез новорожденных и взрослого человека: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14. 00. 02 / ПМСИ. – Полтава, 1990. – 20с.
- Экспериментальное обоснование возможности применения продуктов фетоплацентарного комплекса (ПФПК) для лечения аутоиммунных заболеваний / А. Н. Гольцев, Е. Д. Луценко, Т. Г. Дубрава [и др.] // Иммунология та алергологія. – 1999. – № 3. – С. 47.
- Dawes C. Salivary flow and the health of hard and soft oral tissues / C. Dawes // Arch. Oral. Biol. – 2008. – IADA 139 – P. 18 – 24
- Mandel I. D. Proteins in salivary secretions in whole saliva: Diagnostic and Clinical Aspects / I. D. Mandel // International Dental Journal. – 1992, №4. – P. 191–213.
- Nair P. N. R. Duct-Associated Lymphoid-Tissue (DALY) of minor salivary glands in the monkey: cercopithecus aethiops. / P. N. R. Nair, H. E. Schroeder // Arch. Oral. Bol. – 1987. – V. 32, №4. – P. 311–313.
- Platelet-derived growth factor receptor regulates salivary gland morphogenesis via fibroblast growth factor expression / S. Yamamoto, E. Fukumoto, K. Yoshizaki [et al.] // J. Biol. Chem. – 2008. – Aug 22. – 283(34). – P. 23139–23149
- Salivary gland tumor of the hard palate / G. Psychogios, C. Alexiou, B. Schick [et al.] // Laryngorhinootologie. – 2008. – Aug. – 87(8). – P. 579–582
- Small cell carcinoma of the major salivary glands. – clinico-pathologic study with emphasis on cytokeratin 20 immunoreactivity and clinical outcome / T. Nagao, T. A. Gaffey, K. D. Olsen [et al.] // Am. J. Surg. Pathol. – 2004. – Jun. – 28(6). – P. 762–770.
- Ramachandren N. Architecture of associations of minor salivary gland ducts and lymphoid follicles in macaca fascicularis (An ultrastructural study) / N. Ramachandren, H. Schroeder // A cell and Tissue Res. – 1985. – V. 240. – P. 223–232.
- Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // J. Cell Biol. – 1963. – V. 17 – P. 208–212
- Stempak J. G. An improved staining method for electron microscopy / J. G. Stempak, R. T. Ward // J. Cell Biol. – 1964 – V. 22 – P. 697–701
- US of the major salivary glands. – anatomy and spatial relationships, pathologic conditions, and pitfalls / E. J. Bialek, W. Jakubowski, P. Zajkowski [et al.] // Radiographics. – 2006. – May–Jun. – 26(3). – P. 745–763.

Реферат

ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОМАЛЬНЫХ И ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ КОМПОНЕНТОВ НЕБНЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ

Вильховая Е.В.

Ключевые слова: небные железы, мукоциты, главные клетки, трансплантация, криоконсервированная плацента

Изучение морфологических изменений структурных компонентов небных желез крыс дало возможность установить, что подкожная трансплантация криоконсервированных тканей плаценты вызывает реакцию со стороны небных желез, находящуюся в пределах физиологической регенерации.

Summary

CHARACTERISTICS OF STROMAL AND PARENCHYMATOUS COMPONENTS OF RAT PALATINE GLANDS IN NORMAL CONDITIONS AND UNDER THE CRYOPRESERVED PLACENTA TRANSPLANTATION

Vilkhovaya Ye.V.

Key words: mucocytes, salivary glands, transplantation, cryopreserved placenta.

The study of morphological changes in structural components of rat's palatine glands enabled to establish the subcutaneous transplantation of cryopreserved placental tissues stimulates the response of stromal components of palatine salivary glands located within the area of physiological regeneration.

УДК 616.24-004-007.63-018-06-092.9:577.118:613.32

МОРФОЛОГІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ В УМОВАХ ТЕХНОГЕННИХ МІКРОЕЛЕМЕНТОЗІВ ЯМПІЛЬСЬКОГО РАЙОНУ.

Волкогон А. Д.

Сумський державний університет, м. Суми.

В статье представлены результаты исследования легочной ткани 72 лабораторных крыс разных возрастных групп, которые в течение трех месяцев получали с питьевой водой соли меди, цинка и железа. С помощью анатомических, гистологических и спектрохимических методов исследования установлено, что концентрация выше указанных ионов в конце термина эксперимента возрастает; наблюдаются признаки эмфизематозной трансформации и пневмосклероза, выраженность которых зависит от возраста животных.

Ключевые слова: легочная ткань, соли тяжелых металлов, микроэлементоз, пневмосклероз, эмфизема.

Вступ

Зростання кількості поллютантів та їх комбінацій на тлі сучасного рівня розвитку промисловості призводить до вкрай негативного їх впливу на живі організми [2,3]. Особливу увагу вчених привертає проблема впливу токсинів на легені [1]. Чисельні роботи присвячені аерогенним поллютантам, що впливають на легеневу тканину, потрапляючи через дихальні шляхи [4,5,6,7]. Але майже зовсім не вивчався токсичний вплив на легені речовин (зокрема солей важких металів різних комбінацій), що надходять до легень не з повітрям, а через кровоносне русло. Саме вивченню цієї проблеми присвячена наша робота.

Мета дослідження

Впродовж експерименту на піддослідних тваринах вивчити інтенсивність накопичення міді, цинку та заліза в легеневій тканині піддослідних тварин при їх аліментарному надходженні; виявити закономірності та особливості формування морфологічних змін в респіраторному відділі легень щурів у віковому аспекті.

Матеріали та методи

Експеримент проводився на 72 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях. Щурі були розподілені на чотири підгрупи різних вікових категорій та отримували впродовж 90 днів питну воду з CuSO_4 (20 мг/л), ZnSO_4 (50 мг/л) та FeSO_4 (20 мг/л), що відповідало їх концентраціям у водоймищах Ямпільського району. В кожній підгрупі частина тварин отримувала звичайну питну воду та використовувалася як контрольна. Через кожні 30 днів проводився забій шести щурів з кожної підгрупи шляхом декапітації з наступним дослідженням їхніх легень методом мікроскопії, морфометрії, ультрамікроскопії та спектрального аналізу для визначення концентрації важких металів.

Результати та їх обговорення

Спектрохімічний аналіз легеневої тканини молодих щурів першого місяця дослідження показав акумуляцію елементів, що надходили до організму піддослідних тварин в підвищених концентраціях: міді – на 8,83% ($p < 0,001$), цинку – на 2,47%

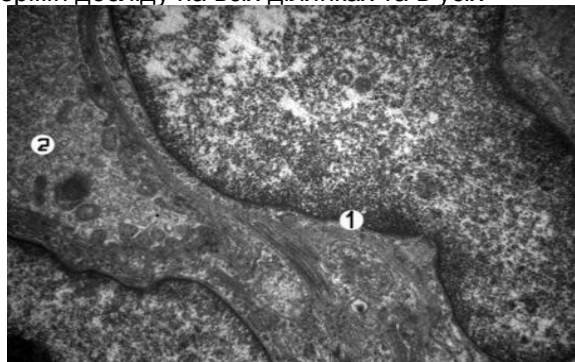
* Робота виконувалася згідно з планом наукових досліджень Сумського державного університету і є складовою частиною науково-дослідної теми кафедри анатомії людини Сумського державного університету "Морфофункціональні особливості перебудови скелета та внутрішніх органів в умовах порушеного гомеостазу" (номер державної реєстрації 0107U001287).

($p < 0,05$) та заліза - на 7,31% ($p < 0,001$); одночасно рівень марганцю зменшився на 3,88% ($p > 0,05$). Концентрація хрому та свинцю в порівнянні з контролем залишаються незмінними.

Ультрамiкроскопiчна картина показує, що альвеолоцити I-го типу розташовані на базальній мембрані та вкривають значну частину альвелярної поверхні. Бiльшу частину цитоплазми займає ядро округлої або овоїдної форми. Ядерна мембрана здебiльшого має нерiвнi контури за рахунок наявностi невеликих випинань каріолем. Всерединi мiстить одне ядерце. Кiлькiсть мiтохондрiй в одному зрiзі коливається вiд 3 до 8, якi рiвномiрно розподiленi в цитоплазми, але частiше згрупованi навколо ядра, тобто в найширшому вiддiлi клiтини. Матрикс має рiвномiрну щiльнiсть, мiсцями, особливо у мiтохондрiях, великих розмiрiв, просвiтлений. Гранулярна ендоплазматична сiтка не розвинута та бiльшiсть рибосом знаходяться в цитоплазми у вiльному станi. За звичайних умов апарат Гольджi зустрiчається нечасто, здебiльшого у виглядi фрагментованого на везикули та дрiбних пухирцiв. Довгi цитоплазматичнi вiдростки майже не мiстять органел та можуть простягатися на значну вiдстань вiд ядра. Плазмолема мiсцями нерiвна за рахунок поодиноких мiкробiйок, а цитоплазма вiдросткiв мiстить мiкропiноцитознi пухирцi, що вивiльнюються з клiтини через злиття з мембраною. Мiж собою клiтини з'єднанi щiльними мiжкiтинними сполученнями.

При дослiдженнi хiмiчного складу легень щурiв молодого вiку пiсля двох мiсяцiв експериментального мiкроелементозу виявлено пiдвищення концентрацiй iонiв мiдi (на 21,5% ($p < 0,001$)), цинку (на 6,63% ($p < 0,001$)) та залiза (на 15,75% ($p < 0,001$)) при одночасному зменшеннi вiмiсту марганцю на 8,07% ($p < 0,001$), що бiльш нiж вдвiчi бiльше за величину зменшення вiмiсту впродовж першого мiсяця затравки.

При електроннiй мiкроскопiї легень щурiв даної експериментальної групи встановлено, що в цей термiн дослiду на всiх дiлянках та в усiх



Мал. 1. Пiдвищена продукцiя мiкропiноцитозних везикул на поверхнi альвеолоцита I-го типу. Електронномiкроскопiчна фотографiя. $\times 9000$.

1 – альвеолоцит I-го типу, 2 – просвiт альвеоли

структурах легеневої тканини не вiдмiчається майже нiяких суттєвих ультраструктурних змiн, за винятком появи на поверхнi альвеолоцитiв I ти-

пу невеликої кiлькостi мiкропiноцитозних везикул та незначного потовщення вiдросткiв ендотеліоцитiв з просвiтленням цитоплазми в них, що свiдчить про реактивну вiдповiдь компонентiв кровоносного русла на токсичний вплив важких металiв.

Значного полiморфiзму в будовi альвеолоцитiв II-го типу не було виявлено. Ендотеліальнi клiтини та альвеолоцити зберігають свою звичайну морфологiчно-структурну будову, розмiри та форма ядер залишається сталою.

При спектральному дослiдженнi хiмiчного складу легень щурiв молодого вiку через три мiсяцi вживання солей мiдi, цинку, та залiза їх концентрацiя зросла на 40,7% ($p < 0,001$), 7,61% ($p < 0,001$) та 23,86% ($p < 0,001$) вiдповiдно в порiвняннi з контрольною групою. Вiмiст марганцю знизився до 0,1182 мкг/г (на 15,54% ($p < 0,001$)), свинцю – до 5,55 мкг/г ($p > 0,05$), хрому – залишився незмiнним.

Альвеолоцити II-го типу часто мiстять ядро з фестончатим контуром, незначними каріоплазматичними виростами та iнвагiнацiями. Осмiофiльнi пластинчасті тiльця мають рiзнi форми та розмiри, часто з просвiтленим матриксом, розташовані в електронно прозорих вакуолях. Останнi виповнені частково нещiльно запакованим та дещо деформованим матерiалом. Зустрiчаються спорожнiлi пухирцi, що мiстять одиничнi осмiофiльнi пластини; частина їх знаходиться в просвiтi альвеол серед ексудату та фрагментiв злущених клiтин. Альвеолоцити I-го типу мають незначну кiлькiсть пiноцитозних везикул в навколядернiй зонi, та велику кiлькiсть поблизу мембран в дiлянцi вiдросткiв. Змiни ендотеліоцитiв проявляються в потовщеннi периферiйних дiлянок за рахунок набряку та просвiтлення цитоплазми.

Спектральний аналіз легень зрiлих щурiв пiсля першого мiсяця експерименту довiв зростання рiвня мiдi до 3,08 мкг/г (на 10,34% ($p < 0,001$)), цинку до 29,54 мкг/г (на 3,5% ($p < 0,001$)) та залiза до 61,17 мкг/г (на 6,84% ($p < 0,01$)) в порiвняннi з контрольними тваринами. Вiмiст марганцю достовiрно зменшився на 2,53% ($p < 0,01$). З ймовiрностю ($p > 0,05$) на 3,66 % знизилася концентрацiя свинцю, рiвень хрому залишається сталим.

Осмiофiльний матерiал виявляється всерединi пластин та везикул апарату Гольджi, якi потiм вiдокремлюються вiд цистерн у виглядi пухирцiв та згодом вивiльнюються в просвiт альвеол через плазмолему клiтини.

Альвеолоцити II-го типу розташовані поодинокі на базальній мембрані, дещо виступають в просвiт альвеол, мають невелику кiлькiсть мiкробiйок. В цитоплазми апікальної поверхні клiтин мiститься значна кiлькiсть осмiофiльного матерiалу, ендоплазматичний ретикулум згуртований поблизу ядра в значнiй кiлькостi. Мiтохондрiї сферичної форми з блiдим матриксом, майже не мiстять пошкоджених кріст. Комплекс Гольджi концентрується в навколядернiй зонi апі-

кального полюсу клітини.

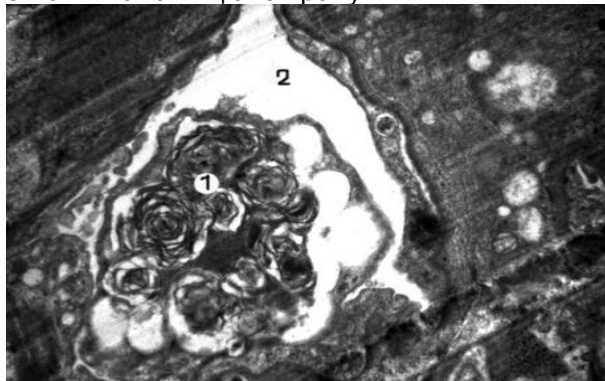
Порівнюючи концентрації в контрольних щурів та експериментальних на другому місяці дослідження отримані наступні дані: зросла концентрація міді на 18,18% ($p < 0,001$), цинку – на 3,71% ($p < 0,001$), заліза – на 14,87% ($p < 0,001$). Рівень марганцю достовірно знизився з 0,144 мкг/г до 0,1338 мкг/г ($p < 0,001$), а от вміст хрому та свинцю залишається незмінним.

Мітохондрії альвеолоцитів II-го типу містять щільний матрикс та чисельні тоненькі крісти. Вони зустрічаються по всій поверхні, але їх кількість значно більша ближче до периферії клітини. Елементи гладенької та гранулярної ендоплазматичної сітки, що представлені дрібними звивистими мембранами, а також численними пухирцями, розташовані поблизу скупчення мітохондрій. Ядро має просвітлену каріоплазму з рівномірно розподіленим хроматином та чітко визначеною двоконтурною мембраною.

Світлова мікроскопія виявляє збільшення пневматизації легень з одночасним скупченням слизово-клітинного компоненту в просвіті бронхів дрібного калібру та бронхіолах.

В навколядерній зоні зустрічається конденсація ендоплазматичної сітки та апарату Гольджі, а також осміофільний пластинчастий матеріал на різних стадіях формування та в підвищеній кількості на периферії.

В кінці тримісячного терміну експерименту на щурах зрілого віку концентрації іонів міді сягають 3,81 мкг/г ($p < 0,001$), цинку – 31,87 мкг/г ($p < 0,001$), заліза – 71,04 мкг/г ($p < 0,001$), що відповідає збільшенню вмісту на 35,94%, 12,15% та 23,79% відповідно. Рівень марганцю продовжує прогресивно зменшуватися і на 3-му місяці його концентрація знижується до 0,1317 мкг/г ($p < 0,001$), що на 8,43% менше за контроль. Майже не змінюється вміст свинцю та хрому.



Мал. 2. Збільшення інтенсивності вивільнення осміофільних пластинчастих тілець в просвіт альвеоли.

Електронномікроскопічна фотографія. $\times 6000$.

1 – скупчення осміофільних пластинчастих тілець

2 – просвіт альвеоли

Трансмісійна електронна мікроскопія показує, що апікальна та навколядерна зони альвеолоцитів II-го типу містять велику кількість повиморфних секреторних гранул, електронна щільність яких дорівнює щільності матрикса мітохондрій.

Останні розташовані рівномірно по всій цитоплазмі клітини в значній кількості та мають переважно поздовжню форму. Ендоплазматична сітка гранулярного типу розвинута добре, рясно всіяна рибосомами та полісомами, представлена порівняно довгими канальцями. Осміофільні пластинчасті тільца густо вкривають поверхню зрізу, особливо їх багато в апікальній частині та поблизу цистерн комплексу Гольджі, де вони спостерігаються на різних стадіях формування. Апікальна поверхня нерівна, має, окрім війок, інвагінації різної форми та глибини, що є наслідком секреції осміофільного матеріалу в просвіт альвеоли.

Альвеолоцити I-го типу мають гладеньку поверхню, з'єднані одне з іншим за допомогою щільних контактів, ядра мають переважно округлу форму, як правило, мають ядерце та дифузно розташований хроматин. Кількість міковезикул у відростках альвеолоцитів незначна та відповідає їх вмісту в контрольній групі. В навколядерній зоні знаходяться дрібні мітохондрії, переважно овоїдної форми, елементи ендоплазматичного ретикулуму та комплексу Гольджі, які слабо розвинуті.

Концентрації металів, вміст яких перевищував допустимі значення, визначалися підвищеними вже на першому місяці експерименту на щурах старечого віку: рівень міді зріс на 8,03% ($p < 0,001$), цинку – на 6,35% ($p < 0,01$), заліза – на 7,58% ($p < 0,01$). Достовірно знизилася концентрація марганцю з 0,1582 мкг/г до 0,1515 мкг/г ($p < 0,001$). Спостерігається незначне зменшення ($p > 0,05$) вмісту свинцю (на 2,1%), а от динаміка зміни вмісту хрому відсутня.

На ультратонких зрізах більшу частину альвеолоцитів I-го типу займає округле або овальне ядро, що містить одне або два ядерця. Хроматин у вигляді ледь помітних глибок рівномірно розподілений по каріоплазмі. Саме ядро оточене тоненькою каріолемою двошарової структури. Кількість цитоплазми, що оточує ядро незначна, тому невелика і кількість органел, що в ній міститься. Це поодинокі мітохондрії, елементи ендоплазматичної сітки, міковезикули. Альвеолоцити II-го типу здебільшого мають округлу або дещо полігональну форму з міковійками на апікальній поверхні. Альвеолоцити II-го типу розташовані на базальній мембрані, ядра мають рівні або фестончасті контури, в цитоплазмі багато рибосом але невелика кількість мітохондрій. На апікальній поверхні клітин є чисельні міковирости та інвагінації, а поблизу них – численні міковезикули та пухирці, що вміщують щільно впакований осміофільний матеріал та мають чітко обмежені та рівні контури мембрани.

Ядра їх дещо менші, ніж у попередніх клітин, розташовані в центрі клітини та рідко мають конденсований хроматин, що свідчить про їх високу метаболічну активність. Це також підтверджує наявність великої кількості мітохондрій сферичної та видовженої форми та значний

вміст мембранних структур: міковезикул, вакуолей, ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі та головне – осміофільних пластинчастих тілець з щільно впакованими пластинками всередині. Останні добре контуруються, мають невеликі, ледь помітні проміжки між собою, оточені одинарною тоненькою мембраною. Зустрічаються альвеолоцити II-го типу з ознаками набряку: спостерігається просвітлення матриксу мітохондрій з помірним розширенням та деформуванням крист, просвітлення цитоплазми клітини, розволокнення осміофільного матеріалу всередині тілець, в результаті чого проміжки між пластинами збільшуються, самі пластини деформуються, що також приводить до деформації мембран тілець та їх форми.

Через два місяці дослідів у щурів старечого віку збільшилася концентрація іонів міді, цинку та заліза на 20,19% ($p < 0,001$), на 8,6% ($p < 0,001$), на 15,31% ($p < 0,001$) відповідно. Концентрація хрому залишається сталою, а от рівень свинцю дещо збільшився (на 2,88% ($p > 0,05$)). Зростає кровонаповнення легень на тлі вогнищевих явищ зниження повітряноповнення легеневої тканини.

Через три місяці експериментального мікроелементозу на щурах старечого віку в легенях тварин відбуваються максимальні в даній серії морфоструктурні перетворення на мікроскопічному рівні. Значно наростають явища капілярного повнокрів'я, спостерігається збільшення кількості мікропухирців та нерівність контура люменальної поверхні мембрани ендотеліоцитів за рахунок активації піноцитозних механізмів транспорту. Одночасно збільшується кількість міковезикул у відростках альвеолоцитів, що набуває вигляд загальної вакуолізації цитоплазми на фоні її генералізованого просвітлення, що є ознакою набрякових процесів. Гіпергідратація призводить до набухання мітохондрій, які збільшуються в розмірах, стають круглішими, кристи в середині набухають та деформуються. Але при цьому достовірного потовщення альвеолоцитів I-го типу в ділянці аерогематичного бар'єру не відбувається. Явища набряку призводять до розволокнення пластин осміофільних тілець з формуванням розширених вільних проміжків між ними. Мітохондрії альвеолоцитів I-го та II-го типів, в порівнянні з попередньою групою, мають менші розміри, але більш чисельні та мають атипово розташовані кристи дещо деформованого вигляду. Частина крист потовщена, матрикс зниженої щільності. Поздовжній розмір мітохондрій більш ніж вдвічі більший за поперечний, самі вони мають вигляд прямих або скривлених паличок. В цей термін спостерігаються явища цитоплазматичного набряку та вакуолізації цитоплазми на фоні загального зниження кількості як осміофільних тілець, так і осміофільного ма-

теріалу всередині кожного з них. На рівні світлової мікроскопії звертає на себе увагу збільшення кількості ателектатичних ділянок, що є свідченням порушення функції сурфактантної системи.

При аналізі мікроелементного складу легеневої тканини піддослідних щурів виявлено підвищення рівня міді до 4,91 мкг/г ($p < 0,001$), цинку – до 26,48 мкг/г ($p < 0,001$), заліза – до 70,98 мкг/г ($p < 0,001$), що відповідало зростанню їх концентрацій на 27,07%, 11,93% та 24,18% відповідно. Концентрація марганцю знизилася на 13,09% ($p < 0,001$), а вміст свинцю та хрому залишається незмінним.

Висновки

Надходження в організм піддослідних щурів солей міді, цинку та заліза призводить до накопичення іонів даних металів в легеневій тканині, що визначається при спектральному аналізі. Це призводить до активації склеротичних процесів в легенях всіх вікових груп в кінці терміну експерименту, що особливо проявляється при ультрамікроскопічному дослідженні. Морфологічним проявом таких перетворень є емфізематозна трансформація (або схильність до неї), інтенсивність якої залежить від віку тварин та терміну дії полутантів.

Перспективи подальших розробок:

В подальшому планується вивчити можливість корекції виявлених змін морфометричних параметрів легень препаратом Емоксипін®.

Література

1. Антонюк С.В., Коцарев О.С. Морфофункциональное состояние тучных клеток при свинцовой пневмопатии // Вісник морфології. – 2002. - №1. – С.92-95.
2. Али-Риза А.Э., Бархина Т.Г., Самсонова М.В., Черняев А.Л. Морфологические особенности клеточных популяций бронхобиоптатов у работников горнохимического предприятия // Архив патологии. – 2002. – Т.64, №2. – С.28-32.
3. Березовський А.М. Морфофункціональна оцінка змін в легенях при отруєнні дипіридилфосфатом (ДПФ) // Вісник морфології. – 1999. - №1. – С.71.
4. Гатицкая Н.Т. Гиганты химической промышленности как источники загрязнения атмосферного воздуха // Гігієна населених місць. – Київ. – 2003. – Вип. 41. – С. 37–45.
5. Клеточная биология легких в норме и при патологии: Руководство для врачей / Под ред. В.В.Ерохина, Л.К.Романовой.-М.:Медицина, 2000.-496 с.: ил.
6. Лавринюк В.Є. Вплив продуктів термодеструкції поліетилену на легеневу тканину експериментальних тварин // Таврический медико-биологический вестник. – 2003. – Т.6, №4. – С.85-88.
7. Самсонова М.В., Черняев А.Л., Копылев И.Д., Чикина С.Ю. Патологическая анатомия легких при ингаляционном поражении многокомпонентной пылью после аварии на Чернобыльской АЭС в отдаленные сроки // Пульмонология. – 2006. - №4. - С.46-52.
8. Черкасова В.Г., Яворовський О.П. Ультраструктурні порушення компонентів аерогематичного бар'єру легень при дії спонголітового пилу // Вісник морфології. – 2006. - №12(1). – С.20-23.

Реферат

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОЗОВ ЯМПОЛЬСКОГО РАЙОНА.

Волкогон А. Д.

Ключевые слова: легочная ткань, соли тяжелых металлов, микроэлементоз, пневмосклероз, эмфизема.

В статье представлены результаты исследования легочной ткани 72 лабораторных крыс разных возрастных групп, которые в течение трех месяцев получали с питьевой водой соли меди, цинка и железа. С помощью анатомических, гистологических и спектрохимических методов исследования установлено, что концентрация вышеуказанных ионов в конце термина эксперимента возрастает; наблюдаются признаки эмфизематозной трансформации и пневмосклероза, выраженность которых зависит от возраста животных.

Summary

MORPHOLOGICAL CHANGES IN RAT LUNG TISSUES UNDER THE TETANIGENOUS MICROELEMENTOSES OF YAMPIL DISTRICT

Volkogon A.D.

Key words: lung tissues, heavy metal salts, microelementosis, pneumosclerosis, emphysema.

The paper represents the findings of lung tissues obtained from 72 laboratory rats of various age groups which for the 3 months were being given copper, zinc, and iron salts with drinking water. By means of anatomical, histological, and spectrochemical methods it has been found out the concentration of above-mentioned ions at the last stage of the experiment increases, there are observed the signs of emphysematous transformation and pneumosclerosis which intensity depends on the age of the animals.

УДК 616.831.7-005.1-005.4-036.11-08

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ СОЛКОСЕРИЛА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА У КРЫС

Волохова Г.А., Стоянов А.Н.

Одесский государственный медицинский университет

Представлены результаты экспериментальных исследований, целью которых является выяснение эффективности нейропротективного действия Солкосерила в условиях ишемического инсульта, вызванного двусторонней перевязкой общих сонных артерий. Показано, что ишемическое повреждение мозга у крыс сопровождается высокой летальностью, выраженным неврологическим дефицитом и моторными нарушениями, которые проявляются мышечной слабостью, неспособностью принимать естественное положение и осуществлять синхронные координированные движения. Применение Солкосерила в этих условиях оказывает противоинсультное действие, что проявляется предупреждением летальности крыс, нормализацией неврологического статуса и моторной активности животных. Результаты данного экспериментального исследования позволяют предположить целесообразность клинического тестирования эффектов Солкосерила в качестве составного компонента комплексной патогенетической терапии ишемического повреждения мозга.

Ключевые слова: ишемия мозга, инсульт, Солкосерил, мышечный тонус, нейропротекция

Введение

Ишемический инсульт (ИИ) представляет собой важнейшую социально-медицинскую проблему [3, 9, 14, 17]. В мире ежегодно более 10 млн. человек переносят ИИ. В России и Украине заболеваемость инсультом составляет 2,5-3 случая на 1000 населения в год, смертность – 1 случай на 1000 населения [8, 20]. При этом наблюдается "омоложение" инсульта и увеличение его распространенности среди лиц трудоспособного возраста [3]. Среди всех инсультов подавляющее число случаев – 70-85% - составляют ИИ.

Смертность в течение первых 30 суток после ИИ составляет около 30% [9]. Инвалидизация больных обусловлена в большинстве случаев двигательными нарушениями [8-10, 14, 16]. У 80–90% больных в остром периоде инсульта выявляется гемипарез. Остаточные явления перенесенного ИИ разной степени выраженности и характера отмечаются примерно у 65-70% больных. При этом только 30% больных могут самостоятельно передвигаться в первые недели после перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) [14, 24]. Принимая во внимание длительный срок потери работоспособности, частые случаи инвалидности пациентов и недостаточного эффективные методы лечения и восстановления отмеченного контингента пациентов, очевидной становится актуальность фундаментальных исследований, направленных на повышение эффективности лечения ишемического поражения мозга.

Раннее и патогенетически обоснованное дифференцированное лечение ИИ в сочетании с целенаправленной профилактикой повторных ОНМК позволят приблизиться к выполнению задач, определенных Европейским региональным бюро ВОЗ, которые заключаются в снижении

летальности в течение первого месяца заболевания до 20% и обеспечении независимости в повседневной жизни через 3 месяца от его начала не менее чем у 70% выживших пациентов. Несмотря на патогенетическую направленность лечения, фармакотерапия ишемического поражения мозга считается недостаточно эффективной.

С учетом этого при лечении и профилактике инсульта широко применяются препараты с нейромодуляторными и нейротрофическими свойствами, улучшающие выраженность пластических процессов в нервной ткани, ускоряющие образование новых ассоциативных структурных связей, нормализующие метаболические процессы в периферической и центральной нервной системе (ЦНС). А также препараты комбинированного действия (усиливающие репаративные и регенерационные процессы, нормализующие метаболизм и микроциркуляцию) [4, 11, 20]. Одним из фармакологических препаратов, которым свойственны описанные эффекты, является препарат природного происхождения Солкосерил – депротеинизированный гемодериват, полученный из крови молодых телят.

Целью работы явилось изучение нейропротекторных эффектов Солкосерила и его влияние на мышечную активность в условиях экспериментальной ишемии мозга.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились в условиях хронического эксперимента на 76 половозрелых белых крысах линии Вистар массой от 180 до 220 г, которых содержали в индивидуальных боксах с естественной 12-часовой сменой света и темноты, влажностью воздуха 60%, температурой $22 \pm 1^\circ\text{C}$, со свободным доступом к воде и пище, в соответствии с указаниями, изложенными в «Основных методах изучения токсично-

* Работа выполнена в рамках НДИ кафедры нейрохирургии и неврологии Одесского государственного медицинского университета "Состояние и дисфункция вегетативной нервной системы на различных уровнях ее организации при цереброваскулярной патологии" (№ госрегистрации 0105U008877).

сти потенциальных фармакологических препаратов» (Фармкомитет Украины, Киев, 2000). С целью приручения, крыс перед началом эксперимента держали в руках по 2-3 мин в течение 5 дней, что облегчало последующие экспериментальные исследования с животными [2]. Работу с лабораторными животными проводили с соблюдением основных нормативных и этических требований к проведению опытов с участием экспериментальных животных разных видов. Данные исследования были проведены в соответствии с требованиями комиссии ОГМУ по этическому проведению экспериментов.

Ишемию мозга (ИМ) в эксперименте воспроизводили следующим образом: в условиях эфирного рауш-наркоза крысам производили двустороннюю перевязку общих сонных артерий [18, 19, 22, 26, 27]. Эксперименты выполняли в сле-

дующих группах животных: крысам первой группы с ИМ в течение последующих 14 дней внутривенно (в/вр) вводили 0.5 мл физиологического раствора NaCl (n=18). Животным второй и третьей групп (по 21 крысы в каждой) с ИМ в течение последующих 14 дней в/вр вводили Солкосерил (Valeant Pharmaceuticals Switzerland GmbH, Швейцария) в дозах, соответственно, 40 мг/кг и 80 мг/кг. С учетом важности начала лечения ИМ как можно раньше, первый раз Солкосерил вводили через 60 мин с момента индукции ИМ. Введение препарата осуществляли один раз в день, утром, в интервале между 9.00 и 10.00. Выделяли также контрольную группу (n=8) и группу ложнооперированных (n=8) крыс, которым под эфирным рауш-наркозом разрезали кожу, обнажали доступ к общей сонной артерии и ушивали рану (Рис. 1).

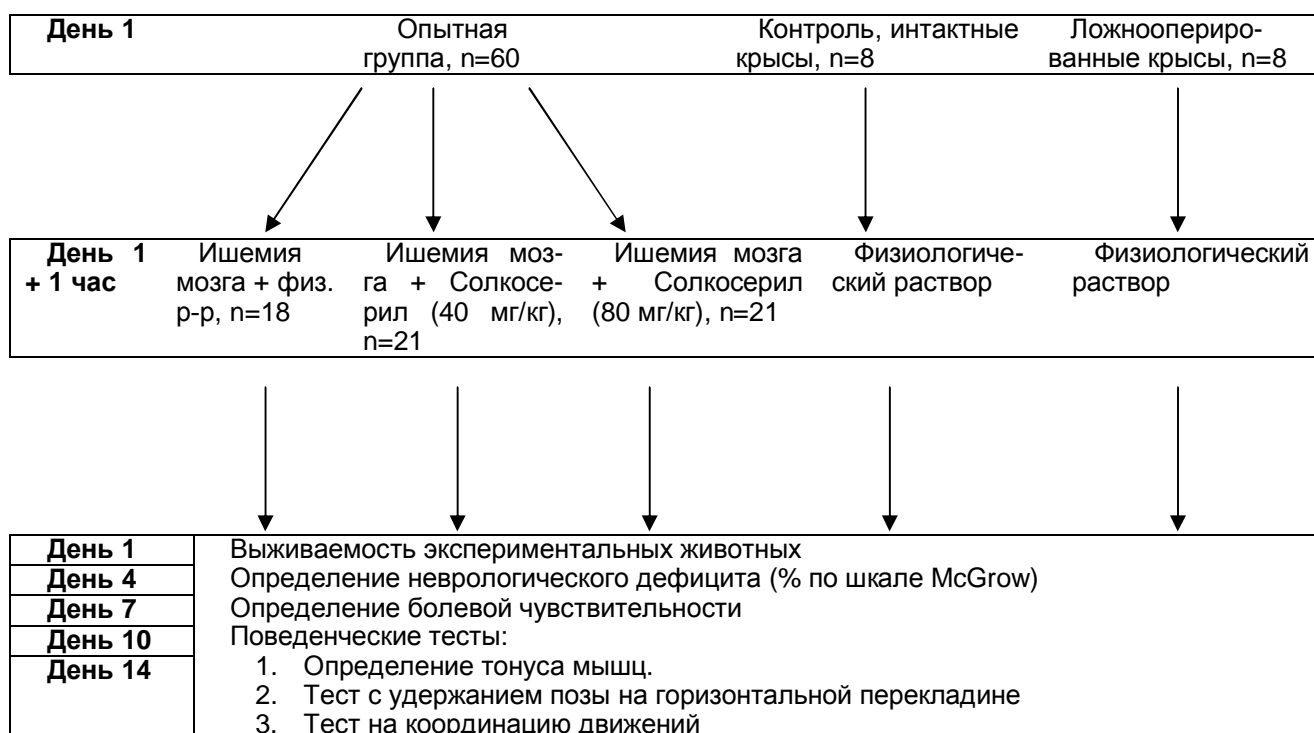


Рис. 1. Схема проведения экспериментальных исследований по изучению нейропротекторных эффектов Солкосерила.

Через 2 часа после двусторонней перевязки сосудов, а также через 4, 7, 10 и 14 дней с момента ИМ животных наблюдали на открытой площадке и определяли число крыс, сохраняющих вертикальную позу, их болевую чувствительность, длительность удерживания неудобной позы на спине или на боку, а также летальность. Дополнительно исследовали динамику изменений мышечной активности и координационных движений, неврологический статус.

Болевые реакции у животных оценивали количественно по трем баллам в пробе с защипыванием кончика хвоста корнцангом используя четырехбалльную шкалу [25]: 0 баллов - животные не реагируют на защипывание; 1 балл - в ответ на раздражитель возникает вокализация и/или кратковременная локомоция; 2 балла - живот-

ное поворачивается в сторону действия раздражителя; 3 балла - животное локализует источник боли, набрасывается на корнцанг, пытается освободиться. Мышечную активность определяли по времени, в течение которого крысы передними и задними лапами способны были удерживаться на двух горизонтально расположенных палочках [25]. Тест на координацию движений заключался в способности крыс удерживаться на горизонтально вращающемся стержне (ротароде) диаметром 25 мм, длиной 60 см, разделенном при помощи 5 дисков на 6 отсеков [23]. Определяли количество животных, которые смогли удержаться на вращающемся с частотой 15 оборотов в минуту стержне в течение 120 сек. Неврологический статус оценивали при подсчете выраженности неврологического де-

фицита по шкале оценки инсульта (stroke-index) McGrow в модификации И.В.Ганнушкиной [7].

Для обработки полученных данных использовали одновариантный критерий ANOVA, сопровождавшийся в случае соответствия критерию достоверности тестом Neuman-Keuls. При неравномерном распределении признаков достоверность определяли с помощью непараметрического теста Крускал-Валиса. $P < 0.05$ выбрали критерием достоверности.

Результаты и их обсуждение

Через 1 час после двусторонней перевязки общей сонной артерии погибли 9 из 18 крыс с ИМ, лечение которым не производилось (50%; группа №1; Рис. 2; $P < 0.05$ по сравнению с аналогичными контрольными наблюдениями). При этом в группе крыс с ИМ, которым ввели Солкосерил в дозе 40 мг/кг, погибли 8 из 21 крысы (38%, группа №2; $P < 0.05$ по сравнению с аналогичными контрольными наблюдениями). В группе крыс с ИМ, которым вводили Солкосерил в дозе 80 мг/кг, (группа №3) погибла 1 крыса –

выживаемость составила 90% ($P < 0.05$ по сравнению с аналогичными наблюдениями у крыс с ИМ без лечения; Рис. 2). При исследовании в дальнейшие временные интервалы прослеживалась аналогичная тенденция гибели и выживаемости животных. В частности, через 7 дней с момента воспроизведения ИМ выжила 1 крыса из 18 в той группе, в которой лечение животным не проводилось ($P < 0.05$ по сравнению с аналогичными контрольными наблюдениями). В группе с ИМ с введением Солкосерила (40 мг/кг) выжили 2 крысы из 21 ($P < 0.05$ по сравнению с аналогичными контрольными наблюдениями), а в случае введения Солкосерила в дозе 80 мг/кг выживаемость составила 81% ($P < 0.01$ по сравнению с аналогичными наблюдениями у крыс с ИМ без лечения; Рис. 2). Через 10 и 14 дней после воспроизведения ИМ погибли все крысы в 1-й и 2-й группах, а группе №3 – 17 и 14 крыс из 21, соответственно (качественные различия, $P < 0.01$, критерий Крускал-Валлиса).

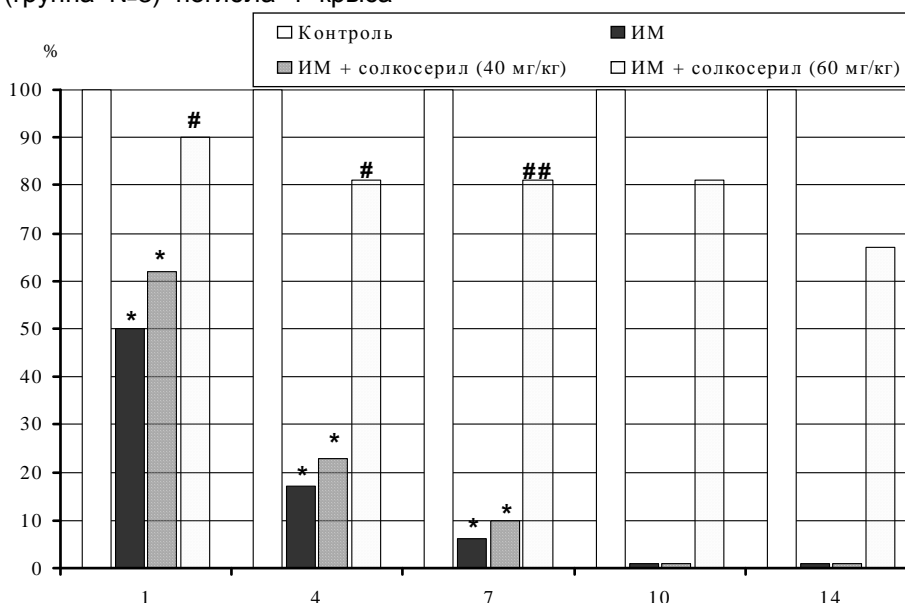


Рис. 2. Влияние Солкосерила на выживаемость крыс после ИМ

По оси ординат – количество крыс в группах, %

По оси абсцисс – дни с момента воспроизведения ИМ

Примечания: * - $P < 0.01$ – достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с такими в контрольных наблюдениях; # - $P < 0.05$, ## – $P < 0.01$ – достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с такими у крыс с ИМ без лечения и с ИМ на фоне введения Солкосерила в дозе 40 мг/кг (статистический критерий Крускал-Валис).

В течение первых суток после двусторонней перевязки общей сонной артерии у всех 9 крыс наблюдались неврологические нарушения (вялость, замедленность движений, слабость конечностей, в том числе разной степени выраженности парез и паралич конечностей; таблица 1). У крыс 2-й группы указанные выше неврологические нарушения были выражены аналогично. У крыс 3-й группы сильные неврологические нарушения, проявляющиеся в виде маневжных движений по кругу, парезов и параличей конечностей, были зарегистрированы в 21% и 11%

случаев, что имело значительное различие по сравнению с аналогичными показателями у крыс с ИМ без лечения ($P < 0.05$; таблица 1). Через 4 и 7 дней после воспроизведения ИМ выраженность неврологических нарушений у крыс 1-й и 2-й групп была идентичной; у крыс 3-й группы отмеченные показатели ослабевали. Подобная динамика вплоть до частичного восстановления моторной функции конечностей была зарегистрирована через 10 и 14 дней (таблица 1).

Таблица 1

Влияние Солкосерил на выраженность неврологического дефицита в процентах у крыс после ИМ по шкале McGrow в модификации И.В.Ганнушкиной

Группы животных	Вялость, замедленные движения	Слабость движений	Маневренные движения	Парез 1-4 конечностей	Паралич 1-4 конечностей
1 час после ИМ					
Контроль, n=8	25	13	0	0	0
ИМ, n=9	100**	100**	56**	56*	33**
ИМ + Солкосерил (40 мг/кг), n=13	85*	92**	54	46	28
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=19	68*	37#	21#	11#	0#
4 день после ИМ					
Контроль, n=8	13	0	0	0	0
ИМ, n=3	100**	100**	67**	67**	33**
ИМ + Солкосерил (40 мг/кг), n=5	100**	80**	60**	60**	0
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=17	41#	29##	12##	0##	0#
7 день после ИМ					
Контроль, n=8	0	0	0	0	0
ИМ, n=1	100**	100**	0	0	100**
ИМ + Солкосерил (40 мг/кг), n=2	100**	100**	50**	50**	50**
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=17	29##	24##	12##	0	0##
10 день после ИМ					
Контроль, n=8	0	0	0	0	0
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=17	24	12	6	0	0
14 день после ИМ					
Контроль, n=8	0	0	0	0	0
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=14	14	14	7	0	0

Примечания: (в табл. 1 и 2) на 10 день после ИМ погибли все крысы 1-й и 2-й групп. * – $P < 0.05$, ** – $P < 0.01$ (статистический критерий Крускал-Валис) – достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с такими в контрольных наблюдениях. # – $P < 0.05$, ## – $P < 0.01$ (статистический критерий Крускал-Валис) – достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с такими у крыс с ИМ без лечения.

Похожая тенденция была прослежена нами в случае исследования ответа на нанесение болевого раздражения животным исследуемых групп, что представлено на рис. 3. В течение всего срока наблюдения (14 дней) ложнооперированные животные интенсивно вокализовали при зажимании кончика хвоста корнцангом и локализовали источник раздражения. Крысы с ИМ через 1 час не вокализовали в данных условиях и практически не совершали попыток избежать действия болевой стимула. Средняя выраженность болевой реакции у крыс 1-й группы составила 0.5 ± 0.1 балл ($P < 0.05$), 2-й группы – 1.0 ± 0.2 балл ($P < 0.05$) и 3-й группы – 1.5 ± 0.2 балл ($P < 0.05$ по сравнению с таковыми показателями у крыс с ИМ без лечения; рис. 3). В дальнейшем выраженность ответной реакции крыс на нанесение болевого раздражения не различалась существенно в группах ложнооперированных животных и таковых с ИМ с введением Солкосерила в дозе 80 мг/кг.

После придания неудобной позы на спине крысы с ИМ через 1 час оставались без движе-

ния в таком положении в течение 580.7 ± 44.6 с, что в 58 раз превышало аналогичный показатель у ложнооперированных животных ($P < 0.001$; таблица 2). Солкосерил не влиял существенно на величину исследуемого показателя, поскольку крысы, которым его вводили в дозах 40 и 80 мг/кг, оставались в неудобном положении на спине в течение 490.5 ± 38.4 с и 390.8 ± 35.6 с, соответственно, что также существенно превышало соответствующий контрольный показатель ($P < 0.001$). Через 4 дня после воспроизведения ИМ у крыс с введенным Солкосерилом (80 мг/кг) величина исследуемого показателя была равна 165.1 ± 18.5 с, что в 3.7 раза было меньше соответствующего времени нахождения в неудобной позе крыс с ИМ без лечения ($P < 0.01$). При дальнейшем наблюдении (7-14 дни с момента воспроизведения ИМ) время нахождения в неудобной позе не различалось существенно с таковым в контрольных наблюдениях (таблица 2).

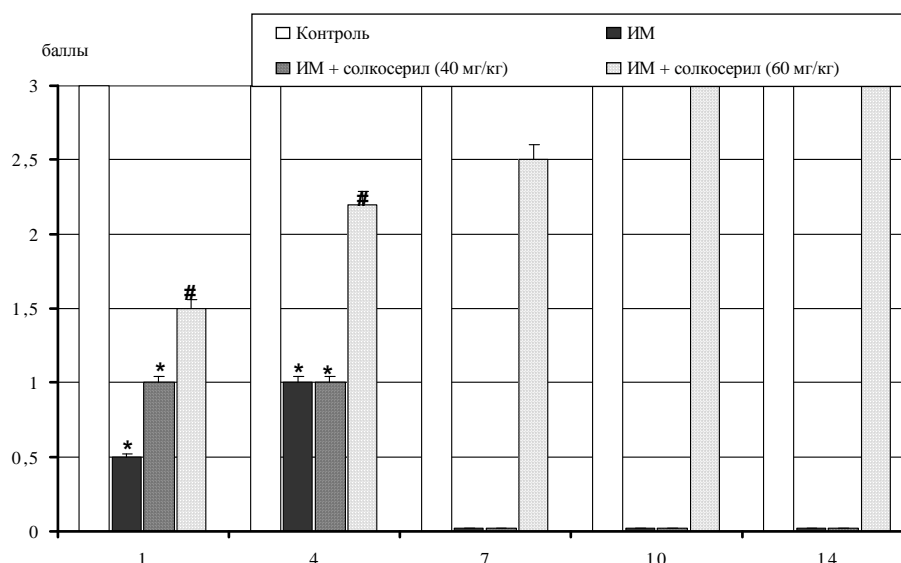


Рис. 3. Влияние Солкосерила на выраженность болевой реакции у крыс после ИМ

По оси ординат – выраженность ответной реакции на болевое раздражение, баллы

По оси абсцисс – дни с момента воспроизведения ИМ

Примечания: * - $P < 0,01$ – достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с такими в контрольных наблюдениях; # - $P < 0,05$, - достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с такими у крыс с ИМ без лечения (статистический критерий Крускал-Валис).

Таблица 2

Влияние Солкосерила на мышечную активность и на координацию движений крыс после ИМ

Группы животных	Время сохранения неудобной позы, с	Количество крыс, удержавшихся на двух горизонтальных перекладинах, %	Количество крыс, удержавшихся на вращающемся стержне, %
1 час после ИМ			
Контроль, n=8	10,2±1,0	88	75
ИМ, n=9	580,7±44,6***	0**	0**
ИМ + Солкосерил (40 мг/кг), n=13	490,5±38,4***	8**	0*
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=19	390,8±35,6***	63#	42#
4 день час после ИМ			
Контроль, n=8	2,1±0,2	100	100
ИМ, n=3	610,4±55,7***	33*	0**
ИМ + Солкосерил (40 мг/кг), n=5	540,7±43,8***	40*	25*
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=17	165,1±18,5##	71#	59##
7 день после ИМ			
Контроль, n=8	1,4±0,1	100	100
ИМ, n=1	635	0**	0**
ИМ + Солкосерил (40 мг/кг), n=2	577,1±49,7***	50*	0**
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=17	92,3±8,8##	88##	71##
10 день после ИМ			
Контроль, n=8	1,1±0,1	100	100
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=17	35,1±3,4	94	71
14 день после ИМ			
Контроль, n=8	1,1±0,1	100	100
ИМ + Солкосерил (80 мг/кг), n=14	27,2±4,2	93	86

Примечания: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,0001$ (критерии Крускал-Валис и АНОВА - при высчитывании времени сохранения неудобной позы) - достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с такими в контрольных наблюдениях.

- $P < 0,05$, ## - $P < 0,01$ (статистический критерий Крускал-Валис и АНОВА - при высчитывании времени сохранения неудобной позы) – достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с такими у крыс с ИМ без лечения.

Через 1 час ослабление мышечного тонуса отмечалось у 9 крыс из 9 (100%) с ИМ без лечения ($P < 0,01$ по сравнению с контрольными животными), у 12 крыс из 13 с введением Солкосерила (40 мг/кг; $P < 0,01$ по сравнению с контрольными животными) и у 13 из 19 крыс с введением Солкосерила (80 мг/кг; $P < 0,05$ по сравнению с крысами с ИМ без лечения; таблица 2). Через 4 дня после ИМ на двух горизонтально расположенных перекладинах удержались 1 крыса из 1-й группы, 2 – из 2-й и 12 – из 3-й (таблица 2). В дальнейших наблюдениях было зарегистрировано повышение мышечного тонуса у крыс с ИМ, которым вводили Солкосерил в максимальной дозе, что не различалось существенно с аналогичными контрольными показателями.

Нарушения координации движения отмечались у всех крыс с ИМ через 1 час после её воспроизведения (таблица 2). Солкосерил в максимальной дозе способствовал тому, что на вращающемся стержне (ротароде) в течение 120 с смогли удержаться 8 животных из 19 ($P < 0,05$). На 4 день исследования нарушение координации движения отмечались у 100% крыс 1-й группы, у 75% крыс 2-й группы и 41% крыс 3-й группы. В дальнейшем было зарегистрировано существенное ослабление нарушений координации движений под влиянием Солкосерила (80 мг/кг, таблица 2).

Таким образом, проведенные исследования показали, что течение ИМ у крыс сопровождается высокой летальностью, выраженным неврологическим дефицитом и моторными нарушениями, которые проявляются, прежде всего, мышечной слабостью, неспособностью принимать естественное положение и осуществлять синхронные координированные движения. Подобные «выпадения» функций были зарегистрированы и в исследованиях других авторов, что подтверждает адекватность использованной нами модели ИМ [10, 17].

Таким образом, в результате проведенных исследований показаны противоинсультные эффекты Солкосерила, которые были отчетливо выражены в предупреждении высокой летальности крыс, нормализации неврологического статуса и моторной активности животных. Полученные результаты, по нашему мнению, в дискуссионном аспекте следует разделить на три основные части.

Во-первых, показанные нейропротекторные свойства Солкосерила, согласуются с показанными его защитными эффектами в условиях травматического повреждения мозга [5, 6, 13]. При этом, следует заметить, что в настоящих исследованиях эффективной оказалось доза 80 мг/кг, в то время как в условиях экспериментальной черепно-мозговой травмы Солкосерил был эффективен в меньшей дозе. Препарат начинал оказывать защитные эффекты уже в течение первых суток с момента воспроизведения ИМ.

Во-вторых, Солкосерил нормализовал в основном неврологический дефицит и те моторные функции, для реализации которых достаточно активности срединных структур мозга и его подкорковых образований. Логичным будет предположить наличие нормализующего нейропротекторного влияния Солкосерила в условиях ИМ и на кору больших полушарий, однако, для подтверждения этого следует провести исследования, в частности, изучить влияние препарата на моторную активность в тесте «открытое поле», а также на выраженность когнитивных функций животных.

В третьих, интересным является вопрос о механизмах реализации нейропротекторных эффектов Солкосерила. В этом аспекте важно напомнить, что для данного препарата показаны его антиоксидантные эффекты, ускорение под его влиянием репаративных и регенерационных процессов в поврежденных тканях путем стимуляции пролиферации клеток и их миграции непосредственно в очаг поражения [1], а также облегчение утилизации кислорода и стимуляцию транспорта глюкозы клетками в условиях гипоксии и истощения метаболических ресурсов [12, 15, 21]. Учитывая сложный каскад патохимических реакций, лежащих в основе ишемического повреждения мозга, возможно предположить общее нормализующее действие Солкосерила, которое может лежать в основе реализации его нейропротекторных эффектов.

Важно, что нейропротекторные эффекты Солкосерила развивались в случае его раннего применения – в наших условиях – в течение 60 минут после воспроизведения экспериментальной ИМ.

Следовательно, по результатам проведенных исследований с использованием модели экспериментальной ИМ можно предположить целесообразность клинического тестирования эффектов Солкосерила в качестве составного компонента комплексной патогенетической терапии ишемического повреждения мозга.

Выводы

1. Ишемическое повреждение мозга у крыс сопровождается высокой летальностью, выраженным неврологическим дефицитом и моторными нарушениями, которые проявляются мышечной слабостью, неспособностью принимать естественное положение и осуществлять синхронные координированные движения.
2. Применение Солкосерила оказывает противоинсультное действие, что проявляется предупреждением летальности крыс, нормализацией неврологического статуса и моторной активности животных.
3. Солкосерил начинал оказывать защитные эффекты уже в течение первых 60-мин с момента воспроизведения ИМ.

Эффективной дозой препарата является 80 мг/кг.

4. Одним из механизмов реализации нейропротекторного эффекта Солкосерила в условиях экспериментальной ИМ является общее нормализующее действие Солкосерила.
5. Результаты экспериментального исследования эффективности Солкосерила в условиях ИМ у крыс позволяют предположить целесообразность клинического тестирования его эффектов в качестве составного компонента комплексной патогенетической терапии ишемического повреждения мозга.

Литература

1. Бульйон В.В. Циклоферон и солкосерил в лечении дуоденальных язв у крыс / В.В. Бульйон, Л.К. Хниченко, Н.С. Сапронов [и др.] // Эксп. клин. фармакол. - 2001. - Т.64, №6. - С. 41-44.
2. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. - М. : Высшая школа, 1991. - 400 с.
3. Віничук С.М. Гострий ішемічний інсульт / С.М. Віничук, М.М. Прокопів. - К. : Наукова думка, 2006. - 286 с.
4. Віничук С.М. Комплексна нейропротекція в гострий період ішемічного інсульту / С.М. Віничук, О.А. Пустова, В.О. Мохнач [та ін.] // Медицина неотложных состояний. - 2008. - №4. - С. 1-7.
5. Волохова Г.А. Влияние Солкосерила на вызванные черепно-мозговой травмой электрографические изменения и поведение крыс / Г.А. Волохова, А.Н. Стоянов // Межд. неврол. журн. - 2008. - №2 (18). - С. 51-57.
6. Волохова Г.А. К вопросу об экспериментальной разработке комплексной патогенетической терапии травматического повреждения мозга / Г.А. Волохова, А.Н. Стоянов // Патология. - 2008. - Т.5, №2. - С. 126.
7. Ганнушкина И.В. Функциональная ангиоархитектоника головного мозга / И.В. Ганнушкина. - М., 1977. - 119 с.
8. Горбачева Ф.Е. Лечение церебрального инсульта / Ф.Е. Горбачева // Рос. мед. журнал. - 2006. - №14. - С. 436-438.
9. Гусев Е.И. Проблема инсульта в России / Е.И. Гусев // Журн. неврол. психиат. (Прил. "Инсульт"). - 2003. - №9. - С. 3-7.
10. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. - М. : Медицина, 2001. - 328 с.
11. Гусев Е.И. Нейропротективная терапия ишемического инсульта / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. - М. : Атмосфера, 2002. - С.3-7.
12. Карович-Билинска А. Оценка показателей окислительного стресса в течение лечения беременных женщин с внутриутробной задержкой роста / А. Карович-Билинска, Дж. Сузин, П. Сирожевски // Med. Sci. Monit. - 2002. - Vol.8, N3. - P. 211-216.
13. Марусанов В.Е. Солкосерил в интенсивной терапии тяжелой черепно-мозговой травмы / В.Е. Марусанов, А.Г. Мирошниченко, С.А. Николау [и др.] // Вестн. хир. им. И.И.Грекова. - 2000. - Т.159, №3. - С. 37-39.
14. Никифоров А.С. Клиническая неврология. Учебник. В 3 томах. Т. II / А.С. Никифоров, А.Н. Коновалов, Е.И. Гусев. - М. : Медицина, 2002. - 792 с.
15. Руденко А.Ю. Солкосерил – новый препарат для патогенетического лечения пациентов с судорожными формами цереброваскулярной патологии / А.Ю. Руденко, Л.М. Башкирова // Лікарська справа. - 2003. - №7. - С. 110-113.
16. Скворцова В.И. Проблема инсульта в Российской Федерации / В.И. Скворцова, Л.В. Стаховская, Н.Ю. Айриян // Сердце. - 2005. - №6. - С. 309-311.
17. Скворцова В.И. Первичная профилактика инсульта / [В.И. Скворцова, И.Е. Чазова, Л.В. Стаховская, Н.А. Пряникова]. - М. : Медицина, 2006. - 352 с.
18. Слесарчук В.Ю. Нейропротекторні ефекти препаратів кверцетину при гострому порушенні мозкового кровообігу в експерименті / В.Ю. Слесарчук, В.И. Мамчур // Одеський медичний журнал. - 2008. - №4 (108). - С. 3-6.
19. Хугаева В.К. Нарушение мозгового кровотока при ишемии и его коррекция с помощью лей-энкефалина / В.К. Хугаева // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1991. - Т. 112, №8. - С. 117-120.
20. Черний В.И. Интенсивная терапия критических состояний, обусловленных мозговым инсультом / В.И. Черний, Т.Н. Калмыкова, Е.В. Черний [и др.] : Методические рекомендации. - Киев, 2006. - 57 с.
21. Akaiki A. Pharmacological and physiological properties of serofendic acid, a novel neuroprotective substance isolated from fetal calf serum / A. Akaiki, H. Katsuki, T. Kume // Life Sci. - 2003. - Vol. 74. - P. 263-269.
22. Capdeville C. Naloxone effect on the neurological deficit induced by forebrain ischemia in rats / C. Capdeville, D. PrunEAU, M. Allix [et al.] // Life Sci. - 1986. - Vol.38, N5. - P. 437-442.
23. Christensen D. Combined systemic administration of the glycine/NMDA receptor antagonist, (+)-HA966 and morphine attenuates pain-related behaviour in a rat model of trigeminal neuropathic pain / [D. Christensen, M. Gautron, G. Guilbaud, V. Kayser] // Pain. - 1999. - Vol.83. - P. 433-440.
24. Pohjasvaara T. Comparison of stroke feature and disability in daily life in patients with ischemic stroke aged 55 to 70 and 71 to 85 years / [T. Pohjasvaara, T. Erkinjuntti, R. Vataja, M. Kaste] // Stroke. - 1997. - Vol.28. - P. 729-735.
25. Myslobodsky M. Convulsant specific architecture of postictal behavioral syndrome in the rat / M. Myslobodsky, O. Kofman, M. Mintz // Epilepsia. - 1981. - Vol.27, N4. - P. 559-568.
26. Nagafuji T. Neurochemical correlates of selective neuronal loss following cerebral ischemia - role of decreased Na⁺, K⁺-ATPase activity / T. Nagafuji, T. Koide, M. Takato // Brain Res. - 1992. - Vol.571, N2. - P. 265-271.
27. Shandra A.A. Effects of delta-sleep-inducing peptide in cerebral ischemia in rats / A.A. Shandra, L.S. Godlevskii, A.I. Brusentsov [et al.] // Neurosci. Behav. Physiol. - 1998. - Vol. 28, N4. - P. 443-446.

Реферат

НЕЙРОПРОТЕКТОРНІ ЕФЕКТИ СОЛКОСЕРИЛА В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ В ЩУРІВ
Волохова Г.О., Стоянов О.М.

Ключові слова: ішемія мозку, інсульт, солкосерил, м'язцевий тонус, нейропротекція

Подані результати експериментальних досліджень, метою яких є з'ясування ефективності нейропротективної дії Солкосерила в умовах ішемічного інсульту, спричиненого двобічної перев'язкою загальних сонних артерій. Показано, що ішемічне ураження мозку в щурів супроводжується високою летальністю, вираженим неврологічним дефіцитом і моторними порушеннями, які проявляються м'язовою слабкістю, нездатністю приймати природне положення та здійснювати синхронні координовані рухи. Застосування Солкосерила при цьому спричиняє протиінсультну дію, що проявляється зменшенням летальності щурів, нормалізацією неврологічного статусу та моторної активності тварин. Результати даного експериментального дослідження дозволяють припустити доцільність клінічного тестування ефектів Солкосерила в якості складового компонента комплексної патогенетичної терапії ішемічного ураження мозку.

Summary

NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF SOLKOSERYL UNDER THE EXPERIMENTAL CEREBRAL ISCHEMIA IN RATS.

Volohova H.O., Stoyanov O.M.

Key words: cerebral ischemia, stroke, Solkoseryl, muscular tonus, neuroprotection.

The researches were aimed to study the effectiveness of Solkoseryl neuroprotection under the conditions of cerebral stroke caused by bilateral ligation of common carotid arteries. It has been demonstrated the cerebral ischemic lesion in rats is usually accompanied with high lethality, pronounced neurological deficiency and motor impairment followed with muscle atony, failure in taking normal posture and making synchronous and coordinated movements. The administration of Solkoseryl in this case produces anti-stroke effect that becomes apparent by decrease in rats' lethality, normalization of neurological status and motor activity in animals. The findings of the experiment enable to assume the expediency in clinical testing of the effects of Solkoseryl as a constituent in complex pathogenic therapy of cerebral ischemic lesion.

УДК: 616.36 – 004 – 099 – 036.12.00136

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ТРЬОХ МОДЕЛЕЙ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ, ЗУМОВЛЕНОГО ЇЇ ХРОНІЧНИМ ТОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ

Гаврилюк І.М., Гаврилюк О.М., Чикайло І.П., Нектегаєв І.О.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, м.Львів

У статті проаналізовано морфо-функціональні зміни при трьох моделях фіброзу печінки, зумовленого її хронічним токсичним ураженням. Встановлено, що для вивчення процесів фіброзу доцільно використовувати модель з інтрагастральним введенням тетрахлорметану два рази на тиждень впродовж 30 днів.

Ключові слова: фіброз печінки, тетрахлорметан, етанол

Вступ.

Фіброз печінки розвивається при більшості хронічних захворювань печінки і характеризується збільшенням кількості білків позаклітинного матриксу, зокрема колагену. Тривалий час фіброз розцінювався як пасивний і незворотній процес, що призводить до розвитку цирозу, печінково-клітинної недостатності і портальної гіпертензії. Останнім часом в літературі з'явилося багато даних, які свідчать про зворотність фібротичних змін у людей і лабораторних тварин [4, 8, 11]. Згідно з сучасними поглядами фіброз розглядають як модель загоєння при хронічному ураженні печінки [3]. Встановлення нових фактів стосовно можливості регресії фіброзу розширює перспективи фармакотерапевтичної корекції цього процесу і стимулює вчених до пошуку антифібротичних засобів.

Розробка нових антифібротичних препаратів передбачає застосування адекватних моделей фіброзу в лабораторних тварин. На сьогодні використовують різні моделі фіброзу, кожна з яких відображає специфічні механізми фіброгенезу в залежності від причини розвитку патології печінки. Фіброз, спричинений токсичним хронічним ураженням печінки, моделюють за допомогою повторного введення тетрахлорметану [1,12,14,16], диметилнітрозаміну [9], галактозаміну [15], тіоацетаміду [17] та етанолу [7]. Для відтворення фіброзу, зумовленого нагромадженням у печінці металів, тваринам вводять ні-

трилотриацетат заліза або міді [5]. Тривале застосування цих гепатотоксинів призводить до розвитку фіброзу, який може супроводжуватися асцитом, проліферацією жовчних проток та портальною гіпертензією. З метою моделювання фіброзу, спричиненого холестазом, здійснюють перев'язування загальної жовчної протоки [13]. При цьому розвиток фіброзу пов'язаний з нагромадженням жовчних кислот у печінці і характеризується проліферацією епітеліальних клітин жовчних проток. Фіброз можна викликати також шляхом інфікування шистосою [6]. Ця модель імітує шистосоматоз у людини, який є досить поширеним у світі і часто спричиняє фіброз. В цьому випадку розвивається імунна відповідь на яйця шистосом, які потрапили у портальні вени, що веде до розвитку перипортального фіброзу. Метіонін- або метіонін/холінодефіцитна дієта може використовуватися для моделювання неалкогольного стеатогепатиту [10]. Ця модель характеризується розвитком фіброзу, запаленням та збільшенням вмісту жирів у печінці. Останнім часом використовують також трансгенні моделі фіброзу пов'язані з посиленням експресії генів [19] або їх нокауту [20]. Всі перелічені моделі використовуються на гризунах і лише з певним обмеженням можуть застосовуватися для оцінки фіброгенезу в людей у зв'язку з міжвидовими відмінностями. Однак на даний час моделі in vivo залишаються незамінними при вивченні антифібротичних засобів, оскільки на відміну від експериментів in vitro вони дають мо-

* Дослідження виконане в рамках планової науково-дослідної роботи "Синтез фізіологічно активних речовин, похідних неконденсованих, конденсованих і макрогетероциклічних систем, вивчення їх фізико-хімічних властивостей та біологічної активності, дослідження різних видів рослин західного регіону з метою одержання нових складів та опрацювання сучасних методів фармацевтичного та хіміко-токсикологічного аналізу" (шифр теми ІН.10,06,0001,06, номер держреєстрації: 0106U012672).

жливість врахувати роль позаклітинного середовища, нервової системи та імунної відповіді в процесі фіброгенезу.

Мета дослідження полягала у проведенні порівняльного аналізу трьох експериментальних моделей хронічного токсичного ураження печінки з подальшим вибором найбільш адекватної моделі фіброзу печінки.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження були виконані на 24 статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г, яких утримували у віварії за стандартних умов розміщення, харчування та санітарно-гігієнічних норм. Тварини були поділені на чотири групи (по шість щурів у кожній). Першій групі тварин щодня вводили інтрагастрально тетрахлорметан у вигляді 20% олійного розчину по 0,2 мл/100 г маси тіла та 40% розчин етилового спирту з розрахунку 0,35 мл/100 г маси тіла впродовж 30 днів. Другій групі тварин вводили інтрагастрально тетрахлорметан у вигляді 20% олійного розчину в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла два рази на тиждень впродовж 30 днів. Обидві моделі були розроблені нами на основі аналізу даних літератури [1,12,14,16] і власних досліджень. Третій групі тварин впродовж перших 10 днів експерименту замість води давали пити 5% розчин етилового спирту, а наступних 30 днів – 15% розчин етилового спирту за методикою Дорошенка Е.М. [2]. Четверта група тварин – контрольна. Біологічний матеріал (кров та печінку) забирали на третю добу після останнього введення гепатотоксичної речовини шляхом декапітації на фоні ефірного наркозу.

З метою оцінки функціонального стану печінки

Активність ферментів сироватки крові при різних моделях хронічного ураження печінки в щурів

Групи тварин	АЛТ (од/л)	АСТ (од/л)	ЛФ (од/л)	ГГТП (од/л)
Контроль	155,0±30,1	171,6±24,5	275,1±49,6	39,8±17,4
Тетрахлорметан + етанол	260,4±39,2*	414,5±68,1*	704,9±21,7*	26,3±13,1
Тетрахлорметан	327,5±89,8*	359,9±79,9*	769,9±126,3*	38,2±18,7
Етанол	230,4±53,2*	290,7±46,1*	302,3±67,2	224,2±78,7*

Примітка* - вірогідна різниця в порівнянні з групою контролю $p < 0,01$

При порівнянні морфологічних проявів, виявлених в досліджуваних групах, ми зробили акцент на двох варіантах патологічних процесів – альтеративно-запальних змінах та загоєнні. Пошкодження та запальна інфільтрація свідчать про активність процесу та функціональні втрати і можуть корелювати з активністю ферментів си-

визначали вміст аспартатамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ), лужної фосфатази (ЛФ) та γ -глутамілтранспептидази (ГГТП) у сироватці крові тварин за допомогою біохімічного аналізатора BTS-370 (Іспанія).

Для визначення ступеня вираженості фіброзу було проведено морфологічне дослідження. Для цього тканина печінки фіксувалась у 10% розчині формаліну, після чого підлягала рутинній обробці. Основні гістологічні зміни досліджувались при забарвленні гематоксилін-еозином, для виявлення колагену застосовувався аніліновий синій (трихром Массона). Для достовірної оцінки фіброзу використовувалась модифікована напівкількісна шкала, запропонована Rivera С.А. (2001) [18]: 1 - розширення портальних трактів з поодинокими короткими, тонкими септами; 2 - множинні септи з поодинокими з'єднаннями між портальними трактами; 3 - множинні порто-портальні з'єднання з формуванням псевдочасточок; 4 - чітка нодулярність з втратою ознак тканинної організації (цироз). Інші морфологічні прояви (альтеративно-запальні зміни та регенерація) оцінювались за спрощеною схемою – незначно, помірно або значно виражені.

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Statistica, для порівняння вибірок використовували t-критерій Стюдента.

Результати та їх обговорення

Аналіз вмісту ферментів у сироватці крові дозволив виявити відмінності активності аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, лужної фосфатази та γ -глутамілтранспептидази у досліджуваних групах тварин.

роватки крові. Процеси загоєння – регенерація та склероз - дозволяють оцінити рівень реорганізації тканинної будови (необоротність змін) та частково швидкість прогресування захворювання. Основна увага приділялась ступеню вираженості фіброзу та ознак циротичної трансформації.

Ступінь вираженості основних морфологічних змін при різних моделях хронічного ураження печінки в щурів

Групи тварин	Альтеративно-запальні зміни	Регенерація	Фіброз
Контроль	-	-	-
Тетрахлорметан + етанол	Помірно виражені	Значно виражена	2 ст.
Тетрахлорметан	Значно виражені	Незначно виражена	3-4 ст.
Етанол	Незначно виражені	Незначно виражена	1 ст.

При ураженні печінки, зумовленому одночасним застосуванням тетрахлорметану і етилового спирту спостерігалось статистично достовірне підвищення активності АЛТ, АСТ та ЛФ. Активність ГГТП при цьому не змінювалась. При мік-

роскопічному дослідженні виявлялась нерівномірно виражена вакуольна дистрофія гепатоцитів (дрібні інтрацитоплазматичні вакуолі та формування великих мультилокулярних клітин); виражений анізонуклеоз, місцями глікогенізація

ядер; помірна кількість дрібновогнищевих некрозів із скупченням макрофагів, фігури апоптозу. Склероз був незначним – місцями розширення портальних трактів та поодинокі, короткі септи, в той час як регенераторна активність була вираженою – множинні 2- та/або 3-ядерні гепатоцити, велика кількість овальних клітин та проліфератів біліарного епітелію, збільшення кількості синусоїдних клітин.

Введення тетрахлорметану два рази на тиждень призводило до статистично достовірного збільшення активності АЛТ, АСТ та ЛФ і не відображалось на активності ГГТП. При гістологічному дослідженні спостерігався виражений поліморфізм гепатоцитів, дифузна вакуольна дистрофія (дрібно- та великовакуольна), множинні вогнищеві скупчення макрофагів на місці загиблих гепатоцитів, множинні фігури апоптозу. Ступінь фіброзу був значним, з формуванням множинних септ, які з'єднують портальні тракти, а місцями утворюють псевдокапсули. Циротична трансформація супроводжувалась незначною регенераторною активністю – овальні клітини практично відсутні, відмічаються вогнищеві проліферати біліарного епітелію.

При тривалому застосуванні етилового спирту зростала активність АЛТ, АСТ та ГГТП. На відміну від двох попередніх моделей із застосуванням тетрахлорметану, введення етанолу не спричиняло змін активності ЛФ. Гістологічне дослідження показало, частина гепатоцитів - з ознаками пілоподібного ожиріння та нерівномірним розподілом глікогену (збережений переважно у перипортальних ділянках, в той час як в центролобулярних відділах практично відсутній); поодинокі клітини з ознаками цитолізу або апоптозу. Нерівномірно виражений запальний інфільтрат виявлявся у розширених портальних трактах. Портальні тракти - нерівномірно розширені, з формуванням поодиноких коротких, тонких септ, які містять вогнищеві запальні інфільтрати. Регенераторна активність була незначною, спостерігалась нерівномірна гіперплазія синусоїдних клітин та невеликі групи овальних клітин в окремих септах.

Виявлені зміни дозволяють оцінити досліджувані моделі наступним чином: у I групі активність процесу була помірно вираженою, а загоєння відбувалось переважно за рахунок процесів регенерації; у II групі – активність, і особливо, пошкодження були значного ступеня вираженості, загоєння здійснювалось за рахунок вираженого фіброзу (стадія циротичної трансформації), в той час як регенераторна активність була незначною; в III групі ступінь пошкодження була незначною процесом загоєння - помірними з рівномірним розвитком склерозу та регенерації.

Висновки

1. Різні комбінації етіологічних факторів зумовлюють характерні варіанти ураження тканини печінки та наступного прогресування цих

змін.

2. Для вивчення процесів фіброзу доцільно використовувати модель із введенням тетрахлорметану у вигляді 20% олійного розчину в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла два рази на тиждень впродовж 30 днів, при якій була виявлена циротична трансформація печінки, що супроводжувалась значним ступенем альтеративно-запальних змін.

Література

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О.В. Стефанова - К.: Авіцена, 2001. - 528 с.
2. Дорошенко Е.М. Влияние смеси аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, таурина и триптофана на структуру печени и фонд свободных аминокислот у крыс при хронической алкогольной интоксикации и синдроме отмены алкоголя / Е.М.Дорошенко, Нефёдов Л.И., В.Ю.Смирнов [и др.] // Режим доступа : http://www.nil.grsu.by/docs/uchlit/stat_vesBPA.doc
3. Albanis E. Hepatic fibrosis. Pathogenesis and principles of therapy / E. Albanis, S.L. Friedman // Clin. Liver Dis. - 2001. - V.5. - P.315-334.
4. Bataller R. Liver fibrosis / R. Bataller // J. Clin. Invest. - 2005. - V.115. - P.209-218.
5. Carthew P. A unique rodent model for both the cardiotoxic and hepatotoxic effects of prolonged iron overload / P. Carthew, B.M. Dorman, R.E. Edwards [et al.] // Lab Invest - 1993. - V.69. - P.217-222.
6. Dunn M.A. Liver collagen synthesis in murine Schistosomiasis / M.A. Dunn, M. Rojkind, K.S. Warren [et al.] // J Clin Invest - 1977. - V.59. - P.666-674.
7. French S.W. Intragastric ethanol infusion model for cellular and molecular studies of alcoholic liver disease / S.W. French // J Biomed Sci - 2001. - V.8 - P.20-27.
8. Friedman S.L. Hepatic fibrosis 2006: report of the third AASLD single topic conference. S.L. Friedman., D.C.Rockey, D.M. Bissell // Hepatology - 2007. - V.45. - P.242-249.
9. George J. Dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats: The early deposition of collagen / J. George, K.R.Rao, R.Stern [et al.] // Toxicology - 2001. - V.8 - P.129-138.
10. George J. Lipid peroxidation, stellate cell activation and hepatic fibrogenesis in a rat model of chronic steatohepatitis / J. George, N. Pera, N.Phung [et al.] // J Hepatol - 2003. - V.39. - P.756-764.
11. Hammel P. Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct / P.Hammel // N. Engl. J. Med. - 2001. - V.344. - P.418-423.
12. Hernandez-Munoz R. Adenosine reverses a preestablished CCl4-induced micronodular cirrhosis through enhancing collagenolytic activity and stimulating hepatocyte cell proliferation in rats / R. Hernandez-Munoz, M. Diaz-Munoz, J.A.Suarez-Cuenca [et al.] // Hepatology - 2001. - V.34. - P.677-687.
13. Hinz S. Histological and biochemical changes induced by total bile duct ligation in the rat / S. Hinz, H.Franke, G. Machnik [et al.] // Exp Toxicol Pathol - 1997. - V.49. - P.281-288.
14. Hutterer F. Turnover of hepatic collagen in reversible and irreversible fibrosis / F. Hutterer, M. Eisenstadt, E. Rubin // Experientia - 1970. - V.26. - P.244-245.
15. Jonker A.M. Immunohistochemical study of hepatic fibrosis induced in rats by multiple galactosamine injections / A.M. Jonker, F.W. Dijkhuis, P.Moerkerk [et al.] // J Hepatology - 1994. - V.19. - P.775-781.
16. Leclercq I.A. Limited therapeutic efficacy of pioglitazone on progression of hepatic fibrosis in rats / I.A. Leclercq, C. Sempoux, P. Starkel [et al.] // Gut - 2006. - V. 55. - P.1020-1029;
17. Muller A. Thioacetamide-induced cirrhosis-like lesions in rats - Usefulness and reliability of this animal model / A .Muller, F. Machnik, T. Zimmerman [et al.] // Exp Pathol - 1988. - V.34. - P.229-236.

18. Rivera C.A. Attenuation of CCl₄-induced hepatic fibrosis by GdCl₃ treatment or dietary glycine / C.A. Rivera, B.U. Bradford, K.J. Hunt [et al.] // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol - 2001. - V.281. - P.G200-G207.
19. Ueberham E. Conditional tetracycline-regulated expression of TGF- α 1 in liver of transgenic mice leads to reversible intermediary fibrosis / E. Ueberham, R.Low, U. Ueberham [et al.] // Hepatology - 2003. - V.37. - P.1067-1078.
20. Xu Z. Liver-specific inactivation of the Nrf1 gene in adult mouse leads to nonalcoholic steatohepatitis and hepatic neoplasia / Z. Xu, L. Chen, L. Leung [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA - 2005. - V.102. - P.4120-4125.

Реферат

Сравнительный анализ трех моделей фиброза печени, вызванного ее хроническим токсическим поражением.

Гаврилюк И.М., Гаврилюк Е.М., Чикайло И.П., Нектегаев И.А.

Ключевые слова: фиброз печени, тетрахлорметан, этанол.

В статье проанализированы морфо-функциональные изменения, характерные для трех моделей фиброза печени, вызванного ее хроническим токсическим поражением. Установлено, что для изучения процессов фиброза целесообразно использовать модель с интрагастральным введением тетрахлорметана два раза в неделю в течение 30 дней.

Summary

COMPARATIVE ANALYSIS OF THREE MODELS OF HEPATIC FIBROSIS CAUSED BY CHRONIC TOXIC LIVER INJURY.

Havrylyuk I.M., Gavrylyuk O.M., Chikajlo I.P., Nectegajev I.O.

Key words: liver fibrosis, carbon tetrachloride, ethanol.

Morphological and biochemical changes in three models of hepatic fibrosis caused by chronic toxic liver injury have been analyzed. It has been established, that the model caused by administration of carbon tetrachloride intragastrically twice a week for 30 days is the best for investigation of liver fibrosis.

УДК 616.23-07.12

ВИКОРИСТАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ПРИ ВИКЛАДАННІ ПАТОЛОГІЧНОЇ ФІЗІОЛОГІЇ: ІСТОРІЯ ТА СЬОГОДЕННЯ

Гоженко А.І., Котюжинська С.Г.

Одеський державний медичний університет

Висвітлюється думка авторів щодо можливості та необхідності підвищення мотивації та об'єктивності використання експериментальних тварин під час проведення практичних занять з патологічної фізіології в рамках кредитно-модульної системи навчання і біоетичних норм.

Ключові слова: експериментальні тварини, біоетика, мотивація, об'єктивність.

Основні досягнення патофізіології як науки базуються на використанні у експериментальних дослідженнях лабораторних тварин. В той же час, навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології практично до кінця XX сторіччя в значній мірі також базувався на широкому використанні експериментів на тваринах. Тому, не дивно, що патофізіологія як наукова, так і навчальна дисципліна розглядалась виключно як експериментальна [1].

Експерименти на лекціях і практичних заняттях дозволяли демонструвати розвиток патології, її основні механізми та прояви. Треба зазначити, що у XIX сторіччі в ряді випадків навчальні експерименти дозволяли проводити навіть деякі наукові дослідження. Окрім того, ще однією причиною використання лабораторних тварин на практичних заняттях була можливість відпрацювання деяких навичок у студентів, які розглядалися як етап у підготовці до практичної лікарняної діяльності. Нарешті, експериментальне моделювання патології давало уявлення про історію вивчення патології і, головне, про основні наукові підходи до її наукового аналізу [2].

Ситуація почала поступово змінюватися наприкінці XX століття. По-перше, практично зникла можливість використання результатів експе-

риментального моделювання в навчальному процесі для наукових досліджень. Це пов'язано з тим, що в учбовому процесі використовувались класичні найпростіші давно вивчені моделі, а сучасний рівень наукових досліджень значно зріс, і створити необхідні умови для отримання нових даних на стандартних моделях з використанням найпростішого обладнання та ще у короткий час (0,5-1,5 години) просто неможливо [3].

По-друге, продемонструвати механізми етіології та патогенезу на сучасному рівні (молекулярному, фізіологічному, імунологічному та інше) практично не можливо, бо реальні умови навчального експерименту дозволяють демонструвати здебільшого зовнішні прояви патології.

По-третє, слід зазначити, що для сучасної підготовки лікарів розроблені та використовуються різні фантоми, які дозволяють відпрацьовувати ряд практичних навичок. При цьому, фантоми краще імітують якості організму людини, що часто відрізняються від характеристик тварин.

Усе вищенаведене у поєднанні з появою та розвитком біоетики закономірно поставило питання про доцільність використання експериментів на тваринах в навчальному процесі [4,5]. Як наслідок, на сьогодні в лекційному процесі при викладанні патологічної фізіології дослідни на

тваринах не використовуються. Крім вищенаведеного, слід відмітити, що зменшення кількості лекцій є ще одним з аргументів щодо скасування експериментів на лекціях.

Дещо складніша ситуація щодо використання тварин на практичних заняттях. Хоча реальна організаційна ситуація практично не дозволяє проводити заняття за класичним варіантом з експериментальним моделюванням, але більшість кафедр традиційно планують їх у методичних розробках, хоча і не виконують їх. При цьому спираються на „традиції”, „класику” таке інше. Все ж головною причиною є побоювання, що припинення виконання експериментів може призвести до скорочення навчального часу для практичних занять. Нам здається, що головною помилкою, яка має історичне коріння, є ототожнювання цілей практичних занять з проведенням експериментів. Між тим, головна їх мета – це відпрацьовування теоретичних знань на найбільш адекватному матеріалі, який дозволяє вивчити етіологію та патогенез захворювання людини. Треба остаточно перейти на сучасний рівень патофізіології і відпрацьовувати знання на реальному клінічному матеріалі: даних лабораторних, функціональних, морфологічних досліджень. Цей арсенал значно багатший, ніж навчальний експеримент. І, головне, він дозволяє відпрацьовувати теоретичні знання щодо патології людини, тобто формувати дійсно клінічні поняття та навички.

Однак ми вважаємо, що така принципова перебудова навчального процесу все ж залишає потребу у використанні даних експериментів. По-перше, необхідно ширше використовувати можливості сучасних методів візуалізації: відео-, теле- та комп'ютерної демонстрації. У цьому плані необхідна цільова програма по створенню

навчальних відеоматеріалів [6].

Нарешті, ми вже ставили питання, що доцільно мати практикум з експериментального моделювання хвороб як елективний курс для студентів та аспірантів. Вважаємо, що тим, хто буде займатися науковими дослідженнями доцільно, знати основні експериментальні моделі хвороб людини та способи їх вивчення. Але при цьому слід мати на ці експерименти погодження комісії з біоетики. Треба зазначити, що сьогодні планування науково-дослідних робіт не можливе без такого погодження, тоді як в навчальному процесі цьому не приділяється ніякої уваги, хоча етичні норми тут порушуються значно більше.

Загалом, точка зору авторів з використання лабораторних тварин в учбовому процесі не є варіантом індивідуального підходу, а фіксує лише реальну та нагальну необхідність перебудови навчального процесу у відповідності до можливостей та вимог сучасної вищої медичної школи.

Література

1. Подвысоций В.В. Основы общей патологии. – Санкт-Петербург, 1891. – 125 с.
2. Програма з патофізіології (для студентів медичних вузів). – Київ, 2006. – 67 с.
3. Теоретичні основи вдосконалення організації практичного заняття з патофізіології / Гоженко А.І., Котюжинська С.Г., Бабій В.П. та інш. // Медична освіта. – 2007. – №3. – С. 36-37.
4. Кундиев Ю.И. Биоэтика – веление времени // Лікування та діагностика. – 2000. - № 4. – С. 8-11.
5. Гоженко А.І. Біоетика та методологія викладання патологічної фізіології // Медична освіта. – 2002. - № 1. – С. 27-29.
6. Шляхи реформування викладання патологічної фізіології / Гоженко А.І., Свірський О.О., Коваленко Л.Г., Котюжинська С.Г., Бабій В.П., Кузьменко І.А. // Патологія. – 2008. – Т. 5, №3. – С. 74.

Реферат

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В ПРЕПОДАВАНИИ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИОЛОГИИ: ИСТОРИЯ И НАСТОЯЩЕЕ

Гоженко А.И., Котюжинская С.Г.

Ключевые слова: экспериментальные животные, биоэтика, мотивация, объективность.

Высказывается мнение авторов о возможности и необходимости повышения мотивации и объективности использования экспериментальных животных во время проведения занятий по патологической физиологии в рамках кредитно-модульной системы обучения и биоэтических норм.

Summary

THE USE OF EXPERIMENTAL ANIMALS IN TRAINING COURSE OF PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY: HISTORY AND NOVADAYS
Gozhenko, S. Kotyuzhinska

Key words: experimental animals, bioethics, motivated, objectivity.

The paper reflects the author's opinion on the possibility and necessity in increasing motivation and objectivity in experimental animals using during the training course of pathologic physiology in accordance to ECTS and bioethics norms.

УДК: 616-053.1-085.846-06:616.45-091]-092.9

ПРЕНАТАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ НОВОРОЖДЕННОГО И ВЗРОСЛОГО ПОТОМСТВА.

Губина-Вакулик Г.И., Денисенко С.А.

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков,

В эксперименте на крысах, пренатально испытанных воздействию низкоинтенсивного электромагнитного излучения (сантиметрового диапазона) изучены гистологические особенности и морфометрические показатели надпочечников в периоде новорожденности и в половозрелом возрасте. Установлено, что воздействие электромагнитного излучения в эмбриофетальный период оказывает стимулирующее влияние на внутриутробное формирование надпочечников, с сохранением повышенной морфофункциональной активности в последующем онтогенезе.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, надпочечники, крысы

В настоящее время широкое распространение на производстве и в быту приборов и оборудования – излучателей низкоинтенсивных электромагнитных волн увеличило значимость воздействия этого фактора на население. Считается доказанным, что электромагнитные поля обладают выраженным биологическим действием и могут вызывать существенные изменения в состоянии практически всех систем организма человека и других живых существ [3]. Особо высокую чувствительность к электромагнитным полям проявляют нервная, эндокринная и иммунная системы. Имеются единичные работы, свидетельствующие о неблагоприятном воздействии низкоинтенсивного ЭМИ на эмбриональное развитие (гибель куриных эмбрионов) [2]. Поэтому одним из актуальных вопросов является изучение пренатального влияния неблагоприятных факторов окружающей среды, к которым можно отнести такой фактор цивилизации как низкоинтенсивное электромагнитное излучение (ЭМИ) сантиметрового диапазона. Важное значение в поддержании гомеостаза и адаптации организма к внешним воздействиям имеют надпочечники.

Цель исследования

Изучить влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения сантиметрового диапазона, действующего на мать во время беременности, на морфофункциональное состояние надпочечников потомков в периоде новорожденности и в половозрелом возрасте.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проведен на потомках 3-х месячных крыс популяции Вистар периода новорожденности и молодого половозрелого возраста. Их матери (взрослые самки основной группы) подвергались воздействию низкоинтенсивного ЭМИ сантиметрового диапазона (1-10 см) с плотностью потока мощности до 3 мВт/см² ежедневно по 4 часа в течение 1 месяца до беременности и в течение всего периода беременности. Для облучения животных использовался излучатель в виде рупора прямоугольной формы с площадью основания 875 см² (излучатель высокочастотный генератор Г4-190-3/1, излу-

чающая антенна типа П-6-23А). Излучение энергии, выражаемое в плотности потока мощности в зоне, где находились экспериментальные животные, составляло менее 3 мВт/см² (уровень, не превышающий теплового эффекта) [5]. Матери животных контрольной группы ежедневно по 4 часа в сутки выдерживались в камере, соответствующей по размерам камере прибора. Полученное потомство выводилось из эксперимента в периоде новорожденности (1й день) и в трехмесячном возрасте путем декапитации под легким эфирным наркозом.

Исследования были проведены согласно национальных «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Украина, 2001), согласованных с положением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985).

Морфологическое исследование надпочечников проведено согласно стандартной методике: фиксирование в формалине, спиртовая проводка, заливка в парафин и изготовление срезов. Использовались окраски срезов гематоксилином-эозином, галлоцианом по Эйнарсону на нуклеиновые кислоты. Полученные гистологические препараты изучались с помощью микроскопа «Olympus BX-41» (Япония) и «Axiostar-plus» Zeiss (Германия), с последующей морфометрией (площадь ядер клеток) с помощью программы Olympus DP-Soft (version 3:1).

Результаты и обсуждения

В периоде новорожденности надпочечники крысят контрольной группы гистологически имеют структуру, сходную описанной в литературе [1]. В надпочечниках основной группы крысят, внутриутробно подвергавшихся воздействию низкоинтенсивного ЭМИ, имеются признаки усиления формирования клубочковой и пучковой зон коры, в отличие от контрольной группы в меньшем количестве наблюдаются мелкоядерные клетки. Большее количество клеток морфофункционально более активны. При проведении кариометрии ядра клеток дефинитивной зоны оказались достоверно более крупными (рис. 1).

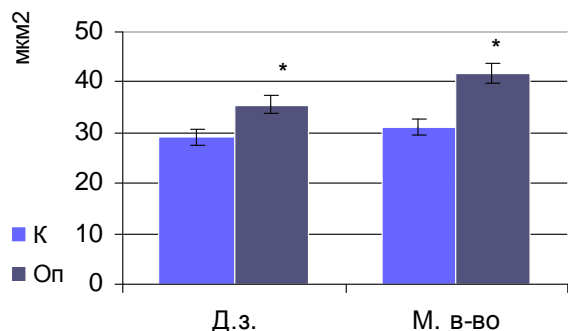


Рис. 1. Площадь ядер эндокриноцитов надпочечников новорожденных крысят ($\mu\text{м}^2$); Д. з. – дефинитивная зона; М. в-во – мозговое вещество.

Мозговое вещество надпочечников основной группы более объемно, представлено активно функционирующими клеткам, в отличие от контрольной группы не имеющими крупных вакуолей в цитоплазме, а активно работающими на синтез и инкрецию моноаминов. Встречаются клетки, имеющие ядра с маргинацией хроматина, что является признаком апоптоза. Также в мозговом веществе основной группы наблюдаются полнокровные синусоиды, что отсутствует у животных контрольной группы и косвенно свидетельствует об активном выведении секрета. Сравнительный карิโอметрический анализ показал достоверное увеличение площади ядер нейроэндокриноцитов мозгового вещества надпочечников у крысят основной группы по сравнению с контрольной группой (рис. 1).

Основываясь на полученных данных можно предположить, что надпочечники новорожденных крысят, внутриутробно перенесших влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения, более развиты, находятся на более высоком морфофункциональном уровне.

У трехмесячных крыс-потомков, также как в периоде новорожденности, сохранились отличия по сравнению с контрольной группой. Кроме того, обнаруженные половые отличия морфофункциональной активности пучковой зоны коры надпочечников у животных основной группы изменились по сравнению с таковыми в контрольной группе.

В основной группе подопытных животных, самцов и самок, пучковая зона коры надпочечников более многоклеточна, о чем свидетельствует достоверное увеличение количества ядер клеток в поле зрения (табл. 1). При окраске гематоксилином-эозином цитоплазма более эозинофильная, что свидетельствует об активной продукции кортикостероидов, и мало вакуолизирована (т.е. имеется мало запасов холестерина) по сравнению с контрольной группой (рис. 2, 3, 4). Клетки эндотелия выглядят набухшими, т.е. активно выводят секрет. Микроскопически можно наблюдать как у самцов, так и у самок, клетки с пикнотическим ядром, что предшествует цитолизу.

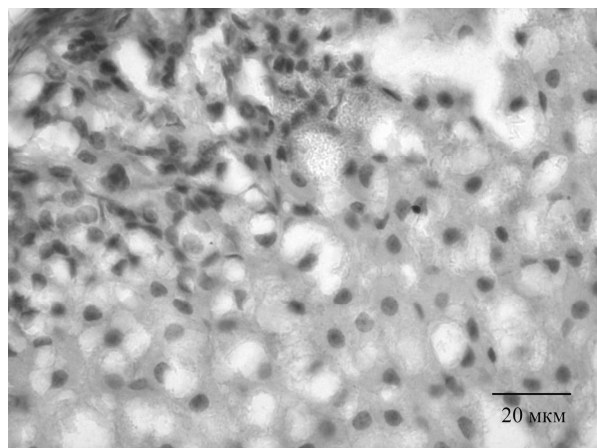


Рис. 2. Надпочечники трехмесячных крыс-потомков, пучковая зона (контрольная группа, самка). Ядра спонгиоцитов диффузногетерохромные, цитоплазма – преимущественно с прозрачными вакуолями. Окраска гематоксилином-эозином.

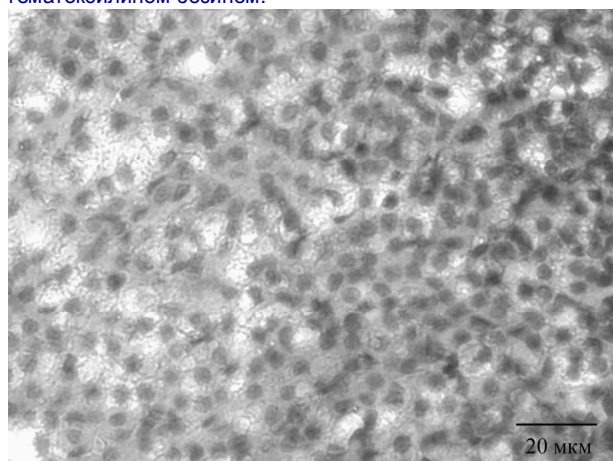


Рис. 3. Надпочечники трехмесячных крыс-потомков, пучковая зона (основная группа, самец). Увеличение размеров ядер, уменьшение вакуолей в цитоплазме, по сравнению с контрольной группой. Окраска гематоксилином-эозином.

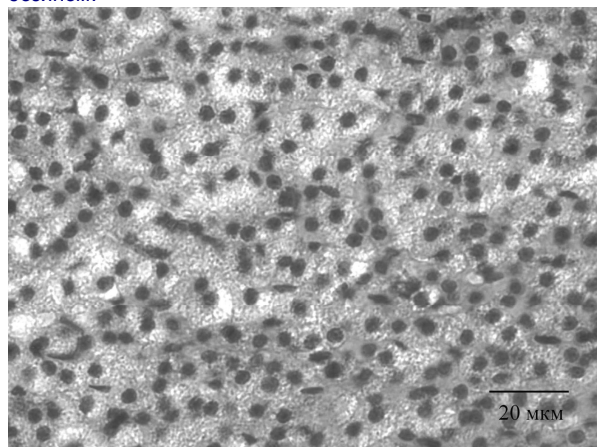


Рис. 4. Надпочечники трехмесячных крыс-потомков, пучковая зона (основная группа, самка). Мелкосетчатая цитоплазма свидетельствует о сниженных запасах холестерина. Окраска гематоксилином-эозином.

Таблиця 1

Морфометрические показатели клеточной популяции надпочечников трехмесячных крыс-потомков (пучковая зона), М±т

группы	Количество клеток в поле зрения, 1800 мкм ²		Площадь ядер клеток пучковой зоны надпочечников ^а	
	самцы	самки	самцы	самки
Контрольная группа	15,1±0,5, n=50	14,5±0,5, n=50	19,7±0,5, n=80	20,8±0,3, n=80
Основная группа	22,6±1,2*, n=50	24,0±1,1*, n=50	24,4±0,8*, n=50	18,1±0,3*, n=50

Примечания: 1) ^а – мкм²; 2) * р<0,001 – относительно контрольной группы.

У самцов в пучковой зоне коры надпочечников ядра спонгиозитов выглядят более крупными, светлыми с просматриваемым ядрышком, цитоплазма с мелкими прозрачными вакуолями (рис. 3). Встречаются клетки с маргинацией хроматина в ядре, что характерно для развивающегося апоптоза. Кариометрически выявлено достоверное увеличение площади ядер спонгиозитов у самцов основной группы по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

У самок ядра спонгиозитов овальной или слегка угловатой формы, эу- и гетерохромные (рис. 4). Во многих ядрах хорошо просматривается центрально или эксцентрично расположенные ядрышки, часто более крупного размера. Кариометрические измерения выявили достоверное уменьшение площади ядер спонгиозитов у самок основной группы по сравнению с контрольной (табл. 1).

Из микроскопической картины и результатов кариометрических измерений можно сделать вывод, что пучковая зона коры надпочечников у животных основной группы находится на более высоком морфофункциональном уровне по сравнению с контрольной группой животных. У самцов наблюдаются гиперпластические и ги-

пертрофические изменения, у самок - гиперпластические изменения. Морфологическая картина подтверждается данными биохимических исследований: у животных этой группы выявлен достоверно более высокий уровень кортикостерона в сыворотке крови, у самцов в большей степени, чем у самок (данные опубликованы ранее) [4].

В мозговом веществе надпочечников животных основной группы по сравнению с контрольной группой наблюдается уменьшение количества запасных клеток. Активно работающие клетки имеют крупное зухромное ядро, цитоплазма менее вакуолизирована, что свидетельствует об активном синтезе и секреции катехоламинов. Кариометрически выявлено достоверное увеличение площади ядер нейроэндокриноцитов у самцов и самок основной группы по сравнению с контролем (табл. 2), что совместно с результатами гистологических наблюдений трактуется как повышенная морфофункциональная активность мозгового вещества надпочечников у взрослых потомков, внутриутробно испытывавших воздействие низкоинтенсивного ЭМИ.

Таблиця 2

Морфометрические показатели клеточной популяции надпочечников трехмесячных крыс-потомков (мозговое вещество), М±т

группы	Площадь ядер клеток ^а	
	самцы	самки
Контрольная группа	17,5±0,9, n=50	17,9±0,5, n=50
Основная группа	20,9±0,8*, n=50	21,7±0,7*, n=50

Примечания: 1) ^а – мкм²; 2) * р<0,001 – относительно контрольной группы.

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что внутриутробное воздействие ЭМИ оказывает стимулирующее влияние на формирование надпочечников и развитие их в течение дальнейшего онтогенеза.

Из литературных данных известно, что в процессе адаптации к различным стрессорам повышаются функциональная мощность и эффективность стресс-организующих и стресс-лимитирующих систем. Это обусловлено формированием структурного следа в клетках указанных систем [6]. Потомки, внутриутробно испытывавшие воздействие низкоинтенсивного ЭМИ, как выявлено в настоящем исследовании имеют более мощную стресс-организующую систему (пучковую зону коры надпочечников, продуцирующую кортикостерон и мозговое вещество, специализирующееся на выработке адреналина и норадреналина). Однозначная трактовка значения гипертрофии и гиперплазии пучковой зоны коры и мозгового вещества надпочечников

затруднительна: или данные особи имеют повышенную готовность к стрессу (с возможной гиперреакцией), или будет формироваться более «экономная» ответная реакция на стресс. Исследование морфо-функциональных изменений надпочечников в стрессовой ситуации у животных, пренатально перенесших влияние ЭМИ, поможет ответить на этот вопрос.

Выводы

1. Пренатальное влияние низкоинтенсивного ЭМИ оказывает стимулирующее влияние на внутриутробное формирование надпочечников.
2. Повышенная морфофункциональная активность надпочечников сохраняется в последующем онтогенезе.
3. Повышение морфофункциональной активности изучаемой зоны коры надпочечников у особей мужского пола реализуется путем гиперпластических и гипертрофических процессов, а у самок в коре надпочечников только гиперпла-

стические изменения, что указывает на особенно существенную активацию продукции кортикостерона у животных мужского пола.

Литература

1. Волкова О.В. Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека. / О.В. Волкова, М.И. Пекарский – М.: Медицина, 1976. – 415 с.
2. Григорьев Ю.Г. Влияние электромагнитного поля сотового телефона на куриньи эмбрионы (к оценке опасности по критерию смертности) / Ю.Г. Григорьев // Рад. биол., Радиоэкология – 2003 - Т.43, №5. - С.541-543.
3. Григорьев Ю.Г. Отдаленные последствия биологического действия электромагнитных полей / Ю.Г. Григорьев //

Радиц. биол. Радиоэкол. – 2000. – Т.40, № 2. – С.217-225.

4. Денисенко С.А. Особенности эндокринного статуса потомков от матерей, находившихся под влиянием электромагнитного излучения / С.А. Денисенко, Г.І. Губина-Вакулик // Матер. наук.-практ. конф. „Фундаментальна та клінічна ендокринологія: проблеми здобутки, перспективи” (сьомі Данилевські читання), Харків. – 2008. – С.51-52.
5. Пресман А.С. Электромагнитные поля и живая природа. – М.: Наука, 1968. – 287 с.
6. Пшеничкова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 2001. - №4 - С.28-40.

Реферат

ПРЕНАТАЛЬНА ДІЯ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НАДНИРИКОВИХ ЗАЛОЗ НОВОНАРОДЖЕНИХ ТА ДОРОСЛИХ НАЩАДКІВ.

Губіна-Вакулик Г.І., Денисенко С.А.

Ключові слова: електромагнітне випромінювання, наднирикові залози, щури.

В експерименті на щурах, які пренатально зазнали впливу низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання (сантиметрового діапазону), вивчені гістологічні особливості та морфометричні показники наднирикових залоз в період новонародженості та статевої зрілості. Встановлено, що вплив електромагнітного випромінювання в ембріофетальний період призводить до стимулюючого ефекту на внутрішньоутробне формування наднирикових залоз, зі збереженням підвищеної морфофункційної активності в наступному онтогенезі.

Summary

PRENATAL ACTION OF LOW INTENSIVE ELECTROMAGNETIC WAVES ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF ADRENAL GLANDS AT THE NEWBORN AND ADULT POSTERITY

Gubina-Vakulik G.I., Denisenko S.A.

Keys words: electromagnetic wave, suprarenal glands, rats

Histological peculiarities and morphometric indexes of suprarenal glands at newborn and adult rats that prenatally had low intensive electromagnetic waves action were studied. The action of low intensive electromagnetic waves in the embryo fetal period stimulated influence on the intrauterine development of suprarenal glands. Increasing morphofunctional activity is saved in the further ontogenesis.

УДК 615.21. + 616 – 092.9

ЕКСПЕРИМЕНТИ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ЯК ПЕРЕДУМОВА ДЛЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ СТРЕСПРОТЕКТОРІВ

Дев'яткіна Т.О., Дев'яткіна Н.М.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Представлено огляд літератури, присвячений використанню лабораторних тварин у ході доклінічного дослідження стреспротективної активності фармакологічних препаратів. Показано, що дослідження in vivo є необхідними при вивченні стреспротекторів, оскільки стрес – це загальна неспецифічна реакція організму на будь-який подразник, що реалізується за участю центральної нервової та ендокринної систем. Проаналізовано вибір лабораторних тварин, моделі експериментальної патології, дозування та шляхи введення препаратів, а також біоетичні питання, що стосуються даної проблеми.

Ключові слова: стрес, стреспротектори, доклінічні дослідження, лабораторні тварини, біоетика.

Стрес визначають як неспецифічний компонент фізіологічних і патологічних реакцій, що характеризують стан напруження, міру активації систем гомеостазу [27]. Це сукупність неспецифічних біохімічних, фізіологічних та психологічних реакцій організму, що виникає у відповідь на вплив надзвичайного подразника [22]. Стрес завжди супроводжує гіпокінезію, асептичне запалення, травму, оперативне втручання [16, 17, 34].

Стрес – це адаптаційна реакція, котра за певних умов може стати ланкою патогенезу багатьох захворювань, які пов'язані з порушеннями нейро-гуморальної регуляції та імунітету [28].

Навіть пренатально перенесений і ранній постнатальний стрес у майбутньому негативно позначається на стресостійкості організму і соціальній поведінці [21, 36].

Підсилення опірності до стресу може бути досягнуте за допомогою адаптації або за допомогою фармакопрофілактики [20]. Оскільки стрес часто є непередбачуваним, велике значення має не тільки профілактика стрес-синдрому, а й лікування, спрямоване на зменшення негативних наслідків впливу стресорних факторів.

Лікарські препарати для профілактики стресу і зменшення його негативних наслідків поділяють на три групи: 1. стреспротектори (послаблюють

вплив стресорів на організм); 2. адаптогени (підвищують опірність організму, самі є помірними, контрольованими стимулами); 3. симптоматичні засоби (забезпечують підтримання і відновлення окремих систем організму) [3]. Це означає, що для усунення ушкоджуючої дії стресорів застосовують фармакологічні засоби, які обмежують активацію стресореалізуючих і підсилюють стреслімітуючі системи організму [3].

З метою профілактики і лікування негативних наслідків стресу в експерименті й клініці найчастіше застосовують анкіолітики [23]. Нині вони є одними з основних препаратів, які використовують для корекції стрес-синдрому в людини при оперативних втручаннях, бойовому стресі, соціально стресових ситуаціях [5, 23]. Теоретичне підґрунтя застосування бенздіазепінів становлять дані щодо стресорних порушень у функціонуванні ГАМК-бенздіазепін-рецепторного комплексу [23]. Численні дослідження, присвячені фармакодинаміці бенздіазепінів за умов стресу, демонструють їх високу анкіолітичну активність, але адаптація в даному разі носить пасивний характер, є нетривалою [5, 23].

Одними з найвідоміших антистресорних засобів лишаються адаптогени, до числа яких належать препарати з рослин сімейства Аралієвих. Антистресорна дія цих засобів, що була свого часу детально описана І.І.Брехманом та І.В.Дардимовим, представлена й в сучасних публікаціях [7].

До числа антистресорних засобів, котрі підвищують психофізіологічну стійкість, але зберігають дієздатність організму, належать ноотропні препарати [3, 9]. Інтенсивно вивчаються антистресорні ефекти нейропептидів і їхніх синтетичних аналогів [3, 5].

Протягом останніх десятиліть велика кількість експериментальних і клінічних досліджень присвячена стреспротективним властивостям природних і синтетичних антиоксидантів [19, 25]. Експериментально обґрунтовано, що терапія стрес-синдрому в стадії довгострокової адаптації і виснаження, коли має місце субкомпенсація і декомпенсація антиоксидантного захисту, повинна включати прямі і непрямі антиоксиданти [25].

Як бачимо, існує чимало лікарських засобів зі стреспротективними властивостями, але значна різноманітність стресорних ситуацій та певні недоліки кожного з відомих препаратів вимагають пошуку нових стреспротекторів [3, 15].

Доклінічні дослідження зазначених засобів не можливі без дослідів на лабораторних тваринах. Це визначається, насамперед, характером патологічного фону (стрес-синдрому), який закономірно розвивається за участю центральної нервової та ендокринної систем [20, 23]. В даному разі досліді *in vitro* не здатні виявити наявність стреспротективної дії. На етапі

скринінгу вона може бути встановлена лише за наявності зменшення виявів тріади Сельє та змін поведінкових реакцій тварин [3, 15, 20].

Основна маса досліджень виконується на білих щурах (безпородних або лінії Вістар) та білих мишах. Вибір цих видів лабораторних тварин відображає їх високу чутливість до подразнюючих факторів [15]. Водночас зазначені види мають відносно короткий життєвий цикл, що дозволяє за невеликий проміжок часу простежити закономірності процесів, які тривають в організмі людини протягом тривалого періоду [10]. Поряд з цим, при роботі з мишами та щурами існує можливість використання достатньо великої кількості однорідних тварин, що властиво для фармакологічного експерименту [8].

Для визначення впливу стресорів на окремі системи та регуляторні ланки проводять експерименти на спеціальних лініях щурів та мишей [8]. Зокрема, на щурах Август, які характеризуються підвищеною агресивністю та гіпертензивною реакцією на стрес [31].

Відомо, що реакція тварин на вплив стресорів і ефективність його фармакокорекції має вікові особливості [26, 30], тому, здебільшого, експерименти виконують на статевозрілих тваринах. Зокрема, використовують білих щурів масою 200-300г, що відповідає оптимальному віковому рівню розвитку тварин (молоді та зрілі репродуктивні) [10].

Щоб запобігти коливанням гормонального фону, піддослідні тварини мають бути однієї статі. Такий підхід визначається також тим, що існує залежність між опірністю до стресу і статтю, пов'язана з експресією рецепторів та синтезом нейропептидів у головному мозку [32, 33].

При проведенні дослідів на тваринах з метою вивчення стресу і його фармакологічної корекції беруть до уваги циркадні ритми, з яких особливо важливими є ритми симпатико-адреналової та гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової систем, котрі визначають перебіг стрес-синдрому [2].

Під час доклінічного дослідження стреспротекторів частіше за все моделюють соматичний стрес, при якому подразник безпосередньо впливає на організм, тобто на аферентні рецептори [8]. Використовують різні моделі стресу, які відрізняються характером подразника, його силою й часом впливу. Особливо часто відтворюють класичні моделі стресу, для яких добре відома тривалість стадій загального адаптаційного синдрому, зокрема модель нервово-м'язового напруження за Сельє [6] та емоційно-больовий стрес [29].

Крім зазначених моделей стресу, відповідно до завдань експерименту застосовують і чимало інших. Перелік та класифікація цих моделей наведені в монографії Л.Т. Киричок [15]. В основу класифікації покладено характер впливу, яким виступає тривожність, ноціцепція, фізичне навантаження, іммобілізація, порушення окисно-відновного балансу, депривація води та їжі,

фізичні фактори, зоосоціальний конфлікт.

Тривожність відтворюють шляхом занурення тварин у воду, водної імерсії, перебування на платформі в оточенні води, в норковій камері, хрестоподібному лабіринті [13]. Ноціцепція (больовий стрес) моделюється, частіше за все, за рахунок подразнення електричним струмом [9, 29, 35]. Для відтворення стресогенного впливу фізичного навантаження застосовують плавання, біг на тредбані, обертання в центрифугі [18]. Імобілізаційний стрес відтворюють шляхом фіксації тварин на спині, обмеження рухів у клітках-пеналах [6, 16, 18]. Оксидативний стрес, зумовлений порушенням оксидантно-прооксидантної рівноваги, моделюють, вміщуючи піддослідних тварин у барокамеру за умов підвищеного тиску кисню (гіпероксія) або зниженого атмосферного тиску (гіпоксія) [11, 14]. Прикладом нутритивного стресу може бути дегідратація, зумовлена 50% обмеженням води [15]. Як стресори фізичної природи використовують перегрівання, переохолодження, опромінення, тощо [1, 12, 35].

Експериментальне відтворення стресу є патологічним фоном для виявлення стреспротективної дії нових та вже відомих фармакологічних препаратів. Засоби застосовують у середній ефективній дозі, апробованій в інших дослідженнях, або в середній терапевтичній дозі, перерахованій для тварини відповідного виду [8]. При цьому враховують видову чутливість біооб'єкту і те, що доза неспецифічної дії (в даному разі – антистресорної) більша, ніж доза специфічної дії [15].

В більшості випадків застосовують інтраперитонеальний або пероральний шляхи введення препарату, але прийнятні й інші шляхи, оскільки на етапі доклінічного дослідження важливо досягти максимально вираженого впливу на стресорні порушення в організмі [8, 15].

Для виявлення профілактичного ефекту препарат вводять до початку дії стресору, для визначення лікувальної дії – безпосередньо після закінчення стресорного впливу [8].

При відтворенні стресу в фармакологічних дослідженнях завжди постають питання біоетичного характеру, оскільки стресорний агент – це подразник, що, впливаючи на чутливі нервові закінчення, спричиняє біль, і негативні емоції. Однак класичні та інші валідовані моделі стресу не доводять інтенсивність і тривалість зазначеного впливу до рівня, що викликає страждання [4]. Поводження з лабораторними тваринами до експерименту, під час дослідів та виведення їх із наукового експерименту здійснюються за принципами біоетики і повинні відповідати умовам гуманного ставлення до тварин [4].

Таким чином, доклінічне дослідження стреспротекторів лишається одним із актуаль-

них питань експериментальної фармакології. Його реалізація не можлива без дослідів на лабораторних тваринах, в яких відтворюють стрес як реакцію за участю центральної нервової та ендокринної систем на подразник, та вивчають профілактичну та лікувальну дію потенціальних стреспротекторів.

Література

1. Авакян А.Р., Лазарев А.И., Прокопенко Л.Т. Иммуномодулирующее действие лизоцима при остром холодовом стрессе // Антибиотики и химиотерапия. – 2002. – Т.47, №2. – С.3-6.
2. Арушанян Э.Б. Хронотропная активность лекарств // Эксперим. и клин. фармакол. – 2002. – Т.65, №1. – С.75-76.
3. Важничая Е.М., Девяткина Т.А. Ноотропы и система крови в условиях стресса – Полтава: Полімет, 2002. – 160с.
4. Важничая О.М., Денисенко М.В., Денисенко С.В. Біоетичні засади наукового та навчального експерименту в фармакології // Фармакологія 2006 – крок в майбутнє: Тез. доп. III Нац. з'їзду фармакологів. – Одеса, 2006. – С.52
5. Воронина Т.А. Перспективы развития современных анксиолитиков // Матер. III съезда фармакологов России: Ж. психофармакол. и биол. наркология. – 2007. – Т.7, спец. вып., ч.1. – С.1645.
6. Горизонтов П.Д., Белоусова О.М., Федорова М.И. Стресс и система крови. – М.: Медицина, 1983. – 240с.
7. Додина Л.Г., Агамова Е.Е. Эффективность антиоксидантов и адаптогенов в повышении защитных реакций организма при воздействии факторов производственной и окружающей среды // Мед. труда и пром. экол. – 2000. – №2. – С.28-31.
8. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / Під ред. О.В. Стефанова. – К., 2001. – С.457-471.
9. Дрикер М.Б., Ларионов Л.П., Осипчук Д.О. Стресспротективное действие ноотропных препаратов их комбинаций с феназепамом // Матер. III съезда фармакологов России: Ж. психофармакол. и биол. наркология. – 2007. – Т.7, спец. вып., ч.1. – С.1678-1679.
10. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте. – К.: Вища школа, 1983. – 376с.
11. Зарубина И.В. Метаболические эффекты трекрезана при адаптации крыс к импульсной гипоксической гипоксии // Матер. III съезда фармакологов России: Ж. психофармакол. и биол. наркология. – 2007. – Т.7, спец. вып., ч.1. – С.1699-1700.
12. Звягінцева Т.В. Моделювання місцевих променевих пошкоджень шкіри // Фізіол. журн. – 1998. – Т.44, №56. – С.106-112.
13. Калугин А.В. Стресс, тревожность и поведение (Актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных). – К., 1998. – 126с.
14. Кептя Э.Б., Гончар В.И., Бачинский Н.Г. Влияние адреноблокаторов на кислотно-основное состояние и электролитный баланс при кислородном отравлении // Матер. III съезда фармакологов России: Ж. психофармакол. и биол. наркология. – 2007. – Т.7, спец. вып., ч.1. – С.1722-1723.
15. Киричек Л.Т. Стресспротекторы в эксперименте и в клинике. – Харьков: ИПП «Контраст», 2008. – 304с.
16. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. – М.: Медицина, 1980. – 310с.
17. Малышев В.В., Васильева Л.С., Кузьменко В.В. Взаимосвязь воспаления и стресса – общепатологическая закономерность, определяющая принцип оптимизации воспалительного процесса // Усп. совр. биологии. – 1997. – Т.117, вып.4. – С.405-41.
18. Міщенко І.В. Еферентна роль різних органів і тканин в регуляції гуморальних захисно-приспосувальних систем (антиоксидантної, гемостазу і фібринолізу) в нормі та патології / Автореф... дис. док. мед. наук. – Харків, 2005. – 36с.

19. Перепелица А.В., Горбач Т.В., Киричек Л.Т. Сравнительная активность современных антиоксидантов в условиях экспериментального хирургического стресса // Медицина сегодня и завтра. – 2005. – №4. – С.30-33.
20. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии (продолжение) // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 2001. – Вып.4. – С.28-39.
21. Резніков О.Г., Носенко Н.Д. Перинатальна стресова модифікація реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи // Фізiol. журн. – 2000. – Т.46, № 2. – С.146-148
22. Селье Г. Стресс без дистресса: Пер. с англ. – М.: Прогресс, 1979. – 84с.
23. Середенин С.Б. Эмоциональный стресс и психофармакология/ Фармакотерапия в неврологии и психиатрии // VIII Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство»: Лекции для практикующих врачей. – М., 2002. – С.35-53.
24. Шерман Д.М. Роль болевого синдрома в патогенезе шока // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – №1. – С.112-115.
25. Январева И.Н., Коваленко Р.И., Молчанова А.А. Активация антиоксидантной системы как фактор повышения резистентности организма при комбинированной адаптации // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2001. – Т.87, №10. – С.1382-1392.
26. Bizon J.L. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and corticosterone receptor expression in behaviorally characterized young and aged Long-Evans rats / J.L. Bizon, K.A. Helm, J.S. Han et al. // Eur. J. Neurosci. – 2001. – Vol.14, №10. – P.1739-1751.
27. Cox T. Stress. – L.: Macmillan press, 1978. – 213p.
28. Derevenco P. Immunity and stress // Rom. J. Physiol. – 1997. – Vol.34, №1-4. – P.83-93.
29. Desiderato O., MacKinnon N.L., Hissom G. Development of gastric ulcers in rats following stress termination // J. Compar. Physiol. Psych. – 1974. – Vol.87, № 2. – P.208-214.
30. Koehl M., Lemaire V., Le Moal M., Abrous D.N. Age-dependent effect of prenatal stress on hippocampal cell proliferation in female rats // Eur J. Neurosci. – 2009. – Vol.29, №3. – P.635-640.
31. López-Aumatell R. The Roman High- and Low-Avoidance rat strains differ in fear-potentiated startle and classical aversive conditioning / R. López-Aumatell, G. Blázquez, L. Gil et al. // Psicothema. – 2009. – Vol.21, №1. – P.27-32.
32. Makara G.B. Gender-specific regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and the role of vasopressin during the neonatal period / G.B. Makara, A.Domokos, Z. Mergl et al. // Ann N Y Acad Sci. – 2008. – Vol.1148. – P.439-445.
33. Ueyama T. Catecholamines and estrogen are involved in the pathogenesis of emotional stress-induced acute heart attack / T. Ueyama, K. Kasamatsu, T. Hano et al. // Ann N Y Acad Sci. – 2008. – Vol.1148. – P.479-485.
34. Uzunkoy A., Coskun A., Akinci O.F. Systemic stress responses after laparoscopic or open hernia repair // Surgeon. – 2000. – Vol.166, № 6. – P.467-471.
35. Vierck C.J., Green M., Yezierski R.P. Pain as a stressor: Effects of prior nociceptive stimulation on escape responding of rats to thermal stimulation.// Eur J. Pain. – 2009. – № 2. – P.65-72.
36. Weinstock M. Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis? // Neurosci. Biobehav. Rev. – 1997. – Vol.21, № 1. – P.1-10.

Реферат

ЭКСПЕРИМЕНТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ КАК ПРЕДПОСЫЛКА ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ СТРЕССПРОТЕКТОРОВ

Девяткина Т.А., Девяткина Н.Н.

Ключевые слова: стресс, стресспротекторы, доклинические исследования, лабораторные животные, биоэтика.

Представлен обзор литературы, посвященный использованию лабораторных животных в ходе доклинического исследования стресспротективной активности фармакологических препаратов. Показано, что опыты *in vivo* являются необходимыми при изучении стресспротекторов, поскольку стресс - это общая неспецифичная реакция организма на любой раздражитель, которая реализуется при участии центральной нервной и эндокринной систем. Проанализирован выбор лабораторных животных, модели экспериментальной патологии, дозирование и пути введения препаратов, а также биоэтические вопросы, которые касаются данной проблемы.

Summary

EXPERIMENTS WITH THE USE OF LABORATORY ANIMALS AS PRE-CONDITION FOR CREATION OF NEW STRESS-PROTECTORS

Devyatkina T.A., Devyatkina N.N.

Key words: stress, stress-protectors, preclinical researches, laboratory animals, bioethics.

The literary review devoted to the use of laboratory animals during preclinical research of stress-protective activity of pharmacological preparations, is presented. It has been shown the experiments *in vivo* are necessary at the study of stress-protectors, as stress is the general unspecific reaction of the organism on any irritants, which will be realized with participation of central nervous and endocrine systems. The choice of laboratory animals, models of experimental pathology, dosage and routs of drug administration as well as bioethics questions concerning this problem have been analyzed.

УДК 636.4:612

БІОЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Денисенко С.В., Денисенко М.В. Передера С.Б.

Вищий державний навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія" м. Полтава
Полтавська державна аграрна академія м. Полтава, Україна

Моральним обов'язком експериментатора є досягнення відтворювальних результатів дослідження із використанням мінімальної кількості лабораторних тварин. Відтворення патофізіологічних процесів на тваринах при умові одержання нових наукових даних, що сприятиме поліпшенню здоров'я людини й тварин, збереження навколишнього середовища.

Ключові слова: спільні хвороби, тварини, експеримент, біотична експертиза, патогенез.

Життя людини з початку її розвитку поєднано з тваринами. Ми настільки з ними пов'язуємо своє життя, що без цього симбіозу себе не уявляємо. Навколо нас птахи, бджоли, комахи, свійські та дикі тварини. При захворюваннях тварин наше спілкування з ними продовжується, і це не залежить від нас. І не обов'язково, щоб людина працювала з тваринами, вона спілкується з ними через природні ресурси, продукти харчування.[1] Ще в 15-му сторіччі було зафіксовано, що тварини розповсюджують хвороби, спільні для людини та тварин, а також можуть бути джерелом інфекції. Тому на захист населення від хвороб, спільних для людей та тварин, залучили лікарів системи охорони здоров'я та лікарів ветеринарної медицини. Провідні вчені розробили заходи щодо попередження розповсюдження інфекції, заходи щодо їх ліквідації, та здійснення взаємного обміну інформацією [9].

Насамперед, це контроль за охороною території України від занесення з території інших країн збудників інфекційних хвороб тварин з сировиною, продуктами тваринного походження, кормами, а також з тваринами та птицею. Для утримання тварин, щоб вони були здоровими, потрібно, як і людині, якісне харчування, проведення своєчасного щеплення, проведення планової лабораторної діагностики для виявлення гельмінтів та інших паразитів, а також необхідно проводити заходи зі збереження навколишнього середовища у відповідному стані [12].

При виникненні хвороб серед людей і тварин потрібні якісні ліки для їх лікування. Механізм дії лікарських засобів попередньо вивчається на лабораторних тваринах [4]. Патогенез захворювань, що виникають у людей і тварини, ідентичний, їх більше 250. Сучасний рівень науки та техніки експерименту на тваринах дозволяє звести до мінімуму небажаний вплив дослідів на лабораторних тварин за рахунок моделювання експериментів та дотримування принципів біоетики [5].

Загальноприйнятим стандартом став принцип трьох "R"-скорочення від англійських термінів "rebinement" (поліпшення), "reduction" (скорочення), "replacement" (заміна) [10]. Він полягає в наступному:

- поліпшення і гуманізація поводження з тваринами під час підготовки і проведення експерименту;
- скорочення кількості використання тварин;

- заміна високоорганізованих тварин низькоорганізованими або використання альтернативних методів, включаючи методи математичного моделювання.

Загальні етичні вимоги до використання лабораторних тварин у медичних і біологічних експериментах в Україні розроблені робочою групою під керівництвом член кор. НАН і АМН України О.Г. Резнікова і ухвалені Першим національним конгресом з біоетики (2001 р.). Ці принципи розроблено у відповідності до основних положень біоетики та біоетичної експертизи, в інтересах захисту людини і всього біологічного різноманіття світу. Вони узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей" (Страсбург, Франція, 1985).

Загальні положення цього документу наступні:

1. Біологічні та медичні експерименти на тваринах можуть проводитись лише у тих випадках, коли вони спрямовані на одержання нових наукових знань, сприяють поліпшенню здоров'я людини і тварин, збереженню живої природи, є вкрай необхідними для якісного навчання і підготовки фахівців, проведення судово-медичної та кримінальної експертизи, не становлять загрози для здоров'я людини.
2. Експерименти на тваринах виправдані тоді, коли є достатні підстави сподіватись, що їхні результати суттєво сприятимуть досягненню хоча б одного із зазначених вище вимог. Неприпустимо використовувати тварин з дослідницькими та навчальними цілями, якщо ця мета може бути досягнена іншими шляхами, без використання тварин.
3. Слід уникати буквального дублювання вже раніше здійснених досліджень на тваринах, якщо вони не зумовлені доцільністю проведення експериментальних перевірок результатів дослідів.
4. Вибір виду тварин, їх кількості, методика досліджень має бути ретельно обґрунтована до початку експериментів і схвалена уповноваженою особою чи органом біотичної експертизи.
5. Тварини для експериментів повинні надходити з сертифікованого джерела їх розведення. Використання бездомних

- тварин суперечить принципам біоетики та методу аналогів.
6. Визначаючи здатність тварин відчувати страждання і пам'ятати про них, при проведенні експериментів необхідно дотримуватися гуманності, уникати дистресу, болю, спричинення тваринам тривалої шкоди здоров'ю і полегшувати їхні страждання. Необхідно прагнути до максимального скорочення числа тварин і там, де це можливо, використовувати альтернативні методи, які не потребують їх участі.
 7. Експериментальні роботи на тваринах повинен проводити кваліфікований дослідник (експериментатор), дотримуючись правил біоетики. Використання тварин у навчальному процесі проводиться під наглядом фахівця-викладача.
 8. Лабораторії, наукові та навчальні заклади і організації, де проводяться експерименти на тваринах, підлягають відповідній атестації повноважними органами. Зокрема, перевіряється відповідність стандартам "належної лабораторної практики", що є міжнародною вимогою до проведення медико-біологічних та інших експериментальних досліджень.

Зокрема, спеціальна комісія Державного фармакологічного центру МОЗ України проводить перевірку і атестацію лабораторій та віваріїв, де здійснюються доклінічні дослідження лікарських засобів, надає їм конкретні рекомендації з біоетики [1].



Велику увагу слід приділяти і проблемам роботи з лабораторними тваринами: стандартизації кормів, умов утримання і відтворення тварин, якості віваріїв і питомиків з урахуванням дотримання ветеринарно-санітарних вимог, організації роботи експериментально-біологічних клінік і біоетичного контролю за проведенням дослідів з лабораторними тваринами. У вирішенні вказаних проблем важлива роль належить питанням підготовки кадрів, формуванню юридичної й наукової відповідальності за раціональність використання лабораторних тварин в експериментальних дослідженнях, в тому числі в області онкології та цукрового діабету, етиці ро-

боти з тваринами, а також аспектам анестезії, генетичному моніторингу і контролю здоров'я, роботі з гнотобіотиками і трансгенними тваринами. Етика роботи з експериментальними тваринами вимагає також уваги до проблеми благополуччя здоров'я тварин в плані їх страждань і пошкоджень, полегшення болю, який відчувають лабораторні тварини в експерименті, зняття стресових впливів на організм тварин, а також харчування лабораторних тварин як потенційно впливаючому фактору [3].

На Першому Національному конгресі з біоетики (вересень 2001 рік, м. Київ) Трахтенберг І.М., Резніков О.Г. відзначили пріоритетність значущості розробки альтернативних методів в практиці проведення медико-біологічних досліджень. Особливо підкреслювалася необхідність розширення арсеналу тих з них, де виявляється певна кореляція між результатами цих методів і підсумками дослідів на теплокровних тваринах. Проте подібна кореляція відмічається далеко не завжди [12].

На сучасному етапі головну роль в експериментальній фізіології, біохімії, генетиці, фармакології, токсикології й інших областях медицини приділяють проведенню дослідів на тваринах [11]. Необхідно по можливості обмежити їх за рахунок альтернативних методів – дослідів на безхребетних, за допомогою культури тканин, *in vitro* і т.д. – веління часу, пов'язане з гуманним ставленням до тварин у тому числі й самих учених. Тут виникає проблема встановлення біоетичних критеріїв наукової доцільності постановки експерименту на тваринах. Адже у принципі, коли експеримент залишається «єдиним допустимим методом», наприклад, вивчення механізму виникнення хвороби, особливостей її патологічних процесів, можливостей застосування нових лікарських засобів, випробування нових хімічних сполучень, впроваджуваних в сучасне виробництво і сферу побуту, то розраховувати на альтернативні методи в такій ситуації не можливо. Тим більше, коли інтереси фізичного і психічного здоров'я суспільства вимагають задовольнити ще й наукову потребу дослідників у фундаментальних і прикладних дослідженнях з використанням тварин для постановки експерименту з метою отримання достовірних результатів. Зрозуміло, у кожному конкретному випадку доцільність або навіть безумовна необхідність дослідів на тваринах повинна бути строго аргументованою. Тут доречно звернути увагу на наступне загальне міркування, яке в даній проблемі носить принциповий характер. Суть його в тому, що коли суспільство прагне добробуту і належного рівня науково-технічного прогресу, здорового побуту, гігієнічних умов праці, раціонального харчування, то серед ресурсів, що їх забезпечують, далеко не останнє місце займає продовольча сировина і продукти тваринного походження. Останні просто необхідні для біологічного існування лю-

дини, яка із стародавніх часів і до наших днів харчується м'ясом тварин. Тому і той, хто приніс експериментальних тварин на жертвний алтар науки в ім'я збереження здоров'я і благополуччя людини не повинен зустрічати морального за судження [6].

1. Моральним обов'язком експериментатора є досягнення відтворюваних результатів дослідження із використанням мінімальної кількості тварин. Для цього використовують стандартизованих тварин, математичні методи планування експерименту та обробки одержаних даних, комп'ютерні та математичні моделі, досліди *in vitro* на мікроорганізмах, тканинних та клітинних культурах ті інші альтернативні методи. У навчальному процесі важливе місце посідають діючі моделі та імітуючі пристрої, макетування, використання аудіо- та відеоматеріалів.
2. Як правило, перевагу надають інбредним тваринам, стандартизованими за генетичними та мікробними показниками, умовами утримання і харчування. Але слід враховувати, екстраполяцію одержано таким шляхом, що дані на інші лінії тварин не завжди можливо перенести, і тоді виникає необхідність повторювання експериментів на інших лініях.
3. Особи та організації, які розводять тварин для експериментальної та навчальної роботи, підлягають відповідній атестації уповноваженими органами.
4. Дані про джерело одержання для експерименту тварин та їхня біологічна характеристика мають бути документально зафіксовані експериментатором. Особливо це стосується собак і котів та їхніх батьків.

Утримання та догляд за тваринами

1. Гуманне ставлення до піддослідних тварин повинно проявлятися на всіх етапах роботи з ними: транспортування, маркування, розміщення, проведення та закінчення експерименту, включаючи евтаназію.
2. Умови розміщення, утримання тварин та навколишнього середовища мають забезпечувати хоча б мінімальну свободу рухів, достатню кількість якісної їжі, води, повітря. Належний санітарно-гігієнічний стан є запорукою збереження їхнього здоров'я та благополуччя.
3. Умови, в яких здійснюються розмноження, утримання та використання тварин, повинні перевірятися щоденно.
4. Стан здоров'я та поведінка тварин повинні бути об'єктами уважної та частої перевірки, щоб попередити біль, дистрес, страждання або звести до можливого мінімуму в тих випадках, коли неможливо їх уникнути.
5. Спеціальні заходи профілактики повинні вживатися у випадках, коли тварини є джерелом

потенційної небезпеки для обслуговуючого персоналу, експериментатора та інших людей, для інших тварин, а також навколишнього середовища.

6. Приміщення, де утримуються, використовуються експериментальні тварини, а також їх обладнання повинні відповідати зазначеним вище вимогам.

7. Для організації та контролю за здійсненням належного догляду за тваринами призначається адміністративно відповідальна особа (особи).

8. Догляд за тваринами здійснює персонал, який обізнаний зі зазначеними вимогами та який має досвід відповідної роботи.

9. У разі необхідності тваринам повинна надаватися кваліфікована ветеринарно-медична допомога.

10. Умови утримання тварин та догляду за ними повинні бути доступні для перевірки повноважними органами та особами, а також громадськими організаціями захисту тварин та іншими об'єднаннями громадян у межах чинного законодавства.



Проведення експериментів

1. Вибір технології експериментів на тваринах проводиться таким чином, що перевага надається методам, які потребують мінімальної кількості тварин, якнайменше спричиняють біль, страждання, дискомфорт або тривалі негативні наслідки для здоров'я тварин, а також не створюють безпосередньої загрози для здоров'я експериментатора, технічного персоналу, інших людей, тварин та навколишнього середовища. Експериментальний метод обирається з урахуванням можливості одержання достовірних результатів.
2. Виходячи з принципу гуманного поводження з лабораторними тваринами, експериментатор і технічний персонал морально зобов'язанні під час проведення експерименту звести до мінімуму можливу шкоду для тварин, яка зазначена у попередньому параграфі, особливо при проведенні хірургічних операцій.
3. З метою виконання цих вимог необхідно застосовувати загальний наркоз, загальне чи міс-

цеве знеболювання, за винятком тих випадків, коли це є несумісним із цілями експерименту (моделювання травми, шоківих станів, опікової хвороби та інше). У такому випадку експериментатор зобов'язаний зробити відповідне письмове повідомлення (окремою заявою або в тексті наукового проекту) і одержати схвалення уповноваженого органу з біотичної експертизи.

4. Якщо після закінчення експерименту відповідальною особою прийнято рішення піддослідну тварину залишити живою, необхідно прийняти всі можливі заходи щодо якнайшвидшого відновлення її здоров'я та благополуччя: повернення до належних умов утримання та догляду.

5. Не можна повторно використовувати тварину, яка вже була в експерименті, що супроводжувався болем чи стражданням, незалежно від застосування наркозу чи знеболювання, до відновлення задовільного стану здоров'я. Винятками є повторні експерименти, в яких тварина постійно буде знаходитись під загальним наркозом аж до її знеживлення, або такі, що пов'язанні з мінімальним втручанням у здоров'я і благополуччя тварини.

6. Особливої уваги потребують наукові дослідження на собаках і котах. Ці тварини настільки близькі до життя людини, що віддавати їх на досліді аморально. Вони розуміють мову, інтонацію голосу, погляд, рухи людини, але не можуть відповісти. Тому, на нашу думку, потрібен закон, що забороняє проводити негуманні дослідження на котах та собаках.



Знеживлення тварин

1. Рішення про знеживлення тварини приймається експериментатором на етапі планування експерименту або наприкінці його виконання при виникненні несподіваних обставин, що є несумісним із життям тварини чи завдадуть в подальшому тривалого болю, дистресу або шкоди її здоров'ю. В останньому випадку доцільно одержати консультацію лікаря ветеринарної медицини.

2. Знеживлення тварин повинно здійснюватись гуманним методом, тобто із спричиненням їй мі-

німального фізичного та емоційного страждання у відповідності до виду тварини, шляхом передозування наркозного препарату (ЗУ № 3446-IV від 21.02.2006 р., м. Київ "Про захист тварин від жорстокого поводження").

Доступ до інформації

1. Результати наукових досліджень на тваринах підлягають документуванню та оприлюдненню. Відповідна інформація є відкритою, за винятком тих випадків, коли вона не може бути розголошена в інтересах державної, патентної, судової чи комерційної таємниці та охорони інтелектуальної власності.

2. Форма оприлюднення згаданої інформації має бути доступною для фахівців та громадськості.

Відповідальність за порушення норм біоетики

1. У питаннях використання тварин для наукових та навчальних цілей експериментатор керується моральною відповідальністю перед суспільством та тваринним світом.

2. Неприпустимо проведення експериментів на тваринах, що можуть завдати їм болю, дистресу чи шкоди здоров'ю, з метою одержання особистої користі.

3. Дії експериментатора, що стосуються поводження з тваринами, не повинні суперечити нормам біоетики і законодавчим актам України та визнаним державою документам міжнародних організацій.

4. Адміністрація закладів, де поводяться експерименти на тваринах, особи, що проводять їх, організовують та здійснюють догляд за тваринами, несуть відповідальність за правильну організацію, проведення і поточний контроль наукової, експертної роботи або навчального процесу згідно з діючими регламентними документами, що стосуються біоетики та біотичної експертизи.

До глобальних світових досягнень науково-технічного прогресу належить система Надійної Лабораторної Практики (Good Laboratory Practice– GLP). Міжнародне поширення GLP, яка запроваджує уніфікацію умов, що охоплюють практично всі етапи експерименту, та сприяє суттєвому зростанню рівня організації досліджень, метою яких є обґрунтування безпечності біомедичних розробок, що пропонуються до широкого використання, безумовно, є значною подією в історії доклінічної практики створення лікарських засобів [8].

Дотримання біоетичних принципів стосується всіх напрямків вивчення матеріалу дисциплін медичного, ветеринарного та біологічного профілю [7]. Впровадження Болонського принципу навчання в Україні підвищує знання нашого студента, заохочує досягнення європейського рівня.

Таким чином, слідуючи новим біоетичним

принципам у відношенні до використання лабораторних тварин в експерименті та навчальному процесі необхідно впроваджувати нові сучасні альтернативні технології ставлення дослідів для розробки нових заходів лікування і підготовки нового покоління лікарів і науковців [2].

Література

1. Витте П.Н. Биоэтическая оценка баланса индивидуального риска в эпидемиологических исследованиях. //Перший національний конгрес з біоетики. – К., С.131.
2. Вітенко І.С. Особливості викладання біоетики студентам вищих навчальних закладів України. //III національний конгрес з біоетики. – С.193.
3. Западнюк І.П., Западнюк В.І., Захарія Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные./ Разведение, содержание, использование в эксперименте. – К.: Вища школа, 1983. – 383с.
4. Кайдашев І.П., Денисенко М.В. Влияние пептидного биорегулятора вермилата на эмбрио- и фитогенез у лабораторных животных. //Вестник проблем современной медицины. – Полтава-Харьков, 1997. - № 10 – С. 138 - 143
5. Кайдашев І.П., Цебржинский О.І. Вплив на показники вуглеводного обміну у лабораторних тварин. //Збірник "Фі-

зіологія та патологія імунітету, гемостазу та перекисного окислення ліпідів". – Полтава, 1997. – С. 6.

6. Капюжный Л.В. Физиологические механизмы регуляции болевой чувствительности. – М.: Медицина, 1984. – 214 с.
7. Кундієв Ю., Кисельов М., Біоетика: витоки, стан, перспективи//Вісник НАН України. – 1999. - №8. – С.6-12.
8. Лещинский А.Ф., Зуза З.И. Пелоидо- и фармакотерапия при воспалительных заболеваниях.– К.: Здоров'я, 1985. – 184 с.
9. Мелихов О.Г. Этические комитеты и клинические испытания лекарственных средств// Клин.фармакол. и фармакотерапия. – 1997.-Т.6, №3.
10. Резніков О.Г. Проблеми етики при проведенні експериментальних медичних та біологічних досліджень на тваринах України. Перший національний конгрес з біоетики. Тези доповідей. – Київ, 2001. – С. 10.
11. Стефанов А.В., Мальцев В.И. Этические принципы проведения клинических исследований лекарственных средств. //Перший національний конгрес з біоетики. Тези доповідей. – Київ, 2001. – С.37.
12. Трахтенберг І.М., Резніков А.Г. Альтернативные методы и принципы научной целесообразности в медико-биологических исследованиях. Перший національний конгрес з біоетики. Тези доповідей. Київ, 2001. – С.38.

Реферат

БИОЭТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Денисенко С.В., Денисенко М.В., Передера С.Б.

Ключевые слова: общие заболевания, животные, эксперимент, биоэтическая экспертиза, патогенез.

Моральным правом экспериментатора является достижение сопоставимых результатов исследования при использовании минимального количества животных. Отображение патофизиологических процессов на животных для получения научных данных будет способствовать улучшению здоровья человека и животных, сохранению окружающей среды.

Summary

BIOETHICS FEATURES OF THE USE OF LABORATORY ANIMALS ARE IN AN EXPERIMENT

Denisenko S.V., Denisenko M.V., Peredera S.B.

Key words: general illnesses, animals, experiment, bioethics, pathogenesis

The moral duty of an experimenter is to achieve comparable results of researches by using the minimal number of laboratory animals. Modelling of physiopathological processes on animals in order obtain new findings will contribute to the improvement of health in human beings and animals, and the maintenance of environment.

УДК 616.716.4-003.93:615.916'175

ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НІТРАТОМ НАТРІЮ НА РЕПАРАТИВНУ РЕГЕНЕРАЦІЮ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ

Должкова К.П.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Надмірне надходження нітрату натрію до організму білих щурів призводить до уповільнення формування зональності кісткового регенерату, супроводжується зменшенням у ньому частки кісткової тканини і стромально-судинного компонента у місці відтворення перелому нижньої щелепи.

Ключові слова: травматизм, нижня щелепа, нітрат натрію, репаративна регенерація, експериментальні дослідження.

Проблема травматизму щелепно-лицевої ділянки є однією з найбільш актуальних. У більшості випадків пошкодження кісток лицевого скелету виникають в результаті побутової травми, часто під час бійки. В останні роки значно збільшився транспортний та вуличний травматизм. Переважає щелепно-лицевий травматизм, особливо побутовий, у весняно-осінній період з великою кількістю святкових днів.

Одним із факторів, які впливають на регенерацію кісткової тканини, є вплив різних токсичних речовин, у тому числі нітратної інтоксикації.

Невогнепальні переломи нижньої щелепи складають від 85 до 90 % усіх переломів кісток лицевого скелету. Така частота уражень нижньої щелепи обумовлена її особливостями, більш виступаючим положенням відносно інших кісток лицевого скелету. Переломи нижньої щелепи виникають внаслідок надмірного її перегину, стиснення, рідше обриву (Шаргородський А.Г., 2004).

Відомо, що оксид азоту (NO) стимулює утворення кістки, але інгібує її регенерацію *in vitro* (Jamal SA, 2004). Значне підвищення рівня кінцевого продукту оксиду азоту нітриту натрію в крові відмічали у хворих із тяжкими травмами (П.П.Голиков, А.П.Голиков, 1999). Оксид азоту бере участь у зростанні кісток, в дослідженнях, проведених в університеті Нового Південного Уельсу в Австралії, виявлено підвищення рівня NO до максимальних концентрацій в ділянці перелому на 15 день після його відтворення (Аббас Хутаб, 2008).

Таким чином, значне погіршення екологічної ситуації, вплив на організм людини та тварин нітратів, відсутність даних щодо механізмів репаративної регенерації кісток (зокрема нижньої щелепи) під час хронічної інтоксикації нітратом натрію зумовлює актуальність експериментального дослідження у даному напрямку.

Значне підвищення антропогенного впливу на довкілля за останній час призвело до появи нової екологічної та медико-біологічної проблеми, пов'язаної з підвищенням вмісту нітратів та нітритів в організмі людини (Опополь Н.И., Добрянская Е.В., 1986; Соколов О.А., 1990; Гоженко А.И. др., 1996; Горішна О.В., 2002; Levallois P. et al., 2000; Mensinga T.T. et al., 2003).

Проблема надмірного надходження в організм

нітратів торкається різноманітних боків життя людини. Сільськогосподарські культури та продукція переважно мають надмірний вміст нітратів. Головною причиною негативних наслідків є не тільки нітрати, але й їх метаболіти нітрити, які, при взаємодії з гемоглобіном, утворюють метгемоглобін, який не здатний взаємодіяти з киснем. Чутливість до нітратів підвищують усі фактори, які викликають кисневе голодування: наявність у повітрі оксидів азоту, чадного газу, вуглекислоти, використання спиртних напоїв.

Мета роботи – встановити особливості репаративного остеогенезу при переломах нижньої щелепи на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію.

Матеріали і методи дослідження

Експерименти виконані на 85 білих щурах лінії Вістар масою 130-160 г. Тварин утримували в умовах акредитованого віварію згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)».

Хронічну інтоксикацію нітратом натрію відтворювали шляхом введення нітрату натрію у дозі 200 мг/кг маси тіла у вигляді водного розчину інтрагастрально за допомогою спеціального зонду щоденно протягом 60 діб.

Перелом нижньої щелепи відтворювали в місці загальноприйнятому для експериментальних досліджень (Moos K.F. et al., 2002). Операцію закінчували накладанням кісткового шву в ділянці перелому. М'які тканини не ушивали для контролю дренажа в перші часи після операції, у подальшому м'які тканини закривалися спонтанно протягом 1-2 діб після операції. Взяття матеріалу проводили на 14, 21 та 28 добу після операції відтворення перелому нижньої щелепи із наступним остеосинтезом методом кісткового шва. Щурів декапітували під ефірним наркозом.

Результати досліджень

Для контрольної групи тварин характерно, що регенерати кісткового мозолу на 14 добу являли собою легко кровоточиві при доторканні м'якотканинні утворення рожевого кольору з еластичною консистенцією, розташовані проміж нормальної кісткової тканини. Гістологічно тканина регенерату на 14 добу експерименту складається із пучків колагенових волокон із розташуванням

малодиференційованих клітин та значної кількості капілярних судин. На 28 добу експерименту макроскопічно місце перелому було заповнено тканиною блідо-рожевого кольору, що дещо підвищувалася над рівнем оточуючої кістки та була зрощена з нею. Регенерат був представлений осередками ендохондрального остеогенезу, утворенням скелетогенних клітинних елементів – остеобластів та трабекул, які направлені вздовж основних колагенових пучків, присутня грубоволокниста кісткова тканина у вигляді кісткових балок.

У експериментальній групі тварин макроскопічно ділянка перелому на 14 добу після його відтворення була представлена структурою білуватого кольору, щільної консистенції і повністю закривала діастаз попередньої ділянки травми. Мікроскопічно тканина регенерату була представлена свіжою грануляційною тканиною. Остеокластична резорбція поєднувалася із незначною проліферацією сполучнотканинних та остеогенних елементів. На 28 добу експеримента щільна тканина регенерату являла собою типову фіброзно-кістковий мозоль, з явищами дефігурації, по краях ділянки травми кісткова тканина знаходилась у стані активного ремоделювання. Макроскопічно в ділянці відтвореного перелому присутній змішаний конгломерат сполучної волокнистої, хрящової та кісткової тканини. Колагенові волокна розташовувалися безладно та переривалися. Кісткові балки досягали не більше 65-70% розмірів кісткових балок, характерних для того ж строку експерименту контрольних тварин.

Проведене дослідження доводить, що хронічна нітратна інтоксикація може порушувати характер репаративної регенерації кісткової тканини нижньої щелепи після відтворення експериментального перелому нижньої щелепи. Патогенез таких порушень, безумовно, має комплексний характер, включаючи в себе токсичну дію на ендотелій судин, остеобласти та остеокласти, обумовлюючи структурну перебудову кісткової тканини з переважанням дифузного компенсованого остеопорозу.

Реферат

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НИТРАТОМ НАТРИЯ НА РЕПАРАТИВНУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ.

Должкова Е.П.

Ключевые слова: травматизм, нижняя челюсть, нитрат натрия, репаративная регенерация, экспериментальные исследования.

Чрезмерное поступление нитрата натрия в организм белых крыс приводит к замедлению формирования зональности костного регенерата, сопровождается уменьшением в нем доли костной ткани и стромально-сосудистого компонента в месте воспроизведения перелома нижней челюсти.

Summary

THE INFLUENCE OF A CHRONICAL INTOXICATION OF SODIUM NITRATE ON MANDIBULAR REGENERATION.

Dolzhkovaya E.P.

Key words: traumatism, mandible, sodium nitrate, regeneration, experimental research.

The surplus income of sodium nitrate to the organism of rats results to the slow bone regeneration and is accompanied by the decrease a part of bone tissue and stroma-vessellar component in place of reproduction of the mandibular fracture.

Висновки

1. Репаративна регенерація кісткової тканини нижньої щелепи в місці відтворення перелому нижньої щелепи на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію характеризується відносно тривалою присутністю осередків сполучнотканинного та хондрального заміщення, затримане формування зональності кісткового регенерата.
2. Формування остеорегенерата при відтворенні перелому нижньої щелепи при надмірному надходженні нітрату натрію до організму супроводжується зменшенням частки кісткової тканини і стромально-судинного компоненту.
2. Формування остеорегенерата при надмірному надходженні нітрату натрію до організму супроводжується зменшенням частки кісткової тканини і стромально-судинного компоненту.

Література

1. Тимофеев А. А. Руководство по челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии / Тимофеев А.А. [4-е изд. перераб. и доп]. - К. - СОО «Красная Рута - Туре», 2004. - 1062 с.
2. Голиков П.П. Роль оксида азота в патологии / Голиков П.П., Голиков А.П. // Топ Медицина. - 1999. - №5. - С. 35-38.
3. Опополь Н.И. Нитраты: гигиенические аспекты проблемы / Опополь Н.И., Добрянская Е.В. - Кишинев: Штиица, 1986. - 115 с.
4. Гоженко А.И. Причины и механизмы интоксикации нитратами и нитритами / Гоженко А.И., Доренский В.С., Рудина Е.И. и др. // Медицина труда и пром. экология. - 1996. - №4. - С. 15-21.
5. Горішна О.В. Нітратно-нітритне забруднення продуктів харчування: Методи, які сприяють його зниженню / Горішна О.В. // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. - 2002. - Т.2, №1. - С.6-8.
6. Gross S.S. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms / Gross S.S., Wolin M.S. // Ann. Rev. Physiol. - 1995. - V.57. - P.737-740.
7. Нагорнов М.Н. Основные модели, используемые при изучении процесса «заживления» перелома / Нагорнов М.Н., Ломыга П.А., Баринев Е.Х. // Альманах судебной медицины. - 2001. - №2. - С.64-66
8. Бармин В.В. Морфологические аспекты репаративного остеогенеза при переломах нижней челюсти на фоне хронического эндотоксикоза: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук: спец 14.00.21 «Стоматология», 14.00.15 «Патологическая анатомия» / Бармин В.В. - Волгоград, 2008. - 22 с.

УДК 615.468.6

МЕХАНІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ШОВНОГО МАТЕРІАЛУ, СТВОРЕНОГО НА ОСНОВІ ВУГЛЕЦЕВИХ ВОЛОКОН

Єршов В.Ю., Ковальський М.П.

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

Досліджено зразки експериментального шовного матеріалу, створеного на основі вуглецевого волокна карбіну, та порівняно його механічні властивості з такими у основних традиційних шовних матеріалів – шовку, капрону, лавсану. Виявлено, що карбіновий шовний матеріал за своїми механічними властивостями (міцність на розрив та розривна деформація) не поступається основним традиційним синтетичним шовним матеріалам, а на малих діаметрах, у вологому стані та у вузлі навіть їх перевищує.

Ключові слова: шовний матеріал, вуглецеві волокна, механічні властивості, карбін.

Останнім часом увага хірургів усе більше приділяється ролі шовного матеріалу в результаті операції. Це обумовлено тим, що введений в організм шовний матеріал часто є джерелом хронічного асептичного запалення, що сприяє надалі розвитку різних післяопераційних ускладнень. Розробка нових полімерних матеріалів продовжується. Проте, шовного матеріалу, що повністю задовольняє вимоги хірургів, не створено дотепер, що обумовлює необхідність продовження пошуку нових хірургічних ниток, позбавлених принципових недоліків існуючих зразків.

Перспективними у цьому відношенні можуть бути шовні матеріали, створені на основі вуглецевих волокон [1]. Вуглецеві волокна звичайно одержують термічною обробкою хімічних або природних органічних волокон, при якій у матеріалі волокна залишаються головним чином атоми вуглецю. З фізичних властивостей вуглецеві волокна мають винятково високу теплостійкість. Вуглецеві волокна стійкі до агресивних хімічних середовищ, однак окисляються при нагріванні в присутності кисню. Широке застосування знаходять активовані вуглеволоконні матеріали (зокрема, актилен) у медицині для очищення крові й інших біологічних рідин, у пов'язках при лікуванні ран і опіків, як лікарський засіб (ваулен) при отруєннях (завдяки їх високій здатності сорбувати отрути), як носії лікарських і біологічно активних речовин. Одним з перспективних й універсальних матеріалів для виготовлення вуглецевих волокон є карбін [4]. Карбін вперше синтезований в Інституті елементоорганічних з'єднань ім. А.Н. Несмеянова [1] і є одномірним полімером формули $(=C=C=)_n$, лінійні молекули якого складаються з sp-гібридизованих атомів вуглецю. Карбін - високотемпературна фаза вуглецю. У чистому вигляді він являє собою дрібнокристалічний порошок чорного кольору.

У результаті широкого ряду проведених досліджень визначені фізико-хімічні властивості карбіна [2], з яких найбільш цінною для медицини варто визнати його високу хімічну інертність, що наближається до алмаза. Експериментальні дослідження [3] виявили високу біосумісність, низькі абсорбційні і капілярні властивості, гарні маніпуляційні якості, стійку кольоровість карбі-

нової нитки. Перевагами даного шовного матеріалу є також простота одержання і низька собівартість.

Мета та задачі дослідження.

Порівняльна характеристика основних фізичних властивостей експериментального шовного матеріалу на основі вуглецевих волокон та основних традиційних шовних матеріалів – шовку, капрону, лавсану та формулювання висновків щодо застосування вуглецевих волокон як шовного матеріалу.

Матеріал та методи дослідження.

Було досліджено фрагменти експериментального шовного матеріалу – поліфіламентних плетених ниток діаметрів 3/0, 0, 1, 3 (за класифікацією Фармакопеї США (USP), виготовлених з вуглецевого волокна – карбіну (sp-форма гібридизації вуглецю, хімічна формула $(=C=C=)_n$). Зразки були виготовлені в експериментальному цеху НДІ матеріалознавства НАН України. Також досліджувалися фрагменти традиційних поліфіламентних шовних матеріалів – шовку, капрону, лавсану відповідних діаметрів (за класифікацією USP). Максимальне розривне навантаження $P(H)$ та деформацію ε % визначали за допомогою апарату ІНСТРОН 1026 у режимі одноосного розтягнення до розриву із застосуванням стандартних умов навантаження: датчика навантаження на 1 Н, швидкості розтягування 50 мм/хв., відстані між затискачами 30 мм. Досліджувалися сухі та зволожені нитки, попередньо витримані не менше 1 години в чашці Петрі у воді.

Криві навантаження зразків ниток аж до їхнього розриву реєструвалися на стрічці запилюючого пристрою. Після випробувань отримані залежності подовження зразків від прикладеного навантаження були основою для розрахунку максимального (зривного) навантаження $P^*(H)$ і деформації ε (%). Останній параметр ε (%) розраховували як відношення максимального подовження зразка нитки до його первісної довжини, рівної в даному випадку обраній відстані між затискачами ІНСТРОНа - 30 мм.

Також визначалася міцність ниток у вузлі. Для цього нитки поділялися на 2 половини, одна з них відразу досліджувалася на міцність у вузлі, інша проходила стерилізацію, тільки потім

досліджувалася на міцність. Нитки розрізалися на зразки по 25 см кожен, потім навколо гумової трубки діаметром 6,5 зав'язувався хірургічний вузол типу І x І x І. Утворена навколо трубки петля розрізалася навпроти вузла. Далі зразки ниток

Результати дослідження представлені в таблиці 1.

вміщувалися в затискачі розривної машини так, що відстань між ними було 20 см, а вузол знаходився посередині. Швидкість переміщення затискача - 200 мм/хв.

Таблиця 1.

Результати дослідження механічних властивостей шовних матеріалів

Шовний матеріал	Д	Сухий		Вологий		Сухий у вузлі		Вологий у вузлі	
		P*(Н)	ε (%)	P*(Н)	ε (%)	P*(Н)	ε (%)	P*(Н)	ε (%)
Карбін	3/0	3,15	34,2	3,13	37,6	3,12	37,8	3,11	36,2
Шовк		2,82	33,5	2,76	34,7	2,67	36,5	2,52	35,8
Капрон		3,11	34,1	3,13	36,8	3,14	35,9	3,11	36,1
Лавсан		3,12	34,3	3,15	36,7	3,09	33,8	3,12	34,6
Карбін	0	10,11	31,3	11,27	33,2	10,09	34,1	10,07	35,6
Шовк		9,27	32,3	9,13	33,5	9,11	33,8	9,08	35,2
Капрон		10,02	32,4	9,98	33,3	9,87	34,2	9,32	35,3
Лавсан		9,87	32,3	10,02	33,2	9,92	29,9	9,98	29,8
Карбін	1	25,11	30,3	28,56	31,2	24,02	33,4	23,22	34,2
Шовк		22,12	32,3	24,15	31,5	21,98	32,7	20,78	33,8
Капрон		28,12	31,9	27,95	29,9	26,11	30,2	25,76	33,9
Лавсан		30,22	29,7	31,23	29,2	29,98	29,0	30,11	28,8
Карбін	3	48,36	29,8	47,12	30,1	46,54	31,2	46,15	32,3
Шовк		49,32	30,8	49,12	32,2	48,26	33,2	47,11	33,8
Капрон		52,12	29,7	51,93	29,6	52,99	29,2	50,15	30,3
Лавсан		55,52	28,7	56,12	28,2	54,21	27,1	55,12	27,0

Позначення. Д – діаметр волокна за USP, P*(Н) – максимальне розривне навантаження, ε (%) – максимальна розривна деформація.

Висновки

Таким чином, експериментальний шовний матеріал, створений на основі карбінового вуглецевого волокна, за своїми механічними властивостями (міцність на розрив та розривна деформація) не поступається основним традиційним синтетичним шовним матеріалам, а на малих діаметрах, у вологому стані та у вузлі навіть їх перевищує, що особливо важливо для хірургічної практики.

Перспективи наукового пошуку

Будуть досліджені такі фізичні властивості пе-

рспективного шовного матеріалу, як капілярність, еластичність, маніпуляційні властивості.

Література

1. Конкин А.А. Углеродные и другие жаростойкие волокнистые материалы / Конкин А.А. – Москва, 1974. – 325 с.
2. Симамура С. Углеродные волокна / Симамура С. – Москва: Мир, 1987. – 460 с.
3. Слепцов И.В. Узлы в хирургии / И.В. Слепцов, Р.А. Черников. – СПб, 2000. – 172 с.
4. Фитцер Э. Углеродные волокна и углекомпозиаты / Фитцер Э. – Москва, 1988. – 412 с.

Реферат

МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ШОВНОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНЫХ ВОЛОКОН.

Ершов В.Ю., Ковальский М.П.

Ключевые слова: шовный материал, углеродные волокна, механические свойства, карбин.

Исследовано образцы экспериментального шовного материала на основе углеродного волокна карбина, сравнивались его свойства с таковыми у основных традиционных шовных материалов – шелка, капрона, лавсана. Выявлено, что карбиновый шовный материал по своим механическим свойствам (прочность на разрыв и разрывная деформация) не уступает основным синтетическим шовным материалам, а в малом диаметре, во влажном состоянии и в узле их превышает.

Summary

MECHANICAL PROPERTIES OF EXPERIMENTAL SUTURE MATERIAL BASED ON CARBON FIBER.

Yershov V.Y., Kovalsky M.P.

Key words: suture material, carbon fibers, mechanical values, carbine.

The paper focuses on the study of the mechanical properties of a new experimental suture material on the base of carbine carbon fiber in comparison with ones of conventional suture materials (nylon, polyester, and silk). It has been found out the carbine suture material is not inferior in its mechanical properties (rupture strength and rupturing deformation) to the major synthetic suture materials, moreover the due to its minor diameter, being wet and being tied a knot tightly it surpasses them.

УДК: 611.814.3+616.379-08.64

ОСОБЛИВОСТІ СУБМІКРОСКОПІЧНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ НЕЙРОГІПОФІЗУ В НОРМІ ТА ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

Жураківська О.Я., Левицький В.А.

Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ

Наукова робота присвячена питанням вивчення морфофункціональної організації нейрогіпофізу в нормі та при цукровому діабеті 1-го типу. Встановлено, що в нормі до складу структурних елементів нейрогіпофізу входять пітуїцити трьох типів і їх перехідні форми, термінальні розгалуження аксонів нейросекреторних клітин гіпоталамусу та аксозавальні синапси. Через 2 тижні після моделювання стрептозотоцинового діабету в нейрогіпофізі відмічається велика кількість спустошених пухирців в терміналях аксонів нейросекреторних клітин, деструктивні зміни пітуїцитів, набряк та руйнування мембранних структур ендотеліоцитів капілярів.

Ключові слова: гіпофіз, цукровий діабет, кровоносні судини.

В останні десятиріччя спостерігається різке збільшення захворюваності на цукровий діабет особливо у розвинутих країнах. Відповідний показник складає 5-6% від загальної кількості населення та має тенденцію до подальшого збільшення [6]. В Україні зареєстровано понад 1 млн. хворих на цукровий діабет, з них більше 120 тис. страждають цукровим діабетом 1 типу [2, 3]. Актуальність проблеми цукрового діабету зумовлена не лише його поширеністю. Хронічний пожиттєвий перебіг, рання інвалідизація, високий рівень смертності ставлять його на третє місце після серцево-судинних та онкологічних захворювань. З огляду на це вивчення морфофункціональних змін в гіпоталамо-гіпофізарній системі при цукровому діабеті становлять для медицини значний інтерес, адже вона є вищим вегетативним центром, яка впливає на екзо- і ендокринну функцію підшлункової залози. Тому метою нашого дослідження стало вивчення структурної організації нейрогіпофізу в нормі та при модельованому цукровому діабеті 1-го типу.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для дослідження служили шматочки нейрогіпофізу 20 білих безпородних статевозрілих щурів-самців, із яких 10 служили контролем, а у 10 моделювали стрептозотоциновий цукровий діабет [1]. При заборі матеріалу для електронномікроскопічного дослідження дотримано загальноприйнятих правил швидкості висікання та атравматичності. Шматочки нейрогіпофізу, розміром 1x1x1 мм, 2 години фіксували в 2% розчині чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері з pH 7,4. В подальшому матеріал відмивали у 0,1 М фосфатному буфері з pH 7,4, з наступною дегідратацією в етиловому спирті зростаючих концентрацій. Шматочки досліджуваної тканини послідовно просочували у сумішах епоксидних смол з абсолютним ацетоном у різних співвідношеннях (по 1 годині в кожній), після чого заливали чистою епоксидною смолою і полімеризували при температурі +56°C протягом доби. Отримані на ультрамікротомі Tesla BS-490 А зрізи монтували на мідні бленди, діаметром

1 мм, і контрастували 2% розчином ураніл-ацетату на 70° спирті і сумішшю Рейнольдса. Вивчення матеріалу проводили на електронному мікроскопі ПЕМ-125 К, при прискорюючій напрузі 75 кВ, з наступним фотографуванням при збільшеннях від 6000 до 30000 разів. Напівтонкі зрізи, товщиною 1 мкм, фарбували 1% розчином метиленової синьки і вивчали під бінокулярним мікроскопом МБР-3.

Результати дослідження та їх обговорення

На ультраструктурному рівні нейрогіпофіз представлений безмієліновими нервовими волокнами, пітуїцитами та їх відростками, а також фібробластами, які розміщуються за ходом гемокapілярів.

Безмієлінові нервові волокна – це терміналі аксонів нейросекреторних клітин гіпоталамусу. Їх світла аксоплазма містить нейрофібрили, округлої і овальної форми мітохондрії з чітко вираженими поперечно орієнтованими кристами, гранули нейросекрету, невелику кількість синаптичних пухирців та вільних рибосом. Гранули нейросекрету мають матрикс різної електроннооптичної щільності від помірної до високої, чітко виражену мембрану та підмембранний світлий обідок. В сусідніх аксонах кількість гранул нейросекрету і синаптичних пухирців є різною. Існують аксони, в яких гранули нейросекрету відсутні, а наявні тільки синаптичні пухирці, і навпаки. На нашу думку, це пов'язано з різними рівнями проведеного зрізу.

Серед пітуїцитів можна виділити три типи та перехідні форми між ними. Пітуїцити першого типу – це крупні клітини, в центрі яких знаходиться світле ядро, оточене цитоплазмою, яка займає 2/3 клітини. Комплекс Гольджі та гранулярна ендоплазматична сітка розвинені слабо, мітохондрії поодинокі. Пітуїцити другого типу – менші від попередніх клітин, мають багаточисленні відростки. Їх ядро помірної електроннооптичної щільності, оточене невеликим шаром цитоплазми, в якій виявляється добре розвинена гранулярна ендоплазматична сітка, на поверхні цистерн якої розташовуються фіксовані рибосо-

* Науково-дослідна робота виконана відповідно до плану Івано-Франківського національного медичного університету і є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини "Морфофункціональна характеристика деяких органів та функціональних систем при цукровому діабеті в постнатальному періоді онтогенезу" (номер держреєстрації 0109U001106).

ми. Характерною особливістю таких клітин є наявність в їх цитоплазмі 2 - 4 ліпідних капель різної форми і величини. Пітуїцити третього типу є ідентичними клітинам мікроглії. Їх цитоплазма має високу електронно-оптичну щільність, ядра темні, клітинні органели малочислені. Треба відмітити, що пітуїцити своїми тілами і відростками оточують терміналі нейросекреторних клітин.

Кровопостачання нейрогіпофізу здійснюється капілярами вісцерального типу. Їх просвіт обмежується ендотеліоцитами, цитоплазма яких місцями витончується і люменальна та базальна частини плазмолемми зливаються між собою. В цих місцях розташовуються фенестри. Між сусідніми фенестрами розміщуються ділянки цитоплазми з окремими органелами і мікропіноцитозними пухирцями. Під ендотелієм знаходиться помірно електронно-оптичної щільності базальна мембрана, ззовні від якої розміщуються перицити. Характерною особливістю капілярів нейрогіпофізу є наявність навколо них перикапілярних просторів, в яких розташовуються контакти аксонів нейросекреторних клітин і капілярів – аксовазальні синапси. Останні побудовані з пресинаптичної мембрани, утвореної аксолемою на внутрішній поверхні якої розміщуються синаптичні пухирці та гранули нейросекрету в різних співвідношеннях, та базальною мембраною капіляра.

Через два тижні після моделювання стрептозотозинного діабету в нейрогіпофізі спостерігається розширення терміналей аксонів з утворенням так званих тілець Герінга, в яких відмічається велика кількість гранул нейросекрету. Деякі аксони містять тільки мітохондрії з розширеними та зруйнованими кристами, та, так звані, «empty vesicles» (залишкові гранули або пусті гранули), які утворюються мембраною, що залишається від гранул нейросекрету після вивільнення з них електроннощільного вмісту. Аналогічні явища описуються і іншими авторами у щурів, які вживали гіпертонічний сольовий розчин, та після больового стресу і ін'єкції гістаміну [4, 7, 8].

В пітуїцитах першого типу відмічається маргінальне розміщення ядерного хроматину, розширення перинуклеарного простору, деструкція крист мітохондрій, розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, збільшення в цитоплазмі лізосом із негомогенним вмістом і мультівезикулярних тілець. У цитоплазмі пітуїцитів другого типу спостерігається велика кількість ліпідних капель, які, за даними деяких авторів [5], сприяють виведенню нейросекрету в судинне русло за рахунок відокремлення активного гормону від гліколіпідного комплексу. За даними інших авторів [6], таке явище розглядається як наслідок фагоцитозу фосфоліпідних мембран гранул нейросекрету.

В стінці капілярів на даному етапі дослідження спостерігається адгезія та агрегація еритроцитів,

збільшення кількості фенестр та піноцитозних пухирців у цитоплазмі ендотеліоцитів. В поодиноких ендотеліальних клітинах спостерігається набряк та вакуольна дистрофія цитоплазми. Перикапілярний простір звужується. Вважається, що ініціюючим фактором ураження ендотелію при цукровому діабеті є процес глікозування гемоглобіну, в наслідок чого еритроцити змінюють свій поверхневий S-заряд. Це призводить до істинного капілярного стазу, сладжу та аглютинації еритроцитів, а в подальшому до мікротромбозу, який створює місцеву циркуляторну та гемічну гіпоксію, активацію перекисного окислення ліпідів з пошкодженням цитоплазматичних мембран ендотеліоцитів [5, 7]. Додатковими факторами пошкодження мембран ендотеліальних клітин вважають кетоацидоз та глікозування N-кінців трансмембранних протеїнів, що призводить до зниження синтезу ними вазодилататорів (оксиду азоту і простагліцинів). Виникаючий при цьому спазм артерійол поглиблює гіпоксію і відповідно вільнорадикальне пошкодження клітинних мембран. Важливим фактором ураження ендотелію при цукровому діабеті є сорбітоловий шлях метаболізму глюкози, який пов'язаний з активацією альдоредуктази з подальшим накопиченням сорбітолу в ендотеліальних клітинах, що призводить до осмотичного набряку та руйнування останніх [3, 6].

Враховуючи результати проведених досліджень, можна зробити наступні висновки:

1. До складу структурних елементів нейрогіпофізу входять пітуїцити трьох типів, термінальні розгалуження аксонів нейросекреторних клітин гіпоталамусу та аксовазальні синапси. Нейрогіпофіз кровопостачається капілярами вісцерального типу з фенестрованим ендотелієм.
2. При цукровому діабеті першого типу в нейрогіпофізі відмічається велика кількість спучених пухирців в терміналях аксонів нейросекреторних клітин, деструктивні зміни пітуїцитів, набряк та руйнування мембранних структур ендотеліоцитів капілярів.

Література

1. А.с. на раціоналізаторську пропозицію. Спосіб моделювання цукрового діабету в експерименті / В.А.Левицький, О.Я.Жураківська, В.А.Міський. - № 1/2585; подано 15.01.09; визн. рац. 12.02.09.
2. Большова Е.В. Соматотропная функция гипофиза у детей и подростков при сахарном диабете в зависимости от клинического течения заболевания / Е.В. Большова, В.В. Попова // Український медичний часопис - 2000. - № 2. - С. 128-132.
3. Кашкалда Д.А. Перекисное окисление липидов и состояние системы антиоксидантной защиты при инсулинзависимом сахарном диабете у детей и подростков / Д.А. Кашкалда, Н.В. Филиппова, Л.Д. Никитина [и др.] // Эндокринология. - 2001. - Том.6, №1. - С. 37-43.
4. Мозговая Т.П. Гистологический анализ эпифиза и гипофиза мозга родителей и потомков при моделировании стресса / Т.П. Мозговая, Г.И. Губина-Вакулик, Т.В. Горбач // Врачебная практика: Науч.-практ. журн. - 2007. - № 4. - С. 95-98.
5. Мазурина Н.К. Нарушения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при сахарном диабете / Н.К.

- Мазурина // Проблемы эндокринологии. – 2007 - Т.53, №2. - С. 29-34.
6. Mitskevich M.S. Possible role of hypothalamus and hypophysis in the control of development of pancreas reactivity to the effect of glucose in rat fetuses / M.S. Mitskevich, A.Ya. Sapronova // - Endokrinologie. – 1982. - № 79(2). – P. 227-234.
7. Shirasawa N. Intercellular communication within the rat anterior pituitary: XIV electron microscopic and immunohistochemical study on the relationship between the agranular cells and GnRH neurons in the dorsal pars tuberalis of the pituitary gland / N. Shirasawa, E. Sakuma, I. Wada [et al.] // Anat. Rec. (Hoboken). – 2007. – V.290, №11. – P.1388-1398.
8. Villagra N.T. Nuclear compartmentalization and dynamics of the poly(A)-binding protein nuclear 1 (PABPN1) inclusions in supraoptic neurons under physiological and osmotic stress conditions // N.T. Villagra, R.Bengoechea, J.Llorca [et al.] // Mol. Cell. Neurosci. – 2008. – V.37, №3. – P.622-633.

Реферат

ОСОБЕННОСТИ СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ НЕЙРОГИПОФИЗА В НОРМЕ И ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ.

Жураковская О.Я., Левицкий В.А.

Ключевые слова: гипофиз, сахарный диабет, кровеносные сосуды.

Работа посвящена вопросам изучения морфофункциональной организации нейрогипофиза в норме и при сахарном диабете 1-го типа. В норме в состав структурных элементов гипофиза входят питуициты трёх типов и их переходные формы, концевые разветвления аксонов нейросекреторных клеток гипоталамуса и аксовасальные синапсы. Через две недели после моделирования стрептозотоцинового диабета в нейрогипофизе отмечается большое количество опустошенных пузырьков в терминалах аксонов нейросекреторных клеток, деструктивные изменения питуицитов, отёк и деструкция мембранных структур эндотелиоцитов капилляров.

Summary

FEATURES OF NEUROHYPOPHYSIS SUBMICROSCOPIC ORGANIZATION IN NORMAL CONDITION AND UNDER DIABETES MELLITUS

Gurakivska O. Y., Levytskyi V. A.

Keywords: hypophysis, diabetes mellitus, blood vessels.

The paper is devoted to the questions referring to the studying the neurohypophysis morpho-functional organization in normal condition and under diabetes mellitus, I type. It has been established in normal condition the composition of neurohypophysis structural elements includes pituicytes of three types and their transitional forms, terminal branches of neurosecretory cell's axons of hypothalamus, and axovasal synapses. In two week after modeling streptozotocin diabetes there has been observed a large number of empty blisters in terminals of neurosecretory cell's axons, destructive changes in pituicytes, edema and destruction of membranous structures of capillary's endotheliocytes.

УДК:616.233/24-085.23-092.9

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ДОКЛИНИЧЕСКОМ ИЗУЧЕНИИ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА АМКЕСОЛА ДЛЯ ТЕРАПИИ БРОНХО-ЛЕГОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ

Звягинцева Т.В., Киричек Л.Т., Миронченко С.И., Стороженко Е.В.

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков

В работе установлено, что комбинированный препарат амкесол (амброксол, кетотифен, сухой экстракт солодки, теобромин) проявляет в детских лекарственных формах (порошок, сироп) дозозависимое противовоспалительное действие, не уступая эффекту диклофенака-натрия, а в отдельных возрастных группах (3 месяца) – превышает его. Степень противовоспалительного действия амкесола не зависит от возраста животных и от применяемой лекарственной формы.

Ключевые слова: противовоспалительное действие, комбинированный препарат, бронхо-легочная патология, неполовозрелый возраст

Объектом педиатрической фармакологии является постоянно растущий организм, поэтому для объективной экстраполяции полученных в эксперименте данных их следует получать на разных возрастных группах животных, соответствующих определённому возрасту детей [1]. Это положение распространяется на все без исключения лекарственные средства [2], в том числе и для лечения бронхо-легочных заболеваний, которые являются наиболее распростра-

ненными в педиатрии [3]. В их современной фармакотерапии общепринятым является проведение комплексного лечения или назначение комбинированных препаратов на основе известных представлений о патогенезе заболевания и основных его клинических проявлениях в виде признаков воспаления, аллергии, бронхоспазма и мукоцилиарных нарушений.

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что в лечении разных бронхо-легочных за-

* Работа выполнена в рамках НИР ХНМУ „Створення та дослідження нових лікарських засобів для лікування бронхо-легеневої патології у дітей різного віку” (№ госрегистрации: 0108U005246) и финансируется как приоритетная конкурсная грантом за счет средств общего фонда госбюджета МЗ Украины.

болеваній у дітей рекомендується використовувати комплексну терапію із етіотропних (антибіотики), патогенетических (противовоспалительные, противоаллергические, спазмолитические) и симптоматических (противокашлевые, отхаркивающие) средств [4-6]. Что касается детских лекарственных форм, то, исходя из современных требований к ним, [7], наиболее рациональными, при заболеваниях органов дыхания у детей являются растворимые порошки, сиропы, и для старшего возраста – аэрозоли и гранулы.

В работе проведено доклиническое изучение комбинированного препарата амкесол (АКС), в состав которого входят амброксол, кетотифен, сухой экстракт солодки и теобромин. Соответствие препарата современным требованиям к средствам лечения бронхообструктивных заболеваний у детей обусловлено тем, что, во-первых, комбинированный состав обеспечивает одновременное влияние на разные механизмы развития заболевания; во-вторых, исходя из данных литературы о фармакологических свойствах составляющих компонентов, АКС может считаться безопасным детским средством лечения, поскольку каждый из них широко используется в детской практике; и, наконец, препарат может применяться в виде порошка и сиропа, то есть в распространенных лекарственных формах для приема внутрь детям разного возраста.

Учитывая фармакологические свойства составляемых АКС [8-11], можно считать целесообразным их сочетанное назначение при бронхолегочной патологии. В то же время многокомпонентность фармакологического действия АКС выдвигает новые исследовательские задачи, среди которых важной является выявление в эксперименте у препарата новых специфических эффектов, которые имеют патогенетическое значение в лечении бронхообструктивных состояний.

Таким образом, целью настоящей работы является изучение в эксперименте специфического противовоспалительного действия амкесола в виде порошка и сиропа на животных разного половозрелого возраста.

Материалы и методы

Опыты выполнены на белых крысах линии WAG (Вистар) обоего пола 1, 2, 3-месячного возраста, которые соответствуют 4, 10 и 14 годам жизни человека. Одномесячные крысы позднего молочного периода жизни имели массу 45-50 г; двухмесячные предпубертатного возраста – 79-90г; трехмесячные пубертатные – 140-150г [2]. Животные содержались в обычных условиях биоэкспериментальной клиники (вивария) ХНМУ в соответствии с современными санитарными и биоэтическими требованиями. Каждая такая группа животных представляла со-

бой отдельную серию опытов и в свою очередь состояла из отдельных групп: интактный контроль (I), получавший растворитель; контроль на патологию (II, воспаление); опытная группа (III, порошок или сироп АКС на фоне патологии); группа сравнения (IV, диклофенак натрия на фоне патологии).

Порошок АКС (П-АКС) применялся в дозах 1 г/кг (1/10 от наибольшей по объему дозы, которая в остром опыте еще не вызывала гибели крыс) и 8 мг/кг (изотерапевтическая с дозой для человека), вводился внутривентриально однократно за час до моделирования патологии с помощью зонда в виде 10% взвеси на 3% слизи крахмала. Сироп АКС (С-АКС) исследовался в тех же условиях в дозах 20 мл/кг и 0,9 мл/кг, которые рассчитывались по тем же критериям. Референтный препарат (Д-На) тоже вводился в желудок на 3% крахмальной слизи (0,05%) в дозе 8 мг/кг [12].

Экссудативное воспаление моделировали путем субплантарного введения в заднюю лапу крыс 0,05 мл 2% р-ра формалина. Объем лапы измеряли с помощью онкометра до начала опыта и после введения флогогена в период максимального развития отека (через 4 часа). Степень отека сравнительно с контролем выражали в относительных единицах, а выраженность противовоспалительной активности рассчитывали по формуле в % [12].

Достоверность полученных данных оценивали статистически, сопоставляя их с контролем на патологию, между собой (П-АКС и С-АКС) и с Д-На. Сравнивались также данные, полученные на разных возрастных группах. Выводы основывались на статистически достоверной разнице (при $P \leq 0,05$) по методу вариационного ряда Стьюдента с поправкой Бонферони [13,14].

Полученные результаты

Моделирование воспаления проявляется у крыс всех возрастных групп увеличением объема лапы на 10-17 у.е., что принимается за 100% при расчете противовоспалительного действия АКС. В опытах на одномесячных крысах П-АКС снижает воспалительный отек лапы по сравнению с контролем на патологию в 2-3 раза, что соответствует уменьшению степени воспаления до $51,1 \pm 6,3\%$ - $52,9 \pm 7,5\%$, приблизительно на уровне Д-На ($59 \pm 9,4\%$). Уменьшение дозы П-АКС не влияет на выраженность противовоспалительного действия (табл).

Результаты опытов на двухмесячных крысах, представленные в той же таблице, отражают такую же степень выраженности противовоспалительного действия П-АКС, которая несколько снижается ($P > 0,05$) при уменьшении дозы, не отличаясь от противовоспалительного эффекта Д-На ($47,2 \pm 11,7\%$).

Таблиця 1.

Противовоспалительное действие амкесола в детских лекарственных формах у крыс разного возраста

Возраст крыс	Условия опыта	% противовоспалительного действия	
		П-АКС	С-АКС
1 месяц	Контроль на патологию	100	100
	АКС-б. доза	51,1±6,3*	45,9±15,1*
	АКС-м. доза	52,9±7,5*	52,0±3,3*
	Д-На	59,0±9,4*	59,0±9,4*
2 месяца	Контроль на патологию	100	100
	АКС-б. доза	50,8±13,8*	58,1±13,4*
	АКС-м. доза	44,4±7,9*	17,7±2,8**
	Д-На	47,2±11,7*	47,2±11,7*
3 месяца	Контроль на патологию	100	100
	АКС-б. доза	56,7±14,4*	50,7±7,3*
	АКС-м. доза	50,2±8,0*	46,5±7,6*
	Д-На	26,8±6,6*	26,8±6,6*

Примечание: *-P<0,05 по отношению к контролю на патологию

У трехмесячных крыс противовоспалительное действие П-АКС составляет соответственно примененным дозам 56,7±14,4% и 50,2±8,04%, т.е. не отличается от предыдущих эффектов. В этой серии опытов П-АКС превышает действие Д-На, которое составляет 26,8±6,6% (P>0,05).

Амкесол в виде сиропа (С-АКС) тоже влияет на выраженность формалинового воспаления, уменьшая его до 45±15,1%-58,1±13,4%. Колебания показателя противовоспалительного действия С-АКС в зависимости от возраста животных практически недостоверны (P>0,05). Уменьшение дозы С-АКС снижает эффект, статистически достоверно у двухмесячных крыс. Сравнительно с Д-На противовоспалительное влияние С-АКС одинаково у одно- и двухмесячных животных и превышает его у трехмесячных.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что АКС в обеих детских лекарственных формах обладает противовоспалительным действием, что значительно расширяет фармакодинамический спектр препарата. Учитывая сложный патогенез бронхолегочной патологии вообще и у детей, в частности, установленные противовоспалительные свойства АКС имеют важное значение для оптимизации фармакотерапии острых заболеваний дыхательной системы, которым свойственно воспаление, отек и обструкция.

В зависимости от избранных в работе показателей сравнения противовоспалительное действие АКС проявляется на стабильном уровне. Так, сила антиэкссудативного действия разных лекарственных форм АКС (порошка и сиропа) колеблется в статистически недостоверных пределах и поэтому может считаться одинаковой. В зависимости от дозы противовоспалительное действие АКС в обеих лекарственных формах проявляет прямую зависимость, т.е. с уменьшением дозы снижается и действие, но степень этого снижения достигает статистической достоверности только у двухмесячных животных и под влиянием С-АКС проявляется несколько более выражено, чем от П-АКС. Сравнительно с Д-На и П-АКС, и С-АКС обуславливают

**-P<0,05 по сравнению с большей дозой АКС.

одинаковый с ним по силе эффект у одно- и двухмесячных крыс и превышают его у трехмесячных животных.

Выводы

1. Амкесол (порошок, сироп) проявляет дозозависимое противовоспалительное действие, которое не уступает эффекту диклофенак-натрия, а в отдельных возрастных группах (3 месяца) – превышает его.

2. Противовоспалительное действие амкесола не зависит от возраста животных.

3. Дозозависимость противовоспалительного эффекта у амкесола более четко проявляется в форме сиропа у двухмесячных крыс.

Литература

- Западнюк В.И. Гериатрическая фармакология / Западнюк В.И. – К.: изд-во Здоров'я, 1977. – С. 6-24.
- Доклінічне вивчення нешкідливості лікарських засобів для застосування в педіатрії / [М.Ф. Денисова, Н.С. Нікітіна, І.П. Дзюба та ін.]. – К., 2002. – 27 с.
- Совместный доклад Национального института здоровья США и ВОЗ. – 1996. – С. 3-5.
- Cuzzalin L. Use of Macrolides in Children: A Review of the literature / L. Cuzzalin // Infect. Med. – 2002. - №19. – P. 279-285.
- Фесенко Н.С. Ефективність застосування дитеку та лазолвану у дітей, хворих на бронхіальну астму / Н.С. Фесенко, О.В. Горішина, Л.М. Пономаренко // Лікарська справа. – 1998. - №5. – С. 115-116.
- Войтенко С.А. Сравнительная оценка клинической эффективности Тайленда и Интала у детей, больных бронхальной астмой средней и легкой степени тяжести / С.А. Войтенко // Мед. сегодня и завтра. – 2000. - №4. – С. 80-83.
- Сологуб Л.В. Детские лекарственные формы и требования, предъявляемые к ним / Л.В. Сологуб // Фармація. – 1991. - №1. – С. 12-16.
- Компендиум. Лекарственные препараты 1999/2000г. / [В.Н. Коваленко, А.П. Викторов]. Под редакцией В.Н. Коваленко. – К.: Изд-во Морион. – 1999. – С. 33, 314, 675.
- Клиническая фармакология / [Д.Б. Белоусов, В.В. Омеляновский]. – М.: Изд-во Универсум публишинг. – 1996. – 176с.
- Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология / С.Я. Соколов. – М.: Изд-во Мед. информ. агенство. – 2000. – С. 315-319.
- Швец Ф. Фармакодинамика лекарств с экспериментальной и клинической точки зрения / Франтишек Швец. – Братислава: Изд-во словацкой академии наук. – 1963. – т.1. – С. 334-336, 339.

12. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / За редакцією О.В. Стефанова / . – К.: „Авіцена”. – 2001. – С. 292-306.

13. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Бельский. – Л.: Изд-во Медицина. – 1963. – 150 с.

14. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С.Гланц. – М.: Изд-во Практика. – 1999. – С. 105-107.

Реферат

ВИКОРИСТАННЯ ТВАРИН РІЗНОГО ВІКУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ДОКЛІНІЧНОМУ ВИВЧЕННІ КОМБІНОВАНОГО ПРЕПАРАТУ АМКЕСОЛУ ДЛЯ ТЕРАПІЇ БРОНХО-ЛЕГЕНЕВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ У ДІТЕЙ

Звягінцева Т.В., Киричок Л.Т., Миронченко С.І., Стороженко К.В.

Ключові слова: протизапальна дія, комбінований препарат, бронхо-легенева патологія, статевонезрілий вік.

В роботі встановлено, що комбінований препарат амкесол (амброксол, кетотифен, сухий екстракт солодки, теобромін) виявляє в дитячих лікарських формах (порошок, сироп) дозозалежну протизапальну дію, не поступаючись ефекту диклофенаку-натрію, а в деяких вікових групах (3 місяці) – перебільшує його. Ступінь протизапальної дії амкесолу не залежить від віку тварин і від застосованої лікарської форми.

Summary

APPLYING OF UNEVEN-AGED ANIMALS IN EXPERIMENT ON PRECLINICAL STUDYING OF COMBINATIVE PREPARATION "AMKESOL" IN THERAPY OF BRONCHO-PULMONARY DISEASES IN CHILDREN.

Zvyagintseva T.V., Kyrychok L.T., Myronchenko S.I., Storozhenko E.V.

Key words: antiinflammatory action, combinative preparation, broncho-pulmonary pathology, sexually immature.

It has been established the combinative preparation "Amkesol" (ambroxol, ketotifen, dry extract of glycyrrhiza, theobromine) in pharmaceutical forms for children (powder, syrup) has dose-dependent antiinflammatory action, and is not inferior in its effectiveness to Diclofenac-sodium, and even surpasses it in the some age groups (3 months). The intensity of "Amkesol" antiinflammatory action does not depend on animal's age and pharmaceutical form.

УДК: 616.379-008.64-06:618.3]-092.9:616-097

ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ МОРФОГЕНЕЗА ТИМУСА У ПОТОМСТВА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГЕСТАЦИОННЫМ ДИАБЕТОМ

Камышин А.М.

Запорожский государственный медицинский университет

Исследовались морфофункциональное состояние инсулин-экспрессирующих, антигенпредставляющих, T_{reg} -клеток тимуса, особенности тимической экспрессии иммунной субъединицы протеасомы LMP-2 и актоиммунного регулятора AIRE у потомства крыс с экспериментальным гестационным диабетом (ЭГД). Определение проводили иммуногистохимическими методами прямой и непрямой иммунофлюоресценции с применением моноклональных антител к инсулину, МНС-2-антигену, CD25-антигену, белкам AIRE и LMP-2 крысы. Установлено, что у потомства крыс с ЭГД наблюдаются множественные иммунорегуляторные нарушения морфогенеза тимуса: изменения процессов дифференцировки T_{reg} -клеток, уровня экспрессии белков AIRE и LMP-2, снижение числа АПК, инсулин-иммунопозитивных клеток, что нарушает нормальное течение процессов апоптоза, селекции тимоцитов и формирования центральной толерантности к панкреатическим антигенам.

Ключевые слова: тимус, ЭГД, инсулин, T_{reg} -клетки, АПК, AIRE, LMP-2

За последние годы накоплено много фактического материала, свидетельствующего о важной роли нарушения функционирования центрального органа иммуногенеза - тимуса в патогенезе развития сахарного диабета (СД) [5,7,12]. Установлено, что одними из основных патогенетических факторов развития СД являются нарушения формирования центральной толерантности к панкреатическим антигенам из-за изменения морфофункционального состояния антигенпредставляющих клеток (АПК) тимуса, отсутствия достаточного представительства β -клеточных антигенов в тимусе, дефектов процессинга антигенов и тимической экспрессии транскрипционных факторов Foxp3 и AIRE, нарушения продук-

ции тимусом популяции естественных (натуральных) $CD4^+CD25^+$ регуляторных Т-клеток (T_{reg}) и др.[4,14,16,17].

В свою очередь, одной из актуальных проблем современной диабетологии является гестационный диабет (ГД) - нарушение углеводного обмена, впервые выявленное или возникшее во время настоящей беременности и приводящее к гипергликемии разной степени выраженности. ГД является основной причиной развития макросомии плода (частота родов крупным плодом варьирует в пределах 8-18,5%) и одним из факторов риска развития в дальнейшем у потомства как инсулинзависимого, так и инсулиннезависимого сахарного диабета [6]. Внутриут-

* Исследование выполнено в рамках финансируемой за государственный счет научно-исследовательской работы „Нейро-иммунно-эндокринные механизмы развития и возрастные особенности формирования эндокринной патологии и метаболических нарушений вследствие пренатального действия патогенных факторов ” (№ госрегистрации 01080005114)

робная гипергликемия, развивающаяся при ГД, способна вызвать нарушения морфогенеза тимуса и дисфункцию его лимфоидного и эпителиального компонентов, что, в свою очередь, может привести к нарушению формирования центральной толерантности к инсулину как фактору риска развития СД у потомства. Тем не менее, в настоящий момент практически отсутствуют данные об особенностях морфофункционального состояния тимуса у потомства, рожденного от матерей, перенесших гестационный диабет. Поэтому, **целью** настоящего исследования было изучить особенности формирования центральной толерантности к панкреатическим антигенам, выяснить функциональное состояние АПК и T_{reg} -клеток тимуса и определить особенности тимической экспрессии аутоиммунного регулятора AIRE и иммунной субъединицы протеасомы LMP-2 у потомства крыс с экспериментальным гестационным диабетом (ЭГД).

Материалы и методы исследования

Для изучения влияния внешних факторов, а именно хронической гипергликемии, на плод в последнем триместре беременности, в формировании аутоиммунных и эндокринных нарушений у потомства, нами была разработана и исследована адекватная модель экспериментального гестационного диабета у крыс. Модель была со всех сторон изучена, проанализирована и запатентована [2]. Самкам крыс линии Вистар на 15 сутки датирующей беременности однократно внутривентально вводили стрептозотцин (SIGMA, США) в дозе 45 мг/кг, разведенного *ex tempore* в 1 мл 0,1М цитратного буфера (pH 4,5). На третий день у самок измеряли уровень глюкозы в крови и в дальнейший эксперимент отбирали только тех крыс, уровень глюкозы у которых составлял не менее 8 ммоль/л. Новорожденных крысят от самок с ЭГД отсаживали через месяц после рождения, разделяв по полу. Исследования проведены на 1-месячных (n=9), 2-месячных (n=9), 3-месячных (n=9) и 6-месячных (n=9) самцах – потомках крыс с ЭГД, в качестве контрольной группы использовались самцы того же возраста и содержащиеся в тех же условиях, рожденные от интактных крыс линии Вистар, которым на 15-е сутки беременности вводили в/вентально цитратный буфер. Животных декапитировали под наркозом и выделяли тимус, который фиксировали в растворе Буэна (18 часов) и после стандартной гистологической обработки заливали в парафин.

Инсулин-экспрессирующие клетки тимуса (Ins^+) выявляли иммуногистохимическим методом непрямой иммунофлуоресценции с помощью моноклональных антител (МКАТ) к инсулину (Peninsula Laboratories Inc., США). АПК тимуса определяли иммуногистохимическим методом прямой иммунофлуоресценции с помощью МКАТ к МНС-2-антигену крысы (Beckman

Coulter, США). T_{reg} -клетки тимуса выявляли иммуногистохимическим методом прямой иммунофлуоресценции, используя МКАТ к одному из основных маркеров регуляторных клеток - CD25 (антитела производства Caltag Laboratories, США). Для выявления экспрессии AIRE и LMP-2 в тимусе использовали метод двойной иммунофлуоресценции с помощью первичных кроличьих МКАТ к AIRE или LMP-2 крысы производства Santa Cruz Biotechnology (США), мышиных МКАТ к цитокератинам крысы (monoclonal Anti-Pan Cytocerafin – MAPC, клон РСК-26) производства Sigma, (США) и к CD4-антигену крысы производства Beckman Coulter (США). На флуоресцентном микроскопе Axioskop (Zeiss, Германия) исследовали корковое и мозговое вещество тимуса, изображения которых с помощью видеокамеры СОНУ-4922 (США) вводили в систему цифрового анализа изображения VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Германия). Вероятность отличий в группах определяли t-статистикой Стьюдента с помощью пакета STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001), критический уровень значимости принимали равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что количество инсулин-иммунопозитивных (Ins^+ -клеток) в мозговом веществе тимуса у контрольных 1-месячных и 2-месячных крыс соответственно на 28% и на 63% выше, чем в корковом, что, по-видимому, обусловлено преимущественной экспрессией инсулина эпителиоретикулоцитами тимуса и соответствует данным литературы о преобладании эпителиоретикулоцитов в мозговом веществе [1,3]. Однако, уже к 3 месяцу жизни отмечается выравнивание числа Ins^+ -клеток в обеих исследованных зонах тимуса и данная тенденция сохраняется и у 6-месячных контрольных крыс. Изучение плотности популяции Ins^+ -клеток в корковом веществе тимуса у потомства крыс с ЭГД показало достоверное снижение их числа во все исследованные возрастные периоды по сравнению с контрольными животными. Так, у 1-месячного потомства крыс с ЭГД плотность популяции Ins^+ -клеток снижалась на 48% ($p<0,05$), у 2-х-месячного – на 23% ($p<0,05$), у 3-х и 6-месячного – на 53% ($p<0,05$) по сравнению с соответствующими контрольными животными. Сходная динамика обнаруживалась и в мозговом веществе тимуса у потомства крыс с ЭГД, где количество Ins^+ -клеток также достоверно снижалось на 46-51% ($p<0,05$) во все исследованные возрастные периоды по сравнению с контрольными животными.

Длительное время считалось, что β -клетки панкреатических островков являются единственным местом продукции инсулина в организме. Однако, в последнее десятилетие была обнаружена внепанкреатическая экспрессия инсулина в тимусе, головном мозге, печени, жировой

ткани, костном мозге, селезенке у человека и экспериментальных животных (мышей, крыс) в норме и при СД 1 и 2 типов, а также при искусственно поддерживаемой гипергликемии [11]. Учитывая, что тимический инсулин наряду с другими островковыми антигенами (GAD, карбоксипептидаза H, проглюкагон, просоматостатин, пропанкреатический полипептид и др.) обеспечивает формирование центральной толерантности к β -клеткам панкреатических островков [11,16], обнаруженное нами нарушение его тимической экспрессии может являться одним из пусковых механизмов развития аутоиммунной патологии у потомства крыс с ЭГД.

Особое место среди факторов, критичных для развития СД занимает изменение уровня экспрессии аутоиммунного регулятора (AIRE). Открытия последних лет показали, что AIRE является регулятором эктопической транскрипции в тимусе целого ряда периферических тканеспецифических антигенов (peripheral tissue-specific antigens, PTSAs), в том числе панкреатических [14,15]. Изменения уровня экспрессии AIRE в тимусе может существенно влиять на представительство β -клеточных антигенов и таким образом нарушать процесс формирования центральной толерантности к ним, являясь серьезным фактором риска для развития СД.

В результате проведенных исследований установлено, что количество AIRE⁺-клеток в корковом веществе тимуса у контрольных крыс во все изученные сроки постнатального онтогенеза было в 1,8-2 раза ниже ($p < 0,05$), чем в мозговом. При этом среди AIRE⁺-клеток идентифицировались как эпителиоретикулоциты тимуса (AIRE⁺MAPC⁺), так и тимоциты (AIRE⁺CD4⁺). Изучение плотности популяции AIRE⁺-клеток в тимусе у экспериментальных животных показало, что развитие ЭГД не влияло на их количество, сохранявшееся на уровне контрольных значений на протяжении первых 6 месяцев постнатального онтогенеза. При этом концентрация белка AIRE в AIRE⁺-клетках коркового вещества тимуса у потомства крыс с ЭГД достоверно снижалась на 29% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем у 2-месячного потомства и увеличивалась на 8% ($p < 0,05$) у 3-месячного, тогда как в мозговом веществе тимуса наблюдалось достоверное снижение данного показателя по сравнению с контролем в 1-месячном, 2-месячном и 6-месячном возрасте, наиболее выраженное у 2-месячного потомства (на 31%, $p < 0,05$).

Важными регуляторами процессов апоптоза, селекции тимоцитов и процессинга антигенов являются протеасомы – мультисубъединичные и мультикаталитические протеиназные комплексы эукариотических клеток. Клетки млекопитающих и человека содержат несколько форм и субтипов протеасом. Наиболее изученными формами являются 26S- и 20S-протеасомы [10], гидролизующие убиквитинированные белки в АТФ-зависимой реакции. Каждая из этих форм

образована четырьмя субтипами, различающимися сочетанием конститутивных и иммунных протеолитических субъединиц. Замена конститутивных субъединиц на иммунные происходит во вновь образующихся протеасомах при определенных условиях, например, под воздействием IFN γ . При этом конститутивные каталитические субъединицы X($\beta 5$), Y ($\beta 1$) и Z($\beta 2$) замещаются на иммунные субъединицы LMP-7 ($\beta 5i$), LMP-2 ($\beta 1i$) и LMP-10 ($\beta 2i$) [8]. Экспериментальные данные свидетельствуют о важной роли нарушений процессинга антигена, осуществляемого иммунными протеасомами в развитии аутоиммунной патологии [18]. Таким образом, логично предположить, что в случае изменения экспрессии иммунных субъединиц протеасомы в клетках тимуса они могли бы утратить способность продуцировать собственные антигенные эпитопы в достаточном количестве, что в результате может привести к риску развития аутоиммунной патологии из-за резкого уменьшения презентируемых тимоцитам аутоантигенов.

Количество LMP-2⁺-клеток в корковом веществе тимуса у контрольных 1-месячных животных было 709 ± 29 на 1 мм², затем несколько снижалось у 2-месячных и 3-месячных крыс, тогда как к 6-месячному возрасту их количество снова увеличивалось, превышая значения даже 1-месячного потомства. Полученные данные свидетельствуют об относительной стабильности экспрессии LMP-2 в коре тимуса, которая обнаруживается не только в раннем периоде постнатального онтогенеза, но и сохраняется на высоком уровне вплоть до зрелого возраста. При этом количество LMP-2⁺-клеток в корковом веществе тимуса у контрольных крыс во все изученные сроки постнатального онтогенеза было ниже, чем в мозговом. Среди LMP-2⁺-клеток методом двойной иммунофлюоресценции идентифицировались эпителиоретикулоциты (LMP-2⁺MAPC⁺) и тимоциты (LMP-2⁺CD4⁺). Изучение плотности популяции LMP-2⁺-клеток в корковом веществе тимуса у экспериментальных животных показало, что развитие ЭГД сопровождалось снижением их количества в раннем периоде постнатального онтогенеза (на 48% ($p < 0,05$) у 1-месячного потомства крыс с ЭГД и на 13% ($p < 0,05$) у 2-месячного), восстановлением до уровня контрольных значений у 3-месячного потомства, после чего отмечалась вторая волна снижения числа LMP-2⁺-клеток у 6-месячного потомства (на 57%, $p < 0,05$). Изучение концентрации белка LMP-2 в LMP-2⁺-клетках коркового вещества тимуса показало, что у 1-месячного потомства крыс с ЭГД наблюдалось достоверное снижение данного показателя на 21% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, тогда как в последующие изученные сроки постнатального онтогенеза концентрация LMP-2 достоверно увеличивалась по сравнению с контрольными животными соответствующего возраста. Развитие ЭГД сопровождалось разонаправленными

изменениями количества LMP-2⁺-клеток в мозговом веществе тимуса у потомков. Так, у 1-месячного потомства крыс с ЭГД плотность популяции LMP-2⁺-клеток снижалась на 41% ($p < 0,05$), у 2-х и 3-месячного потомства крыс с ЭГД их число увеличивалось на 19% ($p < 0,05$), тогда как у 6-месячного потомства, как и в коре тимуса, отмечалась вторая волна снижения количества LMP-2⁺-клеток (на 20%, $p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными соответствующего возраста. Изучение концентрации белка LMP-2 в LMP-2⁺-клетках мозгового вещества тимуса показало, что у 1-месячного потомства крыс с ЭГД наблюдалось достоверное снижение данного показателя на 10% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, тогда как у 2-х и 3-месячного потомства крыс с ЭГД концентрация LMP-2 достоверно возрастала, после чего снижалась до уровня контрольных значений у 6-месячного потомства.

Для интегральной оценки функционального состояния и процессов дифференцировки клеточных элементов тимуса необходим учёт антигенпредставляющих клеток (АПК) – весьма гетерогенной популяции клеток организма, которая в тимусе представлена главным образом В-лимфоцитами, макрофагами и дендритными (интердигитирующими) клетками [16]. Кроме того, молекулы ГКГ 2 класса в тимусе могут экспрессировать и “непрофессиональные” АПК, к которым относятся прежде всего эпителиоретикулоциты коркового и мозгового вещества [1]. В нормальных условиях на АПК тимуса осуществляется презентация тканеспецифических аутоантигенов, уровень экспрессии которых контролируется AIRE [14,16].

Изучение серийных срезов тимуса, предварительно инкубированных с моноклональными антителами к МНС-II-антигену, показало, что суммарная плотность МНС-2⁺ клеток в корковом веществе тимуса у потомства контрольных крыс на протяжении первых 6 месяцев жизни была достаточно стабильной и изменялась в пределах от 563 ± 39 на 1 мм^2 у 1-месячных крыс до 502 ± 34 на 1 мм^2 у 6-месячных. При этом количество МНС-II⁺ клеток в корковом веществе тимуса у контрольных животных на всем протяжении изученного периода постнатального онтогенеза было на 5-23% выше, чем в мозговом. Изучение плотности популяции МНС-II⁺ клеток в корковом веществе тимуса у потомства крыс с ЭГД показало снижение их количества на 29-47% ($p < 0,05$) во все изученные возрастные периоды, наиболее выраженное у 3-месячного потомства. Изучение плотности популяции МНС-II⁺ клеток в мозговом веществе тимуса у потомства крыс с ЭГД показало снижение их количества на 19% ($p < 0,05$) у 1-месячного потомства, тогда как в последующие сроки количество АПК изменялось не достоверно по сравнению с контрольными животными соответствующего возраста.

Важную роль в обеспечении иммунологичес-

кой аутоотолерантности и негативном контроле как патологических, так и физиологических иммунных реакций играет популяция естественных (натуральных) CD4⁺CD25⁺регуляторных T-клеток (T_{reg}) [9,17]. Элиминация или инактивация этих клеток вызывает развитие тяжелых аутоиммунных заболеваний, а также приводит к усилению иммунного ответа на аллоантигены и опухолевые клетки [4].

В результате проведенных исследований установлено, что количество T_{reg}-клеток в мозговом веществе тимуса у контрольных 1-месячных и 3-месячных крыс соответственно на 22% и в 2,4 раза выше ($p < 0,05$), чем в корковом. Однако, уже к 6 месяцу жизни отмечается выравнивание числа T_{reg}-клеток в обеих исследованных зонах тимуса. У 1-месячного и 2-месячного потомства крыс с ЭГД наблюдается снижение суммарной плотности T_{reg}-клеток в коре тимуса на 66% ($p < 0,05$) и 55% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контрольной группой животных. У 3-месячного потомства крыс с ЭГД число T_{reg}-клеток в коре возрастает на 72% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, однако уже у 6-месячного потомства крыс с ЭГД отмечается вторая волна снижения количества T_{reg}-клеток. В мозговом веществе тимуса суммарная плотность T_{reg}-клеток у потомства крыс с ЭГД снижена во все исследуемые сроки на 51-67% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными соответствующего возраста.

Функциональная дефектность CD4⁺CD25⁺ T_{reg}-клеток обнаружена при многих аутоиммунных заболеваниях человека и моделирующей их экспериментальной патологии, прежде всего при СД 1 типа. Так, у мышей-самок линии NOD, у которых спонтанно развивается заболевание, моделирующее СД типа 1, T_{reg}-клетки-продуценты TGFβ определяют в островковой ткани, но их содержание и функциональная активность снижаются с возрастом [20]. Введение CD4⁺CD25⁺T-клеток дозозависимо снижает частоту спонтанного развития диабета у мышей линии NOD. Эти клетки отменяют индукцию диабета при адоптивном переносе CD4⁺CD25⁺ клеток от мышей NOD [9]. Трансплантация диабетическим мышам линии NOD островковой ткани с параллельным инфицированием их вирусным вектором, несущим ген TGFβ, приводит к усилению инфильтрации трансплантата островковой ткани CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺клетками и повышению приживаемости трансплантата [19]. Дефект супрессорных функций T_{reg}-клеток был обнаружен и у пациентов с СД 1 типа, что проявлялось снижением выработки интерлейкина-10 и изменением содержания внутриклеточного CTLA (cytotoxic T lymphocyte antigen 4) [13].

Выводы

1. У потомства крыс с ЭГД обнаруживаются множественные иммунорегуляторные нарушения морфогенеза тимуса: изменения процес-

сов дифференцировки натуральных T_{reg} -клеток, снижение числа АПК и инсулин-иммунопозитивных клеток, а также изменения уровня экспрессии аутоиммунного регулятора AIRE и иммунной субъединицы протеасомы LMP-2.

2. Обнаруженные изменения морфогенеза тимуса нарушают нормальное течение процессов апоптоза и процессинга антигенов, селекции тимоцитов и формирования центральной толерантности к панкреатическим антигенам, что является одним из важнейших факторов риска, способствующих развитию аутоиммунной патологии, в том числе и СД, у потомства.

Литература:

1. Колесник Ю.М. Морфофункциональная характеристика эпителиоретикулоцитов тимуса у потомства крыс с экспериментальным гестационным диабетом / Колесник Ю.М., Камышный А.М., Абрамов А.В., Калиниченко Н.А. // Патологія – 2006. - Т.3.-№2.-С. 32-37.
2. Пат. на корисну модель Україна, МПКG09B 23/28 (2006/01). Спосіб моделювання гестаційного діабету у щурів лінії Вістар для вивчення його наслідків для нащадків / Колесник Ю. М., Абрамов А. В., Бєленічев І. Ф. [та ін.]. - № 17281; заявл. 31.03.06; опубл. 15.09.06, Бюл. № 9.
3. Торбек В. Э. Ультраструктура эпителиоцитов тимуса / Торбек В. Э., Юрина Н. А. // Вестн. РУДН. Сер. Медицина. - 2000. - № 2. - С. 45–49.
4. Ярилин А. А. Регуляторные Foxp3+ Т-клетки и их роль при аллергии / Ярилин А. А., Донецкова А. Д. // Рос. алергологич. журн. - 2005. - № 2. - С. 22–26.
5. Advances in type I diabetes associated tolerance mechanisms / Chentoufi A., Binder N., Berka N. [et al.] // Scandinavian J. of Immunology. - 2008. - Vol. 68. - P. 1–11.
6. Assche F. Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy / Assche F., Holemans K., Aerts L. // Brit. Med. Bull. - 2001. - Vol. 60. - P. 173–182.
7. Bach J. Immunotherapy of type 1 diabetes: lessons for other autoimmune diseases / J. Bach // Arthritis Research. - 2002. - Vol. 4. - P. 3–15.
8. Borissenko L. Diversity of proteasomal missions: fine tuning of the immune response / Borissenko L., Groll M. // Biol. Chem. - 2007. - Vol. 388, N 9. - P. 947–955.
9. Control of type I autoimmune diabetes by naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T lymphocytes in neonatal NOD mice / Piccirillo C., Tritt M., Sgouroudis E. [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. - 2005. - Vol. 1051. - P. 72–87.
10. DeMartino G. Proteasomes: machines for all reasons / DeMartino G., Gillette T. // Cell. - 2007. - Vol. 129. - P. 659–662.
11. Extrapancratic insulin-producing cells in multiple organs in diabetes / Kojima H., Fujimiya M., Matsumura K. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2004. - Vol. 101. - P. 2458–2463.
12. Importance of a thymus dysfunction in the pathophysiology of type 1 diabetes / Geenen V., Brilot F., Louis C. [et al.] // Rev. Med. Liege. - 2005. - Vol. 60. - P. 291–296.
13. Lindley S. Defective suppressor function in CD4+CD25+T-cells from patients with type 1 diabetes / Lindley S., Dayan C. // Diabetes. - 2005. - Vol. 54. - P. 92–99.
14. Mathis D. A decade of AIRE / Mathis D., Benoist C. // Nature Reviews Immunology. - 2007. - Vol. 7. - P. 645–650.
15. Modulation of Aire regulates the expression of tissue-restricted antigens / Kont V., Laan M., Kisand K. [et al.] // Mol. Immunol. - 2008. - Vol. 45. - P. 25–33.
16. Pancreatic hormone expression in the murine thymus: localization in dendritic cells and macrophages / Thorsby M., Homo-Delarche F., Chevenne D. [et al.] // Endocrinology. - 1998. - Vol. 139. - P. 2399–2406.
17. Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses / S. Sakaguchi // Annu. Rev. Immunol. - 2004. - Vol. 22. - P. 531–562.
18. Sharova N. P. Immune proteasomes and immunity / N. P. Sharova // Ontogenes. - 2006. - Vol. 37. - P. 171–178.
19. Single cell analysis shows decreasing FoxP3 and TGF beta 1 coexpressing CD4+CD25+ regulatory T cells during autoimmune diabetes / Pop S., Wong C., Culton D. [et al.] // J. Exp. Med. - 2005. - Vol. 201. - P. 1333–1346.
20. Systemic transforming growth factor-beta 1 gene therapy induces Foxp3+ regulatory cells, restores self-tolerance, and facilitates regeneration of beta cell function in overtly diabetic nonobese diabetic mice / Luo X., Yang H., Kim I. [et al.] // Transplantation. - 2005. - Vol. 79. - P. 1091–1096.

Реферат

ІМУНОРЕГУЛЯТОРНІ ПОРУШЕННЯ МОРФОГЕНЕЗА ТИМУСА У НАЩАДКІВ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГЕСТАЦІЙНИМ ДІАБЕТОМ

Камышный О.М.

Ключові слова: тимус, ЕГД, інсулін, T_{reg} -клітини, АПК, AIRE, LMP-2

Досліджувався морфофункційний стан інсулін-експресуючих, антигенпрезентуючих, T_{reg} -клітин тимуса, особливості тимічної експресії імунної субодиниці протеасоми LMP-2 та аутоімунного регулятора AIRE у нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД). Визначення проводили імуногістохімічними методами прямої та непрямой імунофлюоресценції з використанням МКАТ до інсуліну, МНС-2-антигену, CD25-антигену, білкам AIRE та LMP-2 щура. Встановлено, що у нащадків щурів з ЕГД спостерігаються імунорегуляторні порушення морфогенеза тимуса: зміни процесів диференціювання T_{reg} -клітин, рівня експресії білків AIRE та LMP-2, зниження кількості АПК та інсулін-імунопозитивних клітин, що порушує нормальний стан процесів апоптозу, селекції тимоцитів та формування центральної толерантності до панкреатичних антигенів.

Summary

IMMUNOREGULATION DISORDERS OF THYMUS MORPHOGENESIS IN RAT OFFSPRINGS WITH EXPERIMENTAL GESTATIONAL DIABETES

Kamyshny A.M.

Key words: thymus, gestational diabetes, insulin, T_{reg} -cells, APC, AIRE, LMP-2.

The morphofunctional status of insulin-expressing, antigen-presenting, T_{reg} -cells, AIRE⁺ and LMP-2⁺ thymic cells was investigated in rat offsprings with experimental gestational diabetes. The immunohistochemical direct and indirect immunofluorescence method with monoclonal antibodies to rat's insulin, MHC-2-antigen, CD25-antigen, AIRE and LMP-2 proteins was used. Multiple immunoregulation disorders were discovered in thymus of rat offsprings with experimental gestational diabetes: modification of T_{reg} -cells differentiation process, decreased expression of AIRE and LMP-2 proteins, reduction in antigen-presenting and insulin-positive cell number. These disorders impair the normal course of apoptosis processes, antigen processing, thymic cells selection and forming central tolerance to pancreatic antigens.

УДК: 612.084:59(4-62ЄС)(73)(048.8)

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ЕКСПЕРИМЕНТИ З ВИКОРИСТАННЯМ ТВАРИН В КРАЇНАХ ЄВРОСОЮЗУ ТА США

Ковальський М.П., Проконець К.О.

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

В представленому огляді літератури наведені погляди, які існують в наш час в країнах Євросоюзу та США на суспільному, науковому та законодавчому рівнях щодо проведення наукових експериментів на тваринах, і відображені тенденції їх подальшої трансформації.

Ключові слова: експериментальні тварини, етика, медицина, норми, освіта.

На цей час немає загально визнаного базисного підходу для створення єдиної думки стосовно експериментів на тваринах. Теорії і підходи продовжують розроблятися й удосконалюватися [15].

У Великобританії перевага надається гуманістичній позиції, що визнає борг людей перед тваринами. У США пріоритет має захист прав тварин. Тварини захищаються від сваволі, у тому числі й з боку власників. Хоча зараз закони захищають тварин від жорстокості і страждань, вони можуть бути розширені й прихистити життя тварин. Рухи захисників тварин гуртуються навколо ідеї прав тварин. Меті їх чітко визначені змінити суспільну думку так, щоб виключити такі явища, як харчування м'ясом, хутрові ферми, полювання й рибальство, використання тварин в експериментах. Аргументується необхідність обмеження сучасної медицини й перехід до інших природних шляхів оздоровлення людського суспільства. Критичні думки про користь для медицини експериментів на тваринах висловлюють не тільки активісти рухів захисників тварин, але й медики. Незалежний Комітет з модернізації медичних досліджень (MRMC), що поєднує американських лікарів, опублікував ряд спеціальних повідомлень, присвячених цьому питанню [1], [3]. На основі аналізу досягнень сучасної медицини приводяться дані, що показують, що прогрес медицини пов'язаний з клінічними спостереженнями за хворими, а не з експериментами на тваринах. Це лікування таких захворювань, як гепатит, ревматизм, тиф, виразковий коліт, хвороби щитоподібної залози, а також найважливіші відкриття в імунології, анестезіології й у лікуванні депресивних станів. Багато важливих медичних відкриттів були зроблені з запізненням через помилкову інформацію, отриману в експериментах на тваринах (наприклад, поліомієліт). «Війна проти раку» почалася в 1971 р., але не увінчалася успіхом - смертність від раку неухильно наростала, хоча витрати на експерименти з використанням тварин перевищили мільярд доларів у рік. Немає користі й від експериментів на тваринах при вивченні СНІДу. Прагнення ж експериментаторів проводити дослідження на тваринах пов'язані з можливістю одержання коштів, які б могли бути спрямовані на інші мети. Аналогічна думка висловлена й у роботі «Щури-алкоголіки» [5]. Проаналізувавши 3496 публікацій і 284 спеціальних проектів по вивченню алкоголізму на тваринах, автори прийшли до виснов-

ку, що це роботи для «самої роботи», практично марні для розуміння й лікування алкоголізму людини. Наскільки низка ефективність використання тварин у тестуванні лікарських препаратів показує той факт, що приблизно 90% нових лікарських засобів відбраковуються на ранніх стадіях клінічних випробувань, хоча вони пройшли багаторічні випробування на тваринах за спеціальною схемою, що включає випробування на гостру й хронічну токсичність, канцерогенність, мутагенність і тератогенність [19]. Хоча й з'явилася стійка тенденція до зниження числа експериментів на тваринах у всіх розвинених країнах світу, проте, масштаби таких робіт ще великі. У рік у світі в біомедичних дослідженнях гине кілька десятків мільйонів лабораторних тварин. Про кількісні співвідношення використання тварин в експериментах можна судити за наступним даними. Основна частина досліджень на тваринах припадає на медицину - 65%. У фундаментальних наукових дослідженнях використовується 26% від загального числа експериментальних тварин. На тестування токсичності в інших областях, крім медицини, доводиться 8%, на сферу освіти - 1%.

Щорічно в США для експериментів потрібно від 15 до 30 млн. тварин. Основні лабораторні тварини - миші й щури (85% від наведеного числа). За рік використовується по 500 тис. і більше птахів, кроликів, морських свинок і хом'яків, а також у цілому близько 400 тис. свиней, собак, кішок і мавп. Використання тварин в експериментах досягло свого піка в більшості розвинених країн між 1970 і 1980 роками, а в наступні роки знизилося на 30% і більше. У Великобританії, наприклад, воно понизилося від 5,5 млн. в 1975 до менш чим 3 млн. в 1993. Причиною цього зниження є технологічні досягнення, що дають можливість одержувати більше даних на меншій кількості тварин, помітні зміни в способах створення й удосконалення лікарських препаратів. Загально визнано, що дослідження з використанням експериментальних тварин повинні проводитися з дотриманням певних моральних норм. Вимога етичності експерименту стала обов'язковою умовою проведення експериментів на тваринах у всіх країнах світу. Це показник цивілізованості країни. На початку 1985 р. Рада міжнародних медичних наукових організацій (СМННО) опублікувала «Етичний кодекс», що містить «міжнародні рекомендації з проведення медико-біологічних досліджень з використанням

тварин» [8]. В етичному кодексі сформульовані теоретичні принципи і етичні правила, які можуть бути прийняті за основу при розробці регламентуючих мір і нормативних документів у різних країнах відносно використання тварин для біомедичних досліджень. Рекомендації складені, виходячи з наступних положень:

- у принципі використання тварин для наукових цілей небажано,

- по можливості варто застосовувати методи, що не вимагають використання тварин,

- при існуючому рівні знань використання тварин є неминучим,

- моральний борг вчених - гуманно ставитися до тварин, по можливості не заподіювати їм болю й незручності, й постійно прагнути вишукувати способи одержання того ж результату без залучення живих тварин.

Існують методи порівняльної оцінки важливості проекту й тих страждань, які при виконанні його будуть мати тварини, що дозволяють сказати, наскільки виправданий проект [11], [12]. В 1959 р. Рассел і Берч [18] запропонували концепцію «трьох R» («The three Rs»), якої варто дотримуватися при проведенні експериментів на тварин. Вона включає три складові: replacement - заміна, reduction - зменшення й refinement - підвищення якості. Заміна (replacement). Коли це можливо, то треба замінювати тварин іншими моделями й прийомами, наприклад, культурами клітин тканин, комп'ютерними й біохімічними моделями: замість ссавців використовувати тварин з менш розвинутою нервовою системою, а замість живих тварин - ізольовані органи. Проблеми заміни тварин на альтернативні моделі приділяється дуже велика увага [17], [20]. Альтернативні методи знайшли застосування в різних областях: при виробництві вакцин, у вірусології, у токсикологічних дослідженнях, при тестуванні безпеки різних продуктів і лікарських препаратів, у фізіологічних дослідженнях, санітарно-гігієнічних роботах. Число тварин, які були використані у біомедичних експериментах у європейських країнах, безупинно знижується, що багато в чому визначається заміщенням. Найбільш складно використовувати альтернативи при вивченні поведінки тварин (поведінкові тести), в експериментальній хірургії. В 1969 р. зусиллями Дороті Хегарті був створений фонд фінансової підтримки робіт із заміни тварин у медичних експериментах (FRAME) [2], [7]. Пізніше фонди, що підтримують розробку й впровадження альтернатив, виникли в США, Франції, Швейцарії, Швеції, Бельгії й інших країн миру. Розробка альтернатив підтримується й державним фінансуванням. Фонд FRAME організував випуск спеціального журналу «ATLA» (альтернативи до лабораторних тварин). Статті по альтернативних методах публікуються й в інших міжнародних журналах: «Toxicology in vitro» (Оксфорд, Нью-Йорк, Сеул, Токіо). «AATEX» (альтернативи до використання тварин для тестування й експериментів), що ви-

пускається в Японії, «ALTEX» (альтернативи експериментам на тваринах), що видається в Німеччині. У США з осені 1995 р. почав виходити журнал «JAAWS» - про застосування законів щодо захисту тварин у науці. З ініціативи фонду FRAME створений Європейський дослідницький Центр для твердження (валидації) альтернативних методів (ECVAM) і Європейська дослідницька група по альтернативах у токсикологічному тестуванні (ERGATT, Італія). Спеціальні центри створені й в інших країнах, наприклад, у США (CAAT - центр альтернатив до тестування на тварин), у Швеції (MEIC - мультицентр по оцінці in vitro тестів на цитотоксичність, основна мета - заміна тестів по визначенню LD₅₀), у Нідерландах (NCA - Нідерландський центр альтернатив використанню тварин).

Інформація, що має відношення до розробки альтернатив, збирається й аналізується в спеціальних інформаційних центрах: у США - інформаційний центр захисту тварин при національній сільськогосподарській бібліотеці, в Італії - INVITTOX (банк даних по техніці in vitro) [24], створений з ініціативи ERGATT і FRAME, і GDB - банк даних Галілея (інформація з підсумків тестування токсичних речовин за допомогою альтернативних методів in vitro) [10], а також у Німеччині - банк даних ZEBET (інформація з питань захисту тварин) [21]. Дослідження зі створення альтернативних методів активно підтримуються університетською федерацією по захисту тварин Великобританії (UFAW).

Роботи в області альтернативних методів ведуться в різних напрямках. Основні з них: - використання культур клітин тканин (методи in vitro) з метою визначення загальної токсичності хімічних сполук для людини й тварин, для оцінки імунотоксичності, нефротоксичності, гепатотоксичності, нейротоксичності, фототоксичності, канцерогенності; розробка моделей з використанням ізольованих органів (наприклад, очне яблуко) і зрізів тканин (шкіри, роги, нирки, мозку й ін.); розробка біохімічних моделей на основі складних біополімерних матриксів і тримірних багатопшарових структур; моделей з використанням риб і інших гідробіонтів [9], а також рослин, комах, бактерій, хребетних і безхребетних тварин.

Можливості заміни тварин в експериментах по оцінці безпеки речовин для людини в Європейському Союзі [13] оцінюються як перспективні.

2. Зменшення (reduction). Якщо немає можливості замінити тварин у експериментах іншими моделями, то необхідно спробувати побудувати експеримент так, щоб використовувати мінімальну кількість тварин. Цього можна досягти шляхом правильного планування експерименту [14], використання здорових тварин необхідного стандарту по екологічному й генетичному статусу. Вимоги високого ступеня повторюваності результатів біомедичних досліджень привели до розвитку спеціальної області тваринництва - ви-

рощуванню за спеціальною технологією стандартних лабораторних тварин. 3. Підвищення якості (refinement). Страждань тварин буде менше, якщо в роботі застосовується високоякісна хірургічна техніка і якщо операції виконуються досвідченими фахівцями з користуванням потрібної анестезії й забезпеченням гарного догляду за тваринами в період до й після хірургічних втручань. Присипляти тварин після експериментів треба спеціальними безболісними методами, щоб мінімізувати страждання. У дослідях по вивченню поведінки необхідно використовувати спеціально навчених тварин. Слід зазначити, що часто всі три «правила R» зв'язують з терміном «альтернативи» [4], а не тільки перше правило, що рекомендує замінити хворобливі експерименти на тварин іншими методами. Застосування правила «трех R» на практиці веде й до перегляду системи навчання в навчальних закладах біологічного профілю. Процес навчання повинен будуватися так, щоб живі тварини використовувалися тільки в найбільш необхідних випадках. Робота із трупним матеріалом і муляжами, відеофільми й комп'ютерні моделі, спеціальні навчальні програми - альтернативи, які повинні широко застосовуватися в навчальному процесі. Більшу частину необхідних практичних занять із тваринами необхідно проводити як показові, і тільки, коли професійна підготовка вимагає одержання спеціальних навичок, учні можуть самостійно працювати з тваринами, але обов'язково під безпосереднім спостереженням висококваліфікованого фахівця. У Європі активно працює суспільна студентська організація EuroNICHE, що виступає проти використання експериментів на тваринах у навчальному процесі й за право студентів одержувати біомедичну освіту без насильства над тваринами. 24 лютого 1993 р. парламент Італії прийняв закон, відповідно до якого навчальні заклади біомедичного профілю зобов'язані забезпечити можливість вчитися за індивідуальними альтернативними програмами, що виключають експерименти на тваринах.

Перші законодавчі акти, що захищали тварин від жорстокості, з'явилися в Європі на початку минулого століття. Перший закон був прийнятий у Великобританії в 1822 р., потім у Франції й у Німеччині. У другій половині XIX і початку XX століття такі закони приймали майже всі європейські країни та США. На початку 1986 р. Рада Європи прийняла Європейську конвенцію захисту тварин, котрих використовують в експериментах і для інших наукових цілей, у якій відбиті всі основні положення Етичного кодексу СММНО. Наприкінці цього ж року прийнятий ще один закон - директива Ради Європейського Економічного Співтовариства по захисту тварин в експериментах (86/609/ЕЕС). Це зобов'язало держави Європи до внесення змін у власне законодавство або прийняття нових законів, що регламентують експерименти на тваринах. Ухвалено рішення про публікацію щорічного звіту про кіль-

кість тварин, використаних в експериментах у країнах ЄС. Перший звіт по ЄС був опублікований в 1994 р. [22]. У нових законах Європейського Співтовариства став застосовуватися термін «компетентність» стосовно осіб, які можуть бути допущені до роботи із тваринами. Під цим терміном розглядають осіб, що мають відповідну освіту й практичні навички, підтверджені відповідними документами. Виходячи із цих вимог, Федерація Європейських наукових асоціацій по лабораторним тваринам (FELASA) створила в Європі – Нідерланди [23]- відповідну систему фахової освіти для бажаючих працювати з експериментальними тваринами. У травні 1986 р. парламент Великобританії прийняв новий закон про захист експериментальних тварин, який у багатьох відносинах можна вважати одним з найкращих законів у світі в цій області [6]. Він вимагає та вводить стандартизацію утримання лабораторних тварин у наукових установах і розплідниках; накладає певні вимоги на розведення тварин і їх перевезення. Визначаються умови застосування анестезії в процесі проведення експериментів і встановлюються припустимі методи евтаназії тварин. Закон окреслює коло досліджень і наукових напрямків, у яких можна використовувати експериментальних тварин; жадає від дослідників обґрунтування необхідності проведення експериментів з погляду витрат і шкоди для тварин і вигоди для людства, а також для здоров'я тварин. Найважливішим нововведенням у законі є введення ліцензійної системи. У список захищених законом внесені всі хребетні лабораторні тварини й ембріони, що пройшли 50% свого розвитку. У грудні 1992 р. ухвалене рішення включити в цей список представника головоногих молюсків - восьминога. Закон визначає й вищий контрольний орган - Комітет із процедур на тварин при Міністерстві внутрішніх справ, що підкоряється безпосередньо Міністрові внутрішніх справ [16]. Перший закон про захист експериментальних тварин у США був прийнятий лише в 1966 р. Зв'язано це з тим, що наука була недоступна поглядам суспільства, тому що це була «вільна» наука. Закон 1966 р. фактично регулював тільки вилов кішок і собак для експериментальних цілей. Потім були прийняті виправлення в 1970, 1976 і 1985 роках, що істотно змінили зміст закону. Цьому сприяло розчарування населення в можливостях медицини, розробка етичних питань філософами США й активність преси. Закон 1985 року вимагає створення Етичних комітетів у кожній установі, де використовуються тварини. Для собак і приматів необхідно забезпечити умови утримання, що відповідають високому рівню організації їх центральної нервової системи. При експериментах обов'язкове застосування знеболюючих і антістресорних препаратів. Не можна знерухомлювати тварин без анестезії. Повторні експерименти можна проводити тільки у виняткових випадках. Закон зобов'язав створити спеціальний

інформаційний центр при Національній сільськогосподарській бібліотеці для збору, аналізу й поширення інформації з альтернатив до використання тварин в експериментах. Нагляд за виконанням закону здійснюють Міністерство сільськогосподарства і Національний інститут здоров'я, але інспекція в основному обмежується перевіркою умов утримання експериментальних тварин. В установах повинні бути особи, відповідальні за роботу з лабораторними тваринами. Етичні комітети, які проводять суспільний контроль за експериментами на тварин, у своєму складі повинні мати ветеринара й хоча б одного «незалежного» члена. Комітетам дане право розглядати заявки в установі на проведення робіт з тваринами й висловлювати свою думку про можливість фінансування робіт у даній установі. Крім закону про захист тварин 1985 р. діють ще два закони: закон про добротну лабораторну практику (1978 р.) і закон про дослідження в області охорони здоров'я (1985 р.).

У США основне навантаження по контролю за виконанням законодавства про захист експериментальних тварин падає на Етичні комітети установ, які використовують тварин в експериментах, хоча є й спеціальна державна служба. Проте, аналіз показує, що ефективність державної інспекції значно вище й багато країн, особливо в Європі, віддають перевагу цій системі, хоча вона вимагає значних витрат.

Література:

1. A critical look at animal experimentation. NY.: Medical Research Modernization Committee, 1992, P.6-8.
2. Annett B. The fund for the replacement of animal in medical experiments (FRAME): the first 25 years // ATLA. - 1995. - V.23. - P.19-32.
3. Aping science: a critical analysis of research at the Yerkes regional primate research center. - N.Y.: Medical Research Modernization Committee, 1995. - P.43-45.
4. Balls M. Animal experimentation: the search for valid and acceptable alternatives // Animal experimentation: improvements and alternatives. Suppl. to ATLA. Nottingham, 1985. P.53-62.
5. Cohen M.D. and Young C. «Alcoholic» rats (and other alcohol research using animals) (a critique). National research information center, American, New England and National antivivisection societies, 1989. - P.63-64.
6. Hampson J. Law relation to animal experimentation // Laboratory animals: an introduction for new experimenters (ed. A.A.Tuffery). Chichester, UK: J.Wiley and Sons Ltd., 1990. - P.21-52.
7. Hegarty T. Dorothy Hegarty and founding of FRAME: a personal recollection // ATLA. - 1995. - V.23. - P.15-17.
8. International guiding principles for biomedical research involving animals. Geneva: Council for international organizations of medical sciences, 1985.
9. Isomaa B., Lilius H. and Rabergh C. Aquatic toxicology in vitro: a brief review // ATLA. - 1994. - V.22. - P.243-254.
10. Loprieno N., Boncristiani G., Bosco E., Nieri M. and Loprieno G. The Galileo Data Bank on toxicity testing with in vitro alternative methods. I.General structure // ATLA. - 1994. - V.22. - P.20-31.
11. Martin P. and Bateson P. Appendix to measuring behaviour. Cambridge: Cambridge university press, 1986. - P.46-49.
12. Morton D.B. and Griffiths P.H.M. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. - // Rec. H. - 1985. - V.116. - P.431-436.
13. Rasmussen E.S., Strube M. In vitro methods for safety assessment of cosmetics. Soborg: Institute of Toxicology, National Food Agency of Denmark, 1994. - P. 24-26.
14. Remfry J. Recent developments in laboratory animal science // Animal experimentation: improvements and alternatives, Suppl. to ATLA. Nottingham: FRAME, 1985. - P.25-30.
15. Remfry J. Ethical aspects of animal experimentation // Laboratory animals: An introduction for new experimenters (ed.A.A. Tuffery). - Chichester, UK: J.Wiley and Sons Ltd., 1990. - P.25-30.
16. Rollin B.E. Laws relevant to animal research in the United States // Laboratory animals: an introduction for new experimenters (ed. Tuffery A.A.). Chichester UK: J.Wiley and Sons Ltd., 1990. - P.323-333.
17. Rowan A.N. Of mice, models and men - a critical evaluation of animal research. - Albany: State university of New York Press, 1984. - P.16-19.
18. Russell W.M.S., Birch R.L. The principles of humane experimental technique. - Methuen, London, 1959. - P.98-121.
19. Sharpe R. Science on trial. The human cost of animal experiments. - Sheffield: Awareness Publishing Ltd., 1994. - P.45-49.
20. Smyth D.H. Alternatives to animal experiments. London: Scholar press in association with the research defence society, 1978. - P.78-85.
21. Spielmann H., Grune-Wolff B., Ewe S. et al. ZEBET's data bank and information service on alternatives to the use of experimental animals in Germany // ATLA. - 1992. - V.20. - P.362-367.
22. Straughan D.W. First European Commission report on statistic of animal use // ATLA. - 1994. - V.22. - P.289-292.
23. Van Zutphen B.F.M., van der Valk J.B.F. Education and training a basis for the introduction of the Three Rs alternatives into animal research // ATLA. - 1995. - V.23. - P.123-128.
24. Warren M., Atkinson K., Steer S. Introducing INVITTOX: the ERGATT/FRAME in vitro toxicology data bank // ATLA. - 1989. - V. 16. - P.332-343.

Резюме

СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА ЭКСПЕРИМЕНТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЖИВОТНЫХ В СТРАНАХ ЕВРОСОЮЗА И США

Ковальский М.П., Прокопец К.А.

Ключевые слова: медицина, нормы, образование, экспериментальные животные, этика.

В представленном обзоре литературы приведены взгляды, которые существуют в настоящее время в странах Евросоюза и США на общественном, научном и законодательном уровнях касательно проведения научных экспериментов на животных, и отражены тенденции их дальнейшей трансформации.

Summary

UP-TO-DATE VIEWS ON EXPERIMENTS WITH USE OF ANIMALS IN EU COUNTRIES AND IN THE USA (literary review).

Kovalski M., Prokopets K.

Keywords: education, ethics, experimental animals, medicine, norms.

The paper highlights the up-to-date views on using animals in experiments in EU countries and in the USA. Much attention is paid to the public, legal, and scientific approaches to the problem as well as their following tendencies and transformations.

УДК 616.853-08:615.213:616-092.9

ДИНАМІКА ФОРМУВАННЯ КОГНІТИВНИХ ДИСФУНКЦІЙ ЯК ОДНА З ХАРАКТЕРИСТИК МОДЕЛІ СПОНТАННИХ СУДОМ ЗА УМОВ ПІЛОКАРПІН-СПРИЧИНЕНОЇ ХРОНІЧНОЇ ЕПІЛЕПСІЇ

Котіова Н.В.

Одеський державний медичний університет, м. Одеса, Україна;

На моделі пілокарпін-спричинених відстрочених спонтанних судом було досліджено динаміку формування когнітивних дисфункцій в якості однієї з особливостей досліджуваної моделі хронічного судомного синдрому. Встановлено, що за умов пілокарпін-спричиненої хронічної епілепсії в щурів, у яких розвиваються відстрочені спонтанні судоми, формуються виражені когнітивні порушення, які були виявлені у вигляді погіршення формування умовного рефлекса, неможливості його збереження, а також його скорішого згасання. Розвиток відстрочених спонтанних судом не припиняє, а продовжує подальше формування когнітивних дисфункцій. Автори роблять висновок, що розвиток відстрочених спонтанних судом спричиняє формування когнітивних дисфункцій, що свідчить про адекватність застосованої моделі відповідному клінічному стану.

Ключові слова: пілокарпін, відстрочені спонтанні судоми, когнітивні дисфункції, пам'ять, умовний рефлекс, хронічний судомний синдром.

Вступ

Пілокарпінова (ПЛ) модель хронічних судом відтворює окремі особливості скроневої епілепсії у людей, зокрема, розвиток відстрочених спонтанних судом (ВСС), гібелі нейронів гіпокампу, характерних поведінкових та емоційних дисфункцій [1-3]. Аналіз проведених досліджень стосовно з'ясування патофізіологічних механізмів розвитку ВСС за умов ПЛ-спричиненої моделі хронічної епілепсії виявив, що переважна більшість робіт направлені на вивчення електрофізіологічних, морфологічних та патохімічних особливостей даної моделі [4-6]. При цьому недостатньо уваги приділялося дослідженню поведінкових [7], когнітивних змін [8], больової чутливості та інших особливостей ПЛ моделі ВСС [9], в той час як ці дані мають важливе значення в патофізіологічних механізмах відтворюваної моделі хронічної епілепсії, а також в оцінці ефективності комплексного патогенетичного лікування даної патології. Відомо, що якість життя людини із судомним синдромом, окрім суто судомних та відповідних поведінкових порушень, залежить також від вираженості дисфункції емоційного статусу та когнітивних функцій [10, 11]. Окрім суто клінічної, оскільки часто при несудомних формах судомного синдрому за умов відсутності осередкової грубої неврологічної симптоматики лише емоційні та тонкі нейропсихологічні дисфункції детермінують клінічний перебіг та характер захворювання, вказана проблема має важливу фундаментальну спрямованість. Йдеться про те, що модель хронічної епілепсії, в нашому випадку – ПЛ-спричинена модель ВСС, має бути адекватною відповідному клінічному стану, тобто відтворювати всі можливі порушення або дисфункції, які розвиваються в аналогічних ситуаціях в людей. Для перевірки висловленого вище припущення, а також для дослідження патофізіологічних механізмів спонтанних судом ми провели ретроспективний аналіз когнітивних змін за умов ПЛ моделі хронічної епілепсії. Мета роботи – порівняльні дослідження

динаміки зміни когнітивних функцій за умов моделі ПЛ-спричинених ВСС. Для цього вивчали особливості процесів навчання, а також короткочасної та довгочасної пам'яті із застосуванням 8-проміневого радіального лабіринту (ВПРЛ).

Матеріал та методи дослідження

Досліди були проведені за умов хронічного експерименту на щурах-самцях лінії Вістар масою від 170 до 220 г. Щурів містили у стандартних умовах з природною 12-год зміною світла та темряви, вологістю 60% і температурою 22 ± 1 °C. За 3 доби до початку дослідів щурів утримували в пластикових боксах з метою якомога скорішої адаптації та починали привчати до рук дослідників [11]. Роботу з лабораторними тваринами проводили з використанням існуючих міжнародних норм та етичних вимог щодо проведення дослідів за участю експериментальних тварин різних видів (Конвенція Ради Європи, 1986; Закон України від 21.02.2006, №3447-IV). Дані дослідження були проведені у відповідності до вимог комісії ОДМУ з етичного проведення дослідів.

Пілокарпін готували у розчині NaCl (pH=7.4) безпосередньо перед початком дослідів і вводили в/очер дозою 380 мг/кг. За 30 хв до цього для запобігання розвитку периферичних холіноміметичних ефектів, пов'язаних з гіперактивацією холінергічної системи, тваринам вводили М-скополамін (1,0 мг/кг; п/шк). Інтактним щурам вводили однакові об'єми М-скополаміну і 0.9% фізіологічного розчину. За поведінкою та за судомною активністю тварин спостерігали візуально впродовж 42 діб з моменту після введення ПЛ, з 10.00 до 16.00 год. протягом понеділка-п'ятниці кожного тижня. Для зниження летальності через 45 хв. з моменту розвитку епілептичного статусу щурам вводили діазепам (10 мг/кг, в/очер). Розвиток ВСС в щурів, яким вводили ПЛ, вважали за такий при наявності принаймні 1 епізоду ВСС упродовж всього терміну спостереження [12]. Виділяли такі групи спостережень: 1 група – щури із введенням ПЛ + М-скополамін, в

* Робота виконана в межах НДР кафедри фізіології Одеського державного медичного університету "Дослідити механізми розвитку хронічної лімбічної епілепсії на прикладі посттравматичної епілепсії та кіндліну з метою розробки терапевтичних підходів, що підвищують ефективність лікування та профілактики епілепсії" (№ держреєстрації 0105U008874).

яких розвивалися ВСС (n=24); 2 група – щури із введеним ПЛ + М-скополамін, в яких ВСС були відсутні (n=7); 3 група – контрольні спостереження (введення NaCl, n=10).

Схема дослідів за умов ПЛ моделі ВСС була побудована таким чином.

1. В першій серії дослідів вивчали *особливості формування умовного рефлекса (УР)* у щурів із використанням ВПРЛ. З цією метою щури підлягали режиму харчової депривації, при якому їжа була доступна щоденно протягом 1 год. Тварин доводили до 85% початкової маси обмеженням отримання їжі з вільним доступом до води. 8-проміневий радіальний лабіринт складається з вісьмикутової платформи (довжиною сторони 20 см), від якої відходять промені – доріжки 60 см навдовжки та 8 см завширшки, які закінчуються закритими ділянками. Його розташовували на висоті 1 м від поверхні підлоги [13]. Перш за все тварину, яка підлягала харчовій депривації, містили на платформу вибора в центрі лабіринта і дозволяли досліджувати його протягом 15 хв, а потім пропонували денний раціон їжі. Наступного дня у годівницю містили 200-мг харчові кульки і повторювали дослід. Ми використовували різновид даної методики з розміщенням їжі лише в 1 «рукаві» ВПРЛ, промені якого були пронумеровані за годинної стрілкою з 1 по 8.

Упродовж тренування щури привчалися, використовуючи зовнішні візуальні орієнтири, перебування їжу в харчовій годівниці, розташованій в кінці одного з «рукавів». Реєстрували послідовність відвіданих променів, кількість намагань (заходів до променів) до того моменту, як щур заходив до рукава-відгалуження, в годівницю якого знаходилися харчові шарики, а також термін знаходження там. Вхідження кожного щура до променя лабіринта вважали за такий, якщо всі чотири лапи тварини перетнули межу променя. При вистрибуванні щурів із лабіринту їх негайно повертали до тієї ж самої ділянки, в якій вони були розташовані перед цим. Упродовж одного дослідного дня тварині дозволяли здійснити 12 намагань знайти їжу в «рукаві» ВПРЛ, після чого її виймали із приладдя. Дослідження припиняли в разі, якщо щур робив шість поспіль вдалих спроб та знаходив їжу, або якщо щур упродовж 10 хв їжу не знаходив.

Сеанси навчання розпочинали з момента введення ПЛ. Щоденно проводили по 2-3 сеанси навчання, з інтервалами поміж ними приблизно в 2 год. За 30 хв після останнього сеансу навчання щурам пропонували додаткову їжу.

- В другій серії дослідів вивчали збереження завчасно сформованого УР в тесті з використанням ВПРЛ. Для цього застосовували тренуваних щурів із завчасно виробленою навичкою знаходження їжі в одному з рукавів лабіринту.
- В третій серії дослідів за умов аналогічної моделі та аналогічного методичного устаткування вивчали опір згасанню УР, які було

сформовано в щурів завчасно. Для цього в жоден з променів ВПРЛ не містили харчові шарики, тобто застосовували негативне підкріплення.

Описані вище досліді проводили через 1, 5, 10, 15, 20, 25 та 45 (зважаючи на те, що ВСС на 45 добі вже точно сформовані [3, 5, 7, 12]) діб з моменту введення ПЛ, при цьому поведінку тварин реєстрували індивідуально для кожного щура з використанням відеокамери 'JVC'.

Отримані дані обчислювали статистично із застосуванням непараметричного критерію Круш-кал-Валліса. $P < 0.05$ обирали критерієм вірогідності.

Результати та їх обговорення

1. Формування умовного рефлекса (процес навчання).

Щури контрольної групи в тесті ВПРЛ упродовж перших сеансів навчання спромоглися знаходити харчову винагороду з першої спроби, безпомилково знаходячи харчові кульки в годівниці лабіринту. Сформований УР зберігався протягом усього терміну дослідів (Рис. 1). Вже за 1 добу після введення ПЛ кількість спроб знайти їжу в щурів, в яких потім сформувалися ВСС, була на 66% більше, ніж в щурів контрольної групи та в щурів, в яких ВСС не розвинулися. На 5 добі дослідів кількість спроб знайти їжу в щурів першої групи зросла в середньому до 15, що набуло статистичної вірогідності порівняно з відповідними початковими показниками ($P < 0.01$). Надалі, особливо, на 20 та 25 добу досліджуваній показник був ще більшим. На 45 добу дослідження він становив в середньому 17 спроб знаходження їжі ($P < 0.01$; Рис. 1). У щурів, в яких ВСС не розвинулися, кількість спроб знайти харчові кульки протягом дослідів зменшувалася. Починаючи з 20 доби дослідів досліджувані показники в цих двох групах суттєво не відрізнялися.

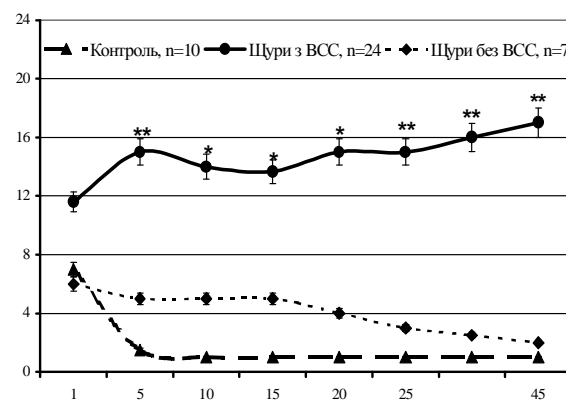


Рис. 1. Динаміка формування умовного рефлекса в тесті з використанням ВПРЛ у щурів за умов ПЛ-спричиненої моделі ВСС. За віссю абсцис – 1-25 та 45 – дні після введення пілокарпіну. За віссю ординат – кількість спроб заходження до рукава лабіринту до моменту вдалої локалізації їжі протягом навчання.

Примітки: * - $P < 0.05$, ** - $P < 0.01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними показниками на першій добі дослідження (критерій Круш-кал-Валліса).

2. Збереження набутого умовного рефлекса (пам'ять).

Щури контрольної групи протягом 45 діб спостереження зберігали здатність безпомилкового знаходження їжі в одному з рукавів ВПРЛ. Досліджувані показники в групі щурів, яким ввели ПЛ, проте ВСС в них не розвинулися, не відрізнялися від аналогічних при контрольних спостереженнях (Рис. 2). Щури, в яких з часом розвинулися ВСС, на 1 добу після введення ПЛ спромоглися знайти їжу в середньому з 5 спроб, що суттєво перевищувало відповідні дані у висхідних спостереженнях ($P < 0.05$). Надалі щури були здатні знаходити їжу лише після 8 (10 доба), 10 (20 доба) 11 (25 доба) спроб, що було значно гіршим показниками при порівнянні з початковими значеннями, коли УР було сформовано ($P < 0.05$). На 45 добу досліду щури були здатні знайти їжу лише внаслідок 15 спроб ($P < 0.05$).

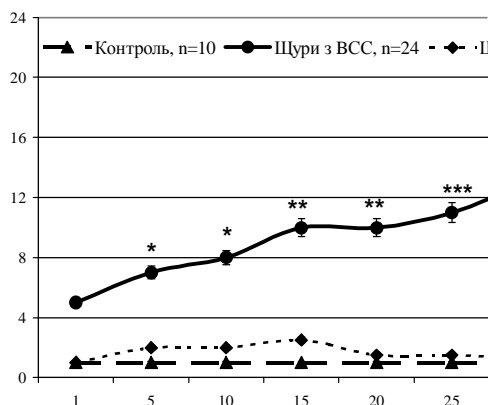


Рис. 2. Динаміка збереження умовного рефлекса в тесті з використанням ВПРЛ у щурів за умов ПЛ-спричиненої моделі ВСС.

Позначення такі ж самі, що й на рис. 1.

Примітки: * - $P < 0.05$, ** - $P < 0.01$, *** - $P < 0.001$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними показниками на першій добі дослідження (критерій Крушкел-Валліса).

3. Згасання умовного рефлекса (пам'ять).

Щури контрольної групи при відсутності харчових кульок у рукавах лабіринту підсилювали свою дослідницьку активність, намагаючись знайти їжу, що спричиняло поступове зростання кількості входів до променів лабіринту з 1 до 7 протягом досліду (Рис. 3). Кількість заходів до рукавів лабіринту щурів із введенням ПЛ, в яких ВСС не розвивалися, практично не відрізнялася від аналогічних показників у щурів контрольної групи. Щури, у яких введення ПЛ спричинило розвиток ВСС, не знаходячи їжу в одному з променів лабіринту, демонстрували 8 (10 доба досліду), 12 (20 доба) та 19 (45 доба) спроб знайти їжу, що суттєво перевищувало відповідні висхідні дані $P < 0.05$; Рис. 3).

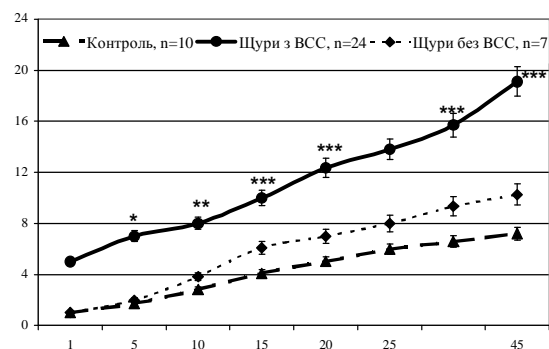


Рис. 3. Динаміка згасання умовного рефлекса в тесті з використанням ВПРЛ у щурів за умов ПЛ-спричиненої моделі ВСС.

Позначення такі ж самі, що й на рис. 2.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що за умов ПЛ-спричиненої хронічної епілепсії в щурів, у яких розвиваються ВСС, формуються виражені когнітивні порушення, що виявлялися у вигляді погіршення формування УР, неможливості його збереження, а також його прискорене згасання. В даній роботі ми перевірили не лише динаміку змін мнестичних функцій, порушення яких передують розвитку ВСС, але й їх вираженість упродовж безпосередньо ВСС. При цьому очевидно, що розвиток ВСС супроводжувався подальшим розвитком когнітивних дисфункцій. При цьому динаміка розвитку порушення когнітивних функцій прогресувала зі збільшенням терміну досліду, набувавши максимуму на момент розвитку ВСС.

Виявлені мнестичні порушення не були зареєстровані в групі щурів, введення ПЛ в яких не спричинило розвиток ВСС. Протестовані процеси навчання та пам'яті в щурів цієї групи не відрізнялися від аналогічних в контрольних спостереженнях. Це дозволяє зробити висновок стосовно того, що безпосередньо розвиток ВСС спричиняє формування когнітивних дисфункцій, які значним чином детермінують ступінь соціальної дезадаптації людини в суспільстві за умов розвитку хронічного судомного синдрому. Слід відзначити, що порушення процесів пам'яті були виявлені за умов гострих судом, індукованих ПЛ та літієм, проте, вони аж ніяк не були пов'язані з розвитком ВСС [14, 15].

Дані, які ми отримали, узгоджуються з результатами досліджень Hort et al. [16] та Wu et al. [17], які із застосуванням водного лабіринту Морріса показали, що розвиток когнітивних порушень передують формуванню ВСС, а також те, що за цих умов в щурів порушуються процеси просторової орієнтації. Наші дані узгоджуються з даними досліджень, в яких з використанням ВПРЛ також показано гостре порушення когнітивних функцій внаслідок введення ПЛ, проте, ми прослідкували виявлені когнітивні порушення протягом більш тривалого терміну та виявили їх прогресивний розвиток з часом формування ВСС [18].

Стосовно можливих механізмів, які є відпові-

дальними за розвиток когнітивних дисфункцій, звертають на себе увагу дослідження, в яких за умов ПЛ-спричинених ВСС було виявлені розвинуті гістопатологічні зміни та нейродегенеративні порушення в утвореннях лімбічної системи, які залучені до емоційної поведінки, а також до процесів навчання та пам'яті – гіпокампу, мигдалика, піриформної кори [19, 20]. Отже, тривалі порушення навчання, термінової та просторової, короткочасної та довгочасної пам'яті є наслідком гибелі нейронів наведених вище утворень лімбічної системи. Причому, аналогічні дані були отримані при морфологічному дослідженні мозку людей, хворих на скроневу епілепсію, при нейрохірургічних операціях [21].

Цікавим в цьому аспекті є дослідження [22], в якому проведені порівняльні поведінкові та гістоморфологічні дослідження за умов гострих судом, спричинених введенням ПЛ та літію. Встановлено прямий корелятивний зв'язок вираженості морфологічних порушень усередині ділянки СА₁ гіпокампу та базолатерального мигдалика з угасанням смакового УР, в той час як uszkodження медіодорзальної частини таламусу спричиняло порушення орієнтації та просторової пам'яті. Висловлюючи припущення стосовно патофізіологічних механізмів формування ВСС за умов ПЛ-спричиненої моделі хронічної епілепсії, ймовірно, що таламус відіграє важливу роль при цьому [23, 24]. Перспективи наших подальших досліджень саме полягатимуть у визначенні ролі утворень таламусу в розвитку ВСС за умов досліджуваної моделі.

Резюмуючи, слід вказати, що виявлені когнітивні порушення за умов ПЛ-спричиненої моделі ВСС, додатково до показаних поведінкових, електрографічних, біохімічних та судомних особливостей цієї моделі, свідчать про її адекватність відповідному клінічному стану, що дозволяє її широке використання при фундаментальних дослідженнях, спрямованих на дослідження патофізіологічних механізмів розвитку спонтанної судомної активності та розробку її комплексної патогенетичної корекції.

Література

- Чепурнов С.А. Status epilepticus - новые механизмы и пути торможения (литий-пилокарпиновая модель) / С.А. Чепурнов, Н.Е. Чепурнова, О.М. Редкозубова [и др.] // Успехи физиол. наук. - 2005. - Т.36, №1. - С. 68-84.
- Klitgaard H. Pilocarpine-induced epileptogenesis in the rat: impact of initial duration of status epilepticus on electrophysiological and neuropathological alterations / H. Klitgaard, A. Matagne, J. Vanneste-Goemaere // Epilepsy Res. - 2002. - Vol.51. - P. 93-107.
- Turski W.A. Seizure produced by pilocarpine in mice: Behavioral, electroencephalographic and morphological analysis / W.A. Turski, E.A. Cavalheiro, Z.A. Bortolotto [et al.] // Brain Res. - 1984. - Vol.321. - P. 237-253.
- Bruin V.M.S. Behavioral and neurochemical alterations after lithium-pilocarpine administration in young and adult rats: a comparative study / V.M.S. Bruin, M.M.F. Marinho, F.C.F. Sousa [et al.] // Pharmacol. Biochem. Behav. - 2000. - Vol.65, N3. - P. 547-551.
- Furtado M.A. Behavioral, morphologic, and electroencephalographic evaluation of seizures induced by intrahippocampal microinjection of pilocarpine / M.A. Furtado, G.K. Braga, J.C.A. Oliveira [et al.] // Epilepsia. - 2002. - Vol.43, Suppl.5. - P. 37-39.
- Szyndler J. Behavioral, biochemical and histological studies in a model of pilocarpine-induced spontaneous recurrent seizures / J. Szyndler, T. Wierzb-Bobrowicz, A. Skorzewska [et al.] // Pharmacol. Biochem. Behav. - 2005. - Vol.81. - P. 15-23.
- Leite J.P. Spontaneous recurrent seizures in rats: An experimental model of partial epilepsy / J.P. Leite, Z.A. Bortolotto, E.A. Cavalheiro // Neurosci. Behav. Rev. - 1990. - Vol.14. - P. 511-517.
- Hort F. Cognitive functions after pilocarpine-induced status epilepticus: changes during silent period precede appearance of spontaneous recurrent seizures / F. Hort, G. Broiek, P. Mares [et al.] // Epilepsia. - 1999. - Vol.40, N9. - P. 1177-1183.
- Leite J.P. New insights from the use of pilocarpine and kainate models / J.P. Leite, N. Garcia-Cairasco, E.A. Cavalheiro // Epilepsy Res. - 2002. - Vol.50. - P.93-103.
- Marsh L. Psychiatric complications in patients with epilepsy: a review / L. Marsh, V. Rao // Epilepsy Res. - 2002. -Vol.49. -P. 11-33.
- Vazquez B. Epilepsy and anxiety / B. Vazquez, O. Devinsky // Epilepsy Behav. - 2003. - Vol.4, Suppl. - S. 20-25.
- Шандра А.А. Патофизиологические механизмы развития спонтанной судорожной активности / А.А. Шандра, Н.В. Копьева // Вісник психіатрії та психофармакології. - 2008. - №2(14). - С. 7-17.
- Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. - М.: Высшая школа, 1991. - 400 с.
- Harrigan T. Radial maze learning deficits and mediodorsal thalamic damage in context of multifocal seizure-induced brain lesions / T. Harrigan, O. Peredery, M.A. Persinger // Behav. Neurosci. - 1991. - Vol.105. - P. 482-486.
- Kostakos M. Deficits in working but not reference memory in adult rats in which limbic seizures had been induced before weaning: implications for early brain injuries / M. Kostakos, M.A. Persinger, O. Peredery // Neurosci. Lett. - 1993. - Vol.158. - P. 209-212.
- Hort J. Cognitive functions after pilocarpine-induced status epilepticus: changes during silent period precede appearance of spontaneous recurrent seizures / J. Hort, G. Brozek, P. Mares [et al.] // Epilepsia. - 1999. - Vol.40. - P. 1177-1183.
- Wu C.L. Lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in immature rats results in long-term deficits in spatial learning and hippocampal cell loss / C.L. Wu, L.T. Huang, C.W. Liou [et al.] // Neurosci. Lett. - 2001. - Vol.312. - P. 113-117.
- Leite J.P. Learning impairment in chronic epileptic rats following pilocarpine-induced status epilepticus / J.P. Leite, E.M. Nakamura, T. Lemos [et al.] // Brazil. J. Med. Biol. Res. - 1990. - Vol.23. - P. 681-683.
- Liu A. Quantitative evaluation of neuronal loss in the dorsal hippocampus in rats with long-term pilocarpine seizures / A. Liu, T. Nagao, G.C. Desjardis [et al.] // Epilepsy Res. - 1994. - Vol.17. - P. 237-247.
- Scharfman H.E. Epilepsy as an example of neural plasticity / H.E. Scharfman // Neuroscientist. - 2002. - Vol.8. -P. 154-173.
- Scheepers M. Epilepsy and behavior / M. Scheepers, M. Kerr // Curr. Opin. Neurol. - 2003. -Vol.16. - P.183-187.
- Persinger M.A. Dissociation between conditioned taste aversion and radial maze learning following seizure-induced multifocal brain damage: quantitative tests of serial vs. parallel circuit models of memory / M.A. Persinger, Y.R. Bureau, O. Peredery // Physiol. Behav. - 1994. - Vol.56. - P. 225-235.
- Шандра А.А. Нейрофизиологические механизмы лимбической эпилепсии / А.А. Шандра // Научные труды II съезда физиологов СНГ. - Москва - Кишинев: Медицина - Здоровье, 2008. - С. 83.
- Vastyanov R. Antiepileptic effect of high-frequency stimulation and bilateral anterior thalamic nucleus lesions on pilocarpine-induced status epilepticus and spontaneous seizures / R. Vastyanov, N. Kopyova, A. Shandra // Epilepsia. - 2008. - Vol.47, Suppl. - P. 108-109.

Реферат

ДИНАМИКА ФОРМИРОВАНИЯ КОГНИТИВНЫХ ДИСФУНКЦИЙ КАК ОДНА ИЗ ХАРАКТЕРИСТИК МОДЕЛИ СПОНТАННЫХ СУДОРОГ В УСЛОВИЯХ ПИЛОКАРПИН-ВЫЗВАННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Копьёва Н.В.

Ключевые слова: пилокарпин, отсроченные спонтанные судороги, когнитивные дисфункции, память, условный рефлекс, хронический судорожный синдром.

На модели пилокарпин-вызванных отсроченных спонтанных судорог была исследована динамика формирования когнитивных дисфункций как одной из особенностей исследованной модели хронического судорожного синдрома. Показано, что в условиях пилокарпин-вызванной хронической эпилепсии у крыс, у которых развиваются отсроченные спонтанные судороги, формируются выраженные когнитивные нарушения, которые были отмечены в виде ухудшения формирования условного рефлекса, невозможности его сохранения, а также его более быстрого угасания. Развитие отсроченных спонтанных судорог не прекращается, а продолжает дальнейшее формирование когнитивных дисфункций. Авторы делают вывод о том, что развитие отсроченных спонтанных судорог способствует формированию когнитивных дисфункций, что свидетельствует об адекватности используемой модели соответствующему клиническому состоянию.

Summary

COGNITIVE FUNCTIONS FAILURE AS A CHARACTERISTIC OF SPONTANEOUS SEIZURES UNDER CONDITIONS OF PILOCARPINE-INDUCED CHRONIC EPILEPSY MODEL

Kopyova N.V.

Key words: pilocarpine, delayed spontaneous seizures, cognitive dysfunctions, memory, conditioned reflex, chronic convulsive syndrome

Dynamics of cognitive dysfunctions was investigated using pilocarpine-induced model of chronic convulsive syndrome as one of its important peculiarities. Pronounced cognitive disorders were shown to be developed throughout the pilocarpine-induced chronic epilepsy model. It has been shown the cognitive dysfunctions characterized by worsening in conditioned reflex formation, inability to retain conditioned reflex and its rapid extinction occur. The occurrence of delayed spontaneous convulsions does not stop, but even continues the further formation of cognitive failures. Authors arrived to conclusion the development of delayed spontaneous convulsions contributes to the formation of cognitive failure that proves the adequacy of the model to the clinical condition.

УДК 616.314.17-008.1.001.6:611-018

ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОПОГРАФІЇ ПЕРІОДОНТАЛЬНОЇ ЩІЛИНИ ЗУБА У СОБАК

Король Д.М., Гасюк П.А.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

Автори провели гістотопографічні дослідження періодонтальної щілини зубів у собак і дійшли висновку, що маргінальний відділ зв'язкового апарату складається переважно з колагенових волокон. У бічному відділі колагенові волокна сполучені між собою, а також з елауніновими та окситалановими волокнами, які розташовані біля судин. У апікальному відділі навколо судин розташована пухка сполучна тканина.

Ключові слова: зуби, періодонтальна щілина, волокна - колагенові, окситаланові, елаунінові.

Як свідчать дані літератури [1, 2, 3], пародонт є досить добре васкуляризованою частиною зубощелепної системи. Основним джерелом кровопостачання періодонта є альвеолярна артерія, від якої відходять гілки зубної артерії, що проникає в пульпу зуба, і міжзубна артерія, яка кровопостачає зубну альвеолу. Між зубною і міжзубною артеріями завдяки численним анастомозам утворюється, супраперіостальна артерія, що живить безпосередньо періодонт.

Зважаючи на вищеописані анатомічні особливості кровопостачання періодонта, нами проведено поглиблене його вивчення з урахуванням взаємного розташування судин відносно тканинних структур періодонта (зв'язковий апарат, цемент, кісткові балочки і т.і.).

Матеріали і методи дослідження

Вивчення проводилося на декальцинованих блоках щелеп собак, що містили у собі зуб, періодонт і прилеглу альвеолярну кістку.

Декальциновані блоки перед заливанням у парафін розділялися на 3 частини: маргінальну, яка включала коронку зуба, ясна й альвеолярний гребінь; середню частину, у якій локалізувалися корені зуба й альвеолярний відросток; нижню частину, яка містила в собі апікальну частину кореня зуба і щелепну кістку.

Таким чином, вивчені 24 блоки верхньої і нижньої щелеп собак. Для досліджень використовували безпородних собак вагою 12-15 кг.

Декальциновані блоки підлягали звичайній парафіновій гістологічній проводці. Надалі виготовлялися серійні гістотопографічні зрізи, у деяких

випадках орієнтовані у вестибуло-лінгвальному, а в частині випадків - у мезіо-дистальному напрямку.

Отримані зрізи фарбувалися звичайними гістологічними методами: гематоксилін-еозином і пікрофуксином за методом Ван-Гізона із дофарбуванням за Хартон.

Результати дослідження

Проведені гістологічні дослідження маргінальної частини періодонта показують, що волокнисті структури в даному відділі мають різний хід. Так, на вертикальному зрізі, орієнтованому на вісь зуба в маргінальному відділі при фарбуванні способом Ван-Гізона, розрізняються три типи колагенових волокон, що утворюють зубоясенну, альвеолярно-ясенну і трансептальну зв'язки.

Зубоясенна зв'язка відходить від судин підслизового шару ясен і має косий напрямок пучків колагенових волокон. Альвеолярно-ясенна зв'язка, на відміну від попередньої, не має чіткого орієнтування пучків колагенових волокон. Це пов'язано з тим, що вони зрізані в косому напрямку.

Зрештою, трансептальна зв'язка утворена подовжніми пучками колагенових волокон, що починаються від судин сітчастого шару ясен і закінчуються на гребені альвеолярного відростка.

Більш детальна будова маргінальної частини періодонта нами отримана на вертикальних відносно осі зуба зрізах, пофарбованих пікрофуксином-фуксиліном (за Ван-Гізонам із дофарбуванням за Хартон) (мал. 1).



Рис. 1. Судинно-нервовий пучок, що проникає в маргінальний періодонт і йде з підслизового шару ясен.

1. Дентин.
2. Цемент.
3. Зубоясенні волокна.
4. Альвеолярно-ясенні волокна.
5. Трансептальні волокна.
6. Судинно-нервовий пучок.
7. Судини підслизового шару ясен.

Фарбування пікрофуксином за Ван-Гізонам із дофарбуванням за Хартон. 36. 180х.

Встановлено, що поряд із колагеновими маргінальний періодонт містить проеластичні та еластичні волокна.

Необхідно зазначити, що в зубоясенних во-

локнах навколо судин сосочкового шару ясен виявляються тонкі окситаланові проеластичні волокна. Альвеолярно-ясенна зв'язка містить більш товсті за діаметром елаунінові волокна. Завдяки наявності останніх відбувається утворення грубих пучків колагенових волокон зазначеної зв'язки.

Зрештою, у трансептальних зв'язках по ходу судин міжзубних артерій і вен визначаються товсті еластичні волокна. Їхній хід має вигляд парабол, що розташовується на гребені альвеолярного відростка.

Вивчення гістологічних препаратів зв'язкового апарату бічного відділу періодонтальної щілини зуба в собаки представлене на мал.2. Періодонтальна щілина зубів у собак розташовується між цементом і кісткою альвеолярного гребеня. Цемент безпосередньо покриває дентин і складається з перпендикулярно розташованих до дентину цементобластів, між якими розташовуються тонкі волокнисті структури (цементиклі) та основна речовина. Необхідно зазначити, що іноді всю товщу цементу пронизують фуксинофільні колагенові волокна (Шарпеевські волокна), що досягають дентину.

Зв'язковий апарат бічного відділу періодонтальної щілини представлений циркулярними волокнистими структурами. Дані структури й утворюють косі волокна циркулярної зв'язки зуба. Вони в середній частині розділяються циркулярними судинами супраперіостальної артерії, що утворюється в основному з гілок меізубної артерії.

Альвеолярна кістка, що прилягає до зв'язкового апарату, пронизується численними Шарпеевськими колагеновими волокнами, що перпендикулярно йдуть відносно окістя. Іноді вони проникають у просвіт Гаверсових каналів. Більш детальне мікроскопічне вивчення ділянки бічного відділу періодонтальної щілини показує, що особливістю супраперіостальної артерії є майже повне закривання її просвіту, що звичайно буває характерно для «замикаючого» типу артеріо-венозних анастомозів.

Колагенові волокна, маючи сфінктери, у фізіологічних умовах регулюють рух крові. Безсумнівний інтерес становлять, виявлені нами поблизу артерій тонкі і середні проеластичні окситаланові фуксинофільні волокна. Останні, переплітаючись між собою, утворюють сплетіння, що сприяє утриманню судин.

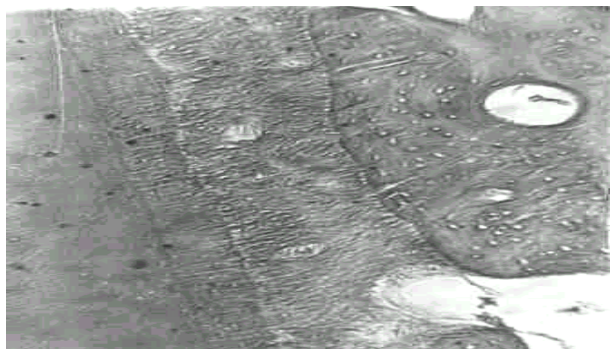


Рис. 2. Будова зв'язкового апарату бічного відділу періодонтальної щілини (циркулярна зв'язка).

1. Дентин.
 2. Цемент.
 3. Шарпеевські волокна в цементі.
 4. Волокниста структура зв'язкового апарату періодонта.
 5. Супраперіостальна артерія.
 6. Міжзубна артерія.
 7. Окістя альвеолярної кістки.
 8. Шарпеевські волокна, що проникають альвеолярну кістку.
 9. Гаверсові канали.
- Фарбування за Ван-Гізоном із дофарбуванням за Хартом.
ЗБ. 90х.

Колагенові волокна на відміну від проеластичних, більш товсті й забарвлюються фуксином у червоний колір. Ці волокна місцями утворюють грубі пучки і пронизують з одного боку цемент, а з іншого - окістя альвеолярної кістки у виді Шарпеевських волокон.

Як показують результати гістотопографічних досліджень апікального відділу періодонтальної щілини, вони трохи відрізняються від бічного.

Від цементу кореня зуба до ділянок кісткової тканини альвеолярного відростка відходять численні колагенові волокна. Місцями біля цементу вони утворюють грубі пучки, які у вигляді Шарпеевських волокон пронизують майже всю товщу цементу. Подібні грубоволокнисті пучки визначаються і поблизу кісткової лунки. Вони у вигляді Шарпеевських волокон пронизують Гаверсові канали.

Необхідно зазначити, що центральна частина пучків колагенових волокон переривається судинно-нервовим сплетенням, до складу якого входить артерія з двоеластичним контуром еластичних мембран, а також вена, контури якої чітко не визначаються.

Проведене більш детальне мікроскопічне вивчення будови апікального відділу періодонтальної щілини представлено на мал.3.

Реферат

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИСТОТОПОГРАФИИ ПЕРИОДОНТАЛЬНОЙ ЩЕЛИ ЗУБОВ У СОБАК

Король Д.М., Гасюк П.А.

Ключевые слова: зубы, периодонтальная щель, волокна – коллагеновые, окситалановые, элауниновые.

Авторы проводили гистотопографические исследования периодонтальной щели зубов у собак и пришли к выводу, что маргинальный отдел связочного аппарата состоит преимущественно из коллагеновых волокон. В боковом отделе колагеновые волокна связаны между собою, а также с элауниновыми и окситалановыми волокнами, которые размещаются возле судов. В апикальном отделе толстая соединительная ткань размещается возле судов.

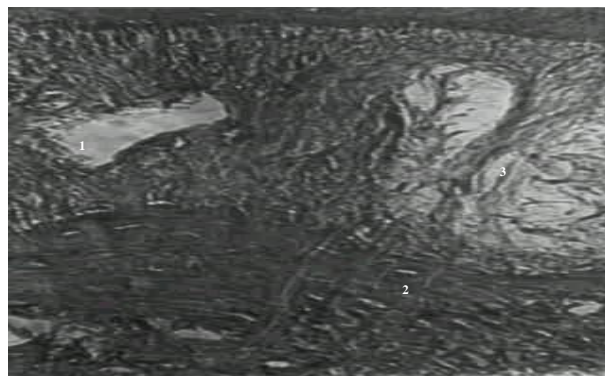


Рис. 3. Розташування колагенових волокон апікального відділу періодонтальної щілини

1. Венозні судини періодонта з рівномірним розташуванням колагенових волокон (світлих).
2. Колагенові Шарпеевські волокна, які пронизують кісткові балочки Гаверсових каналів альвеолярної кістки.
3. Периваскулярне розташування фіброblastів і фіброцитів.
4. Перпендикулярне розташування відносно цементу колагенових і проеластичних волокон.
5. Ділянка цементу.

Фарбування пікрофуксином-фукселином. ЗБ. 360х.

Встановлено, що Шарпеевські волокна пронизують вставні диски Гаверсових каналів та іноді досягають просвіту Гаверсового отвору. Навколо судин колагенові волокна потоншуються, формуючи навколо вен пухку сполучну тканину. Шарпеевські волокна, що пронизують товщу цементу, трохи тонші.

Необхідно зазначити, що на відміну від бічного відділу в апікальному відділі періодонтальної щілини окситаланові та елаунінові волокна не зустрічаються. Це, на наш погляд, обумовлено функціональними особливостями періодонта, що необхідно для амортизації зуба.

Таким чином, результати проведених досліджень маргінального відділу періодонта зубів собак свідчать про наявність трьох типів зв'язок, кожна з яких відходить від визначеної судини і прикріплюється до визначеного анатомічного утвору зуба, а також має різну будову.

Література

1. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека – С.-Петербург, 1996. - 246 с.
2. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань – М.: Медицина, 1981. -312 с.
3. Фалин Л.И. Гистология и эмбриология полости рта и зубов – М.: Медицина, 1963. - 220 с.

Summary

SOME HISTOTOPOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF PERIODONTAL FISSURE IN DOGS.

Korol D.M., Hasiuk P.A.

Key words: teeth, periodontal fissure, collagenic, oxitalanic, elaunic fibers.

The authors carried out histotopographic investigations of dogs' periodontal fissures and came to the conclusion the marginal part of ligamentous apparatus was composed mainly of collagenic fibers. In the lateral section the collagenic fibers were connected with each other as well as with elaunic and oxitalanic fibers which were located near vessels. In the apical section the thick connective tissue was located near the vessels.

УДК: 616-089: 616.149-008. 341.1.001.5

ХІРУРГІЧНА КОРЕКЦІЯ ПОРТАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ.

Костюк Г.Я., Дусик А.В., Пустовий І. Г., Хмільовий Д. А.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова

Вперше розроблено та морфофункціонально обґрунтовано новий спосіб спленоренального анастомозу. Запропонована власна методика корекції ПГ знижує тиск у лівій нирковій вені на 20 %, забезпечує порційне поступлення крові з системи ворітної у ниркову вену, що дає можливість зменшити кількість зруйнованих ниркових тілець, зменшити повнокрів'я та набряк. Морфологічні зміни епітелію каналців нефрону, гістіолімфоцитарна інфільтрація, фібробластична реакція, склероз інтерстицію у лівій нирці були меншими, ніж у лівій нирці після корекції ПГ загальноприйнятим способом.

Ключові слова: портальна гіпертензія, спленоренальний анастомоз

Вступ

При жодному хірургічному захворюванні не запропоновано такої великої кількості операцій, як при портальній гіпертензії (ПГ), підкреслюючи тим самим надзвичайну складність цієї проблеми та важкий шлях розвитку хірургічного лікування цього захворювання від простої пункції до таких складних операцій, як портокавальні анастомози [2,4].

Тому питання оперативного лікування ПГ постійно знаходяться в центрі уваги як експериментальних, так і клінічних досліджень, а також є предметом обговорення на різних форумах, з'їздах, конференціях. Розробка нових ефективних методик у лікуванні ПГ є суттєвою для хірургічної гепатології [6].

Мета дослідження розробити новий власний спосіб спленоренального анастомозу (CPA), встановити особливості розвитку та порівняти перебіг морфофункціональних змін в обох нирках при корекції ПГ шляхом накладання CPA різними способами.

Матеріали та методи

Дослідження було проведено на безпородних собаках масою 15 - 20кг одного віку. Собак утримували в умовах віварію. Тварини були поділені на 2 групи. Тваринам 1 групи (12 собак) через 30 днів після моделювання ПГ формували (CPA). Тваринам 2 групи (12 собак) через 30 днів після моделювання ПГ формували (CPA) за власною методикою.

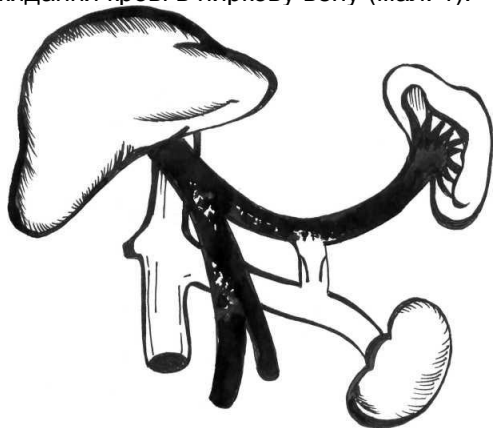
Тваринам 1 групи виконували накладання CPA

за загальноприйнятою методикою. Виконували верхню середню лапаротомію з висіченням післяопераційного рубця. Проводили ревізію черевної порожнини. Мобілізували шлунково-ободову зв'язку до селезінкового кута ободової кишки. Коли селезінковий кут стає більш мобільним, проводили його тракцію донизу та вправо. Під селезінкою за парієтальним листком очеревини візуалізується контур лівої нирки. Селезінкову вену виділяли на відстані 4 см. Дрібні гілки обережно перев'язували. Потім приступали до виділення лівої ниркової вени. Розсікли задній листок парієтальної очеревини. Потім мобілізували ниркову вену на відстані 4 см, в основному тупим шляхом. Коли ниркова та селезінкова вени були достатньо мобілізовані, на них накладали судинні затискачі. У стінках вен висікали напівовальний отвір довжиною 6-8 мм та шириною 2-3 мм. Накладали судинний CPA бік у бік. Вимірювали тиск та швидкість об'ємного кровотоку в ниркових венах та в системі ворітної вени.

Тваринам 2 групи через 30 днів після моделювання ПГ формували CPA за новим власним методом [1]. Спосіб здійснювався наступним чином. Виконували виділення та забір венозного аутоотрансплантату з клапаном з великої підшкірної вени задньої кінцівки. Після розтину черевної порожнини проводили ревізію та визначення топографоанатомічного співвідношення органів. Селезінкову вену виділяли на відстані 4 см. Мількі гілки обережно перев'язували. Потім приступали до виділення лівої ниркової вени. Розсікали задній листок парієтальної очеревини. Потім

* Науково-дослідна робота кафедри: "Особливості компенсаторно-приспосувальних процесів в організмі при захворюваннях органів черевної порожнини, малого таза та клініко-експериментальне обґрунтування нових способів хірургічного лікування". № держреєстрації 0106U006045.

мобілізували ниркову вену на відстані 4 см, в основному тупим шляхом. Коли ниркова та селезінкова вени були достатньо мобілізовані, на них накладають судинні затискачі. Далі виконували накладання CPA за допомогою аутовенозного трансплантату. Спочатку трансплантат приєднують до ниркової вени, а потім пришивають до селезінкової вени, так що кишень клапану розташовують до ниркової вени. При підвищенні тиску, в системі ворітної вени проходить скидання крові з селезінкової до ниркової вени. При вирівнюванні тиску в нирковій вені та селезінковій венах клапан зачинається, що попереджує скидання крові в ниркову вену (мал. 1).



Мал. 1. Схема накладання спленоренального анастомозу за власною методикою.

Тварин всіх груп, відповідно за терміном спостереження, виводили з експерименту шляхом передозування наркозу через 1, 3, 6 місяців після початку експерименту. Для гістологічних досліджень брали фрагменти тканин нирок. Матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні, з послідуною заливкою в парафін. Зрізи товщиною 3-5 мкм фарбували гематоксилин-еозином. Визначали швидкість об'ємного кровотоку та тиску у ворітній вені флоуметром Transonic Animal Research Floumetres T 106 Series (USA). Визначали тиск у лівій та правій ниркових венах

Комісією з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол №3 від 18.11.2005) встановлено, що проведені дослідження відповідають етичним та морально-правовим вимогам згідно з наказом МОЗ України №281 від 01.11.2000.

Результати та їх обговорення

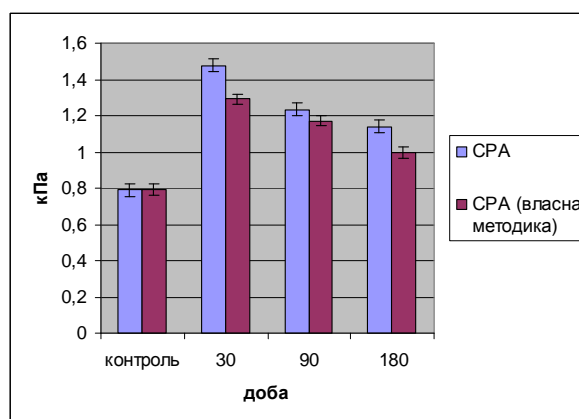
Найбільш часто для створення моделі ПГ використовують звуження ворітної вени. Застосована нами модель ПГ є найбільш патофізіологічно обґрунтованою для створення умов застою крові в системі ворітної вени [3,5]. Критерієм звуження було підвищення портального тиску вище 2,7 кПа, та зниження об'ємного кровотоку в ворітній вені не менш, ніж на 50 % стосовно до початкового.

У тварин 1 групи через 30 днів після корекції ПГ

CPA тиск у правій нирковій вені становив $0,69 \pm 0,014$ кПа, тиск у лівій нирковій вені був $1,234 \pm 0,029$ кПа, через 90 днів - тиск у правій нирковій вені становив $0,69 \pm 0,014$ кПа, в лівій - $1,234 \pm 0,029$ кПа, через 180 днів тиск у правій нирковій вені становив $0,700 \pm 0,003$ кПа, в лівій - $1,14 \pm 0,03$ кПа.

У тварин 2 групи через 30 днів після корекції ПГ CPA за власною методикою тиск у правій нирковій вені набував величини $0,70 \pm 0,04$ кПа, в лівій нирковій вені - $1,29 \pm 0,021$ кПа. Через 90 днів тиск у правій нирковій вені становив $0,696 \pm 0,016$ кПа, тиск у лівій нирковій вені був $1,172 \pm 0,022$ кПа. Через 180 днів після корекції ПГ CPA за власною методикою тиск у правій нирковій вені набував величини $0,68 \pm 0,04$ кПа, у лівій нирковій вені - $0,864 \pm 0,028$ кПа (мал. 2).

У тварин 1 групи, через 90 - 180 днів після корекції ПГ CPA за загальноприйнятим методом, постійний високий тиск у системі лівої ниркової вени при формуванні CPA призводить до ішемії кіркової та мозкової речовини, розвитку дистрофічних змін епітелію канальців нефрону, гістіолейкоцитарної інфільтрації, фіброblastичної реакції та склерозу не лише інтерстицію, а й стромі. Збільшення розмірів нефронів правої нирки у тварин, яким на фоні ПГ формували CPA, вказує на те, що вона компенсаторно виконує більшу частину функціонального навантаження. Як показали наші дослідження, найбільш виражений ступінь гломерулярних і тубулярних ушкоджень спостерігався через 6 місяців експерименту. У всіх тварин даної групи гістіолімфоцитарна інфільтрація, фіброз, склероз були більше виражені у мозковій, ніж у кірковій речовині. Відносно некротичних та дистрофічних змін в ниркових тільцях і канальцях нефронів, то вони були більше виражені у кіркових, ніж у навколomозкових нефронах.



Мал. 2. Зміни тиску у лівій нирковій вені при корекції ПГ CPA та CPA власною методикою (кПа).

У тварин 2 групи після корекції ПГ CPA за власною методикою патологічні зміни в нирках були виражені менше, ніж у групі тварин після корекції ПГ CPA за загальноприйнятою методикою. Важливим є те, що запропоноване оперативне втру-

чання призводить до зменшення тиску в лівій нирковій вені на 20 %, покращення кровообігу, зменшення просвіту судин, повнокрів'я та набряку. Також після формування CPA за власною методикою покращується гемодинаміка в системі ворітної вени порівняно з тваринами при корекції ПГ CPA за загальноприйнятою методикою. Позитивним було те, що зміни епітелію канальців нефрону, гістіолейкоцитарна інфільтрація, фібробластична реакція, склероз інтерстицію були виражені менше, ніж у тварин з корекцією ПГ CPA за загальноприйнятою методикою. Необхідно також відзначити, що гістіолімфоцитарна інфільтрація, фіброз і склероз, як і у групі тварин з корекцією ПГ CPA, були більше виражені у мозковій, ніж у кірковій речовині.

Висновки

Вперше розроблено та морфофункціонально обґрунтовано новий спосіб спленоренального анастомозу. Запропонована власна методика корекції ПГ знижує тиск у лівій нирковій вені на 20 %, забезпечує порційне поступлення крові з системи ворітної у ниркову вену, що дає можливість зменшити кількість зруйнованих ниркових тілець, зменшити повнокрів'я та набряк. Морфологічні зміни епітелію канальців нефрону, гістіо-

лімфоцитарна інфільтрація, фібробластична реакція, склероз інтерстицію у лівій нирці були меншими, ніж у лівій нирці після корекції ПГ загальноприйнятим способом.

Література

1. Деклараційний патент на корисну модель №16498 МПК(2006) А61В 17/04. Спосіб формування спленоренального анастомозу / Дусик А.В., Костюк Г.Я. Заявлено 06.02.2006; Опубл. 15. 08. 2006 // Бюл. №8.
2. Зурбаев Н. Т. К вопросу о целесообразности спленэктомии при декомпрессии портальной системы у детей с внутрипечёночной портальной гипертензией / Н. Т. Зурбаев, В. М. Сенякович, В. Т. Строкова // Анналы хирургии. - 2005. - №3. - С. 44-50.
3. Ковальский М.П. Морфологическая оценка изменений печени и поджелудочной железы в условиях портальной гипертензии и её хирургической коррекции в эксперименте : автореф. дис. на соискание научной степени доктора мед. наук : спец. 14.03.01 "Нормальная анатомия" / М. П. Ковальский. - Киев, 1992. - 32 с.
4. Осложнения после эндоскопических вмешательств у больных портальной гипертензией / А.Г. Шенцингер, С.Б. Жигалова, Р.А. Мусин, А.И. Демьянов и др. // Анн. хир. гепатологии. - 2007. - Т. 12, №2. - С. 16-21.
5. Шалимов А. А. Руководство по экспериментальной хирургии / А.А. Шалимов, А. П. Радзиховский. - М.: Медицина, 1989. - 272 с.
6. Эмилио Итала. Атлас абдоминальной хирургии: В 2 т / Пер. с англ. - М.: Мед. лит, 2006. - Т.1: Хирургия печени, желчных путей, поджелудочной железы и портальной системы 508 с.

ХИРУРГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Костюк Г.Я., Дусик А.В., Пустовой И. Г., Хмелевой Д. А.

Ключевые слова: портальная гипертензия, спленоренальный анастомоз.

Впервые разработан и морфофункціонально обоснован новый способ спленоренального анастомоза. Предложенная собственная методика коррекции ПГ снижает давление в левой почечной вене на 20 %, обеспечивает порционное поступление крови из системы воротной вены в почечную вену, уменьшает полнокровие и отек. Морфологические изменения эпителия канальцев нефрона, гистиолимфоцитарная инфильтрация, фибробластическая реакция, склероз интерстиция в левой почке при коррекции ПГ CPA собственным методом были меньше, чем в левой почке после коррекции ПГ общепринятым способом.

SURGICAL CORRECTION OF PORTAL HYPERTENSION (EXPERIMENTAL RESEARCH).

Kostyuk G.YA., Dusik A.V., I. G. Pustoviy I.G., Hmiloviy D.A.

Key words: portal hypertension, splenorenal shunting

The pioneer method of splenorenal shunting has been worked out and both morphologically and functionally proved. This method allows to decrease the pressure in the left renal vein for 20%, provides proportional blood supply from the portal vein system to the renal vein, reduces plethora and edema. Morphological changes in nephron tubular epithelium, histiolympocytic infiltration, fibroblastic reactions, sclerosis of interstium in the left kidney due to the correction with own method has been observed to be less marked in comparison with the conventional correction.

УДК 57.087.4:616.62-006.6.001.5

МОДЕЛЬ ПОВЕРХНЕВОГО РАКУ СЕЧОВОГО МІХУРА В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

Костюк О.Г.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова
Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

В матеріалах роботи наводяться дані щодо лікування ПРСМ після створення його моделі на 15 тварині. Встановлено, що 2 запропоновані способи лікування ПРСМ дали позитивні результати в умовах експерименту. Проведені гістологічні дослідження стінки сечового міхура через 3 місяці після використання запропонованих способів, показали відсутність розвитку нових пухлинних утворень.

Ключові слова: поверхневий рак сечового міхура, способи лікування.

Вступ

Для моделювання патологічних станів та розробки нових оперативних втручань, найбільш часто використовують безпорідних собак. При моделюванні в експерименті будь-якого патологічного стану необхідно враховувати анатомічні і фізіологічні особливості вибраного виду тварин та їх відмінності від людини. Повідомлення про використання тварин для вивчення будови і функцій організму сягають глибокої давнини. Корисні спостереження та відкриття в експериментах на тваринах були зроблені Цельсом, Гарвеєм, Галеном, Гунтером, Клодом Бернаром, І.М. Сеченовим та І.П. Павловим. Значемість та точність результатів експериментів залежить від вибору адекватної тваринної моделі [15].

Для моделювання експериментальної онкопатології найчастіше використовують дрібні лабораторні тварини. Проте, у них важко простежити за перебігом розвитку пухлини, її стадійне прогресування, що ускладнює та унеможлиблює проведення радикальних оперативних втручань і спостереження за динамікою лікування.

За сучасною класифікацією, рак сечового міхура (РСМ) існує у двох формах – поверхнева та інвазивна. У зв'язку із великою кількістю рецидивів (80-90%) та значною імовірністю прогресування [2, 3, 14] спостерігається складність у лікуванні даної патології [9, 10, 11]. Для лікування та профілактики поверхневого раку сечового міхура (ПРСМ) відсутні універсальні способи та методи як хірургічного зокрема, так і комбінованого взагалі [4, 7, 8, 12, 13]. Тому з метою пошуку нових способів лікування ПРСМ виникає необхідність проведення експериментальних досліджень на тваринах [1, 5, 6].

Наші дослідження присвячені проблемі онкоурології, зокрема новоутворенням СМ. Для моделювання новоутворень СМ використовували безпорідних собак. Основну увагу було звернуто на поверхневі утворення СМ, які розвиваються у слизовій та підслизовій основі СМ і, за даними багатьох вчених, складають ПРСМ. Використовували дану форму РСМ тому, що вона є

найбільш розповсюдженою при даному захворюванні, з якою найчастіше звертаються хворі до лікаря, і є попередником інвазивної форми РСМ.

Метою даної роботи є створення моделі ПРСМ та обґрунтування шляхів його лікування.

Об'єкт і методи дослідження

Дослідження проведено на 15 собаках різної статі масою 10-15 кг. Спочатку 3 собакам з кормом давали β-нафтіламін у дозі 0,8 грама на добу. Проте всі вони загинули протягом 4-5 місяців. На розтині тварин було відмічено зменшення розмірів печінки, розвиток портальної гіпертензії з наявністю рідини (асцит) у черевній порожнині. З огляду на зміни в органах собак, ми прийшли до висновку, що доза 0,8 г/добу була надмірно токсичною. У подальшому, для моделювання ПРСМ 12 тваринам дозу β-нафтіламіна зменшено до 0,6 г/добу, що дало можливість викликати ПРСМ у тварин без негативного впливу на основні органи та фізіологічні функції організму. Починаючи з 8-го місяця призначення β-нафтіламіна, 2 рази на місяць тваринам проводили дослідження на наявність злоякісних клітин та прихованої крові у сечі. При наявності одного із них або обох показників, тваринам проводили хірургічне лікування. Як показали наші дослідження, при вживанні 0,6 г/добу β-нафтіламіна протягом 8 місяців ПРСМ був індукований не у всіх тварин. Враховуючи отримані дані, у подальшому ми призначали тваринам β-нафтіламін до появи у їх сечі ракових клітин та прихованої крові (азопірамова проба), що спостерігалось у тварин на 10-11 місяць дослідження. Слід зауважити, що лише у 7 тварин поява ракових клітин у сечі співпала з позитивною реакцією на азопірамову пробу. У 5 тварин у сечі не було виявлено злоякісних клітин та позитивної азопірамової проби, хоча в подальшому, при виконанні хірургічного лікування, у них макроскопічно і мікроскопічно було виявлено ПРСМ.

У подальшому всім тваринам, в залежності від мети дослідження, під внутрішньоплевральним тіопенталовим наркозом 40 мг/кг маси з попередньою премедикацією виконували оперативне

* Робота є фрагментом планової роботи кафедри онкології, променевої діагностики та променевої терапії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, номер держреєстрації 0104U002842.

втручання на СМ.

Після розвитку ПРСМ, тварини, за характером оперативного втручання були розподілені на 2 групи:

1. у першій групі тварин досліджувався процес відновлення слизової оболонки СМ після її субтотального видалення (5 тварин).

2. у другій групі (7 тварин) досліджувався процес відновлення тканин СМ після резекції його стінки з пухлиною та введення у підслизову основу розчину доксорубіцину.

Результати та їх обговорення

На наш погляд, недостатня ефективність внутрішньоміхурового введення лікарських речовин обумовлена наступними особливостями. По-перше, уротелій стінки СМ побудований таким чином, що має властивості унеможливлення проникнення в глибину його шарів будь-якої речовини, яка розташована в його порожнині. По-друге, концентрація введеного в СМ хіміопрепарата постійно зменшується за рахунок нових порцій сечі, котрі постійно прибувають, що значно зменшує ефективність даного лікування. Тобто, постійна концентрація речовини не зберігається і дія будь-якої лікарської речовини у значній мірі не досягає своєї мети. Тому пошук нових шляхів введення ліків є актуальним для досягнення позитивних результатів у лікуванні ПРСМ. В подальшому на моделі ПРСМ у собак були експериментально досліджені нові способи його лікування.

Так, у п'яти тварин першої групи лікування раку СМ здійснювалось наступним чином: після розсічення між двома лігатурами стінки СМ по всій його поверхні проводилось поступове відшарування слизової оболонки незалежно від її ураження. Приклад. Собака, самець, маса 12 кг., статевозрілий. Протягом 10 місяців отримувач β-нафтіламін 0,6 щодобово. Через 10 місяців в умовах асептики та антисептики тварина була оперована. На розтині СМ був об'ємом до 100 мл, по всій слизовій оболонці спостерігались папіломатозні пухлини діаметром 3-4 мм без ознак запальних змін слизової оболонки навколо них. При гістологічному дослідженні пухлини мали будову перехідно-клітинного раку. Перед проведенням відшарування слизової оболонки, тварині введено 2 мл розчин діцинону внутрішньом'язево з метою зменшення кровотечі із підслизової основи СМ. Відшарування починали від місця розрізу і поступово відділяли слизову оболонку від її підслизової основи. Таким чином досягали повного видалення слизової оболонки. Труднощі були при видаленні слизової оболонки у сечовому трикутнику. Після видалення слизової оболонки, СМ був зашитий двошаровим вікриловим швом з надлобковим дрениванням. Через залишений дренаж СМ був промитий до появи чистого фізіологічного розчину. Рана черевної стінки ушита пошарово. Протягом 2 діб по дренажній

трубці виділялася сеча з домішками крові. На 3 добу сеча, що виділялася із СМ домішок крові не мала. Катетер із СМ було видалено. У наступні дні сеча виділялась фізіологічним шляхом і мала звичний колір. Слід відмітити, що тварина вже на 2 добу після операції ходила і була достатньо активною. Воду почала вживати на 3 добу. Протягом перших 3 діб після операції тварини отримували знеболюючі та антибіотики.

Через 3 місяці з метою дослідження стану СМ тварина була повторно оперована. СМ містив близько 80 мл сечі. На його розтині спостерігалась наявність слизової оболонки без ознак змін запального характеру та росту пухлин. Після видалення сечі, СМ скоротився і мав добре виражену складчасту слизову оболонку. Проведене гістологічне дослідження стінки СМ із 5 місць показало відсутність росту злоякісних клітин.

У другій групі тварин, доксорубіцин вводили у підслизову основу СМ в об'ємі 10-15 мл концентрації 0,0125 % одноразово. Операцію проводили таким чином: після відкритої резекції ділянок ПРСМ по всій його поверхні, вводять доксорубіцин інсуліновим шприцом підслизово до появи підвищення слизової оболонки у вигляді зливної папули до 1 см в діаметрі по всій поверхні СМ. Приклад. Собака самець, маса 15 кг, статевозрілий. Рак сечового міхура був викликаний аналогічно попередньому прикладу. Через 10 місяців в умовах асептики та антисептики тварина була оперована. На розтині СМ на слизовій оболонці на задній стінці СМ спостерігались 2 папіломатозні пухлини діаметром 4-6 мм, які виступали на 2-3 мм в його порожнину (взята на гістологічне дослідження ділянка стінки СМ підтвердила наявність перехідно-клітинного раку). Після видалення пухлини у підслизову основу СМ тварини поступово вводиться розчин доксорубіцину до появи підвищення слизової оболонки на 2-3 мм і так поступово "крок за кроком" вводиться по всій поверхні СМ. Об'єм введеної рідини становив 11 мл. СМ був ушитий звичним способом. Стінка живота ушита пошарово. З метою оцінки стану слизової оболонки СМ, тварина через 3 місяці була повторно оперована. На розтині СМ слизова оболонка мала звичний колір, без змін рельєфу та без наявності видимих новоутворень. Проведене гістологічне дослідження стінки СМ підтвердило відсутність злоякісних клітин.

Висновки

1. Повне видалення ураженої та інтактною ділянок слизової оболонки сечового міхура на експериментальній моделі ПРСМ дає можливість досягти видалення пухлини та профілактику її рецидиву.

2. Введення доксорубіцину у підслизову оболонку сечового міхура створює депо речовини та подовження її дію.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується оптимізувати тактику лікування хворих з ПРСМ. Запропонувати нові шляхи введення протипухлинних препаратів з метою формування депо лікарської речовини.

Література

1. Деклараційний патент на корисну модель № 24666 Україна, МПК (2006) А61К 31/00. Спосіб лікування поверхневого раку сечового міхура / О.Г. Костюк, О.В. Гусак; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - № u 200702031; заявл. 26.02.2007. опубл. 10.07.2007, Бюл. №10.
2. Мальцев А.В. Рецидив рака мочевого пузыря. Причины и перспективы. / Мальцев А.В. // Вісник проблем біології і медицини. - 2007. - Вип.1. - С. 17-19.
3. Мартов А.Г. Ранняя повторная цистоскопия и биопсия в диагностике и лечении поверхностного рака мочевого пузыря. / Мартов А.Г., Гушин Б.А., Гнатюк А.П. [и соавт.] // Урология. - 2004. - №3. - С. 54-58.
4. Матвеев Б.П. Рак мочевого пузыря. / Матвеев Б.П., Фигурин К.М., Карякин О.Б. - М.: Вердана, 2001. - 243 с.
5. Пат. №85610 Україна, МПК А61В17/00 Спосіб лікування поверхневого раку сечового міхура / О.Г. Костюк, О.В. Гусак; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - № а200702847; заявл. 19.03.2007. опубл. 10.02.2009, Бюл. №3.
6. Плис Г.Б. Влияния вилона и эпителиона на возникновение и развитие индуцированных опухолей мочевого пузыря у крыс. / Плис Г.Б., Мельников А.С., Малинин В. В. [и соавт.] // Вопросы онкологии. - 2001. - Том 47. №5. - С. 601 - 607.
7. Ролевич А.И. Выбор оптимального режима внутрипузырного введения доксорубина в первые 6 часов после трансуретральной резекции у больных раком мочевого пузыря без мышечной инвазии. / Ролевич А.И., Суконко О.Г., Мавричев А.С. [и соавт.] // Онкология. Материалы III конгресса Российского общества онкоурологов. 2-3 октября 2008 года. Москва. - С. 112-113.
8. Brake M. Recurrence and progression of stage T₁, grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder following intravesical immunotherapy with bacillus Calmette-Guerin. / Brake M., Loertzer H., Horsch R. [et al.] // Urol. - 2000. - Vol. 163. - P. 1607-1701.
9. Brauer A. Sekond resection and prognosis of primary high risk supersicial bladder cancer: is cystctowoy often too early? / Brauer A., Buettner R., Yakse G. // I. Urol. - 2001. - Vol. 165. - P. 808 - 810.
10. Dolbagni G. Impact of a second transurethral resection on the staging of T1 bladder cancer. / Dolbagni G., Herr H.W., Reute V.E. // Urology. - 2002. - Vol. 60. - P. 822-824.
11. Gattegno B. T1 G3 Bladder Cancer: Concervative management or cystectomy? / Gattegno B. // Europ. Urol. - 2004. - Vol.45. - P. 399-400.
12. Iakse G. A second-look TUR in T1 transitional cell carcinoma: Why? / Iakse G., Algaba F., Malmstrom P.U. [et al.] // Europ. Urol. - 2004. - Vol. 45. - P. 539-546.
13. Langenstroer P. The role of a second transurethral resection for high-grade bladder cancer. / Langenstroer P., See W. // Curr. Urol. Rep. - 2000. - Vol. 1. - P. 204-207.
14. Malavaud B. T1 G3 Bladder Tumours: The Gase for Radical Cystectomy. / Malavaud B. // Europ. Urol. - 2004. - Vol. 45 - P. 406-410.
15. Oliveira P.A., Colago A., L.F. De la Gruz P., C. Lopes Experimental Bladder Carcinogenesis-rodent models. / Oliveira P.A., Colago A., L.F. De la Gruz P. [et al.] // Exp. Oncol. - 2006. - Vol. - 28 №1. - P. 2-11.

Реферат

МОДЕЛЬ ПОВЕРХНОСТНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Костюк А.Г.

Ключевые слова: поверхностный рак мочевого пузыря, способы лечения.

В материалах работы приводятся данные относительно лечения ПРМП после создания его модели на 15 животных. Установлено, что 2 предложенные способы лечения ПРМП дали позитивные результаты в условиях эксперимента. Проведенные гистологические исследования стенки мочевого пузыря через 3 месяца после использования предложенных способов, показали отсутствие развитию новых опухолевых образований.

Summary

MODELING OF SUPERFICIAL CANCER OF URINARY BLADDER IN EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS

Kostyuk O.G.

Keywords: superficial cancer of urinary bladder, methods of treatment.

The paper represents the data referring to the treatment of superficial cancer of urinary bladder which was modeled on 15 animals. It has been established 2 way in treatment of superficial cancer of urinary bladder we suggested led to the positive outcomes in experiments. Histological researches of bladder walls 3 months after the treatment has proved the absence of any newgrowths.

УДК 591.437:616.37-002-08

МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ В ЩУРІВ ТА ЙОГО МЕДИКАМЕНТОЗНА КОРЕКЦІЯ

Кошельник О.Л., Попов О.Г., Десятський В.В., Горовенко В.І.

Державний медичний університет, м. Одеса

Робота присвячена моделюванню та вивченню патологічних змін тканини підшлункової залози у щурів з L-аргінін-індукованим гострим експериментальним панкреатитом, а також морфологічному тестуванню лікувальних ефектів різних форм даларгіну та NG-нітро-L-аргініну за цих умов. Показано, що за умов використовуваної нами моделі ГЕП, індукованого за допомогою дворової ін'єкції L-аргініну, в тканині ПЗ формуються морфологічні зміни, характерні для гострого патологічного процесу: запалення, геморагії, некроз. Це підтверджує адекватність використаної нами моделі відповідному клінічному стану. Блокування синтезу окису азоту застосуванням NG-нітро-L-аргініну дозозалежно нівелює макро- та мікроскопічні зміни в тканинах ПЗ. Застосування вільної та ліпосомальної форм даларгіну при L-аргінін-індукованому ГЕП також сприяє нормалізації макро- та мікроскопічних змін в тканинах ПЗ. При цьому ефективність ліпосомальної форми даларгіну в 1,5 раза перевищувала таку у вільної форми пептиду. Отримані дані є експериментальним обґрунтуванням можливого клінічного застосування інгібіторів синтезу окису азоту та ліпосомальних форм опіоїдних пептидів з метою лікування гострого панкреатиту.

Ключові слова: модель, гострий експериментальний панкреатит, морфологія, лікування.

Вступ

Останніми роками отримані нові дані про патогенез гострого панкреатиту, де важлива роль у пусковому механізмі розвитку гострого панкреатиту (ГП) відводиться оксиду азоту [1-3]. Йдеться про цитотоксичні ефекти цієї субстанції та її прозапальну дію. Оксид азоту індукує вазодилатацію, локальне ураження паренхіми органу та ішемію, що насамперед є основними у розвитку гострого запалення паренхіми підшлункової залози [3]. Це явилось підставою для вивчення основних патогенетичних ланок перебігу ГП на моделі L-аргінін-індукованого гострого експериментального панкреатиту (ГЕП) з ціллю пошуку нових методів діагностики та лікування зазначеного патологічного процесу.

Підшлункова залоза, розвиваючись із трьох зародків ентодерми кишкової трубки, зберігає деяку відокремленість від анатомічно розрізняваних частин: голівки, тіла й хвоста. Це значно впливає на механізми виникнення, характер перебігу і розповсюдження патологічного процесу. Результати численних дослідів дозволяють охарактеризувати гострий панкреатит як асептичне запалення демаркаційного характеру, в основі якого лежать процеси некробіозу панкреоцитів та ферментної аутоагресії з подальшим розвитком некрозу, дегенерації залози та приєднанням вторинної інфекції [4,5]. Різноманітність морфологічних проявів гострого панкреатиту й варіантів його клінічного перебігу знайшла відображення у 46 відомих нам класифікаціях, які частіше мають описовий характер. Під час порівняльного аналізу цих класифікацій стає зрозумілим, що всі вони відрізняються лише принципом побудови й різним трактуванням термінів відповідно до рівня знань про патогенетичну сутність форм та варіантів перебігу хвороби [6,7].

Мета дослідження

Завданням до експериментальних досліджень було вивчення патоморфологічних змін тканини підшлункової залози у щурів з L-аргінін-індукованим гострим експериментальним панкреатитом (ГЕП), а також морфологічне тестування лікувальних ефектів різних форм даларгіну за цих умов [8]. Відомі дані літератури про короточасну активність даларгіну в кровоносному руслі внаслідок його руйнування під впливом пептидаз стали основою експериментів, проведених на лабораторних тваринах з метою дослідження принципової можливості підвищення ефективності лікування ГЕП шляхом застосування ліпосомальної форми даларгіну. Тому в серіях експериментальних досліджень пептид був надійно "захований" від впливу пептидаз у середину ліпосомальної оболонки. З огляду на прогредієнтність розвитку патологічних змін у тканині ПЗ при різних моделях ГЕП, ми оцінювали лікувальну ефективність речовин за морфологічними змінами через 24 години з моменту індукції гострого запального процесу [9,10].

Матеріали та методи досліджень

Експериментальні дослідження проведені на 83 статевозрілих щурах лінії Вістар масою 160—200 г на моделі гострого панкреатиту.

ГЕП у щурів відтворювали двома внутрішньоочеревинними ін'єкціями 20 % розчину L-аргініну ('Sigma Chemical Co', USA) в сумарній дозі 5 г/кг, з інтервалом введення в 1 год за методикою Czako L. et al.(2000). Контрольним тваринам вводили по 2,5 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. Максимальна вираженість біохімічних, морфологічних та інших неспецифічних показників, що характеризують перебіг L-аргінін-індукованого ГЕП виявляється через 24 год з моменту його відтворення [9,10].

* Дослідження виконані в межах науково-дослідницької роботи за темою "Розробка патогенетично обґрунтованих методів корекції ендотоксикозу і змін дифузної ендокринної системи у хворих з гострими захворюваннями черевної порожнини і запальними захворюваннями м'яких тканин" (№ держреєстрації 0196U001839)

Евтаназію тварин для подальших біохімічних та морфологічних досліджень здійснювали внутрішньочеревинним введенням етаналу натрію в дозі 100 мг/кг. З лікувальною метою ліпосомальну та вільну форми даларгіну вводили одноразово, через 30 хв після ін'єкції L-аргініну. Інгібітор NO-синтази NG-нітро-L-аргінін розчиняли в ізотонічному розчині натрію хлориду безпосередньо перед застосуванням і вводили внутрішньочеревинно в дозах 10 та 20 мг/кг через 30 хв після відтворення ГЕП.

У відповідності до мети та задач дослідження всі експериментальні тварини були розподілені на такі групи: 1 група — контроль; 2 група — щури з ГЕП; 3 група — щури з ГЕП, яким вводили даларгін; 4 група — щури з ГЕП, яким вводили ліпосомальний даларгін; 5 група — щури з ГЕП, яким вводили NG-нітро-L-аргінін (10 мг/кг); 6 група — щури з ГЕП, яким вводили NG-нітро-L-аргінін (20 мг/кг). В кожну з названих груп входило не менше 10 тварин.

Після евтаназії у тварин виділяли підшлункову залозу, фіксували у 10 % нейтральному формаліні і занурювали в парафін. За стандартною методикою готували зрізи тканини з наступним фарбуванням гематоксилін-еозином, проводили мікроскопію при збільшенні $\times 250$. Макро- та мікроскопічні зміни фіксували в балах за методикою, описаною Hughes C.B. et al. [11]. Поверхню залози умовно розділяли на квадранти площею $0,01\text{см}^2$, у кожному з яких вивчалися морфологічні зміни в паренхімі та морфофункціональні порушення мікросудинного руслу ПЗ із кількісним визначенням запальних і постзапальних ознак. Якщо менше 50 % площі квадранту становила нормальна структура залози, такий квадрант не брали до уваги. Підрахунок робили в 10 квадрантах ПЗ, узятій від кожного щура.

Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерної програми статистичного аналізу "Statgraph".

Результати дослідження та їх обговорення

Макро- та мікроскопічні зміни в ПЗ за умов цієї моделі ГЕП відповідали характерним змінам морфологічної будови залози при ГП. Через 24 год макроскопічно залоза була збільшена, щільна, на розрізі — темно-червоного кольору з ділянками незміненої структури. Гістологічно виявлялися різномасштабні вогнища геморагічного некрозу ацинарної тканини з геморагічним просиченням інтерстицію та жировими некрозами клітковини. В судинах органа виявлялися розповсюджені судинні зміни у вигляді повнокрів'я, агрегації формених елементів крові, тромбозу, а також ураження судинних стінок у вигляді фібриноідного просичення.

За умов застосування з лікувальною метою даларгіну показники набряку підшлункової залози у щурів були на 26 % меншим відносно аналогічних даних у щурів з ГЕП без лікування

($p < 0,01$). Показники геморагії та жирового некрозу тканини підшлункової залози при цьому були на 29 % ($p < 0,01$) та 19 % ($p < 0,05$), відповідно, меншим у порівнянні з аналогічними даними в щурів з ГЕП без лікування. Варто відмітити також істотне зменшення під впливом даларгіну проявів асцити (у 2,5 рази; $p < 0,001$) та явищ запальної реакції тканини залози (у 2 рази; $p < 0,05$) щодо аналогічних даних, отриманих нами в групі щурів з ГЕП без лікування.

Після введення з лікувальною метою ліпосомального даларгіну показники набряку ПЗ в щурів складали на 44 % менше щодо аналогічних даних у щурів з ГЕП без лікування ($p < 0,001$) та на 25 % менше аналогічного результату, отриманого при введенні «вільної» форми пептиду ($p < 0,001$). Показники геморагії та жирового некрозу тканини ПЗ при цьому були на 61 % ($p < 0,001$) та 43 % ($p < 0,01$), відповідно, менше в порівнянні з аналогічними даними в щурів з ГЕП без лікування, а також на 45 % ($p < 0,001$) та 30 % ($p < 0,001$), відповідно, менше в порівнянні з аналогічними даними в щурів з ГЕП, яким вводили неліпосомальну форму пептиду. Показники запалення та ацинарного некрозу тканини ПЗ під впливом ліпосомального даларгіну були на 84 % ($p < 0,001$) та 68 % ($p < 0,01$), відповідно, менше в порівнянні з аналогічними даними в щурів з ГЕП без лікування, а також на 68 % ($p < 0,01$) та 29 % ($p > 0,05$), відповідно, менше в порівнянні з аналогічними даними в щурів з ГЕП, яким вводили неліпосомальну форму пептиду.

Після введення з лікувальною метою шурам з ГЕП блокатора оксиду азоту (20 мг/кг) показники набряку ПЗ в щурів складали ($1,94 \pm 0,12$) балів, що було на 30% менше щодо аналогічних даних у щурів з ГЕП без лікування ($p < 0,05$). Показники геморагії та жирового некрозу тканини ПЗ при цьому склали ($1,77 \pm 0,16$) та ($2,12 \pm 0,16$) балів, що на 31 % ($p < 0,05$) та 28 % ($p < 0,01$), відповідно, менше порівняно з аналогічними даними в щурів з ГЕП без лікування. Слід зазначити також істотне зменшення за цих умов асцити — у 2,9 рази ($p < 0,001$), набряку ПЖ — у 3,4 рази ($p < 0,001$), судинних порушень — у 2 рази ($p < 0,05$), проявів запалення — у 7 разів ($p < 0,001$) та ацинарного некрозу тканини залози — у 2 рази ($p < 0,05$) щодо аналогічних даних, отриманих у групі щурів з ГЕП без лікування.

Отже, ліпосомальний даларгін впливав на виразність макро- та мікроскопічних ознак ГЕП. Його позитивні ефекти були значнішими порівняно з вільним даларгіном ($p < 0,05$) [12]. Йдеться про усунення морфологічних ознак запалення тканини ПЗ. Ймовірно, що проєктивна дія ліпосомальних форм опіоїдних пептидів спрямована переважно на зменшення інтенсивності процесів запалення паренхіми залози. Проведений нами раніше морфологічний аналіз структури клітин паренхіми ПЗ дозволив зробити висновок, що одним із механізмів вказаної дії ліпосомальних форм опіоїдних пептидів є стабілізація клітинних мембран.

Висновки

Отже, отримані результати досліджень показують, що перебіг L-аргінин-індукованого ГЕП супроводжується формуванням морфологічних змін у тканині ПЗ, що проявляються, переважно, наявністю набряку, геморагій, жирового некрозу, явищами запалення та ацинарного некрозу тканини залози, а також асцитом. Це підтверджує адекватність використаної нами моделі відповідному клінічному стану. За цих умов виражену лікувальну ефективність мали обидві форми даларгіну. Цікаво, що лікувальна ефективність ліпосомальної форми даларгіну за багатьма тестованими параметрами морфологічних змін тканини підшлункової залози істотно перевищувала таку у неліпосомальної форми пептиду, що в черговий раз підтверджує її вищу лікувальну активність. Показаний факт більш вираженої лікувальної ефективності ліпосомальної форми даларгіну в порівнянні з його неліпосомальною формою підтверджує наші припущення щодо доцільності залучення даларгіну в ліпосомальну оболонку з метою подовження тривалості його перебування в кровоносному руслі та підвищення його активності і свідчить про доцільність початку клінічних дослідів цієї речовини. Не менш важливим результатом морфологічних досліджень є показаний факт лікувального ефекту блокування активності ключового ферменту синтезу оксиду азоту NO-синтази NG-нітро-L-аргініном за умов використаної моделі ГЕП, що свідчить як про важливу патогенетичну роль оксиду азоту в механізмах формування даної моделі ГЕП, так і про клінічну перспективу застосування блокаторів синтезу оксиду азоту в комплексному лікуванні хворих на гострий панкреатит.

Реферат

МОДЕЛИРОВАНИЕ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА У КРЫС И ЕГО МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ КОРРЕКЦИЯ

Кошельник Е.Л., Попов А.Г., Десятский В.В., Горovenko В.И.

Ключевые слова: модель, L-аргинин, острый экспериментальный панкреатит, морфология, лечение.

Работа посвящена изучению патологических изменений ткани поджелудочной железы крыс с L-аргинин-индуцированным острым экспериментальным панкреатитом, а также морфологическому тестированию лечебных эффектов различных форм даларгина и NG-нітро-L-аргініна. Показано, что в условиях использованной нами модели ГЭП, индуцированного двукратной инъекцией L-аргініна, в тканях поджелудочной железы формируются изменения, характерные для острого патологического процесса: воспаление, геморрагии, некроз. Это подтверждает адекватность использованной нами модели соответствующему клиническому состоянию. Блокирование синтеза оксида азота NG-нітро-L-аргініном дозозависимо нивелирует макро- и микроскопические изменения в тканях поджелудочной железы. Использование свободной и липосомальной форм даларгина также способствует нормализации макро- и микроскопических изменений ткани ПЖ. При этом эффективность липосомальной формы даларгина в 1,5 раза превышала таковую у свободной формы пептида. Полученные данные являются экспериментальным обоснованием целесообразности использования ингибиторов синтеза оксида азота и липосомальных форм опиоидных пептидов в лечебных мероприятиях при остром панкреатите в клинике.

Summary

MODEL OF ACUTE PANCREATITIS IN RATS AND ITS THERAPY

Koshelnik E.L., Popov A.G., Desyatsky V.V., Gorovenko V.I.

Key words: model, acute experimental pancreatitis, morphology, treatment.

The work is dedicated to modeling of acute pancreatitis and studying pathological changes in pancreatic tissues of rats with L-arginine-induced acute experimental pancreatitis and morphological tests of therapeutic effects of different forms of dalargin and NG-nitro-L-arginine. It has been shown that under the above mentioned model of acute experimental pancreatitis there were developed morphological changes in pancreatic tissues typical for acute pathological process: inflammation, hemorrhages, necrosis. This proves the adequacy of the model we used to the proper clinical condition. Nitric oxide synthesis blockade by NG-nitro-L-arginine dose-dependently normalizes macro- and microscopic changes in pancreatic tissues. Effectiveness of liposomal forms of dalargin is in 1.5 times more than that of the peptide free form. This positive effect is the experimental background in clinical use of nitric oxide blocking and liposomal form of dalargin for the therapy of acute pancreatitis.

Литература

1. Демидов В.М., Демидов С.М. Роль эндогенного окиси азота в патогенезе острого панкреатита у щурів // Досягнення біології та медицини. – 2003. – № 2 (2). – С. 16–21.
2. Лобенко А.О., Демидов В.М., Демидов С.М. NO-опосередковані механізми експериментального панкреатиту // Журнал АМН України. – 2002. – Т.8, № 2. – С. 385–393.
3. Kikuchi Y., Shimosegawa T., Satoh A. The role of nitric oxide in mouse cerulein-induced pancreatitis with and without lipopolysaccharide pretreatment // *Pancreas*. – 1996. – Vol. 12, № 1. – P. 68–75.
4. Мартов Ю.Б., Кирковский В.В., Мартов В.Ю. Острый деструктивный панкреатит: Монография. – М.: Медицинская литература, 2001. – 78 с.
5. Suda K., Ogama T., Matsumoto V. Histopathologic and immunohistochemical studies on alcoholic pancreatitis and chronic obstructive pancreatitis // *American J. Gastroenterology*. – 1990. – Vol. 85, № 3. – P. 271–276.
6. Савельев В.С., Буянов В.М., Огнев Ю.В. Острый панкреатит: Монография. – М.: Медицина, 1983. – 124 с.
7. Tani S., Otsuki M., Itoh H. Histologic and biochemical alterations in experimental acute pancreatitis induced by supramaximal caerulein stimulation // *International Pancreatolgy*. – 1987. – Vol. 2, № 2. – P. 337–348.
8. Демидов В.М., Синовець О.А., Кошельник О.Л. Даларгін сприяє покращенню лікування гострого панкреатиту за умов експериментального його відтворення // Матеріали XIV з'їзду терапевтів України. – Київ, 1998. – С. 102–103.
9. Czako L., Takacs T., Varga I.S. The pathogenesis of L-arginine-induced acute necrotizing pancreatitis: Inflammatory mediators and endogenous cholecystokinin // *Physiology (Paris)*. – 2000. – Vol. 94. – P. 43–50.
10. Varga I.S., Matkovic B., Czako L. Oxidative stress changes in L-arginine-induced pancreatitis in rats // *Pancreas*. – 1997, b. – Vol. 14. – P. 355–359.
11. Hughes C.B., Gaber L.W., El-Din A.B.M. Inhibition of TNF- α improves survival in an experimental model of acute pancreatitis // *The American J. Surgeon*. – 1996. – Vol. 62, № 1. – P. 8–13.
12. Демидов В.М., Демидов С.М., Ціповяз С.В. Ліпосомальні форми даларгіну та сандостатину сприяють розвитку позитивного ефекту за умов експериментального гострого панкреатиту у щурів // *Гастроентерологія*. – 2000. – Вип. 31. – С. 80–87.

УДК 616.831–005.1:615.21

ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ МИКРОПОЛЯРИЗАЦИИ НЕОКОРТЕКСА СЛАБЫМ АНОДОМ ПОСТОЯННОГО ТОКА И ТРОФИНОТРОПИНА «ЦЕРЕБРАЛ» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ (СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ)

Кульчиков А.Е., Косицын Н.С., Макаренко А.Н.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, г. Киев, Украина

В ходе проведения исследования изучали структурно-функциональные аспекты протекторного действия микрополяризации слабым анодом постоянного тока неокортекса и трофинотропина «церебрал» у крыс с геморрагическим инсультом (модель инсульта по А.Н. Макаренко и соавт., 2006). Показано, что использование микрополяризации неокортекса слабым анодом постоянного тока в течение 30 минут через 1 час после моделирования инсульта оказывает протекторное действие на нервные клетки и сопровождается снижением неврологического дефицита в острейшем периоде инсульта (сутки), ($p < 0,05$ по сравнению с группой животных с геморрагическим инсультом). Совместное использование микрополяризации и трофинотропина «церебрал» оказывает более выраженное протекторное действие, чем использование только одной микрополяризации ($p < 0,05$ по сравнению с группой животных с геморрагическим инсультом). Таким образом, разработан способ терапии геморрагического инсульта, включающий применение микрополяризации неокортекса и введение трофинотропина «церебрал».

Ключевые слова: геморрагический инсульт, микрополяризация, трофинотропин «церебрал».

Введение

Несмотря на огромные успехи современной сосудистой неврологии в XX веке, проблемы связанные с изучением различных способов лечения инсульта, остаются крайне актуальными [1]. Поэтому особое значение приобретают исследования, направленные на изучение способов нейропротекции, нейромодуляции и нейрoактивации в условиях острого нарушения мозгового кровообращения. Нами разработаны оригинальные и эффективные способы терапии геморрагического инсульта. Они состоят, с одной стороны в использовании микрополяризации неокортекса слабым анодом постоянного тока, а с другой стороны – в применении нового антиинсультного средства – трофинотропина «церебрал» [3, 6]. По данным литературы в эксперименте и в клинике доказана эффективность микрополяризации головного мозга в периоде ранней и поздней реабилитации после инсульта [6, 7, 9]. Однако, в литературе имеется очень мало работ, посвященных изучению протекторного действия микрополяризации в остром периоде геморрагического инсульта [7, 9]. Механизм протекторного действия микрополяризации пока не изучен, однако имеется рабочая гипотеза, которая состоит в том, что под действием слабого анода постоянного тока в головном мозге образуется некий очаг, который препятствует гибели нервных клеток и стабилизирует их структуру [6]. В связи с этим данную методику необходимо использовать на раннем этапе инсульта, чтобы расширить время «терапевтического окна», для последующей эффективной лекарственной терапии. Вместе с тем существует еще один аспект данной проблемы. Известно много способов использования различных подходов в терапии инсульта, однако одним из самых эффективных является использование нейропротекторов с нейротрофической активно-

стью. Нами разработано новое антиинсультное средство - «церебрал» из группы трофинотропинов, полученное из неокортекса животных, успешно перенесших экспериментальный геморрагический инсульт [2, 3, 6]. К группе трофинотропинов относятся средства, оказывающие тропное действие на выработку нейротрофических молекул (NGF, BDNF, NT-3 и т.д.), т.е. данные вещества являются регуляторами продукции нейрoцитокинов. Подобно основной концепции гомеопатии «подобное подобным», мы используем концепцию «обученное подобным, для лечения подобного», т.е. использование мозга животных «обученных инсультом» для лечения самого инсульта. Как показали проведенные исследования, использование трофинотропина «церебрал» является эффективным при экспериментальном геморрагическом инсульте [2].

Цель исследования. Изучение совместного использования микрополяризации и трофинотропина «церебрал» в острейшем периоде (период «терапевтического окна») экспериментального геморрагического инсульта.

Материалы и методы исследования.

Этические аспекты. Все работы с животными проводились согласно *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* [8].

Дизайн исследования. Опыты проведены на 35 крысах-самцах линии Вистар, массой 220-250 г. В экспериментальной работе использованы пять групп животных, каждая из которых состояла из 7 животных. Контроль – интактные животные (1-я группа). Ложнооперированные животные (2-я группа). Животные, у которых моделировали экспериментальный геморрагический инсульт (ГИ) (3-я группа). Животные с ГИ, которым проводили стимуляцию слабым анодом постоянного тока (10 мкА) через час после воспроизведения инсульта в течение 30 минут (4-я группа). Животные с ГИ, которым интраназаль-

но вводили трофинотропин «церебрал», через час после воспроизведения инсульта, после чего проводили стимуляцию слабым анодом постоянного тока (10 мкА) в течение 30 минут (5-я группа). Неврологический статус у всех групп животных оценивали с помощью оригинальной шкалы разработанной нами до проведения операции и через 24 часа после воспроизведения ГИ [5]. После чего производили забой животных для проведения морфологических исследований.

Моделирование геморрагического инсульта. Моделирование экспериментального ГИ осуществляли с помощью стереотаксиса в проекции внутренней капсулы справа, при этом достигалось конусообразное подсечение ткани мозга и повреждение сосудов в области внутренней капсулы правого полушария [4].

Оценка неврологического дефицита. Неврологический статус у всех групп животных оценивали с помощью оригинальной шкалы, разработанной нами (Патент РФ №2327227), до проведения операции и через 24 часа после воспроизведения ГИ [5]. Сущность неврологического тестирования складывается из тестирования 10 врожденных поведенческих реакций, каждую из которых оценивают от нуля до двух баллов с оценкой два балла – отсутствие реакции. Следовательно, чем меньше балл, тем меньше степень выраженности неврологического дефицита.

Стимуляция анодом постоянного тока. Стимуляцию анодом постоянного тока ($I=10$ мкА), проводили интракраниально в течение 30 минут платиновым электродом, который прикладывали к поверхности коры над областью повреждения наркотизированным диэтиловым эфиром животным (стадия III₁₋₂) через час после воспроизведения ГИ. Индифферентный электрод фиксировали в затылочной кости животного.

Введение препарата. Раствор «церебрала», содержащего 0,2 мг белка, вводили интраназально по 2 капли в каждую ноздрю крысы однократно через час после воспроизведения ГИ.

Морфологическое исследование. Мозг крыс фиксировали интракардиальной перфузией 4% раствора параформальдегида на 0,1н фосфатном буфере (рН=7,4), обезжировали, заливали в парафин и делали срезы на микротоме «Historange» (LKB) толщиной 6 мкм с шагом 200 мкм, после чего срезы окрашивали по методу Ниссля.

Статистическая обработка. Полученные данные были обработаны с использованием программ «BIOSTAT» и «Statistica 6.0». Все значения даны в виде средних арифметических и стандартных отклонений ($M \pm SD$).

Результаты и их обсуждение

Неврологическое тестирование. Полученные результаты неврологического тестирования с использованием вышеуказанной шкалы показыва-

ли, что у всех групп животных перед проведением операции отсутствовал неврологический дефицит. Через 24 часа после воспроизведения ГИ у животных 1-й (интактные) и 2-й (ложнооперированные) групп неврологического дефицита не отмечалось. В тоже время у животных с ГИ (3-я группа) отмечен неврологический дефицит, оцененный в $12,1 \pm 2,35$ балла, а у крыс 4-й группы (ГИ + стимуляция анодом постоянного тока), отмечено снижение балла до $7,0 \pm 0,93$ ($p < 0,01$ по сравнению с 3-й группой). Вместе с тем у животных 5-й группы (ГИ + стимуляция анодом постоянного тока + «церебрал») – оцениваемый балл был еще меньше – $5,0 \pm 0,73$ ($p < 0,01$ по сравнению с 3-й группой). Данные оценки неврологического дефицита свидетельствуют о протекторном действии микрополяризации неокортекса, и более выраженном антиинсультным действием сочетания микрополяризации и трофинотропина «церебрала» в остром периоде инсульта.

Морфологическое исследование. При исследовании срезов неокортекса у животных 3-й группы, выявлено, что через 24 ч от момента моделирования ГИ обнаруживается зона кровоизлияния в области внутренней капсулы. Отмечаются выраженные изменения неокортекса со стороны сосудов и межклеточного вещества, резко выраженный отек ткани мозга, развивающийся в результате нарушения гемо- и ликвородинамики (рис. 1). В частности, регистрируются резко выраженное полнокровие и явления стаза крови в мелких сосудах мозга, развитие отчетливого периваскулярного отека, а также обнаружение отдельных мелких («точечных») периваскулярных кровоизлияний. Отмечаются признаки набухания и значительный перинейритный отек (главным образом в области дендритов). В неокортексе обнаруживаются признаки активации глиоцитов, что сопровождается усилением тинкториальных свойств их цитоплазмы в виде резкого гиперхроматоза и умеренного набухания ядер клеток. Указанные изменения сопровождаются отчетливым сателлитозом, т.е. скоплением нескольких глиальных клеток в области тел и дендритов пирамидных нейронов. В пирамидных нейронах отчетливо выражены явления центрального и периферического тигролиза. Об этом убедительно свидетельствует резкое сокращение субстанции Ниссля в цитоплазме клеток, причем в отдельных клетках глыбки сохраняются только в области парануклеарной цитоплазмы (рис. 1). На препаратах мозга крыс с ГИ отмечаются гибель или дистрофические изменения в нейронах сенсорного неокортекса (СМН) при этом дистрофия пирамидных нейронов выражается деформацией и гетерохромным прокрашиванием цитоплазмы. Проведенные нами наблюдения показали, что функции нейронов в различных слоях неокортекса при развитии ГИ существенно отличаются: в поверхностных, филогенетически

более молодых отделах изменения проявлялись более отчетливо, чем в нижележащих (например, пятом) слоях. Так, в третьем слое СМН отмечается большое число сморщенных, деформированных, диффузно окрашенных нейронов (рис. 1). В нейронах более глубоких (IV-VI) слоях отмечается иная картина этих изменений – большое количество клеток с крупными светлыми ядрами, вокруг которых располагаются ободки цитоплазмы, содержащие глыбки тигроида, что в данном случае может рассматриваться как признак инсульт-индуцированного истощения клеточных элементов. Итак, острейший период развития ГИ (в период «терапевтического окна») уже сопровождается выраженным повреждением нейронов верхних слоев неокортекса по сравнению с нейронами IV-VI слоев, а также изменением нейроглиальных взаимоотношений. При этом в пирамидных нейронах обнаруживают признаки истощения или дегенерации.

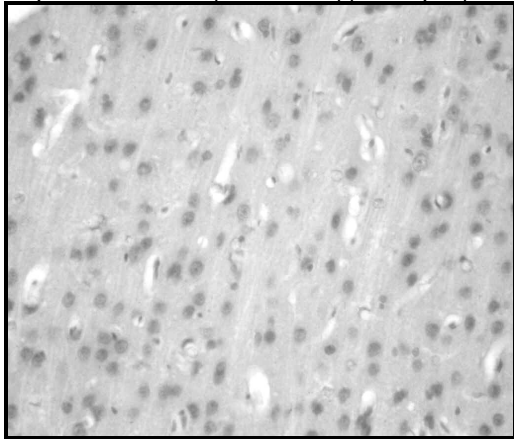


Рисунок 1. Микрофотография фронтального среза коры головного мозга животных через 24 часа после воспроизведения геморрагического инсульта. Окраска тионином (по Ниссля). Ок. 10. Об. 40.

При ГИ на фоне микрополяризации неокортекса анодом постоянного тока отмечаются явления активации глиальных клеток в области пирамидных нейронов без выраженного сателитоза, характерного для инсульта и наличия клеточных теней, при этом ядра глиоцитов также не изменены (рис. 2). В целом в данной группе менее выражен отек головного мозга и дистрофические изменения в нейронах. Использование микрополяризации неокортекса и трофинотропина «церебрал» в большей мере, чем только одной микрополяризации, ингибировало нарастание в головном мозге периваскулярного отека, развивающегося во всех слоях СМН. В данной группе в области неокортекса отмечено незначительное количество процессов апоптоза, некроза и дегенеративных изменений. У животных 4-й и 5-й групп отмечается частичные изменения в ядрах глиоцитов на фоне сателитоза и не резко выражены хроматолиз субстанции Ниссля в цитоплазме пирамидных нейронов, а также гиперхроматоз. Отмечается не резко выраженная деформация контуров апикальных

дендритов пирамидных нейронов. Дистрофические изменения в нейронах представлены не в виде диффузного тигролиза в клетках, а носят очаговый характер (рис. 2, 3). Установлено, что у животных 4 и 5 групп в дистрофически измененных нейронах ядрышки не претерпевают существенных изменений. Следовательно, совместное использование микрополяризации и «церебрала» при ГИ оказывают протекторное влияние на нервные клетки расположенные в неокортексе (область пенумбры), которое проявляется сохранением структуры данных клеток.

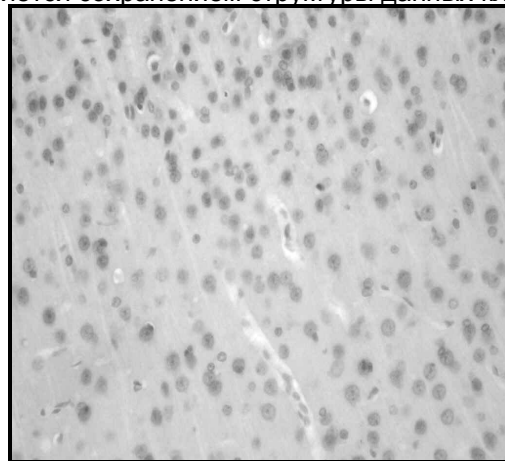


Рисунок 2. Микрофотография фронтального среза коры головного мозга животных через 24 ч после воспроизведения геморрагического инсульта, которым проводили микрополяризацию неокортекса анодом постоянного тока. Окраска тионином (по Ниссля). Ок. 10. Об. 40.

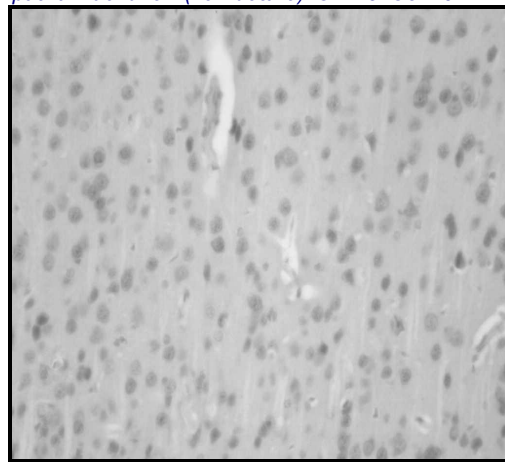


Рисунок 3. Микрофотография фронтального среза коры головного мозга животных через 24 ч после воспроизведения геморрагического инсульта, которым проводили микрополяризацию неокортекса анодом постоянного тока и вводили трофинотропин «церебрал». Окраска тионином (по Ниссля). Ок. 10. Об. 40.

Анализ и обобщение приведенных фактов свидетельствует о том, что по своей гистологической структуре пирамидные нейроны СМН животных с ГИ существенно отличаются от соответствующих клеток неокортекса при использовании исключительно одной анодной микрополяризации, или в сочетании с трофинотропином «церебрал». Показано, что при ГИ на фоне

выраженного отека ткани мозга в неокортексе регистрируется стаз крови, периваскулярные отеки и мелкие кровоизлияния, однако у животных 4-й и 5-й групп отмечается не только сохранность цитоархитектоники неокортекса, но и выраженное протекторное влияние на развитие инсульт-индуцированной патологии нейронов. В частности блокируется развитие деформации и вакуолизация цитоплазмы в пирамидных нейронах. Совместное использование микрополяризации и трофинотропина «церебрал» блокируют тотальное усиление окрашиваемости цитоплазмы и нуклеоплазмы пирамидных нейронов. Лишь у отдельных пирамидных нейронов отмечается центральный и периферический хроматоз, при этом указанные изменения проявляются преимущественно в филогенетически молодых слоях неокортекса.

Проведенная серия исследований по изучению нейрофармакологических (трофинотропин «церебрал») и нейрофизиологических (микрополяризация слабым анодом постоянного тока) аспектов протекторного действия неокортекса в условиях экспериментального ГИ показали, что неокортекс в экстремальных условиях оказывает протекторное действие на нервные клетки. В проведенном исследовании мы использовали два аспекта протекторного действия неокортекса при остром инсульте [6]. С одной стороны, это нейрофармакологический аспект, который заключается в использовании средства (трофинотропин «церебрал»), полученное из неокортекса головного мозга животных успешно перенесших экспериментальный геморрагический инсульт [3]. А с другой стороны, нейрофизиологический аспект защитного действия неокортекса, который состоит в использовании микрополяризации неокортекса слабым анодом постоянного. Механизм действия микрополяризации складывается из создания поляризационного очага (поляризационная доминанта по В.С. Русину) в области неокортекса, который защищает клетки расположенные в зоне пенумбры от повреждения, и не дает им погибнуть [6, 7, 9]. Следовательно, очаг, создаваемый микрополяризацией, мобилизует энергетические ресурсы клеток, и дает им возможность пережить острую фазу инсульта, до начала проведения активной фармакотерапией в том числе и трофинотропином «церебралом» [3, 6, 7, 9]. Итак, нами разработана схема проведения терапии при остром инсульте, которая складывается из использования сначала микрополяризации, а за-

тем трофинотропина «церебрал», что дает возможность защитить от гибели нервные клетки, находящиеся в пенумбральной области.

Выводы.

1. В остром периоде экспериментального геморрагического инсульта, при локализации очага кровоизлияния в области внутренней капсулы, показано, что наиболее чувствительны к повреждению филогенетически более молодые слои неокортекса.
2. Использование интракраниальной микрополяризации слабым анодом постоянного тока неокортекса оказывает протекторное действие на нервные клетки в остром периоде экспериментального геморрагического инсульта и способствует восстановлению неврологического дефицита.
3. Совместное использование интракраниальной микрополяризации слабым анодом постоянного тока неокортекса и трофинотропина «церебрал» оказывает более выраженное антиинсультное действие, чем использование микрополяризации, в остром периоде экспериментального геморрагического инсульта.

Литература

1. Верещагин Н.В., Пирадов М.А. Инсульт: оценка проблемы // Неврологический журнал. – 1999. - №5. С.4-7.
2. Голобородько Е.В. Структурно-функциональные аспекты терапевтического действия корковых нейротрофических факторов при экспериментальном геморрагическом инсульте: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.- Москва, 2007. – 28 с.
3. Королев Ю.Н., Макаренко А.Н. Патент РФ № 2151605 от 27.06.2000, Изобретения. Полезные модели, Москва (2000), Бюл. № 18 (1), с. 301.
4. Косицын Н.С., Макаренко А.Н., Пасикова Н.В. и др. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга // Журн. Высш. Нервн. Деятельности. – 2002.- № 6. С.765–768.
5. Кульчиков А.Е., Макаренко А.Н., Новикова Ю.Л., и др. Патент РФ № 2327 227 от 01.11.2005. Способ определения неврологического дефицита у мелких лабораторных животных при поражении головного мозга. Изобретения. Полезные модели, Москва (2008), Бюл. №17 (2), с. 214.
6. Макаренко А.Н. Нейрофизиологические и нейрохимические аспекты протекторного действия неокортекса при воздействии и передозировки общих анестетиков: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. - Киев, 1994.-34с.
7. Fregni F., Boggio P.S., Mansur C.G., et al. Transcranial direct current stimulation of the unaffected hemisphere in stroke patients // Neuroreport. – 2005. Vol. 14., №1. – P. 551-558.
8. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington DC (1996).
9. Suzuki K., Fujiwara T., Tsuji T., et al. After-effects of transcranial direct current stimulation over the affected motor cortex in patients with stroke // Clinical Neurophysiology. – 2008. Vol. 118, № 9, P. 201 – 201.

Реферат

ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ МИКРОПОЛЯРИЗАЦИИ НЕОКОРТЕКСА СЛАБЫМ АНОДОМ ПОСТОЯННОГО ТОКА И ТРОФИНОТРОПИНА «ЦЕРЕБРАЛ» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ (СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ)

Кульчиков А.Е., Косицын Н.С., Макаренко А.Н.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, микрополяризация, трофинотропин «церебрал».

В ходе проведения исследования изучали структурно-функциональные аспекты протекторного действия микрополяризации слабым анодом постоянного тока неокортекса и трофинотропина «церебрал» у крыс с геморрагическим инсультом (модель инсульта по А.Н. Макаренко и соавт., 2006). Показано, что использование микрополяризации неокортекса слабым анодом посто-

яного тока в течение 30 минут через 1 час после моделирования инсульта оказывает протекторное действие на нервные клетки и сопровождается снижением неврологического дефицита в остром периоде инсульта (сутки), ($p < 0,05$ по сравнению с группой животных с геморрагическим инсультом). Совместное использование микрополяризации и тропинотропина «церебрал» оказывает более выраженное протекторное действие, чем использование только одной микрополяризации ($p < 0,05$ по сравнению с группой животных с геморрагическим инсультом). Таким образом, разработан способ терапии геморрагического инсульта, включающий применение микрополяризации неокортекса и введение тропинотропина «церебрал».

Summary

PROTECTIVE ACTION OF MICROPOLARIZATION ON NEOCORTEX WITH WEAK ANODE OF DIRECT CURRENT AND "CEREBRAL" TROPHINOTROPINE UNDER EXPERIMENTAL HEMORRHAGIC STROKE (structural and functional analysis).

Kulchikov A.E., Kositzyn N.S., Makarenko A.N.

Key words: hemorrhagic stroke, micropolarization, "Cerebral" trophintropine

The research was devoted to the structural and functional aspects of micropolarization with weak anode of direct current on neocortex and "Cerebral" trophintropine in rats with hemorrhagic stroke. It has been demonstrated the micropolarization of the neocortex with weak anode of direct current for 30 min. after the stroke modeled provides protective effect on nerve cells and is accompanied with decrease in neurological deficiency at the most acute period of the stroke (1st day). Combined applying of micropolarization and "Cerebral" trophintropine provides more pronounced protective effect than the only micropolarization. Thus, we elaborated a new method of hemorrhagic stroke therapy including neocortex micropolarization and administering of "Cerebral" trophintropine.

УДК: 616-092.9+616.379-008.64

СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Левицький В.А., Міськів В.А.

Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ,

Запропоновано метод експериментального цукрового діабету, який відтворює патоморфологічні зміни у внутрішніх органах відповідно до стадійності перебігу патологічного процесу з врахуванням нейрофізіологічних, біологічних, емоційно-стресових основ формування, становлення та проявів цукрового діабету. Встановлено, що введення стрептозотоцину проявляється некрозом значної частини β -клітин острівці підшлункової залози та прогресуванням цукрового діабету, який розвивається в декілька етапів: період первинної гіперглікемії, період гіпоглікемії, період стабільної гіперглікемії з формуванням поліурії, полідипсії та гіперфагії.

Ключові слова: підшлункова залоза, експериментальний цукровий діабет, стрептозотоцин, морфофункціональні зміни.

Вступ

Цукровий діабет (ЦД) – одна з основних медико-соціальних проблем сучасного суспільства, що зумовлено високою захворюваністю та поширеністю ЦД і частим розвитком хронічних мікро- та макросудинних ускладнень, котрі призводять до погіршення психо-емоційного стану та порушень соціальної адаптації хворого. За оцінками експертів ВООЗ, кількість осіб у світі, які страждають від ЦД, у 2000 році становила 151 млн., до 2010 року це число сягне 239,3 млн., а до 2025 року зросте до 330 млн., що дає підстави говорити про «глобальну епідемію». В Україні налічується близько 1 млн. хворих на ЦД, з них 130 тисяч – особи, які потребують щоденних ін'єкцій інсуліну [1,2]. Незважаючи на великий прогрес у проведенні досліджень на генетично-модифікованих лініях тварин у плані розуміння послідовностей змін, які виникають при діабеті, їх важливість та роль важко переоцінити. Адже на сьогодні без належної уваги залишаються питання набутості схильності до діабету, що відіграють не менш важливу роль у виникненні захворювання. Відомо, що цукровий діабет є генетично-детермінованим лише в 6-7% випадків, а в інших випадках захворювання розвивається без

суттєвої спадкової схильності [3], тому в морфологічних дослідженнях широко використовується метод моделювання експериментального стрептозотоцинуіндукованого цукрового діабету, недоліками якого є висока смертність тварин на ранніх етапах експерименту внаслідок гіпоглікемічного стану.

Експериментальний стрептозотоциновий цукровий діабет у тварин є аналогічним до діабету I типу у людей [5,7]. Для нього характерним є висока гіперглікемія, підвищений вміст вільних жирних кислот та кетонів у крові. Наближеність стрептозотоцинової моделі ЦД до діабету I типу людини зумовлена спорідненим етіологічним механізмом дії даної речовини, як фактора, що викликає пошкодження β -клітин панкреатичних острівців і, як наслідок, активацію аутоімунної реакції. Руйнування β -клітин призводить до експозиції аутоантигенів з формуванням аутоімунної відповіді за характеристиками аутоалергічної реакції IV типу (гіперчутливість сповільненого типу) [8]. Послідовність змін, які характеризують імунну відповідь, що виникає при стрептозотоциновому ЦД в експерименті є аналогічною до змін при ЦД у людини. Натомість інші моделі ЦД подібні до діабету людини лише за своїми

* Науково-дослідна робота виконана відповідно до плану Івано-Франківського національного медичного університету і є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини "Морфофункціональна характеристика деяких органів та функціональних систем при цукровому діабеті в постнатальному періоді онтогенезу" (номер держреєстрації 0109U001106).

етіологічними чинниками або окремими ланками патогенезу.

Алкалоїд стрептозотонин (2-дезоксид-2-[метилнітрозоаміно-карбоніл-аміно]- β (або γ) D-глюкопіраноза) отримують з культури грибків *Streptomyces achromogenes*. Він проникає в β -клітини підшлункової залози (ПЗ) через їх GLUT2 – рецептори і спричиняє алкілювання ДНК [4,12]. Пошкодження ДНК активує процес полі-ADP-рибосилування, який є важливим елементом діабетогенної дії стрептозотонину [6,11], та призводить до виснаження внутрішньоклітинного пулу NAD⁺ та ATP (аденозинтрифосфату). Після введення стрептозотонину посилюється дефосфорилування аденозинтрифосфату, збільшується кількість субстрату для ксантиноксидази, а як наслідок цих процесів утворюються супероксидні та гідроксильні радикали, пероксид водню. Однією з властивостей стрептозотонину є утворення значних кількостей NO, що спричиняє пошкодження ДНК, в результаті β -клітини руйнуються шляхом некрозу [9,10].

Перевагами стрептозотонину можна назвати швидку екскрецію препарату з сечею, та відсутність специфічних продуктів його метаболізму. Так, уже через 15 хвилин після введення препарату ознаки його наявності в кровеносному руслі відсутні [7]. Він, у порівнянні з іншими речовинами із діабетогенними властивостями, володіє відносно низьким цитотоксичним ефектом на панкреатоцити, тому не впливає на екзокринну функцію підшлункової залози.

Мета дослідження. Метою нашої роботи було створення моделі експериментального цукрового діабету, яка відтворювала б патологічні зміни у внутрішніх органах та порушення їх функцій відповідно до стадійності клінічного перебігу ЦД-I типу, а також зменшення летальності від введення стрептозотонину.

Матеріал та методи дослідження.

Використали метод моделювання ЦД за допомогою антибіотика стрептозотонину, який широко застосовується в онкологічній практиці. Побічною дією даного препарату є розвиток через деякий час (10-15 діб) гіперглікемічного стану. Такий побічний ефект якраз взятий за основу методу моделювання ЦД. Стрептозотонин (фірми "SIGMA Chemical " США) вводився одноразово внутрішньоочеревинно у відповідно розрахованих дозах - 7 мг на 100 г маси тіла тварини (розчин готували на 0,1 М цитратному буфері з pH 4,5).

Дослідження проводилися на 30 щурах - самцях масою 120-150 г., яких розділили на 2 групи: контрольну та експериментальну, у якій виділили ще 2 підгрупи : А) тварини без корекції ЦД; Б) тварини із корекцією ЦД.

З метою зниження активності травних ферментів протягом доби до початку експерименту тваринам усіх груп не давали їсти. Розвиток діабету контролювали за рівнем глюкози, яку ви-

значали глюкозооксидазним методом, базуючись на тому, що глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню, який у присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназоном з утворенням хіноніміна червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично.

Забір матеріалу здійснювали на 1 та 14 добу експерименту. Для морфологічних досліджень шматочки ПЗ фіксували та обробляли згідно з вимогами електронної мікроскопії. Напівтонкі зрізи ПЗ забарвлювали метиленовим синім і використовували для визначення локалізації островців. Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом і сумішшю Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопії ПМ 125 К при напрузі 50 кВ. Для біохімічних досліджень забирала 3 мл. крові із хвостової вени.

Результати дослідження та їх обговорення.

Протягом 4 годин після введення стрептозотонину в тварин 2А та 2Б підгрупи спостерігається зниження загальної активності та ознаки гіперсалівації. При цьому щурі вживають багато рідини, а в крові спостерігається підвищення базального рівня глюкози, з поступовим наростанням її показників. Тварини 2Б підгрупи протягом перших 12 годин пили звичайну воду, а в наступні 10 годин активно вживали 10 відсотковий розчин глюкози та отримували солодку їжу, тоді як тварини 2А підгрупи перебували на звичайному харчовому раціоні.

Через 72 години після введення препарату смертність в 2А групі складала 30%, в 2Б групі - 10%.

Наприкінці першого тижня тварини ведуть себе активно, але спостерігаються первинні ознаки порушення вуглеводного обміну, які характеризуються формуванням ознак поліурії, гіперфатії, полідипсії, слизова оболонка ясен є помірно зволоженою за рахунок гіперсалівації. Наприкінці другого тижня експерименту поведінка тварин 2А та 2Б груп змінюється в порівнянні з попереднім періодом. Вони ведуть себе менш активно, апетит не порушений. На фоні вираженої гіперглікемії у експериментальних тварин спостерігається спрага та збільшення добового діурезу, маса тварин прогресивно зменшується.

При аналізі даних електронної мікроскопії наша увага була зосереджена на базофільних клітинах, оскільки вони є превалюючим типом інсулоцитів, котрі формують панкреатичні островці та відіграють одну з найважливіших ролей в регуляції вуглеводного обміну. β -клітини складають 65-70% від загальної кількості ендокриноцитів в островці, розташовуються по їх центру та в переважній більшості випадків мають полігональну або неправильну форму. В цитоплазмі інсулоцитів чітко контурується округле ядро, хроматин якого утворює глибокі поблизу внутрішньої мембрани ядерної оболонки, а також в його центрі. Окрім того, цитоплазма β -клітин насичується ве-

ликою кількістю секреторних гранул, які мають округлу форму та середню електронну щільність, а їх відмежовуюча мембрана має звивисті контури. Гранулярна ендоплазматична сітка утворюється невеликими каналцями та невеликими цистернами. Ці елементи тісно контактують з мітохондріями та секреторними гранулами. Наявна також значна кількість вільних рибосом, які розташовуються поодинокі або невеликими групами. Мітохондрії видовжені і містять косо орієнтовані кристи, зосереджуються переважно поблизу комплексу Гольджі, який є добре розвинутим і займає більшу частину площі клітин.

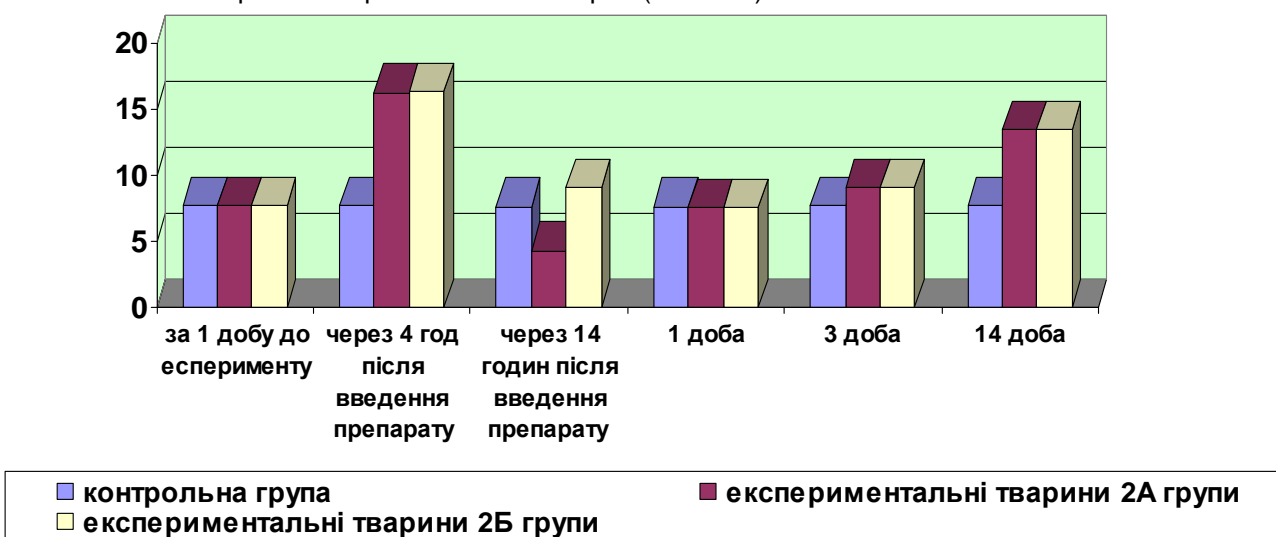
Через 1 добу, після введення стрептозотину спостерігається розповсюджений некроз β -клітин. В деяких клітинах виявляються ознаки каріорексису, розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, наявні інтрамітохондріальні агрегати.

Через 14 діб від початку розвитку стрептозотиніндукованого цукрового діабету відмінностей в будові тканини підшлункової залози тварин 2А та 2Б підгруп не виявляється. Значно змен-

шуються розміри острівців та питома кількість β -клітин, а вміст сполучної тканини збільшується. Острівці Лангерганса складаються переважно з α -клітин, в яких відбувається гіпертрофія гранулярної ендоплазматичної сітки. В функціонуючих β -ендокриноцитах наявні дегенеративні зміни, що характеризуються збільшенням оптичної щільності цитоплазми, зменшенням кількості секреторних гранул, збільшенням вмісту гетерохроматину в ядрі. Органели гомогенізуються, наявні вакуолеподібні розширення елементів гранулярної ендоплазматичної сітки.

Після внутрішньоочеревинного введення стрептозотину прослідковуються трьохфазні зміни зі сторони рівня цукру крові. Через 2 години з моменту введення препарату спостерігається рання гіперглікемія, що наростає протягом ще 10 годин. В наступні 10 годин спостерігається критичне падіння рівня глюкози. Згодом протягом 14 діб концентрація глюкози коливається в межах помірної гіперглікемії, що свідчить про початковий етап розвитку ЦД.

Рівень глюкози в крові експериментальних тварин (ммоль/л)



Таким чином, можна стверджувати, що подальший перебіг експериментального цукрового діабету у тварин 2А та 2Б груп є ідентичним, а додавання 10% розчину глюкози в харчовий раціон протягом перших годин не викликає принципових змін в перебігу патологічного процесу, а лише запобігає розвитку гіпоглікемічної коми на початкових етапах експериментального ЦД.

Висновок

1. Під впливом стрептозотину відбувається руйнування переважної більшості β -клітин острівців Лангерганса.

2. Формування гіперглікемії при експериментальному стрептозотиніндукованому ЦД відбувається в декілька етапів: період первинної гіперглікемії, період гіпоглікемії, період стабільної гіперглікемії з формуванням поліурії, полідипсії,

гіперфагії.

Для доповнення вже існуючих моделей експериментального цукрового діабету та з метою врахування активності ендогенних та екзогенних чинників, які будуть визначати формування та встановлення етапів ЦД, ми пропонуємо дотримуватись певних умов, що на подібних моделях не бралось до уваги.

1. За добу до введення препарату експериментальній тварині не дають їжу для зниження активності травних ферментів.

2. Вводять внутрішньоочеревинно стрептозотин (США) в дозі 7 мг. на 100г. маси тіла тварини в 0,01 молярному цитратному буфері.

3. Через 12 години після введення препарату (досягнуто стану гіпоглікемії внаслідок вибіркового пошкодження цитоплазми β -клітин острівців підшлункової залози та вивільнення ве-

ликої кількості гранул інсуліну) для запобігання розвитку гіпоглікемічної коми та зменшення летальності внаслідок останньої рекомендуємо протягом 10 годин давати тваринам 10% розчин глюкози та годувати солодкою їжею.

Література

1. Гвоздик М. Цукровий діабет. Обговорюємо проблему / М. Гвоздик // Здоров'я України.- 2005.- №22.- С.12-13.
2. Тронько М.Д. Епідеміологія цукрового діабету в Україні / М.Д. Тронько, А.Д. Чернобров // Здоров'я України 2005–№18 С.15.
3. Caillat-Zucman S. Genetic Predisposition to IDDM / S. Caillat-Zucman, J.F. Bach // Clin. Rev. Allerg. Immunol.- 2000.- 19, №3.- P.227-246.
4. Elsner M. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin / M. Elsner, B. Guldskjæ, M. Tiedge, R. Munday, S. Lener // Diabetologia.- 2000.- Vol.43, №12.- P. 1528-1533.
5. Like A.A. Streptozotocin induced pancreas insulinitis: new model of diabetes mellitus / A.A. Like, A.A. Rossini // Science.- 1976.- V.193.- P.416-417.
6. Pieper A.A. (ADP – ribose) polymerase-deficient mice are protected from streptozotocin-induced diabetes / A.A. Pieper, D.J. Brat, D.K. Krug, C.C. Wakins [et al.] //

Proc.Natl.Acad.Sci.USA. – 1999. – Vol.43, №6. – P.3059-3064.

7. Rosini A.A.. Studies of streptozotocin-induced insulinitis and diabetes / Rosini Aldo A., Arthur A. Liket, William L. Chick, Michael C. Appel, George F. Cahhil, Jr.//Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1977.-Vol. 74, №6, P.2485-2489.
8. Rabinovitch A. Immunoregulatory and cytokine imbalances in the pathogenesis of IDDM. Therapeutic intervention by immunostimulation / A. Rabinovitch // Diabetes- 1994.- Vol.43, №5.- P.613-621.
9. Szkudelski T. The mechanisms of alloxan and streptozotocin action in β -cell of the rat pancreas / T. Szkudelski // Physiol. Res.-2001.-Vol.50, №6.-P.536-546.
10. Turk J. Biochemical evidence for nitric oxide formation for streptozotocin in isolated pancreatic islet / J. Turk, J.A. Corbett, S. Ramanadham, A. Bohrer, M.L. McDaniel // Biochem. Biophys. Res. Commun.-2001.-Vol.197, №3.-P.1458-1464.
11. Wanda R. Nitric oxide generation and poly (ADP – ribose) polymerase activation precede beta-cell death in rats with a single high-dose injection of streptozotocin / R. Wanda, S. Yagihashi // Virchows Archiv.-2004.-Vol.444, №4.-P. 375-382
12. Wang Z. GLUT2 in pancreatic islets: crucial target molecule in diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in mice / Z. Wang, H. Gleichmann // Diabetes.- 1998.-Vol.47, №1.- P.50-56

Резюме

СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Левицкий В.А., Миськив В.А.

Ключевые слова: поджелудочная железа, экспериментальный сахарный диабет, стрептозотозин, морфофункциональные изменения.

Предлагаем метод экспериментального сахарного диабета, который отображает патоморфологические изменения во внутренних органах соответственно этапам развития патологического процесса с учетом нейрофизиологических, биологических, эмоционально-стрессовых основ формирования, развития и проявления сахарного диабета. Установлено, что введение стрептозотозина проявляется некрозом большей части β -клеток островков поджелудочной железы и развитием сахарного диабета, который развивается в несколько этапов: период первичной гипергликемии, период гипогликемии, период стабильной гипергликемии с формированием полиурии, полидипсии и гиперфагии.

Summary

MODELING TECHNIQUE OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Levytskyi V. A., Myskiv V.A.

Keywords: pancreas, experimental diabetes mellitus, streptozotocin, morpho-functional changes.

We offer the modeling technique of experimental diabetes mellitus, which represents pathomorphological changes in internal organs according to the stages of pathological process development taking into account neurophysiological, biological, emotional-stressful grounds in the formation, development and manifestation of diabetes mellitus. It has been found out the administering of streptozotocin was manifested by necrosis of the larger part of β -cells pancreatic islands and the development of diabetes mellitus which is growing in a few stages: period of primary hyperglycemia, period of hypoglycemia, period of stable hyperglycemia with forming of polyuria, polydipsia and hyperphagia.

УДК 616.34-007.272-092.18:615.916'172.6

ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН У ТКАНИНАХ ТОНКОЇ КИШКИ ЗА УМОВ ЇЇ ГОСТРОЇ НЕПРОХІДНОСТІ ТА ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ NO-СИНТАЗ

Левков А.А.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

У експерименті на 70 білих щурах досліджено концентрацію та співвідношення аденіннуклеотидів у тканинах тонкої кишки за умов її гострої непрохідності та змін функціонального стану NO-синтаз. Виявлено, що основний внесок у зниженні концентрації макроергічних сполук та енергетичного потенціалу в тканинах тонкої кишки у ранньому періоді розвитку гострої тонкокишкової непрохідності (через 6 годин) відіграє кальцій незалежна індукційна ізоформа NO-синтази. Застосування неселективного інгібітору NO-синтаз (L-NAME), селективного інгібітору iNOS (аміногуанідину) та субстрату NO-синтаз (L-аргініну) попереджує зменшення концентрації АТФ та енергетичного потенціалу. У пізньому періоді розвитку гострої тонкокишкової непрохідності (через 18 годин) головна роль у зниженні концентрації макроергічних сполук та енергетичного потенціалу в тканинах тонкої кишки приділяється як індукційній, так і нейрональній ізоформам NO-синтази. Застосування неселективного інгібітору NO-синтаз (L-NAME), селективних інгібіторів iNOS (аміногуанідину) та nNOS (7-нітроіндазолу) обмежує зменшення концентрації АТФ та енергетичного потенціалу. У цей період ефект від введення L-аргініну відсутній. Утворення пероксинітриту впливає на розвиток біоенергетичної недостатності у тканинах тонкої кишки як у ранній, так і пізній періоди гострої тонкокишкової непрохідності. Застосування скевенджеру пероксинітриту (L-селенометіоніну) попереджує зниження концентрації АТФ та енергетичного потенціалу.

Ключові слова: гостра тонкокишкова непрохідність, оксид азоту, NO-синтази, пероксинітрит.

Гостра тонкокишкова непрохідність (ГТКН) – одна із не вирішених проблем абдомінальної хірургії. Незважаючи на сучасні досягнення хірургії та інтенсивної терапії, летальність при ГТКН непухлинної етіології до теперішнього часу досягає 11,4 – 20,8%. [1-2].

Загальноновизнаним є те, що в результаті гіповолемії, порушень центральної і регіонарної гемодинаміки, мікроциркуляції та реологічних властивостей крові в умовах парезу тонкої кишки розвивається тканинна гіпоксія і розлади метаболізму, які призводять до виникнення некробіотичних процесів у стінці кишки [2,4].

Інтерес викликає роль оксиду азоту (NO) у патогенезі метаболічних розладів за умов ГТКН. У кишечнику ссавців існують ензиматичний, неензиматичний та бактеріальний шляхи продукції NO [11,13,18]. Кальцій-залежні ізоформи NO-синтаз (NOS) – нейрональна (nNOS) та ендотеліальна (eNOS), що експресуються конститутивно, відповідають за продукцію малих кількостей (наномолі) NO. Кальцій-незалежна індукційна ізоформа (iNOS) продукує великі дози NO (мікромолі) за обмежений період часу (особливо за умов запалення та імунної активації). У кишечнику існує декілька NOS-незалежних механізмів утворення NO. Так, за умов гіпоксії ксантиноксидаза відновлює нітрат-іони до нітрит-іонів та NO. Повідомляється про нітрат- та нітритредуктазну активність бактерій кишечника [18]. NO також є продуктом реакції H_2O_2 з аргініном [11].

У кишечнику NO опосередкує ефекти т.зв. неадренергічних-нехолінергічних нейронів, викликаючи глибоку релаксацію циркулярного м'яза тонкої кишки, що забезпечує перистальтику і пе-

ресування харчових мас уздовж кишечника [11]. Імуністохімічними методами встановлена наявність NOS у нейронах сплетення Ауербаха [13]. Їхня електрична стимуляція супроводжується секрецією NO і релаксацією кишечника, що може бути відвернено призначенням інгібіторів NOS.

У той же час повідомляється про роль NO у кишечнику як потужної цитотоксичної речовини. Одним із механізмів такої дії є утворення в реакції з супероксидним аніон-радикалом пероксинітриту [11].

За даними досліджень останніх років виявлено, що за умов обструкції товстої кишки істотно збільшується продукція NO нейрональною (nNOS) та індукційною (iNOS) NO-синтазами [15,16]. NO нейронального походження виявляє властивості трансмітера, що стимулює кишкову перистальтику, підвищення співвідношення iNOS/nNOS обмежує підвищення скорочувальної здатності, індукованого обструкцією [16].

Але на даний момент не існує єдиної думки щодо участі різних ланок системи NO у механізмах розвитку і загострення ГТКН, залишається нез'ясованою за цих умов їхня роль у механізмах забезпечення біоенергетичних процесів у тканинах тонкої кишки. Розв'язання цього питання особливо важливо, оскільки у патогенезі ГТКН розвиток гіпоксичного та вільнорадикального некробіозу є одними з провідних ланок [2,4].

Метою роботи було вивчення концентрації та співвідношення аденіннуклеотидів у тканинах тонкої кишки за умов її гострої непрохідності та змін функціонального стану NO-синтаз.

* Стаття є фрагментом планової НДР ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» «Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами» (№ держреєстрації 0108U010079).

Матеріали та методи

Дослідження були проведені на 70 білих щурах лінії Вістар масою 180-200 г. У першій серії необхідні показники вивчали у інтактних тварини (контрольна); у другій відтворювали ГТКН (контрольна); у третій, четвертій та п'ятій серіях – тваринам з модельованою ГТКН вводили відповідно неселективний інгібітор NOS – метиловий ефір нітро-L-аргініну (L-NAME), селективний інгібітор nNOS – 7-нітроіндазол (7-NI) та селективний інгібітор iNOS – аміногуанідин; у шостій і сьомій серіях – щурам з ГТКН вводили відповідно субстрат NOS – L-аргінин (L-Arg) та скевенджер пероксинітриду – L-селенометіонін (L-Sem).

L-NAME вводили у дозі 5 мг/кг [14], 7-NI – 30 мг/кг [14], аміногуанідин – 20 мг/кг [19], L-Arg – 500 мг/кг [3] та L-Sem – 3 мг/кг [14]. Усі сполуки вводили внутрішньоочеревинно за 20 хв. до початку відтворення ГТКН.

Для відтворення у піддослідних тварин ГТКН проводили оперативне втручання під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла). Виконували лапаротомію, в рану виводили петлю тонкої кишки, знаходили та перев'язували одну з магістральних вен брижі. Кишку складали по типу “двостволки” [7]. Післяопераційну рану зашивали. Евтаназію тварин виконували методом дис-

локації шийних хребців під ефірним наркозом.

Для оцінки вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканинах, що контактують із зоною некрозу за умов ГТКН, нами визначена стандартна ділянка тонкої кишки впродовж 2 см. Концентрацію аденозинтрифосфату (АТФ) визначали за допомогою вимірювання оптичної густини реагуючих речовин, яка пропорційна вмісту АТФ у пробі [10]. Вміст аденозинди- та монофосфату (АДФ і АМФ) визначали в одній пробі за допомогою сполучених реакцій [12]. На основі одержаних результатів обчислювали значення енергетичного потенціалу (ЕП) за формулою D.E. Atkinson [9].

Отримані дані оброблювали варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Через 6 годин після відтворення ГТКН у тканинах стандартної ділянки тонкої кишки відмічаються істотні порушення енергетичного обміну (табл. 1). Вміст АТФ і АДФ знижується відповідно на 19.5% ($p < 0,001$) та 15.5% ($p < 0,05$); АМФ підвищується в 3,7 рази ($p < 0,001$). Енергетичний потенціал достовірно знижується (на 20.9%, $p < 0,001$). Все це свідчить про значне зниження ресинтезу макроергічних сполук.

Таблиця 1.

Зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у стандартній ділянці тонкої кишки білих щурів за умов моделювання її гострої непрохідності протягом 6 годин та введення інгібіторів NOS ($M \pm m$, $n=25$)

Показники	Серії дослідів				
	Інтактна група	ГТКН	ГТКН + NAME	ГТКН + 7-NI	ГТКН + аміно-гуанідин
АТФ, мкмоль/г	1.64±0.06	1.32±0.04 *	1.47±0.02 */**	1.33±0.02 *	1.47±0.04 */**
АДФ, мкмоль/г	0.71±0.04	0.6±0.03 *	0.69±0.02 **	0.57±0.01 *	0.62±0.03
АМФ, мкмоль/г	0.18±0.01	0.67±0.03 *	0.41±0.02 */**	0.67±0.03 *	0.44±0.02 */**
Сума аденінну-клеотидів, мкмоль/г	2.53±0.13	2.59±0.13	2.57±0.07	2.57±0.04	2.53±0.12
Енергетичний потенціал	0.788±0.011	0.623±0.007 *	0.705±0.014 */**	0.627±0.014 *	0.703±0.007 */**

Примітка. В табл. 1. і наступних: * – $p < 0,05$ у порівнянні з інтактною групою тварин; ** – $p < 0,05$ у порівнянні з даними контрольної серії з відповідним терміном відтворення ГТКН.

Нами виявлено, що вміст та співвідношення аденіннуклеотидів у тканинах тонкої кишки у значній мірі залежать від функціональної активності NOS.

Так, введення L-NAME перед відтворенням 6-годинної ГТКН призводить до достовірного підвищення концентрації АТФ і АДФ відповідно на 11.4 ($p < 0,01$) та 15.0% ($p < 0,05$), енергетичного потенціалу на 13.2% ($p < 0,001$) у порівнянні з даними серії з відтворенням ГТКН. Вміст АМФ знижується на 38.8% ($p < 0,001$). Ці зміни можна пов'язати з обмеженням утворення великої кількості NO, здатного здійснювати цитотоксичну дію. NO-залежне порушення біоенергетичних процесів може бути обумовлене інактивацією ферментів, що приймають участь у енергоутво-

ренні (цис-аконітази, сукцинатдегідрогенази, гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази, FeS клас-терів, цитохромів, полі (АДФ-рібозо) полімерази). Цей механізм може бути опосередкований пероксинітридом [20].

Основний внесок у продукцію NO у тканинах тонкої кишки перед відтворенням 6-годинної ГТКН, очевидно, має iNOS. Це підтверджує той факт, що саме її інгібування шляхом введення аміногуанідину збільшує вміст АТФ на 11.4% ($p < 0,05$), енергетичний потенціал – на 12.8% ($p < 0,001$). Вміст АМФ знижується на 34.3% ($p < 0,001$). Введення селективного інгібітору nNOS 7-NI за цих умов не викликає статистично достовірних відмінностей величин концентрації аденіннуклеотидів у тканинах тонкої кишки у по-

рівнянні з контрольною серією з відтворенням відповідного терміну ГТКН.

Проте, введення білим щурам субстрату NOS L-Arg перед моделюванням 6-годинної ГТКН (табл. 2) збільшує концентрацію АТФ на 16.7% ($p < 0.02$), енергетичний потенціал – на 16.4% ($p < 0.001$). Вміст АМФ знижується на 44.8% ($p < 0.001$).

Позитивні ефекти L-Arg за умов моделювання некрозу тонкої кишки вже обговорювалися у літературі. Повідомлялося про здатність L-Arg стимулювати міграцію нешкоджених епітеліальних клітин для відновлення оголених ділянок базальної мембрани через механізм, залежний від активності FAK-кінази (focal adhesion kinase) [17].

Велике значення в процесі захисту клітин від

ушкодження мають антиоксидантні властивості L-аргініну, його здатність як лужної амінокислоти регулювати рН у тканинах. Як регулятор зв'язування макромолекул із клітинами крові L-аргінін у високих концентраціях знижує в'язкість крові, поліпшуючи мікроциркуляцію. Як попередник синтезу білків, сечовини, креатиніну, поліамінів, проліну, L-аргінін відіграє важливу метаболічну роль (креатинін приймає участь у енергетичному метаболізмі в м'язових і нервових клітинах, поліаміни – у проліферації і диференціації клітин, пролін – у синтезі колагену та утворенні позаклітинного матриксу) [6]. L-аргінін може безпосередньо гальмувати адгезію лейкоцитів до неендотеліального матриксу, діяти як вазодилатор безвідносно до NO [6].

Таблиця 2.

Зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у стандартній ділянці тонкої кишки білих щурів за умов моделювання її гострої непрохідності протягом 6 годин та введення субстрату NOS та скевенджера пероксинітриду ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактна група	ГТКН	ГТКН + L-аргінін	ГТКН + селено-метіонін
АТФ, мкмоль/г	1.64±0.06	1.32±0.04 *	1.54±0.06 **	1.58±0.07 **
АДФ, мкмоль/г	0.71±0.04	0.6±0.03 *	0.66±0.04	0.69±0.05
АМФ, мкмоль/г	0.18±0.01	0.67±0.03 *	0.37±0.02 */**	0.31±0.02 */**
Сума аденінну-клеотидів, мкмоль/г	2.53±0.13	2.59±0.13	2.57±0.15	2.58±0.18
Енергетичний потенціал	0.788±0.011	0.623±0.007 *	0.725±0.011 */**	0.745±0.013 */**

Вплив L-Sem за умов 6-годинної ГТКН збільшує концентрацію АТФ на 19.7% ($p < 0.01$), енергетичний потенціал – на 19.6% ($p < 0.001$). Вміст АМФ знижується на 53.7% ($p < 0.001$). Це підтверджує участь пероксинітриду у розвитку біоенергетичної недостатності у ранньому періоді ГТКН.

У динаміці ГТКН відмічається прогресуюче пригнічення енергетичного обміну у тканинах

тонкої кишки. Через 18 годин (табл. 3) після відтворення ГТКН концентрації АТФ і АДФ знижуються відповідно на 52.4% ($p < 0.001$) та 26.8% ($p < 0.01$) у порівнянні з даними інтактної серії. Вміст АМФ підвищується у 4,9 рази ($p < 0.001$). Енергетичний потенціал зменшується на 39.6% ($p < 0.001$).

Таблиця 3.

Зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у стандартній ділянці тонкої кишки білих щурів за умов моделювання її гострої непрохідності протягом 18 годин та введення інгібіторів NOS ($M \pm m$, $n=25$)

Показники	Серії дослідів				
	Інтактна група	ГТКН	ГТКН + NAME	ГТКН + 7-NI	ГТКН + аміно-гуанідин
АТФ, мкмоль/г	1.64±0.06	0.78±0.04 *	1.38±0.07 */**	1.43±0.06 */**	1.42±0.08 */**
АДФ, мкмоль/г	0.71±0.04	0.52±0.03 *	0.54±0.03 *	0.48±0.02 *	0.53±0.03 *
АМФ, мкмоль/г	0.18±0.01	0.88±0.04 *	0.55±0.03 */**	0.46±0.01 */**	0.47±0.02 */**
Сума аденінну-клеотидів, мкмоль/г	2.53±0.13	2.53±0.13	2.47±0.14	2.36±0.09	2.41±0.13
Енергетичний потенціал	0.788±0.011	0.476±0.007 *	0.667±0.013 */**	0.704±0.011 */**	0.696±0.015 */**

Введення L-NAME перед відтворенням моделі 18-годинної ГТКН також призводить до достовірного підвищення концентрації АТФ на 76.9% ($p < 0.001$), енергетичного потенціалу на 40.1%

($p < 0.001$) у порівнянні з даними серії з відтворенням ГТКН. Вміст АМФ знижується на 37.5% ($p < 0.001$).

Проте, суттєвий внесок у продукцію NO у тка-

нинах тонкої кишки перед відтворенням 18-годинної ГТКН, має не iNOS, але i nNOS.

Так, при введенні аміногуанідину перед відтворенням ГТКН вміст АТФ на 82.1% ($p < 0,001$), енергетичний потенціал – на 46.2% ($p < 0,001$) перевищують дані серії з відтворенням ГТКН. Вміст АМФ поступається останній на 46.6% ($p < 0,001$). При введення 7-NI – концентрація АТФ на 83.3% ($p < 0,001$), а енергетичний потенціал на 47.9% ($p < 0,001$) перевищують дані серії з відтворенням ГТКН. Вміст АМФ знижується на 47.7% ($p < 0,001$).

Повідомляється, що саме кальцій залежна

nNOS складає основний внесок у формування деструктивних уражень слизової оболонки шлунку за умов впливу стресового чинника [5].

У той же час, при введенні L-Arg перед відтворенням 18-годинної ГТКН (табл. 4) достовірних відмінностей величин концентрації аденіннуклеотидів у тканинах тонкої кишки у порівнянні з серією з моделюванням відповідного терміну ГТКН не виявлено. Тобто L-Arg у дозі 500 мг/кг виявляє здатність підвищувати біоенергетичні процеси у тканинах тонкої кишки за умов її непрохідності тільки у ранній період розвитку цієї патології (протягом 6 годин розвитку).

Таблиця 4.

Зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у стандартній ділянці тонкої кишки білих щурів за умов моделювання її гострої непрохідності протягом 18 годин та введення субстрату NOS та скевенджера пероксинітриду ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактна група	ГТКН	ГТКН + L-аргінін	ГТКН + селено-метіонін
АТФ, мкмоль/г	1.64± 0.06	0.78± 0.04 *	0.86± 0.06 *	1.22± 0.11 */**
АДФ, мкмоль/г	0.71± 0.04	0.52± 0.03 *	0.55± 0.04 *	0.55± 0.04 *
АМФ, мкмоль/г	0.18± 0.01	0.88± 0.04 *	0.79± 0.05 *	0.72± 0.07 *
Сума аденінну-клеотидів, мкмоль/г	2.53± 0.13	2.17± 0.12	2.2± 0.16	2.48± 0.27
Енергетичний потенціал	0.788± 0.011	0.476± 0.007 *	0.515± 0.018 *	0.599± 0.021 */**

При введенні L-Sem за умов 18-годинної ГТКН вміст АТФ на 56.4% ($p < 0,01$), енергетичний потенціал – на 25.8% ($p < 0,001$) перевищують дані серії з відтворенням ГТКН.

Це вказує на те, що на 18 годину розвитку ГТКН також виявляється роль пероксинітриду у пригніченні енергетичного обміну у тканинах тонкої кишки, проте прирости показників концентрації АТФ і енергетичного потенціалу при введенні скевенджера пероксинітриду L-Sem в цей термін істотно поступаються таким при неселективному та селективному інгібуванні NOS. Це, очевидно, вказує на значний внесок власне NO у розвиток біоенергетичної недостатності тканин кишки за умов ГТКН.

Висновки

1. NO-синтазний механізм утворення оксиду азоту залучений у механізми розвитку біоенергетичної недостатності у тканинах тонкої кишки за умов її гострої непрохідності.

2. Основний внесок у зниженні концентрації макроергічних сполук та енергетичного потенціалу в тканинах тонкої кишки у ранньому періоді розвитку гострої тонкокишкової непрохідності (через 6 годин) відіграє кальцій незалежна індукційна ізоформа NO-синтази. Застосування неселективного інгібітору NO-синтаз (L-NAME), селективного інгібітору iNOS (аміногуанідину) та субстрату NO-синтаз (L-аргініну) попереджує істотне зменшення концентрації АТФ та енергетичного потенціалу.

3. Основний внесок у зниженні концентрації

макроергічних сполук та енергетичного потенціалу в тканинах тонкої кишки у пізньому періоді розвитку гострої тонкокишкової непрохідності (через 18 годин) відіграє як індукційна, так і нейрональна ізоформа NO-синтази. Застосування неселективного інгібітору NO-синтаз (L-NAME), селективних інгібіторів iNOS (аміногуанідину) та nNOS (7-нітроіндазолу) обмежує зменшення концентрації АТФ та енергетичного потенціалу. У цей період ефект від введення L-аргініну відсутній.

4. Утворення пероксинітриду впливає на розвиток біоенергетичної недостатності у тканинах тонкої кишки як у ранній, так і пізній періоди гострої тонкокишкової непрохідності. Застосування скевенджера пероксинітриду (L-селенометіоніну) попереджує зниження концентрації АТФ та енергетичного потенціалу.

Література

1. Бойко В.В. Особенности современной хирургической доктрины при лечении больных с острой непроходимостью кишечника / В.В. Бойко, И.А. Криворучко, М.П. Брусныцина [и др.] // Харк. хірург. шк. – 2004. – № 1-2. – С. 6-8.
2. Дмитрук О.М. Комплексне лікування та профілактика неспроможності швів анастомозів у хворих з гострою тонкокишковою непрохідністю (клініко-експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.03 "Хірургія" / О.М. Дмитрук. – К., 2008. – 20 с.
3. Дробінська О. Вплив L-аргініну на ураження в слизовій оболонці шлунка, спричинені серотоніном / О. Дробінська, Л. Остапченко, О. Цирюк [та ін.] // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2004. – Вип. 38. – С. 201-204.
4. Лігоненко О.В. Мексидол – ефективний засіб антигіпоксичного захисту зони анастомозу при виникненні гострої непрохідності тонкого кишечника / О.В.Лігоненко, В.О.

- Костенко, І.О. Чорна [та ін.] // Клін. хірургія. – 2007. – №5-6. – С.29-30.
5. Максимович Я.С. Роль ізоформ синтази оксиду азоту в ульцерогенезі / Я.С. Максимович, О.В. Дробінська, Л.І. Остапченко // Фізика живого. – 2008. – Т. 16, № 1. – С. 134-138.
6. Марков Х.М. L-аргинин – оксид азота в терапії болезней сердца и сосудов / Х.М. Марков // Кардиология. – 2005. – №6. – С.87-95.
7. Пат. 21676 А Україна, 7 МПК А61В17/12. Спосіб моделювання гострої тонкокишкової непрохідності / Лігоненко О.В., Жданов С.М., Дмитрук О.М., Чорна І.О. ; опубл. 15.03.07. Бюл. № 3.
8. Сорокман Т.В. Роль монооксиду нітрогену в розвитку гастродуоденальної патології / Т.В. Сорокман, Д.Р. Андрійчук, С.В. Сокольник, О.В. Макарова // Буковинськ. мед. вісн. – 2009. – Т. 13, №1. – С. 136-139.
9. Atkinson D.E. The energy charge of the adenylate pools as a regulatory parameter: Interaction with feedback modifiers / D.E. Atkinson // Biochemistry. – 1968. – V.7, №11. – P.4030-4034.
10. Beutler E. Methods of enzymatic analysis / ed. E. Beutler – N.Y., 1975. – V.1. – 565 p.
11. Dijkstra G. Targeting nitric oxide in the gastrointestinal tract / G. Dijkstra, H. van Goor, P.L. Jansen, H. Moshage // Curr. Opin. Invest. Drugs. – 2004. – V.5, №5. – P. 529-536.
12. Jaworeck D. Adenosin-5'-diphosphat und adenosin-5'-monophosphat / D. Jaworeck, W. Gruber, H.V. Bermeyer // Methoden der enzymatischen analyse. – Bd.II. – Weinheim : Verlag – Chemie, 1974. – S.2147-2151.
13. Konturek S. Role of nitric oxide in the digestive systems / S. Konturek, P. Konturek // Digestion. – 1995. – V.56. – P.1-13.
14. Laude K. NO produced by endothelial NO synthase is a mediator of delayed preconditioning-induced endothelial protection / K.Laude, J.Favre, C. Thuillez [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2003. – V.284, №6. – P. H2053-H2060.
15. Palasthy Z. Dual effects of nitric oxide in acute colon obstruction / Z. Palasthy, J. Kaszaki, S. Nagy [et al.] // Magy Seb. – 2005. – V.58, №1. – P. 47-55.
16. Palasthy Z. Intestinal nitric oxide synthase activity changes during experimental colon obstruction / Z. Palasthy, J. Kaszaki, G. Lazar [et al.] // Scand. J. Gastroenterol. – 2006. – V. 41, №8. – P. 910-918.
17. Rhoads J.M. Arginine stimulates intestinal cell migration through a focal adhesion kinase dependent mechanism / J.M. Rhoads, W. Chen, J. Gookin [et al.] // Gut. – 2004. – V. 53, №4. – P. 514-522.
18. Sobko T. Gastrointestinal bacteria generate nitric oxide from nitrate and nitrite / T. Sobko, C.I. Reinders, E. Jansson [et al.] // Nitric Oxide. – 2005. – V. 13, №4. – P. 272-278.
19. Takeuchi K. Role of endogenous nitric oxide (NO) and NO synthases in healing of indomethacin-induced intestinal ulcers in rats / K. Takeuchi, R. Hatazawa, M. Tanigami [et al.] // Life Sci. – 2007. – V. 80, №4. – P. 329-336.
20. Zhang X. Peroxynitrite mediated oxidation damage and cytotoxicity in biological systems / X. Zhang, D. Li // Life Sci. J. – 2006. – V.3, № 3. – P. 41-44.

Реферат

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В ТКАНЯХ ТОНКОЙ КИШКИ В УСЛОВИЯХ ЕЕ ОСТРОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ И ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ NO-СИНТАЗ

Левков А.А.

Ключевые слова: острая тонкокишечная непроходимость, оксид азота, NO-синтазы, пероксинитрит.

В эксперименте на 70 белых крысах исследована концентрация и соотношение адениннуклеотидов в тканях тонкой кишки в условиях ее острой непроходимости и изменения функционального состояния NO-синтаз. Выявлено, что основной вклад в снижение концентрации макроэргических соединений и энергетического потенциала в тканях тонкой кишки в раннем периоде развития острой тонкокишечной непроходимости (через 6 часов) играет кальций независимая индуцибельная изоформа NO-синтазы. Применение неселективного ингибитора NO-синтаз (L-NAME), селективного ингибитора iNOS (аминогуанидина) и субстрата NO-синтаз (L-аргинина) предупреждает уменьшение концентрации АТФ и энергетического потенциала. В позднем периоде развития острой тонкокишечной непроходимости (через 18 часов) главная роль в снижении концентрации макроэргических соединений и энергетического потенциала в тканях тонкой кишки отводится как индуцибельной, так и нейрональной изоформам NO-синтазы. Применение неселективного ингибитора NO-синтаз (L-NAME), селективных ингибиторов iNOS (аминогуанидина) и nNOS (7-нитроиндазола) ограничивает уменьшение концентрации АТФ и энергетического потенциала. В этот период эффект от введения L-аргинина отсутствует. Образование пероксинитрита влияет на развитие биоэнергетической недостаточности в тканях тонкой кишки как в ранний, так и поздний периоды острой тонкокишечной непроходимости. Применение сквенджера пероксинитрита (L-селенометионина) предупреждает снижение концентрации АТФ и энергетического потенциала.

Summary

ENERGY METABOLISM IN SMALL INTESTINE UNDER ITS ACUTE OBSTRUCTION AND NO-SYNTHASE FUNCTIONAL ACTIVITY CHANGES

Levkov A.A.

Key words: acute small bowel obstruction, nitric oxide, NO-synthases, peroxynitrite.

Adenine nucleotides content and ratio in small intestine under its acute obstruction and NO-synthase functional activity changes have been studied in experiment on 70 white rats. We have found calcium independent inducible NO-synthase isoform figures in decreasing of high-energy compounds and energy quotient in small intestine tissues in the early period of acute small bowel obstruction (in 6 hours). Use of non-selective NO-synthases inhibitor (*N*⁶-nitro-L-arginine methyl ester), selective iNOS inhibitor (aminoguanidine) and NO-synthase substrate (L-arginine) prevents ATP and energy quotient decreasing. Both inducible and neuronal NO-synthases play a leading role in decreasing the high-energy compounds and energy quotient in small intestine tissues in the late period of acute small bowel obstruction (in 18 hours). Use of non-selective NO-synthases inhibitor (*N*⁶-nitro-L-arginine methyl ester), selective iNOS and nNOS inhibitors (aminoguanidine and 7-nitroindazole) restricts to ATP and energy quotient decreasing. This time L-arginine effect is lacking. Peroxynitrite formation influence bioenergy insufficiency in small intestine tissues both early and late periods of acute small bowel obstruction. Peroxynitrite scavenger L-selenomethionine administration prevents ATP and energy quotient decreasing.

УДК 578.086

ИЗУЧЕНИЕ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО АУТОГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Макаренко А.Н., Савосько С.И.

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченка

Изучены структурные нарушения морфофункциональной организации неокортекса мышей при воспроизведении острого геморрагического инсульта в эксперименте с использованием предложенного нами метода. Установлено, что на восьмые сутки развития инсульта дегенеративные процессы во фронтальной коре головного мозга развиваются интенсивнее в контралатеральном, т.е. противоположном от воспроизведенного инсульта полушарии. Проведен сравнительный анализ влияния антиинсультных препаратов на процессы, развивающиеся в ЦНС при инсульте.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, церебрал, церебролизин, кортексин.

Введение

Одним из частых и наиболее прогнозируемых неблагоприятных сосудистых заболеваний головного мозга является инсульт. Среди пациентов основную часть составляют больные с ишемическим инсультом (80-90%), но смертность от геморрагического инсульта (ГИ) в 1,5 раза выше [1]. Социальная актуальность проблемы терапии ОНМК чрезвычайно важна. Во-первых, она касается пациентов всех возрастных категорий, и особенно трудоспособного возраста, а во-вторых, низкая эффективность современного лечения ГИ сопровождается последующей инвалидизацией.

Цель исследования. Изучение сравнительной эффективности ноотропных и нейропротекторных препаратов, которые чаще всего используются в комплексном лечении острого геморрагического инсульта (ОНМК).

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 65 белых лабораторных мышах-самках весом 15-18г. Опытные животные были разделены на шесть групп: I – контроль, интактные животные (n=10); II – ложнооперированные животные (n=8); III – инсультная группа (n=17); IV – церебрал (n=10); V – кортексин (n=10); VI – церебролизин (n=10). Исследуемые препараты вводили однократно через 2 часа после завершения операции воспроизведения у животных острого геморрагического инсульта (Макаренко А.Н. и соавт., 2002) [5]. В этом методе использовано механическое повреждение ткани и сосудов в области внутренней капсулы головного мозга (AP = - 1,0мм, L = 1,5мм, H = 3,0мм) вращательными движениями мандрена-ножа, это сопровождалось натеканием крови в эту область деструкции (т.е. формировался посттравматический вариант интрацеребральной гематомы). Ложнооперированным животным проводили те же процедуры, но без введения мандрена. Средства вводились животным однократно: церебрал (“Днепрофарм”, Днепрпетровск, Украина) вводили интраназально в дозе 0,02 мг/кг, кортексин (“Герофарм”, Санкт-Петербург, Россия) – внутримышечно в дозе 10 мг/кг, а церебролизин (“Еbewe”, Унтеррах, Австрия) – интраперитонеально в дозе 0,04 мл/кг.

Животные были декапитированы на восьмые сутки после воспроизведения аутогеморрагического инсульта в условиях поверхностного эфирного наркоза. Мозг быстро фиксировали в течении суток в 10% нейтральном формалине. После стандартной гистологической проводки ткань заливали в парафин. Для изучения морфологических показателей клеток изготавливали 10-микронные срезы фронтальной коры головного мозга, которые депарафинировали и окрашивали гематоксилин-эозином. Морфометрические исследования проводились на микроскопе Olympus (Япония). О функциональном состоянии выживших нервных клеток судили на основании изменения площади и периметра ядер и перикариона нейронов и нейроглиального индекса. На основе полученных результатов был вычислен индекс нейродегенерации и дегенерации глиальных клеток на основании изучения отношения числа живых клеток к погибшим [3].

Результаты и их обсуждение

В процессе эксперимента осуществляли динамический мониторинг общего и клинического состояния животных, их выживаемости в остром периоде инсульта и особенности влияния фармакологических средств на эти показатели. У всех опытных животных отличались пониженные двигательная активность и потребность в пище и воде. При анализе смертности животных было отмечено, что при прочих равных условиях антиинсультные средства оказывали различное протекторное влияние на выживаемость мышей в раннем периоде заболевания. Так, смертность животных при моделировании ГИ составила 52,94%, у ложнооперированных животных – 25,0% и снижалась при лечении кортексином до 30,0%, а при лечении церебралом и церебролизином еще существеннее – до 10,0%.

У опытных животных на 8 сутки постинсультного периода наблюдались острый отек ткани мозга, дегенерация нейронов и глиальных клеток в обеих полушариях неокортекса головного мозга мышей. Нами было отмечено, что наиболее выраженная дегенерация пирамидных нейронов при инсульте преобладала в III слое контралатерального полушария и в V слое ипсилатерального полушария. При этом у преобладающего количества погибших нейронов отме-

чено острый отек тел и апикальных дендритов нейронов (Рис.1, табл.1). Мы полагаем, что такой характер нейродегенерации обусловлен остро выраженным энергетическим дефицитом ткани мозга, образованием свободных радикалов и, как следствие, нарушением структурных и барьерных функций клеточных мембран. При геморрагическом инсульте установлена также острая дегенерация глиальных клеток во фронтальном неокортексе обоих полушарий головного мозга опытных животных (табл. 2). При этом отмечается состояние глиоза инсультного полушария, особенно III слоя фронтального неокортекса, что сопровождается изменением нейроглиальных взаимоотношений и проявляется развитием и формированием ассоциации глиоцитов вокруг нейронов, т.н. явления сателитоза (табл. 3). В контралатеральном полушарии и в V слое ипсилатерального полушария количество сателлитов вокруг нейронов не увеличивалось. Развитие отека тел и дендритов сопровождалось увеличением морфометрических показателей размеров тел и ядер нейронов (табл. 4).

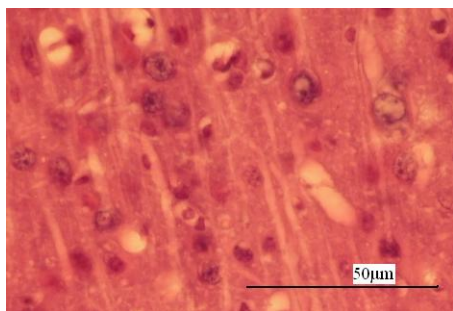


Рис. 1. Сравнительная нейродегенерация клеток пятого слоя неокортекса на восьмие сутки экспериментального воспроизведения и терапии острого аутогеморрагического инсульта: А – неокортекс животных с инсультом; Б – неокортекс у животных с инсультом на фоне введения кортексина; В – неокортекс у животных с инсультом на фоне введения церебролизина; Г – неокортекс у животных с инсультом на фоне введения церебрала.

У псевдооперированных животных наблюдали нарушения структуры фронтального неокортекса. В отдельных случаях установлен локальный и не резко выраженный отек апикальных дендритов нейронов, дегенерация глиоцитов и нейронов (табл. 1, 2). При этом в III и V слоях цереброкортекса контралатерального полушария отмечается ярко выраженный глиоз. В этих областях морфометрические показатели размеров ядер и тел нейронов существенно отличаются от ипсилатерального полушария, но при этом не приближаются к данным показателям интактных животных (табл. 4). Наиболее выраженная дегенерация глиоцитов при операции преобладала в V слое неокортекса ипсилатерального полушария, при этом дегенерация нейронов фронтального цереброкортекса наблюдалась в обоих по-

лушариях головного мозга (табл. 3). Мы полагаем, что такой характер дегенерации нейронов обусловлен нарушениями гемодинамики, которые развиваются при травматическом поражении головного мозга животных. Результатом этого явилось увеличение размеров ядер и тел нейронов цереброкортекса. Таким образом, процессы, развивающиеся в фронтальном неокортексе головного мозга при инсульте существенно отличаются от тех, которые наблюдали у ложнооперированных животных, а острая дегенерация нейронов и глиоцитов на 8 сутки постинсультного периода вызваны развитием геморрагического инсульта.

Использование церебрала в указанной дозе сопровождалось значительным усилением выживания нейронов в III слое неокортекса обеих полушарий мозга при воспроизведении аутогеморрагического инсульта даже на 8 сутки заболевания, которые в клинических условиях соответствуют второму периоду ухудшения состояния больных после развития ГИ [2]. При этом церебрал, по-видимому, влияет не только на миграцию глиоцитов, но и на их выживаемость при инсульте (табл. 1, 2). При сравнительном изучении дегенерации глиальных клеток установлено, что активность этих процессов выше в контралатеральном полушарии. Интраназальное использование трофинотропина церебрала в острый период развития инсульта оказывает протекторное влияние на нейроны и глиальные клетки неокортекса, главным образом ипсилатерального полушария, так как регулирует активность синтеза NGF и других цитокинов и нейротрофинов, способен осуществлять цитопротекторное и нейроактивирующее влияния на клетки мозга [2].

Церебролизин в указанной дозе оказал незначительное влияние на выживаемость нейронов III и V слоев неокортекса инсультного полушария (табл. 1, 2). При этом интенсивность дегенерации нейронов на 8 сутки развития инсульта незначительно отличалась от таковых у животных III группы. В тоже время использование церебролизина привело к усилению процессов дегенерации глиальных клеток в фронтальном неокортексе обеих полушарий мозга. Существенного сателитоза, который обнаружен нами при лечении церебралом, не установлено (табл. 3). Таким образом, церебролизин в остром периоде развития геморрагического инсульта активизирует механизмы и усиливает выживание нейронов неокортекса мышей преимущественно инсультного полушария, и одновременно с этим оказывает негативное влияние на функциональное влияние глиальных клеток цереброкортекса обеих полушарий.

Таблиця 1.
Степень дегенерации нейронов неокортекса при остром геморрагическом инсульте.

Группа	Область		Количество живых нейронов	Количество погибших нейронов	ИДН
Контроль	III		38,57±2,01	1,57±0,47	24,56
	V		23,57±3,82	2,14±0,60	11,01
Ложно-оперированные	И	III	36,57±1,88	5,42±0,42	6,74
		V	26,21±2,50	6,50±0,68	4,03
	К	III	38,92±1,66	6,85±1,24	5,68
		V	22,42±1,32	5,00±0,58	4,48
Инсульт	И	III	16,85±1,41 [*]	18,92±1,95	0,89
		V	6,92±0,81 [*]	26,07±0,07	0,26
	К	III	16,07±2,14 [*]	21,57±1,47	0,74
		V	11,57±1,37 [*]	23,71±1,48	0,48
Церебрал	И	III	21,21±1,95 [*]	19,00±3,04 ^{**}	1,11
		V	12,42±1,75 ^{***}	16,21±1,87 ^{**}	0,76
	К	III	24,35±2,19 ^{***}	23,78±1,66	1,02
		V	9,28±1,18	19,92±1,03 ^{**}	0,46
Церебролизин	И	III	22,57±3,90 ^{***}	22,78±2,24	0,99
		V	7,71±1,13 [*]	26,64±1,51 ^{**}	0,28
	К	III	19,64±2,13 [*]	27,00±2,14 ^{**}	0,72
		V	7,00±1,27 [*]	27,28±1,99 ^{**}	0,25
Кортексин	И	III	11,64±1,17 ^{***}	27,07±1,74 ^{**}	0,42
		V	11,78±2,82 ^{***}	22,92±1,70	0,51
	К	III	21,78±2,19 [*]	20,35±1,66 ^{***}	1,07
		V	8,71±1,36 [*]	21,07±1,12 ^{**}	0,41

* - достоверно по отношению к контролю $p < 0,05$;

** - достоверно по отношению к инсульту $p < 0,05$.

И – инсультное полушарие, К - контралатеральное полушарие, ИДН – индекс дегенерации нейронов.

Таблиця 2.
Степень дегенерации глиальных клеток неокортекса при остром геморрагическом инсульте.

Группа	Область		Количество живых глиоцитов	Количество погибших глиоцитов	ИДГ
Контроль	III		20,28±1,08	6,28±0,71	3,22
	V		11,50±1,21	5,14±0,88	2,23
Ложно-оперированные	И	III	16,14±0,98 [*]	5,28±0,80	3,05
		V	13,92±2,99	12,92±1,40	1,07
	К	III	17,92±1,87	5,92±0,71	3,02
		V	18,57±1,96	7,92±0,68	2,34
Инсульт	И	III	9,00±1,21 [*]	38,78±4,21	0,23
		V	6,71±1,07 [*]	31,28±2,34	0,21
	К	III	1,57±0,55 [*]	23,07±2,00	0,06
		V	1,07±0,48 [*]	23,64±1,77	0,04
Церебрал	И	III	10,78±1,60 [*]	10,07±1,62 ^{**}	1,07
		V	14,42±1,38 ^{**}	16,21±1,42 ^{**}	0,88
	К	III	4,92±0,52 ^{***}	18,42±1,47 ^{**}	0,26
		V	2,64±0,77 [*]	17,57±1,62 ^{**}	0,15
Церебролизин	И	III	2,14±1,33 ^{***}	24,07±3,35 ^{**}	0,08
		V	1,14±0,44 ^{***}	32,21±5,63	0,03
	К	III	1,92±0,39 [*]	20,28±1,36	0,09
		V	0,14±0,10 ^{***}	22,07±1,40	>0,01
Кортексин	И	III	1,64±0,88 ^{***}	29,35±3,79 ^{**}	0,05
		V	2,00±0,30 ^{***}	28,00±2,38	0,07
	К	III	2,28±0,75 [*]	19,50±1,30	0,11
		V	1,28±0,39 [*]	25,28±1,25	0,05

* - достоверно по отношению к контролю $p < 0,05$;

** - достоверно по отношению к инсульту $p < 0,05$.

И – инсультное полушарие, К – контралатеральное полушарие, ИДГ – индекс дегенерации глиоцитов.

Таблиця 3
Общая характеристика изменения нейроглиального индекса при остром геморрагическом инсульте.

Группа	Ипсилатеральное полушарие		Контралатеральное полушарие	
	III	V	III	V
Контроль	0,86±0,02	0,82±0,02	0,85±0,06	0,82±0,06
Ложно-оперированные	0,88±0,12*	0,80±0,09*	0,76±0,08	0,76±0,08
Инсульт	0,86±0,02*	1,00±0,00*	1,00±0,00*	1,00±0,00*
Церебрал	0,84±0,02*	0,78±0,02*	0,92±0,05**	0,85±0,06**
Церебролизин	0,93±0,02**	0,96±0,01*	1,00±0,00*	1,00±0,00*
Кортексин	0,87±0,02*	0,86±0,02*	0,85±0,06**	0,96±0,03*

* - достоверно по отношению к контролю $p < 0,05$;

** - достоверно по отношению к инсульту $p < 0,05$.

Таблиця 4.
Изменения морфометрических показателей нейронов неокортекса при остром геморрагическом инсульте.

Группа	Область		Периметр ядра, $\mu\text{м}$	Площадь ядра, $\mu\text{м}^2$	Периметр нейрона, $\mu\text{м}$	Площадь нейрона, $\mu\text{м}^2$
Контроль		III	12,92±0,1	10,91±0,2	21,19±0,2	25,87±0,4
		V	16,41±0,2	17,75±0,4	28,01±0,3	45,65±0,8
Ложно-оперированные	И	III	19,16±0,1*	25,03±0,5*	25,31±0,2*	38,45±0,6*
		V	22,25±0,1*	32,74±0,4*	31,27±0,3*	56,13±0,8*
	К	III	14,86±0,2*	14,81±0,4*	20,20±0,2	25,24±0,6
		V	15,91±0,1*	16,36±0,3*	22,62±0,2*	30,68±0,5*
Инсульт	И	III	19,85±0,1*	26,93±0,4*	25,26±0,2*	41,42±0,6*
		V	22,86±0,1*	35,21±0,5*	28,82±0,2*	54,06±0,9*
	К	III	19,36±0,1*	25,57±0,4*	23,74±0,2*	36,70±0,6*
		V	21,61±0,2*	31,71±0,6*	27,15±0,2*	48,33±0,8*
Церебрал	И	III	18,81±0,1*	24,50±0,3*	23,29±0,1*	36,19±0,4*
		V	21,70±0,3*	32,35±1,1*	29,40±0,3*	53,85±1,3*
	К	III	19,64±0,1*	26,33±0,3*	23,28±0,1*	35,65±0,4*
		V	21,24±0,2*	30,18±0,8*	27,14±0,2*	46,32±1,1*
Церебролизин	И	III	18,62±0,1*	24,41±0,4*	23,40±0,2*	37,08±0,6*
		V	21,15±0,3*	31,61±0,9*	27,24±0,4*	48,83±1,5*
	К	III	19,21±0,2*	24,89±0,5*	24,32±0,3*	36,90±0,7*
		V	21,61±0,2*	31,47±0,6*	27,10±0,3*	46,38±0,8*
Кортексин	И	III	19,68±0,2*	27,04±0,6*	25,53±0,3*	41,66±0,9*
		V	22,15±0,2*	33,31±0,7*	28,78±0,3*	51,04±1,1*
	К	III	17,34±0,1*	20,40±0,3*	21,57±0,2*	30,26±0,4*
		V	22,30±0,2*	32,67±0,6*	27,74±0,3*	49,25±1,1*

* - достоверно по отношению к контролю $p < 0,05$.

И – инсультное полушарие, К – контралатеральное полушарие.

Использование кортексина (в дозе 10 мг/кг) не оказало выраженного положительного влияния на выживаемость глиоцитов неокортекса при остром геморрагическом инсульте, а характер протекторного влияния на нейроны являлся диффузным (табл. 1, 2). В частности при терапии выживаемость нейронов неокортекса в сравнении с показателями инсультной группы животных (т.е. без лечения кортексином), была большей в V слое неокортекса ипсилатерального полушария и в III слое контралатерального полушария. При этом значительное количество нейронов находилось в состоянии гидропического набухания, что часто обнаруживается в условиях активного формирования свободных радикалов в условиях оксигенативного стресса и гипоксии [7]. Одновременно с этим установлено концентрирование глиоцитов вокруг нейронов, т.е. глиоз на 8 сутки геморрагического инсульта (табл. 3).

Анализ и обсуждение морфологических и морфометрических показателей, оценка характера структурно-функциональных нарушений в

острый период инсульта в цереброкортексе животных, свидетельствует о том, что применение церебрала с использованием интраназального способа доставки лекарственных средств в мозг, имеет лучший результат в отношении цитологической защиты головного мозга при инсульте, чем других препаратов – церебролизина и кортексина. Это обусловлено, во-первых, химическим составом препарата, во-вторых, механизмом доставки лекарства к терапевтическим церебральным мишеням. Церебрал, в отличие от церебролизина и кортексина, получен из неокортекса животных, которые успешно пережили экспериментальный острый геморрагический инсульт, при лечении ОНМК используется принцип лечения не "подобное-подобным", а предложенный нами способ, который мы условно назвали "не обученное-обученным". Как известно, в условиях повреждения нервной системы нервные клетки синтезируют и выделяют качественно новые короткие пептиды (например, BINP и др.), которые в этих экстремальных условиях проявляют протекторное влияние на

клеточные структуры мозга и на отдельные системы организма, его выживаемость. При этом активируются различные системы защиты клеток: антиоксидантные, антиапоптотические, механизмы регенерации и др. Ранее было показано, что введение церебрала при инсульте активирует в головном мозге инсультных животных синтез NGF, обеспечивая, таким образом, ускоренный активационно-регуляторный терапевтический эффект, который существенно запаздывает при обычном течении ОНМК у больных [8]. К тому же интраназальный способ введения и доставки лекарственных средств в данном случае также имеет свои преимущества. Этот способ введения позволяет поставлять молекулы препарата по системе ольфакториального пути непосредственно в мозг минуя ГЭБ, хотя частично фракции церебрала определяются и в других органах, что обусловлено его проникновением в кровеносное русло [8]. При иных способах введения (интраперитонеальный, внутримышечный) лекарственные средства расщепляются гематогенным, т.е. циркуляторным образом по всему организму, и поэтому к терапевтическим мишеням мозга поступает лишь часть введенного лекарственного средства ($\approx 1\%$). К тому же изучаемые нами препараты представлены фракциями аминокислот и пептидов, полученных из мозга других животных, что вероятно, приводит к образованию антител на гаптен-пептиды молекул препаратов при их неоднократном введении. Интраназальный способ дает возможность избежать этого. Еще одним важным преимуществом использования церебрала при инсульте является его иммунорегуляторный эффект [4]. Известно, что в остром периоде развития инсульта развивается острая лимфоцитопения, что приводит к развитию иммунодепрессии и, как следствие, активации вирусных и бактериальных инфекций, т.е. инфекционно-воспалительных осложнений ОНМК [6]. Церебрал обладает стимулирующим влиянием на Т-клеточное звено иммунитета при сниженном уровне лимфоцитов в крови, что в условиях острого инсульта крайне важно. Результаты проведенных исследований показывают, что интраназальный способ доставки лекарственного средства церебрала и его иммунорегуляторная активность оказывают влияние не только на кле-

точный состав и нейроглиальные взаимоотношения головного мозга мышей в острый период развития инсульта, но и на системный показатель выживаемости животных в целом, по сравнению с другими лекарственными препаратами противоинсультного фармакологического действия, широко используемыми в настоящее время в клинических условиях.

Выводы.

На основании сравнительного анализа фармакологического действия изучаемых препаратов сделан вывод о том, что терапия церебралом в первые часы моделирования ОНМК в большей степени, чем церебролизин и кортексин, повышает выживаемость нейронов и глиоцитов фронтального неокортекса при остром геморрагическом инсульте. Кроме того, следует отметить, что интраназальный способ введения препарата церебрал удобен в сравнении с использованиями парентеральными системами доставки лекарств (drug delivery systems) в организм.

Литература

1. Гузева В.И., Чухловина М.Л., Мацукатова Е.М. Иммунологические аспекты патогенеза геморрагических инсультов // Юбилейная X Конференция "Нейроиммунология". – 2001. – Т. 2, СТ. 49. – С. 223-297.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. – 328 с.
3. Беленичев И.Ф., Мазур И.А., Колесник Ю.М., Абрамов А.В., Бухтиярова Н.В., Сидорова И.В. Влияние тиотриазолонина на гистоморфологические изменения нейронов коры и гиппокампа в постинсультный период // Новости медицины и фармации. – 2007. – № 5 – С. 14-25.
4. Макаренко А.Н., Аркадьев В.Г., Кузнецова Л.В., Максимов Ю.Н., Новик Л.В. Иммунофармакологические аспекты действия трофинотропного фактора "ЦЕРЕБРАЛ[®]" // Юбилейная X Конференция "Нейроиммунология". – 2001. – Т. 2, СТ. 49. – С. 223-297.
5. Макаренко А.Н., Косицын Н.С., Пасикова Н.В., Свинов М.М. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга у экспериментальных животных. // Журнал высшей нервной деятельности. – 2002. – Т. 52, № 6. – С. 765-768.
6. Dirnagl U., Klehmet J.S., Braun J.S. et al. Stroke-induced immunodepression // Stroke. – 2007. – Vol. 38. – P. 770-773.
7. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons // Physiol. Rev. – 1999. – Vol. 79, №4 – P. 1431-1568.
8. Makarenko A.N., Vasil'eva I.G. Neuroactivating mechanism of action of the new trophinotropic drug cerebral // Eksp. Klin. Farmakol. – 2004. – Vol. 67, № 4. – P. 12-15.

Реферат

ИЗУЧЕНИЕ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО АУТОГЕМОРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Макаренко А.Н., Савосько С.И.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, церебрал, церебролизин, кортексин. Summary

Изучены структурные нарушения морфофункциональной организации неокортекса мышей при воспроизведении острого геморрагического инсульта в эксперименте с использованием предложенного нами метода. Установлено, что на восьмые сутки развития инсульта дегенеративные процессы во фронтальной коре головного мозга развиваются интенсивнее в контралатеральном, т.е. противоположном от воспроизведенного инсульта полушарии. Проведен сравнительный анализ влияния антиинсультных препаратов на процессы, развивающиеся в ЦНС при инсульте.

Summary

STUDY OF COMPARATIVE EFFECTIVENESS OF DRUGS USED IN ACUTE AUTOHEMORRHAGIC STROKE THERAPY IN EXPERIMENT.

Makarenko A.N., Savosko S.I.

Key words: hemorrhagic stroke, Cerebralum, Cerebrolysinum, Cortexine.

The research was aimed to study the morphofunctional organization failures in mice neocortex under the modeling of acute hemorrhagic stroke. It has been found out that on the 8th day since stroke was developing the degenerative processes in the frontal cerebral cortex appeared to be more intensive in contralateral hemisphere, i.e. opposing to that where stroke had been modeled. There has been carried out the comparative analysis of effectiveness of anti-stroke drugs upon the processes occurring in CNS under stroke.

УДК: 616.5–001.29–085:615.152–074.5]–092.9

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ ПРИ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ МЕСТНЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ КОЖИ

Миронченко С. І.

Харківський національний медичний університет, м. Харків

Статья посвящена изучению физико-химических свойств крови при местных лучевых повреждениях кожи в эксперименте. Исследование проводили методом межфазной тензиометрии и реометрии. Изучены показатели динамического поверхностного натяжения, вязкоэластичности и времени релаксации крови при данной патологии. Течение местных лучевых повреждений сопровождается достоверными изменениями показателей межфазной тензиометрии и реометрии крови, что можно использовать в качестве критериев интегральной оценки тяжести заболевания. Показано, что альта́н в лечебно-профилактическом режиме при лучевых повреждениях кожи проявляет выраженную фармакотерапевтическую активность и способствует нормализации физико-химических свойств крови.

Ключевые слова: межфазная тензиореометрия, лучевые повреждения кожи, альта́н

Лучевая терапия является одним из основных методов комбинированного лечения больных со злокачественными новообразованиями различной локализации. В то же время применение даже современных высокоэффективных схем лучевой терапии может сопровождаться развитием лучевых реакций и повреждений. При проведении лучевой терапии злокачественных новообразований обязательному воздействию подвергаются кожа и подлежащие ткани [1,2]. Их лечение сопряжено с определенными трудностями и не всегда дает удовлетворительные результаты. Лучевые дерматиты и эпителииты, отличающиеся упорным и длительным течением, устойчивостью к лечению, сопровождающиеся септическими, аллергическими и другими тяжелыми осложнениями, нередко нивелируют хорошие результаты лечения основного заболевания, ухудшают общее состояние пациентов, иногда приводят к инвалидизации и даже могут быть причиной летального исхода. Основные методы профилактики и лечения лучевых реакций и повреждений кожи включают как правильный подбор и проведение собственно лучевой терапии, так и медикаментозные средства. Для лечения лучевых повреждений кожи используют индифферентные мази, дибунол, димексид, глюкокортикоиды и другие фармакологические

препараты. Однако, несмотря на широкий выбор средств, обладающих противовоспалительным и противоожоговым действием, эффективность многих из них недостаточна, сопровождается развитием побочных эффектов [3,4].

Открытие важной роли процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в патогенезе лучевых поражений послужило основанием поиска радиопротекторов среди антиоксидантов, особенно растительного происхождения. Так, при лучевых поражениях кожи и слизистых оболочек используют масло облепиховое, содержащее смесь каротина и каротиноидов, токоферолов, олеиновой, линолевой, пальмитиновой, стеариновой кислот и оказывающее противовоспалительное и ранозаживляющее действие. Перспективными в этом плане являются полифенольные вещества, в частности дубильные вещества, способные тормозить активность процессов ПОЛ [5]. Отечественной фармпромышленностью выпускается растительный препарат полифенольной природы – таблетки альта́н, который обладает кардиопротекторным, противоишемическим, противовоспалительным, мембраностабилизирующим, антиоксидантным, иммуномоделирующим свойствами [6], что обуславливает целесообразность изучения эффективности этого препарата при повреждениях ко-

* Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами – відповідно до планів науково-дослідних робіт Харківського національного медичного університету МОЗ України «Дослідження шляхів фармакологічної корекції несприятливих наслідків стресу» (№ державної реєстрації 0103U004548)

жи, вызванных ионизирующим излучением. Однако подобные свойства альтана не изучались.

Критерием оценки тяжести местных лучевых повреждений кожи и их фармакологической коррекции традиционно являются продукты ПОЛ, которые характеризуют интенсивность вторичных реакций, развивающихся не сразу, а спустя определенное время после воздействия окислительного стресса. Эти методики пригодны для регистрации более долговременных изменений окислительного стресса. Сравнительно новый метод межфазной тензиореометрии, основанный на определении динамического (измеряемого в течение некоторого времени) поверхностного натяжения (ПН), а также реологических свойств крови, позволяет оценить непосредственно процессы ПОЛ по прямым, а не по косвенным показателям. Метод интегрально отражает сложные адсорбционные процессы, протекающие на границе фаз в биологической жидкости и на клеточных мембранах. Поверхностно-активные вещества подвергаются метаболическим превращениям с последующим поступлением продуктов в кровь, поэтому даже незначительные их колебания влияют на межфазное натяжение и реологические свойства крови [7-10].

Основным механизмом действия ионизирующего излучения является повреждение клеточных мембран, что сопровождается изменением качественного и количественного состава сыворотки крови (белков, липидов, продуктов ПОЛ). Поэтому динамическая межфазная тензиометрия позволяет быстро и на ранних этапах патологического процесса выявить изменения состава сыворотки крови.

Цель работы: изучить эффективность лечебно-профилактического действия альтана при местных лучевых повреждениях кожи и возможность использования показателей межфазной тензиореометрии крови в качестве критериев оценки эффективности лечения данной патологии.

Материал и методы.

Исследование проведено на 28 половозрелых крысах-самках линии Вистар массой 200-260 г и включало 4 группы животных: интактные (1 группа); контроль – животные, подвергшиеся локальному ионизирующему облучению (2 группа); животные, получавшие альтан до и после облучения (3 группа); животные с применением препарата сравнения – масла облепихового (4 группа) до и после облучения.

Местные лучевые повреждения моделировали путем локального рентгеновского облучения бедра крыс в дозе 80 Гр. Условия облучения: аппарат ТУР-60 ($I = 10$ мА, $U = 50$ кВ, фильтр 0,5 мм, S облучения 20 мм²). Альтан вводили внутривенно в дозе 1 мг/кг в виде взвеси препарата в 3 % крахмальной слизи за 1 час до облучения и в течение 10 дней после облучения.

Облепиховое масло наносили на облученную поверхность за 1 час до облучения и в течение 10 дней после облучения. Эффективность исследуемых препаратов оценивали по длительности течения и срокам заживления лучевых реакций и повреждений в коже крыс.

В сыворотке крови определяли показатели межфазной тензиометрии и реометрии на 30-е сутки после облучения. Динамическое ПН определяли методом межфазной тензиометрии на аппарате MPT-2 Lauda (Германия), основанном на изучении максимального давления в пузырьке [1,2].

Интервалы между пузырьками распределяли на так называемое «мертвое время» и период жизни поверхности на основе существования критической точки зависимости давления от расхода воздуха: в ней происходит переход от пузырькового режима истечения газа из капилляра к струйному. Тензиометр MPT-2 позволяет получить кривую динамического ПН в диапазоне времени от 0,001 до 100 с с погрешностью не ниже 2 %.

Результаты поверхностного натяжения представляли в виде тензиограмм (кривых зависимости ПН от времени t_{eff}), на которых с помощью компьютера определяли точки, соответствующие $t = 0,01$ с (ПН1) и $t = 1$ с (ПН2), $t = 100$ с (ПН3). Кроме того, подсчитывали угол наклона кривой тензиограмм (УНК) в координатах $t^{-1/2}$ [1,2]. Для изучения ПН крови при длительном времени жизни поверхности ($t \rightarrow \infty$) – ПН4 и УНК2 – дополнительно использовали метод вискозиметрии [2]. Анализ формы этих кривых положен в основу работы аппарата ADSA (Канада). Исследовали быструю стрессовую деформацию расширения поверхности (при $t = 12000$ - 18000 с) с определением модуля вязкоэластичности (E). После расширения капли ПН релаксировалось, то есть возвращалось к первичному значению. Время релаксации (T) характеризует способность монослоя восстанавливать первичное состояние (отражает кинетику адсорбции из раствора и процессы перестройки адсорбированных молекул в условиях почти равновесного слоя). Таким образом, при исследовании крови с помощью аппарата ADSA оценивают параметры межфазной тензиометрии – ПН4 и УНК2 тензиограмм, а также параметры реометрии – E и T [1,2].

Экспериментальные данные были статистически обработаны методом вариационной статистики (высчитывали среднее арифметическое и ее стандартную ошибку). Для получения статистических выводов применяли дисперсионный анализ (ANOVA, критерий Крускала-Уоллиса), при сравнении выборок – методы множественных сравнений (критерий Ньюмена-Кейлса) и критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферони при уровне достоверности $p \leq 0,05$ [17].

Результаты и их обсуждение.

Полученные результаты обнаружили, что однократное облучение бедра крыс приводит к развитию острого лучевого повреждения кожи с разворачиванием следующей динамики. Эритема развивается через 12-48 часов после облучения и сохраняется до 5-х суток. Реакции сухой и влажной десквамации развиваются последовательно, начиная с 5-го дня после облучения. На 7-9 сутки признаки сухого эпителиита, то есть появления сухих корок, наблюдаются у всех животных. У отдельных животных уже в этот срок нарушается целостность кожи, и отслаивается эпителий кожи. Влажная десквамация развивается на 15-17 сутки после облучения и длительность ее составляет в среднем 18 дней. Дальше наблюдается развитие эрозий у 100 % животных. У 50 % животных возникают язвы и гнойно-некротические проявления, которые не заживают до конца срока наблюдения.

Установлено, что альта́н способствует снижению тяжести лучевых реакций в сравнении с контролем на уровне проявлений эритемы, сухого и влажного эпидермита. Эритема наблюдается в течение 3 суток у 83 % крыс. Лучевые повреждения на фоне применения альта́на имеют менее выраженный характер, быстрее стихают. Использование альта́на снижает частоту появления сухого дерматита (50 % животных). Под влиянием альта́на уменьшается время течения

влажного дерматита до 11 сут, степень его выраженности. Восстановление целостности эпителия и заживления отмечается в среднем на 5 дней раньше, чем в контроле.

У животных, получающих препарат сравнения, явления лучевых реакций протекают легче, чем в контроле, но тяжелее в сравнении с группой, получавших альта́н. Так, течение сухого и влажного эпидермита составляет 5 и 15 суток соответственно. Исчезновение лучевых изменений проходит в более поздние сроки – на 3 суток позже, чем у животных с применением альта́на.

Биохимические исследования крови интактных животных (1 группа), отражающие показатели динамического поверхностного натяжения, а также вязкоэластичности и релаксации, представлены на рис. 1, 2, 3.

Развитие местных лучевых повреждений кожи сопровождается изменениями показателей межфазной тензиометрии и реометрии. Так, состояние ПН при рентгеновском облучении у контрольных животных характеризуется достоверным увеличением ПН1 и УНК. ПН2 и ПН3 имеет тенденцию к повышению (рис. 1). Кроме того, у этих животных показатели ПН при длительном времени жизни поверхности ($t \rightarrow \infty$) также изменяются: отмечается тенденция к повышению ПН4 и снижению УНК2 в сравнении с интактными животными 1-й группы (рис. 2).

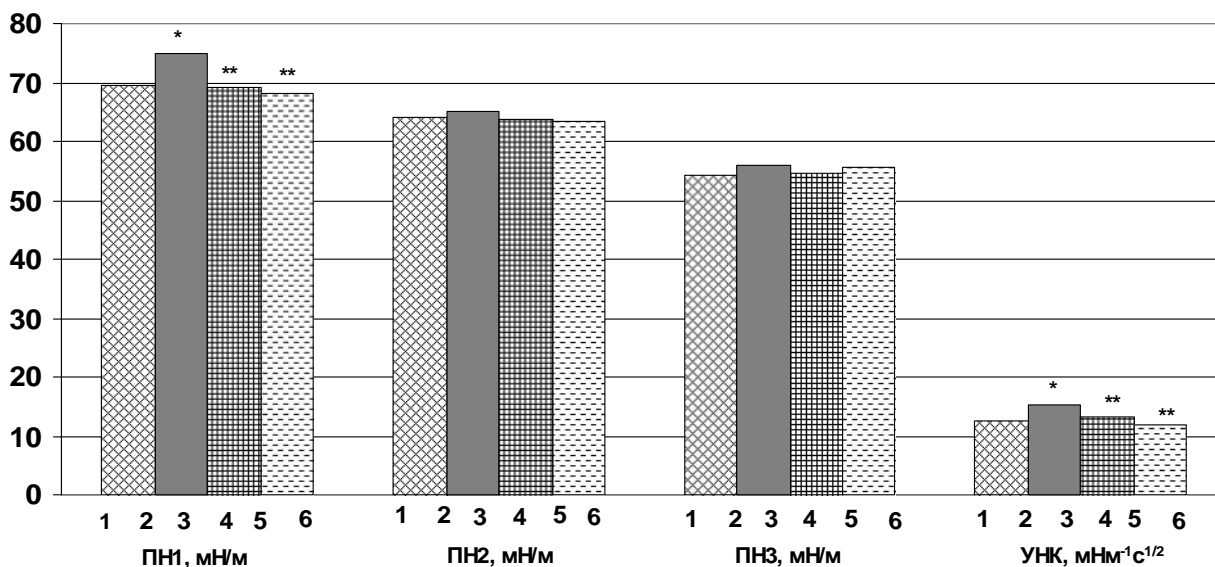


Рис. 1. Показатели межфазной тензиометрии сыворотки крови крыс после локального облучения: интактные (1); контроль (2); применение альта́на (3) и облепихового масла (4). (Достоверность в сравнении с показателями: – интактных животных; – контроля).

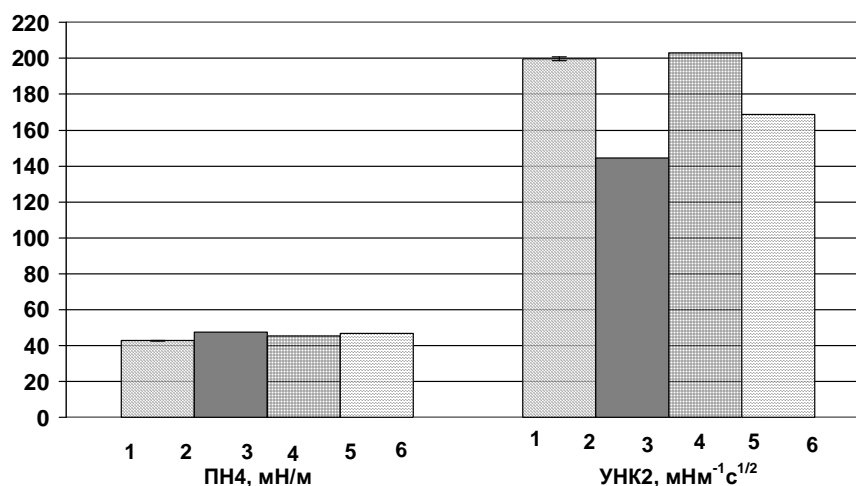


Рис. 2. Показатели межфазной тензиометрии сыворотки крови крыс при длительном времени жизни поверхности ($t \rightarrow \infty$) после локального облучения: интактные (1); контроль (2); применение альтона (3) и облепихового масла (4). (Достоверность в сравнении с показателями: – интактных животных; – контроля).

Отмечается достоверное уменьшение модуля вязкоэластичности (Е) в сравнении с интактными животными, что можно объяснить сдвигом равновесия в адсорбционном слое, которое наступает в результате перестройки адсорбированных молекул на фоне патологического процесса. Также было зафиксировано повышение времени релаксации (Т), характеризующее спо-

собность монослоя возобновлять первичное состояние, т.е. отображать кинетику адсорбции из раствора и процессы перестройки адсорбированных молекул (рис. 3). В условиях равновесия монослоя подобные изменения свидетельствуют о значительных нарушениях реологических свойств крови.

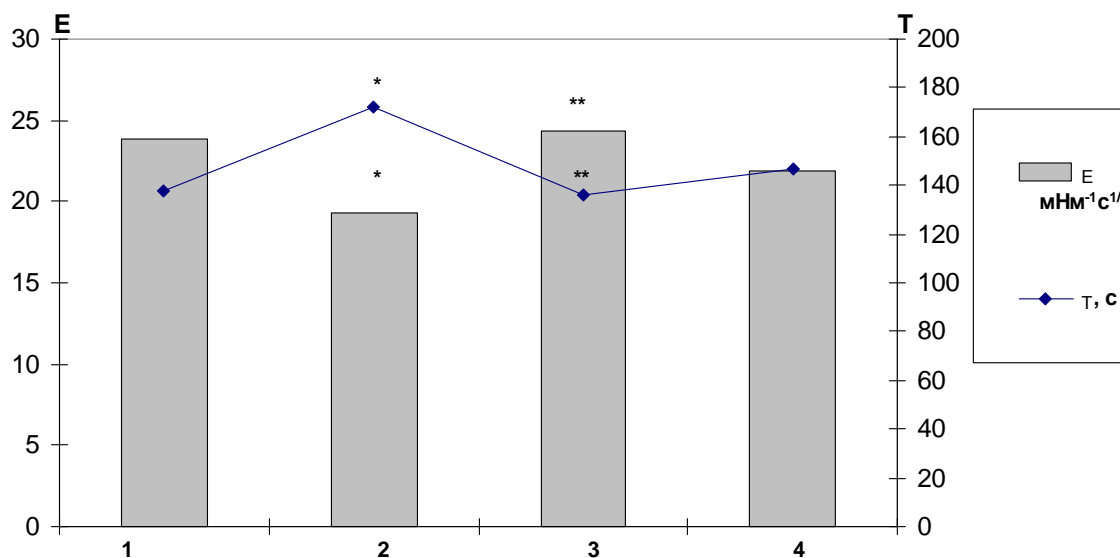


Рис. 3. Показатели реометрии сыворотки крови крыс после локального облучения – Е (вязкоэластичность) и Т (время релаксации крови): интактные (1); контроль (2); применение альтона (3) и облепихового масла (4). (Достоверность в сравнении с показателями: – интактных животных; – контроля).

Опытный препарат альтад наряду с улучшением клинической картины способствует нормализации физико-химических параметров крови. Так, у животных 3-й группы достоверно снижаются показатели ПН1 и УНК по отношению к таковым без лечения (рис.1). Кроме того, у этих животных наблюдается достоверное снижение Т и увеличение Е. Показатель УНК2 остается на уровне интактных животных. Показатели ПН4 и УНК изменяются недостоверно (рис.2, рис. 3).

Применение препарата сравнения – облепихового масла приводит к следующим изменениям показателей межфазной тензиометрии и реометрии.

ПН1 и УНК достоверно снижается и достигает уровня интактных животных (рис.1). Другие показатели межфазной тензиометрии и реометрии у этих животных имеют лишь тенденцию к улучшению – ПН2, Е, Т или не отличаются от показателей животных без лечения – ПН3; ПН4,

УНК и УНК2 (рис. 2, рис. 3).

Таким образом, можно заключить, что локальное лучевое облучение кожи, сопровождающееся поражением клеточной мембраны, проявляется достоверными изменениями большинства показателей межфазной тензиометрии и реометрии. Применение альтана приводит к нормализации физико-химических свойств крови: снижаются показатели ПН1, УНК и время релаксации Т, а также повышается модуль вязкоэластичности Е по отношению к таковым без лечения. Облепиховое масло оказывает менее выраженный эффект, проявляющийся только в снижении ПН1 и УНК.

Выводы

1. Течение местных лучевых повреждений сопровождается достоверными изменениями показателей межфазной тензиометрии и реометрии крови, что можно использовать в качестве критериев интегральной оценки тяжести заболевания.

2. Применение альтана в лечебно-профилактическом режиме при местных лучевых повреждениях кожи оказывает более выраженный фармакотерапевтический эффект, чем облепиховое масло, что обосновывает перспективность его применения после соответствующих клинических исследований для лечения и профилактики лучевых повреждений кожи.

3. Альтан при местных лучевых повреждениях кожи оказывает более выраженный корригирующий эффект на физико-химические свойства крови, чем облепиховое масло.

Литература

1. Хосева Е.Н. Влияние лучевых повреждений кожи на качество жизни больных со злокачественными новообра-

зованиями кожи / Е.Н. Хосева, Н.П. Малишевская, С.А. Берзин, А.К. Халенко // Материалы межрегиональной научно-практической конференции дерматовенерологов. – Екатеринбург, 2005. – С. 97-99.

2. Осложнения лучевой терапии у онкологических больных / [В.И. Иваницкая, В.А. Кисличенко, И.Г. Геринштейн и др.]. – Киев: Здоровье, 1998. – 230 с.
3. Кулініч Г.В. Лікування променевих пошкоджень шкіри (огляд літератури та власних досліджень) / Г.В. Кулініч. // Журнал АМН України. – 2005. – Т.11, № 3. – С. 540-554.
4. Степула В.В. Деякі дані спостереження променевих ушкоджень шкіри при комплексному лікуванні раку грудної залози / В.В. Степула, Н.В. Марцинківська, Л.П. Антонова [та ін.] // Український радіологічний журнал. – 2002. – Т. 10, № 3. – С. 300-302.
5. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека / Барабой В.А. – М.: Наука, 1984. – 160 с.
6. Казаков В.Н., Синяченко О.В., Игнатенко Г.А. и др. Межфазная тензиометрия биологических жидкостей в терапии. – Донецк: Донеччина, 2003. – 584 с.
7. Гордієнко А.Д., Яковлева Л.В. Вплив таблеток альтан на перекисне окиснення ліпідів і гідроксолазну активність мікросом із печінки щурів при ССЛ₄-гепатиті / А.Д. Гордієнко, Л.В. Яковлева // Експериментальна і клінічна медицина. – 2000. – № 4. – С. 16-17.
8. Казаков В.Н. Межфазная тензиометрия и реометрия биологических жидкостей в терапевтической практик / В.Н. Казаков, А.Ф. Возианов. – Донецк: Изд-во мед. ун-та, 2000. – 180 с.
9. Физико-химические свойства биологических жидкостей в ревматологии / [В.Н. Казаков, О.В. Синяченко, Г.А. Игнатенко и др.]. – Донецк: Донеччина, 2003. – 279 с.
10. Лыков А.А. Динамика показателей межфазной тензиометрии у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки / А.А. Лыков // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2003. – Т. 12, № 1. – С. 20-23.
11. Железняков Н.М. Физико-химические свойства крови у больных с *Helicobacter Pylori*-ассоциированными дуоденальными язвами и хроническими гастритом в сочетании с гипертонической болезнью в динамике лечения / Н.М. Железняков // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 4 (24). – С. 43-46.
12. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

Реферат

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КРОВІ ПРИ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНІЙ КОРЕКЦІЇ МІСЦЕВИХ ПРОМЕНЕВИХ ПОШКОДЖЕНЬ ШКІРИ

Миронченко С.І.

Ключові слова: міжфазна тензіореометрія, променеві пошкодження шкіри, альтан

Стаття присвячена вивченню фізико-хімічних властивостей крові при місцевих променевих пошкодженнях шкіри в експерименті. Дослідження проводили методом міжфазної тензіометрії і реометрії. Вивчені показники динамічного поверхневого натягу, вязкоеластичності та часу релаксації при даній патології. Перебіг місцевих променевих пошкоджень шкіри супроводжується вірогідними змінами показників міжфазної тензіометрії і реометрії крові, що можливо використовувати в якості критеріїв інтегральної оцінки важкості захворювання. Показано, що альтан в лікувально-профілактичному режимі при місцевих променевих пошкодженнях шкіри проявляє виразну фармакотерапевтичну активність та сприяє нормалізації фізико-хімічних властивостей крові.

Summary

PHYSICAL AND CHEMICAL BLOOD PROPERTIES UNDER DRUG THERAPY OF LOCAL RADIATION SKIN INJURIES

Myronchenko S.I.

Key words: interphase tensorheometry, local radiation injuries of skin, Altan

This article is centered around studying the physical and chemical properties of blood under the drug therapy of local radiation skin injuries in experiment. Investigations were provided by interphase tensiometry and rheometry. The indices of dynamic surface tension, viscous elasticity and relaxation time of the blood were studied for this pathology. The course of local radiation skin injuries is accompanied with significant changes of interphase tensiometry and rheometry indices, which may be used as a criterion for integral assessment of disease severity. It was shown that "Altan" as a constituent of therapeutic regimen for local radiation skin injuries has significant pharmacological activity and normalizes physical and chemical properties of the blood.

УДК 577.1+616.8-009(01)

БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ТИПУ РЕАГУВАННЯ ТА ІНДИВІДУАЛЬНОЇ СТРЕСОСТІЙКОСТІ ОРГАНІЗМУ

Омельченко О.Є.

Вищий державний навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія"

В роботі наведені узагальнюючі дані щодо біохімічних механізмів, які визначають тип реагування та індивідуальну стресостійкість організму. Підкреслено, що типологічні особливості реагування на стресорні фактори залежать від медіаторного балансу центральних нервових структур, співвідношення тонуусу відділів вегетативної нервової системи та метаболічних змін у життєво важливих органах. Обґрунтовано тісний зв'язок типу реагування нервової системи зі ступенем ушкодження слизової оболонки шлунка (ульцерогенез, порушення складу та захисної функції слизового бар'єра) за умов гострого емоційного стресу.

Ключові слова: гострий стрес, індивідуальна стресостійкість, слизова оболонка шлунка, слизовий бар'єр шлунка.

Проблема емоційного стресу, особливо в останні десятиріччя, залишається досить актуальною в зв'язку з тим, що він відіграє провідну роль у розвитку найрозповсюджених психосоматичних захворювань.

Зв'язок між психікою та соматикою є двостороннім: психічні порушення впливають на соматичні функції (соматизовані психічні розлади), а соматичні хвороби, в свою чергу, відображаються на стані психіки (соматогенні психічні розлади) [33].

Важливим аспектом проблеми стресу є типологічні особливості реагування організму на стресогенні фактори. Обґрунтовано, що стійкість до стресу залежить від індивідуальних, типологічних та генетичних особливостей [9]. Добре відомо, що ступінь вираженості соматичних ушкоджень при стресі неоднаковий і обумовлений індивідуальною чутливістю організму до стресорного впливу. Клінічні спостереження свідчать про те, що існують люди стійкі та схильні до порушень різних соматовегетативних функцій при дії стресогенних факторів [1]. Показано, що у 46-48% хворих на виразкову хворобу шлунка чи дванадцятипалої кишки виявлена знижена стресостійкість з формуванням невротичних та соматоформних розладів [6]. Доведено, що між типом поведінки, стійкістю та особливостями метаболізму існує позитивний кореляційний зв'язок [12].

В експериментальних і клінічних дослідженнях переконливо обґрунтовано положення про значущу роль нейрогуморальних механізмів у формуванні стресостійкості організму. Виявлена чітка кореляційна залежність між ступенем вираженості психосоматичних розладів, підвищенням рівня норадреналіну, зниженням β -ендорфіну у студентів з виразками дванадцятипалої кишки [20].

Реакція організму на стресорні фактори в значній мірі генетично детермінована особливостями медіаторного балансу в центральних структурах мозку, який визначає індивідуальні відмінності поведінкових реакцій тварин [2, 30]. Для стресостійких тварин характерно помірне підвищення вмісту норадреналіну в крові, тоді як

для тварин стресонестійкого типу – підвищення адреналіну; зростання концентрації в крові серотоніну здійснює антистресорний ефект [7]. Нестійкі до стресу тварини відрізняються емоційною реактивністю, більш високим рівнем горизонтальної та вертикальної активності в тесті "відкрите поле" [17]. При цьому спостерігається збільшення рівня дофаміну та зниження норадреналіну в структурах мозку, що є наслідком гальмування активності ферменту дофамін- β -гідроксилази, який каталізує перетворення дофаміну в норадреналін [8, 10]. У стійких до стресу тварин спостерігається збільшення концентрації норадреналіну в мозку та зниження співвідношення дофамін/норадреналін [29]. Активність ключового ферменту синтезу катехоламінів тирозингідроксилази в гіпоталамусі добре корелює з поведінковими реакціями тварин, а генетично детерміновані ензиматичні системи, пов'язані з обміном біогенних амінів, опосередковують тип емоційної реактивності. За умов пролонгованого та сильного стресу в результаті виснаження адренергічних нейронів, можливий зрив адаптаційних механізмів, що характерно для "емоційних щурів" [4]. В деяких роботах типування тварин за ступенем стресостійкості ґрунтувалось на оцінці змін серцево-судинної діяльності у конфліктній ситуації. На цій основі запропоновано розподіл тварин (щурів) на стійких, схильних та здатних до адаптації, а також прогностичні критерії резистентності до емоційного стресу [29].

Стійкість до емоційного стресу залежить від тонуусу симпатичної та парасимпатичної систем, їх взаємодії та синтезу відповідних медіаторів, що реалізують їх ефекти. Встановлено, що переважання парасимпатичних впливів запобігає збільшенню рівня катехоламінів та підвищує поріг виникнення фібриляції шлуночків, а також попереджає структурні ушкодження міокарда за умов дії емоційного стресу, тобто, медіаторний баланс мозку є важливим механізмом індивідуальної стресостійкості організму [29]. Стресостійкість організму коливається в широкому діапазоні залежно від генетичного фактору.

* Робота є частиною науково-дослідної роботи: "Вивчення зв'язку органів системи травлення і кровопостачання за умов емоційного стресу та корекції". № держреєстрації 0100V001557

На щурах різних генетичних ліній в однотипних конфліктних ситуаціях доведено, що щури лінії Вістар найбільш стійкі до стресорних впливів, щури лінії Август займають проміжне становище, а найменш стійкими виявилися щури лінії Фішер [27]. Так, щури лінії Вістар до змін серцево-судинних функцій при іммобілізаційному стресі виявились більш стійкими порівняно зі щурами лінії Август. В той же час щури лінії Вістар відзначались більшою схильністю до виразкових уражень шлунково-кишкового тракту порівняно з тваринами лінії Август [29].

Виявлено, що у щурів лінії Август, схильних в умовах емоційного стресу до змін серцево-судинних функцій, зокрема, до гіпертензивних реакцій, в середньомозкових та гіпоталамічних дофамінсинтезуючих структурах рівень дофаміну був в 10-20 разів, а в норадреналінсинтезуючих структурах – в 5-10 разів вищим порівняно зі щурами лінії Вістар, які відрізняються відносно стабільним рівнем артеріального тиску (АТ). За умов емоційного стресу в синій плямі – головній норадреналінсинтезуючій структурі головного мозку – виявлена найбільш достовірна різниця вмісту норадреналіну у тварин, які відрізняються динамікою змін АТ [21, 29]. Наведені дані вказують на те, що не тільки індивідуальна чутливість до емоційного стресу визначається складними генетично обумовленими особливостями нейромедіаторних процесів в різних структурах мозку, але і сам емоційний стрес призводить до індивідуальних змін вмісту нейромедіаторів в гіпоталамо-ретикулярних структурах мозку у схильних та стійких до стресорних навантажень тварин [29].

Показано, що ауторегуляція коронарного кровотоку порушується більше при стресі у щурів, яких за результатами тесту “відкрите поле” [17] відносили до стресонестійких, і практично не змінювалась у тварин стресостійкого типу [28].

У тварин з різним типом поведінки у “відкритому полі” спостерігаються відмінності метаболічних процесів: у низькоемоційних щурів процеси тканинного дихання і окислювального фосфорилування в мітохондріях більш інтенсивні, ніж у високоемоційних [11].

Приведено дані про взаємозв'язок між індивідуальними особливостями поведінки і рівнем енергетичного метаболізму мозку у щурів [24]. У мітохондріях клітин мозку щурів з активним типом поведінки (підвищеною руховою активністю і зниженим рівнем депресивності) виявлена більш висока активність сукцинатоксидазного шляху окислення, порівняно з тваринами пасивного типу поведінки [14]. Є дані про зміни активності процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту у щурів з різними типами поведінки [32]. Цікавими є дослідження про зміни вмісту продуктів ПОЛ, фосфоліпідів і холестеролу у клітинних мембранах тканин мозку. У тварин з різним типом реа-

гування на больовий стрес виявлено неоднакові зміни вмісту компонентів біомембран у півкулях. У чутливих до зоосоціальних сигналів щурів виявлено домінування правої півкулі із збільшенням вмісту продуктів ПОЛ і холестеролу. У щурів із зниженою чутливістю до стресорних подразників підсилюлись прояви лівої асиметрії. Вміст білка в нейронах мозку щурів також корелює із стресостійкістю тварин: в нейронах кори у менш стійких до стресу щурів Август даний показник на 16-18% був меншим, а в нейронах підкоркових структур – на 51% більшим порівняно із щурами Вістар [15].

Встановлено, що стійкість до піпексії залежить від параметрів функціонування дофамінергічних нейронів [8, 26]. На підставі такого параметра поведінки, як кількість стойок у тесті “відкрите поле” запропонований прогноз ішемії мозку у щурів з різною стійкістю до емоційного стресу. Доведено, що субстанція Р здійснює антигіпоксичний ефект на низько- та середньостійких особин (пасивні та середні), у стійких тварин даний ефект не проявляється [25, 29].

Згідно з даними М.Г. Пшенникової і співавт. [22], відмінності генетично детермінованої стійкості до стресорних ушкоджень обумовлені неоднаковою реакцією NO-регулюючої системи. У щурів лінії Вістар після моделювання гострого стресу не було достовірного збільшення концентрації метаболітів оксиду азоту (NO) (нітратів/нітритів) в плазмі крові, тоді як у щурів лінії Август спостерігалась достовірна активація системи NO при стресі – концентрація метаболітів оксиду азоту збільшилась на 65% порівняно з контролем. Попереднє введення інгібітора NO-синтази L-NNA викликає виразкові ушкодження шлунка у щурів Вістар і не викликає їх у щурів Август, що обумовлено більш високою базальною продукцією NO у щурів лінії Август порівняно зі щурами Вістар. NO є фактором адаптаційного захисту організму. Отже, ефективність системи продукції NO визначає міжлінійні особливості адаптації організму та реакції слизової оболонки шлунка на гострий стрес. Узагальнюючи механізми участі NO як компонента стресреалізуючої системи, підкреслюється його антиадренергічна та цитопротекторна дія [23].

Таким чином, типологічні особливості реагування на стресорні фактори реалізуються з участю різних механізмів: медіаторного балансу центральних нервових структур, співвідношення тонуусу відділів вегетативної нервової системи та метаболічних змін у життєво важливих органах.

Незважаючи на значний об'єм інформації з даної важливої проблеми, залежність стресорних ушкоджень органів системи травлення від типу реагування організму та біохімічні механізми, що їх обумовлюють, недостатньо вивчені.

Аналіз проблеми вибору органа-мішені у

психосоматичній медицині дозволив підтвердити висновок про найбільшу частоту ушкоджень органів травного каналу, що навіть перевищує захворювання серцево-судинної системи [3, 16]. Згідно з сучасними концепціями, виразкове ураження гастродуоденальної зони – це типовий приклад психосоматичного захворювання, клінічний прояв так званої “стресової дезадаптації” [13, 34]. Накопичено чимало інформації щодо ролі стреса як фактора ризику, що відіграє провідну роль у розвитку захворювань органів травлення. Так, згідно з даними І.А. Новікової та співавт. [19], частота стресу як фактора ризику виразкової хвороби дванадцятипалої кишки складає 95,6%, тоді як інші фактори відіграють значно меншу роль, а саме: інфікування *Helicobacter pylori* – 66,3%, незбалансованість та порушення харчового режиму – 53,2%. Підкреслюється роль психоемоційних розладів та генетичної схильності в розвитку виразкових уражень шлунка поряд з персистенцією *Helicobacter pylori* (НР), яка, як відомо, широко розповсюджена в світі (до 60% населення земної кулі інфіковано НР), але в більшості випадків не викликає розвитку виразкової хвороби (не більше 12-16%) [5]. Відомо, що процеси відновлення і регенерації слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки, порушення яких створює передумови для формування гастродуоденальної патології, значною мірою залежить від загальної неспецифічної резистентності організму людини до дії стресорних чинників [31].

Згідно з класичними дослідженнями Г. Сельє, стресорні виразки шлунка є обов'язковим компонентом стрес-синдрому. Отже, можна прогнозувати, що ступінь стресорних ушкоджень в органах травлення в значній мірі буде залежати від індивідуальної реактивності центральних та місцевих регуляторних систем організму.

Нами виконані експериментальні дослідження на щурах лінії Вістар та виявлені суттєві відмінності показників ульцерогенного впливу на слизову оболонку шлунка (СОШ) гострого стресу: частота виразок у щурів стресонестійкого типу становить 100%, тоді як в групі стресостійких тварин вона складає 76,9%. Множинність виразок, тобто кількість виразок на 1 щура, у тварин стресонестійкого типу була у 2 рази більшою порівняно з тваринами стресостійкого типу ($3,44 \pm 0,38$ та $1,61 \pm 0,36$ відповідно). Аналогічна закономірність характеризує інший показник ульцерогенезу – площу виразок, яка у 2,7 рази була більшою у стресонестійких щурів порівняно з тваринами стресостійкого типу ($6,75 \pm 1,18$ та $2,46 \pm 0,29$ відповідно). При цьому, нами виявлено гальмівний вплив стресогенних факторів на кислотоутворюючу функцію СОШ. У тварин обох типів спостерігалось достовірне зменшення вмісту хлористоводневої кислоти у порожнині шлунка за умов стресу: у 1,6 раз у стресонестійких щурів та 1,4 рази у

стресостійких тварин порівняно з відповідними типами контрольних тварин. Отже, ступінь гальмування кислотоутворюючої функції у досліджуваних групах щурів неоднаковий – він більш виражений у тварин стресонестійкого типу порівняно із групою стресостійких щурів. Хлористоводневу кислоту вважають агресивним фактором, що сприяє ушкодженню СОШ і розвитку ульцерогенного впливу стресу. Але за умов гострого стресу даний механізм ушкодження СОШ, можливо, відіграє не визначальну роль.

Загальновідомо, що стресорні реакції супроводжуються підвищенням вмісту продуктів вільнорадикального окислення (ВРО) в тканинах внаслідок активації симпато-адреналової системи, що призводить до мембранодеструктивного ефекту та порушенню фундаментальних функцій клітин (інактивація рецепторів, іонних каналів та іонних насосів) [18].

Для оцінки процесів ВРО у шлунковому гелі ми досліджували вміст реактантів тіобарбітурової кислоти (ТБК-реактантів).

Нами встановлено, що за умов гострого стресу в 1,8 разів вірогідно підвищується вміст ТБК-реактантів у слизовому гелі шлунка стресонестійких щурів порівняно з відповідною контрольною групою. В той же час у тварин стресостійкого типу вміст ТБК-реактантів був значно меншим по відношенню до показника стресонестійкої групи (у 1,5 рази перевищував рівень відповідного контролю).

Отже, гострий стрес ініціює процеси ВРО неоднаково у тварин стресостійкого та стресонестійкого типу: більш високим ступенем підсилення ВРО реагують тварини стресонестійкого типу, що погоджується з більш вираженим ульцерогенним ефектом гострого стресу у даної групи тварин.

При дослідженні стану слизового гелю шлунка встановлено, що за умов гострого стресу має місце неоднаковий ступінь катаболізму глікопротеїнів у досліджуваних групах щурів. Найбільшою вразливістю відзначаються тварини стресонестійкого типу, у яких вміст мономерів глікопротеїнів – N-ацетилнейрамінової кислоти та не зв'язаної з білком фукози – у складі шлункового слизу значно вищий, ніж у тварин стресостійкого типу за умов гострого стресу. Це дозволяє дійти висновку, що ступінь деполімеризації компонентів шлункового слизу, що послаблює його захисні властивості, залежить від типу реагування тварин на стресорні впливи.

Одержані нами результати обґрунтовують важливу роль типологічних особливостей організму у розвитку структурних та метаболічних зрушень у СОШ за умов гострого стресу. Незважаючи на зниження кислотності шлункового вмісту у щурів стресонестійкого типу, поряд з підвищеною частотою стресорних виразок шлунка, спостерігалось більш виражене порушення захисної функції СОШ та активація

процесів ВРО, підвищення вмісту мономерів глікопротеїнів (N-ацетилглікозамінової кислоти та не зв'язаної з білком фукози) у шлунковому слизові, що відображає більш інтенсивний катаболізм макромолекул та зниження його бар'єрної ролі порівняно із тваринами стресостійкого типу.

Тісний зв'язок типу реагування нервової системи з поведінковими та вегетативними реакціями організму обґрунтовує можливість використання низки параметрів, що характеризують поведінку, в якості критеріїв, які відображають тип реагування та стресостійкість організму.

Розкриття механізмів розвитку метаболічних змін у тканинах шлунка та інших органах травлення при стресі залежно від індивідуально-типологічних особливостей організму дозволить глибше зрозуміти патогенез їх стресорних ушкоджень та обґрунтувати можливість їх профілактики і корекції за допомогою засобів, що підвищують індивідуальну стресостійкість організму.

Література

1. Айрапетянц М.Г., Хоничева Н.М., Мехедова А.Я. и др. Реакции на умеренные функциональные нагрузки у крыс с индивидуальными особенностями поведения // Журн. высш. нерв. деятельности – 1980. – Т. 30, №5. – С. 994-1102.
2. Белова Т.И., Кветнанский Р. и др. Катехоламины в структурах мозга крыс, различающихся по тесту «открытого поля» // Журн. высш. нерв. деятельности – 1990. – Т. 40, №2. – С. 301-304.
3. Белоусов Ф.В., Циммерман Я.С., Трегубов Л.З. Проблема выбора «органа-мишени» в психосоматической медицине (на примере язвенной болезни двенадцатиперстной кишки) // Сибирский журнал гастроэнтерологии и гепатологии – 2001. – №12. – С. 16-19.
4. Бондаренко Н.А., Камышева В.А., Минеева М.Ф., Вальдман А.В. Эффект хронического стресса на поведение, соматическое состояние и активность тирозингидроксилазы мозга «эмоциональных» и «неэмоциональных» крыс // Бюл. экспер. биол. и медицины – 1981. – Т. 91, №1. – С. 20-22.
5. Брайтигем В., Кристиан П., Род М. Психосоматическая медицина: Пер. с англ. М.; 1999. – 346 с.
6. Гарганеева Н.П., Дорохова Т.А. Язвенная болезнь и эрозивные поражения гастродуоденальной зоны в клинике пограничных состояний: вопросы терапии // Сиб. журн. гастроэнтерол., гепатол. – 1999. – № 8-9. – С. 61-66.
7. Горбунова А.В., Лобанова Н.Н., Каштанов С.И. Концентрация катехоламинов в крови кроликов с разной устойчивостью сердечно-сосудистой системы к эмоциональному стрессу // Пат. физиол. и эксперим. терапия - 1991. – №1. – С. 7-9.
8. Громова Е.А., Семенова Т.П., Гасанов Г.Г. Влияние 6-оксидофамина на поведение крыс с различной устойчивостью к стрессорным воздействиям // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1990. – Т. 40, №2. – С. 301.
9. Иноземцев А.Н., Литвинова С.В., Калужный Л.В. Сравнительная характеристика стрессоустойчивости крыс линии Вистар и беспородных к «сбою» реакции избегания // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1992. – Т. 42, № 4. – С. 803-805.
10. Исмаилова Х.Ю., Гасанов Г.Г. Исследовательское поведение в открытом поле и норковой камере крыс с различной предрасположенностью к стрессу // Бюл. экспер. биол. и медицины – 1992. – №8. – С. 130-132.
11. Краковский М.Э., Каменецкая Ц.Л., Премасова Г.Я. Особенности некоторых биохимических процессов в печени крыс с различными типами поведения в открытом поле // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1989. – Т. 39, №3. – С. 506-512.
12. Кулагин Д.А., Болодинский В.К. Нейрохимические аспекты эмоциональной реактивности и двигательной активности крыс в новой обстановке // Успехи физиол. наук – 1986. – Т. 17, №1. – С. 92-109.
13. Леонтьева В.А., Беляева С.Г., Колесникова И.Ю., Смирнова А.А. Особенности психологического статуса у больных язвенной болезнью // Клиническая медицина - 2007. – №3. – С.51-53.
14. Ливанова Л.М., Саркисова К.Ю., Коломойцева И.Н. и др. Дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий мозга крыс с разным типом поведения // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1991. – №5. – С. 973-981.
15. Лукьянова Л.Д., Богомолов В.И. Сравнительный анализ белков коры головного мозга крыс с разной чувствительностью к гипоксии // Бюл. экспер. биол. и медицины. – 1992. – №12. – С. 657-660.
16. Майкова Т.В. Стресс как чинник розвитку патології органів травлення // Сучасна гастроентерологія. - 2004. - №4 (18) - С. 49-52.
17. Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте «открытого поля» // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1981. – Т. 31, № 2. – С. 301-307.
18. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений. – М., 1984. – 269 с.
19. Новикова И.А., Сидоров П.И., Соловьев А.Г. Основные факторы риска развития психосоматических заболеваний // Тер. Архив. – 2007. - № 1. – С. 61-64.
20. Опарин А.А. Течение и принципы терапии язвы двенадцатиперстной кишки у студентов с возбудимым типом личности // Сучасна гастроентерологія – 2006. – №3 (29). – С. 16-18.
21. Перцов С.С., Коплик Е.В., Краузер В. Катехоламины надпочечников крыс линии Август и линии Вистар при остром эмоциональном стрессе // Бюл. экспер. биол. и медицины – 1997. – Т. 123, №6. – С. 645-648.
22. Пшенникова М.Г., Бондаренко Н.А., Шимкович М.В. Оксид азота как фактор генетически детерминированной устойчивости к стрессорным повреждениям и адаптационной защите // Бюл. экспер. биол. и медицины – 2001. – Т. 132, №11. – С. 510-513.
23. Пшенникова М.Г., Смирин Б.В., Бондаренко О.Н. и др. Депонирование оксида азота у крыс различных генетических линий и его роль в антистрессорном эффекте адаптации к гипоксии // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 2000. - Т.86. - С.174-181.
24. Саркисова К.Ю., Ганнушкина И.В. Устойчивость к циркуляторной гипоксии мозга у крыс с разными типами поведения // Бюл. экспер. биол. и медицины – 1991. – № 10. – с. 355-357.
25. Саркисова К.Ю., Коломейцева И.А., Осме П. Влияние субстанции Р на изменения неврологического состояния и поведенческих реакций, наблюдаемые при длительной ишемии мозга у крыс с разными типами поведения // Бюл. экспер. биол. и медицины. – 1995. – №8. – С. 132-136.
26. Серова Л.И., Науменко Е.В. Катехоламиновые системы головного мозга в регуляции доминантности // Журн. высш. нерв. деят. – 1990. – Т. 40, №3. – С. 490-495.
27. Симутенко Л.В., Серебрякова Т.М., Барсегян Г.Г. Физиологические реакции на стресс у крыс трех линий // Бюл. экспер. биол. и медицины. – 1992. – №8. – С. 115-117.
28. Солодков А.П., Щербинин И.Ю. К механизму развития изменений ауторегуляции коронарного кровотока у крыс с различной чувствительностью к стрессу // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 2002. - Т.88, №2. - С.166-175.
29. Судаков К.В. Индивидуальность эмоционального стресса // Журнал неврологии и психиатрии – 2005. – Т. 105, №2. – С. 4-13.
30. Судаков К.В., Ульянинский Л.С. Механизмы устойчивости сердечно-сосудистых функций при экспериментальном эмоциональном стрессе // Пат. физиол. и эксперим. терапия - 1988. - №1. - С. 73-77.
31. Тяжка О.В., Подгорна Н.В., Бондаренко Л.В., Порядков Г.М. Стан адаптаційних реакцій у дітей із гастродуоденальною патологією // Педіатрія, акушерство та гінекологія - 2008. - №1. - С.20-24.

32. Ханичева Н.М., Гуляева Н.В., Жданова И.В. и др. Тип поведения и активность супероксиддисмутазы в головном мозге у крыс // Бюл. exper. биол. и медицины – 1986. – №12. – С. 603-645.

33. Циммерман Я.С., Циммерман И.Я. Депрессивный синдром в гастроэнтерологии: диагностика и лечение // Клиническая медицина. – 2007. – №5. – С. 15-23.

34. Kohler T., Kuhnt K., Richter R. The role of event stress in the pathogenesis of duodenal ulcer. Stress Med. – 1998. – Vol. 14 (2). – P.121-124.

Реферат

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ТИПА РЕАГИРОВАНИЯ И ИНДИВИДУАЛЬНОЙ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА
Омельченко О.Е.

Ключевые слова: острый стресс, индивидуальная стрессоустойчивость, слизистая оболочка желудка, слизистый барьер желудка.

В работе приведены обобщающие данные, касающиеся биохимических механизмов, которые определяют тип реагирования и индивидуальную стрессоустойчивость организма. Подчеркнуто, что типологические особенности реагирования на стрессорные факторы зависят от медиаторного баланса центральных структур нервной системы, соотношения тонусов отделов вегетативной нервной системы и метаболических изменений в жизненно важных органах. Доказана связь типа реагирования нервной системы со степенью повреждения слизистой оболочки желудка (ульцерогенез, нарушение состава и защитной функции слизистого барьера) на фоне острого эмоционального стресса.

Summary

BIOCHEMICAL MECHANISMS OF THE REACTION TYPE AND THE INDIVIDUAL ORGANISM STRESS RESISTANCE
Omelchenko O.

Key words: acute stress, individual stress resistance, gastric mucosa, gastric mucose barrier.

This article represents generalized data referring to biochemical mechanisms, which determine reacting type and individual stress resistance of the organism. It is pointed out that typological particularities of reaction to stress factors depend on neurohumor balance of the central nervous structures, correlation of vegetative nervous system sections tone and metabolic changes in vital organs. Close correlation between the type of nervous system reaction and the level of the gastric mucosa damaging (ulcerogenesis, violation of composition and protective function of the mucose barrier) under the acute emotional stress has been proved in the article.

УДК: 616.341:616.428:611.428:611.428-089

МОДЕЛЮВАННЯ КИШКОВОЇ НЕПРОХІДНОСТІ

Півторак В.І., Булько М.П., Бурков М.В.

Пропонується можливість виконання моделі кишкової непрохідності по закінченню післяопераційного періоду. Запропонований пристрій для моделювання кишкової непрохідності, який спрощує операцію, скорочує час оперативного втручання в три рази, виключає ускладнення, пов'язані з операцією, такі як розрив стінки кишки, нагноєння рани і перитоніт; негативно не відображається на зміні моторної функції травної трубки в післяопераційний період, дає можливість створити модель кишкової непрохідності в потрібний час після операції.

Ключові слова: гостра кишкова непрохідність, моделювання, ускладнення, післяопераційний період.

Вступ

Незважаючи на сучасні досягнення хірургії та інтенсивної терапії, летальність при гострій кишковій непрохідності (ГКН) непухлинної етіології до теперішнього часу досягає високих показників летальності [Саенко В.Ф.]. Незважаючи на прогрес, який був досягнутий протягом останніх років, результати комплексного лікування цього важкого захворювання не можуть задовольнити клініцистів, оскільки післяопераційна летальність залишається високою та сягає 25 – 35 % і не має тенденції до зменшення. [Лігоненко О.В. та ін., 2005]. Це спонукає вчених до більш поглибленого вивчення патогенезу та тактики лікування ГКН.

Одне з найскладніших і маловивчених питань вчення про інтоксикацію - проблема локального вогнища як первинного джерела токсинів і реалі-

зації інтоксикації на рівні організму, тобто відповіді всіх клітинних, тканинних і органних систем. Вивчення патогенезу ГКН неможливо без створення моделі, найбільш близької до природної патології. Для моделювання гострої кишкової непрохідності використовується створення моделі обтураційної непрохідності шляхом повного розсічення тонкої кишки з наступною інвагінацією кінців кишки в кисетний шов. Багато дослідників створювали модель обтурації перев'язки кишки [Півторак В.І., Монастирський В.М.], використовуючи для перев'язки різноманітний матеріал: шовк, марлю, апоневроз та ін. Проте ці способи моделювання не дають можливості спостерігати розвиток захворювання, виключивши дію операційної травми, наркотичних речовин, крім того часто виникає порушення цілісності кишки за рахунок тиску тонкої лігатури.

* Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України "Особливості компенсаторно-приспосувальних процесів в організмі при захворюваннях органів черевної порожнини, малого тазу та клініко-експериментальне обґрунтування нових способів хірургічного лікування" (№ державної реєстрації: 0106U006045).

Найбільш близьким за технічними параметрами є спосіб, де використовується пристрій для виникнення непрохідності пілоричного відділу шлунка, який складається із гумової манжети з трубкою, що вміщується в спеціально підготовлене ложе між слизово-підслизовим і серозно-м'язовим шарами (див. А.С. СРСР №940205, G 09 B 23/28, 1982). При використанні даного пристрою виявились наступні недоліки:

- манжета роздувається рівномірно в усі сторони і пошкоджує при цьому шари стінки органа, розташовані зовні від манжетки, та її серозно-м'язовий шар;
- потрібна контрапертура для виведення гумової трубки пристрою, що може стати воротами для проникнення мікрофлори в черевну порожнину і виникнення перитоніту;
- гумова трубка на шкірі викликає місцеве подразнення у тварин, в зв'язку з чим вони постійно пробують її витягнути або відкусити, що потребує спеціального утримання тварин і спеціальних захисних пристосувань;
- під час введення манжетки в стінку органа пошкоджуються шари, що впливає негативно на функціонування даної зони травної трубки в післяопераційному періоді;
- введення манжетки між слизово-підслизовим і серозно-м'язовим шаром травної трубки не тільки травматичне, але і потребує навиків виконання; пошкодження слизової поєднано з розвитком перитоніту на ґрунті недостатності швів, що приводить до загибелі тварин.

Мета даного дослідження - підвищення якості виконання моделі ГКН після закінчення післяопераційного періоду.

Матеріали та методи дослідження.

При проведенні дослідів дотримувались основних правил належної лабораторної практики GLP (1981), закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21 лютого 2006 року. Тварини утримувались в стандартних умовах віварію. Експериментальні оперативні втручання проводилися під загальним знеболюванням з виконанням правил асептики. Перед операцією всім собакам проводили премедикацію - вводили внутрішньом'язово: розчин анальгину 50% 2,0, розчин атропіну сульфату 0,1% (0,02 мг/кг), розчин аміназину 2,5% 1,0, розчин димедролу 1% (1 мг/кг). Через 30 хвилин після премедикації внутрішньоплеврально в області заднього кута правої лопатки вводили свіжоприготований 2% розчин тіопенталу натрію з розрахунку 1,5 мл на 1 кг маси тварини (30-40 мг/кг).

Нами проведені досліді на 10 безпородних собаках, яких розділили на 2 групи. Тваринам 1 групи (5 собак) робили модель високої кишкової непрохідності після закінчення післяопераційного періоду за відомим способом (див. А.С. СРСР №940205, G09 B23/28, 1982). Після доступу верхнім серединним розрізом, відступивши 30 см

від початку порожньої кишки, розсікли стінку кишки до підслизового шару, після чого тупим шляхом відшаровували підслизову від серозно-м'язового шару. В підготовлене ложе помістили гумову манжету, розміром 2,0х3,0см, з трубкою. Розріз зашивали серозно-м'язовими швами, фіксуючи гумову трубку, яка йде від манжети. Виконували контрапертуру в черевній стінці, через яку проводили гумову трубку. Навколо трубки кишку підшили до парієтальної очеревини. Зашивали черевну стінку наглухо. Біля місця виходу трубки прибинтовували захисний засіб до черевної стінки. По закінченню післяопераційного періоду за допомогою тонометра накачували повітря в манжету через гумову трубку і перевіряли останню.

Тваринам 2 групи (5 собак) виконували модель високої кишкової непрохідності з використанням запропонованого пристрою. Безпородні собаки не отримували харчування протягом 12 годин. Внутрішньом'язово вводили 4 мл тизерцину і 1,6 мл димедролу. Потім, через 30 хвилин, вводили внутрішньоплеврально 800 мг тіопенталу натрію. Після попередньої обробки шкіри черевної стінки нижче мечоподібного відростка виконували серединний розріз шкіри розміром 5 см. Пошарово розкривали черевну порожнину. Відступивши 30 см від початку порожньої кишки, в безсудинній зоні брижі порожньої кишки виконували отвір діаметром 2 см. Підготовлювали до роботи пристрій, для чого підпружинену притискаючу пластину фіксували за допомогою фіксуючого пристрою. В отвір брижі вводили кришку стерильного пристрою таким чином, щоб кишка розташовувалась в прорізі пристрою. Кришку закривали. Пристрій поміщали в черевну порожнину і підшивали її основу до внутрішньої поверхні черевної стінки. Операційну рану пошарово зашивали наглухо.

Результати та їх обговорення.

Мета дослідження досягається при використанні запропонованого пристрою, що знаходиться в корпусі та вміщує підпружинену пластину з фіксуючими засобами, яка вивільнюється при введенні в магнітне поле.

Пристрій (рис. 1) зроблено із діелектричного інертного для організму матеріалу у вигляді порожнистого корпусу 1, що складається із основи 2 і отвору 3. В корпусі 1 пристрою є отвір 4, який виконаний з можливістю обмеження і перетворення в отвір при допомозі кришки 5, рухомо прикріпленій на корпусі 1 при допомозі шарніра 6. В отворі 4 корпусу 1 є притискаюча пластинка 7, закріплена на шарнірі 8. В діагонально протилежному куті на шарнірі 9 закріплено фіксуючий пристрій 10, який складається із зігнутої під кутом 45° пластини 11, з'єднаний довгим кінцем 12 із залізною пластиною 13. Короткий кінець 14 пластини 11 знаходиться біля шарніра 9 і виконаний з можливістю фіксації притискаючої пластини 7 у випадку зближення останньої з пласти-

ною 11. Отвір 4 обмежений від порожнини 15 при допомозі бокових стінок 16 таким чином, що кінець 12 фіксуєчого пристрою 10 знаходиться в порожнині 15 корпуса 1, а короткий кінець 14 і притискаюча пластина 7 поза порожниною 15 корпуса 1.

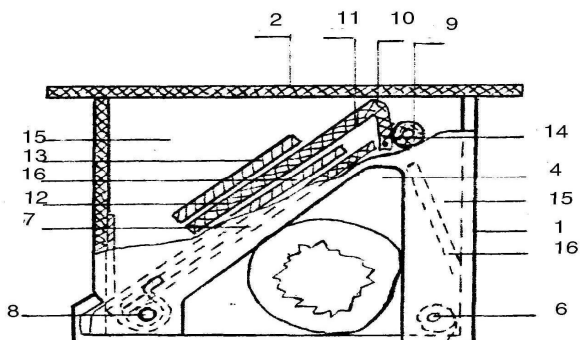


Рис. 1. Загальний вигляд пристрою з введеною кишкою (позначення в тексті).

Для моделювання кишкової непрохідності використовується пристрій наступним чином. Перед операцією кінець 12 пластина 11 зближують з притискаючою пластиною 7, завдяки чому відбувається її фіксація. Після лапаротомії, в отвір 4 стерильного пристрою вкладається кишка. Виконується отвір в зоні де відсутні судини брижі. Кришка 5 проводиться через отвір в брижі кишки і обмежують проріз 4 (утворюючи кільце, в середині якого знаходиться кишка). Пристрій вводиться в черевну порожнину і основою 2 фіксується до її стінки шляхом підшивання через отвір 3 (рис. 3). По закінченні післяопераційного періоду до черевної стінки живота, де фіксовано пристрій, підводиться електромагніт. Залізна пластинка 13, попадаючи в магнітне поле, притягується до електромагніту, захоплюючи за собою довгий кінець 12 фіксуєчого пристрою 10, при цьому виникає поворот останнього на шарнірі 9 і короткий кінець 14 зісковзує з притискаючої пластиною 7. Підпружинена притискаюча пластина 7 рухається по напрямку до кришки 5, що приводить до стискання кишки і перекривання її просвіту, виникає кишкова непрохідність (рис. 2).

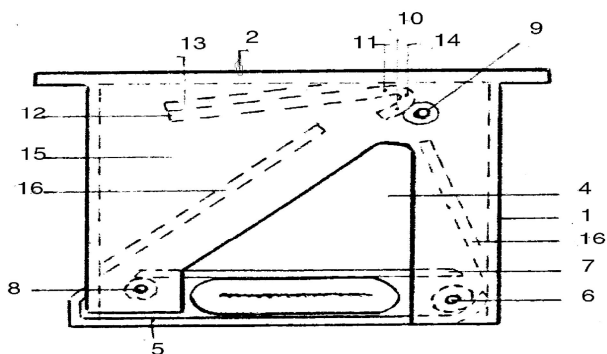


Рис. 2 - вигляд пристрою при внесенні його в магнітне поле (позначення в тексті).

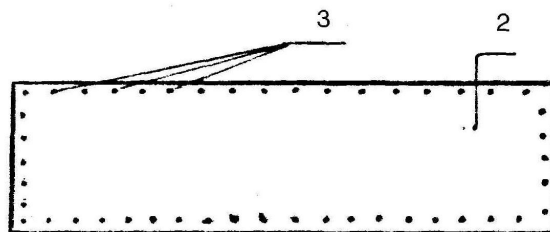


Рис.3 - вигляд пристрою із сторони основи (позначення в тексті).

В післяопераційному періоді тварини утримувались на звичайному раціоні віварію. Післяопераційний період протікав без ускладнень. Рана зажила первинним натягом. Шви знімали на 7-8 день. Через 8 днів після операції до шкіри черевної стінки, де до внутрішньої поверхні підшито пристрій, підвели електромагніт.

Через добу після включення електромагніту (після спрацювання пристрою) стан тварин був середньої важкості, що проявлялось адинамією, відмовою від їжі. Собаки лише пили воду. Із другої доби загальний стан тварин прогресивно погіршується, часто виникає блювота. З четвертої доби кожний прийом води супроводжувався протягом 1,5-2 годин блювотою. Загальний стан тварин продовжував погіршуватися. На п'яту добу спостерігалось виражене здуття живота, адинамія. На шосту-сьому добу - агоніальний стан.

На розтині в черевній порожнині екссудату, як правило немає. Злуковий процес в зоні пристрою виражений незначно у вигляді площинних утворень. Привідна петля тонкої кишки роздута. Жовчний міхур застійно збільшений. В просвіті тонкої кишки багато газів і рідини темного кольору. Печінка дрябля. Інші органи макроскопічних змін не мають. Відділи тонкої кишки нижче накладення пристрою порожні.

Результати дослідів (табл. 1.) показали, що при виконанні моделі кишкової непрохідності по закінченню післяопераційного періоду використання запропонованого пристрою має ряд переваг. Так, при створенні моделі кишкової непрохідності тваринам другої групи не потрібно спеціального утримання; тривалість операції в них була в 3 рази менша, ніж у тварин першої групи ($P < 0,05$); функціональна здатність тонкої кишки до моменту створення непрохідності не змінена, оскільки перистальтика кишки в післяопераційний період (від моменту укладання кишки в проріз пристрою до перетискання органа) ніяких порушень не зазнає, що підтверджено рентгенологічним дослідженням.

У тварин першої групи вкладання манжетки в ложе між підслизовою і серозно-м'язовим шарами технічно важко виконуються, особливо на тонкій кишці. Під час операції поділ шарів кишки при створенні ложа в 3 випадках привело до пошкодження слизової і розтину просвіту кишки, що далі привело до розвитку перитоніту. В післяопераційному періоді в 5 випадках виникли

явища адинамічної непрохідності, яка обумовлена парезом кишківника в результаті пошкодження стінки кишки або перитонітом. Наявність контрапертури для виведення гумової трубки

привело до нагноєння рани в 3 собак і виникненню перитоніту (в 3-х випадках). При роздуванні манжети після закінчення післяопераційного періоду у 1 собаки виник розрив стінки кишки.

Таблиця 1.

Результати дослідів по створенню моделі високої кишкової непрохідності по закінченню післяопераційного періоду.

Пристрій, який використовувався	прооперовано тварин	Спостерігались ускладнення (кількість випадків)						створена повноцінна модель	тривалість операції (хв.)	Утримання тварин
		При операціях	В післяопераційному періоді				По закінченні післяопераційного періоду			
		розкриття просвіту кишки	перитоніт	Нагноєння рани	Адинамічна непрохідність	загибель до створення моделі	Розрив стінки кишки			
Гумова манжета з трубкою	5	1	3	3	5	2	1	2	42,2±5,8	Захисний пристрій
Запропонований пристрій	5	-	1	-	-	-	-	5	14,1±6,1	звичайне

Перебіг кишкової непрохідності, створеної у тварин першої і другої груп, вкладається в клінічну картину високої гострої обтураційної кишкової непрохідності, що проявилась адинамією, блювотою, відмовою від прийому їжі та іншими симптомами.

Розвиток кишкової непрохідності у тварин було підтверджено на розтині загинувших тварин.

Висновки

Використання запропонованого пристрою для моделювання кишкової непрохідності:

1. дало можливість спростити операцію, оскільки не потребує розшарування стінки травної трубки; скоротити час оперативного втручання в три рази;
2. виключити ускладнення, пов'язані з операцією, такі як розрив стінки кишки, нагноєння рани і перитоніт;
3. негативно не відображається на зміні моторної функції травної трубки в післяопераційний період;
4. збільшується процент ефективного використання тварин в досліді з 30% до 94,4%;
5. не потребує контрапертури для проведення керуючого елемента пристрою, що виключає спеціальне утримання тварин і нагноєння рани;

6. дає можливість створити модель кишкової непрохідності в потрібний час після операції.

Перспективним, на нашу думку, буде використання даної моделі для клініко-експериментального обґрунтування анестезіологічного та детоксикаційного забезпечення хірургічного лікування ГКН.

Література

1. Деклараційний патент на винахід № 7963 Україна, МПК⁷ А61В17/12, G 01N1/40 Пристрій для моделювання кишкової непрохідності / Півторак В.І., Булько М.П., Бурков М.В., Богачук С.Г.; заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № 20041210613, Заявл. 23.12.2004. Опубл. 15.07.2005. Бюл.№ 7.–3с.
2. Лігоненко О.В. Зміни показників гомеостазу при гострій тонкокишковій непрохідності в експерименті / О.В.Лігоненко, Р.П.Іванов, І.О.Чорна [та ін.] // Шпитальна хірургія. – 2005. - № 1. – С. 107-110.
3. Півторак В.І. Вплив ентеродетоксикації на ультраструктуру альвеолоцитів 2-го типу та альвеолярних макрофагів при хірургічній корекції високої гострої обтураційної кишкової непрохідності в експерименті / В.І.Півторак, В.М.Монастирський // Вісник морфології. - 2006. - Т.12, №2. - С. 181-184.
4. Саенко В.Ф. Причины септических осложнений при обтурационной непроходимости ободочной кишки и их профилактики / В.Ф.Саенко, Л.С.Белянский, А.А.Стасенко [и др.] // Матеріали XX з'їзду хірургів України. – Тернопіль: Укрмедкнига. – 2002. – Том 1. – С.325-326.

Реферат

МОДЕЛИРОВАНИЕ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ

Пивторак В.И., Булько Н.П., Бурков Н.В.

Ключевые слова: острая кишечная непроходимость, моделирование, осложнения, послеоперационный период.

Предлагается возможность выполнения модели кишечной непроходимости по окончании послеоперационного периода. Предложено устройство для моделирования кишечной непроходимости, которое упрощает операцию, сокращает время оперативного вмешательства в три раза, исключает осложнения, связанные с операцией, такие как разрыв стенки кишки, нагноения раны и перитонит; негативно не отображается на изменении моторной функции пищеварительной трубки в послеоперационный период, дает возможность создать модель кишечной непроходимости в нужное время после операции.

Summary

MODEL OF ACUTE BOWEL OBSTRUCTION

Pivtorak V.I., Bul'ko M.P., Burkov M.V.

Keywords: acute bowel obstruction, model, complication, postoperative period.

The paper describes the possibility to implement the model of acute bowel obstruction after the postoperative period. There was offered the device is for designing of acute bowel obstruction, which simplifies the surgical intervention, shortens its time in three times, excludes complications, which may be caused by the surgery such as rupture of bowel walls, suppuration of the wound and peritonitis. The device produces no effect on the change of motor function of digestive tube during postoperative period, enables to create the model of acute bowel obstruction at the proper time after an operation.

УДК: 616.813-001.8-092.9

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ МЕМБРАН МІТОХОНДРІЙ НЕЙРОЦИТІВ У ЩУРЯТ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ГІПОКСІЇ

Похилько В.І., Розова К.В.*

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»,
Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України

У роботі проведено дослідження морфофункціональних змін мітохондрій нейроцитів стовбура мозку щурят в умовах експериментальної моделі гіпоксії. Проведене дослідження виявило достовірне збільшення відсотка пошкоджених мітохондрій у нейроцитах щурят, які перенесли помірну гіпоксію стосовно інтактних тварин. У тварин, які перенесли тяжку гіпоксію, навпаки, відбувається достовірне зменшення кількості мітохондрій на тлі різкого вірогідного зростання пошкоджених органел відносно інтактних щурят.

Ключові слова: щурі, гіпоксія, нейроцити, мітохондрії.

Вступ

Перинатальна гіпоксія є однією із складових, пускових механізмів в ланцюгу патологічних реакцій, які приводять до широкого спектра нейросоматичних відхилень у новонароджених та дітей [4]. Згідно з сучасними уявленнями саме при гіпоксичних станах настає ціла низка порушень енергетичного обміну. Оскільки в нормі основний енергетичний обмін проходить на мембранах мітохондрій в ході клітинного дихання та окислювального фосфорилування, саме «мітохондріальна дисфункція», зміна проникності їх мембран (формування специфічного комплексу мітохондріальних пор й ініціювання мітоптоза) при гіпоксичних станах відіграє велику роль в порушенні та декомпенсації енергозабезпечення клітини [1,7]. Розвиток мітохондріальної дисфункції призводить до зворотнього захоплення медіаторів (катехоламінів, дофаміна, серотоніна) та швидкого зниження енергетичних запасів нейрональної клітини. Відкривання пор проходить за рахунок окислення тіольних груп цистеїнзалежних ділянок білків внутрішньої мембрани мітохондрій (АТФ/АДФ-антипортер), яке перетворює його в проникний неспецифічний канал - пору. Відкривання пор перетворює мітохондрію із «електорстанцій» в «топку» субстратів окислення без утворення АТФ [1].

Нервова тканина у новонароджених має найбільш високі енергетичні потреби й виражену чутливість до їх змін [5,9]. Тому при тяжких перинатальних ураженнях кількісні та якісні характеристики мітохондрій взаємообумовлені й взаємопов'язані, тобто наростання числа мітохондрій в організмі має компенсувати якісні порушення клітинного енергообміну [12].

В зв'язку з цим дослідження змін мембран мітохондрій в умовах гіпоксичного ураження різного ступеня тяжкості та корекція патологічних змін при даних станах є актуальною проблемою як серед морфологів, так і клініцистів.

Мета роботи: дослідити морфофункціональний стан мітохондрій нейроцитів стовбура мозку щурят в умовах експериментальної моделі гіпоксії.

Матеріали й методи

Для досягнення мети була відтворена експериментальна модель гіпоксії за методикою, адаптованою у відділі вивчення гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Критерієм тяжкості гіпоксичного стану організму обрано напруження кисню в артеріальній крові (PaO_2). При $PaO_2 \leq 75$ мм рт.ст. спостерігається гіпоксичний стан помірного ступеня, при $PaO_2 \leq 50$ мм рт.ст. розвивається гіпоксичний стан тяжкого ступеня з вираженою вторинною тканинною гіпоксією [3]. Помірну гіпоксію створювали шляхом розміщення щурів з 15-17-го дня вагітності, щоденно до пологів, по 2-ї години в герметичній камері з постійним током газової суміші O_2+N_2 , яка містила 12% кисню, та поглинанням вуглекислого газу. Тяжку гіпоксію створювали відповідно при застосуванні суміші O_2+N_2 , яка містила 7% кисню. Тварини утримувались з 12-годинним освітленням (з 8-ї по 20-у год. світло, з 20-ї по 8-у год. темрява). Електронно мікроскопічні дослідження проводили за допомогою мікроскопів GEM -100 CX та TEM-120C. Для дослідження морфофункціонального стану мітохондрій нейроцитів брали ідентичні шматочки тканини стовбура мозку щурят від тварин, які зазнавали дії гіпоксії. Фіксацію матеріалу здійснювали за загальноприйнятою методикою. Ідентифікацію процесів, що вивчались, зокрема підрахування кількості мітохондрій, відсоток пошкоджених мітохондрій, діаметр та суму поверхонь мітохондрій, здійснювали за морфометричними методиками [10] та за програмою UTHSCSA Image Tool – Version 3.0 (Texas, США).

Дослідження було проведено на 9 щурах (самці) та їх 20 щурятах з масою 30-35 г. Тварини були розподілені на порівняльну та дослідну групи. Порівняльну групу склали інтактні тварини (n=8). Дослідна група у свою чергу була розподілена на дві підгрупи: щурята, які зазнали дії помірної гіпоксії - II підгрупа (n=6) та III підгрупа - тварини, які зазнали дії тяжкої гіпоксії (n=6). Методологія проведення експерименту представлена на рис.1.

* Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи Інституту педіатрії, акушерства та гінекології АМН України «Розробити технології підвищення ефективності діагностики, профілактики та лікування ЦМВ інфекції та герпесу II типу у новонароджених від інфікованих матерів» (державний реєстраційний № V 01.05.Y000308)

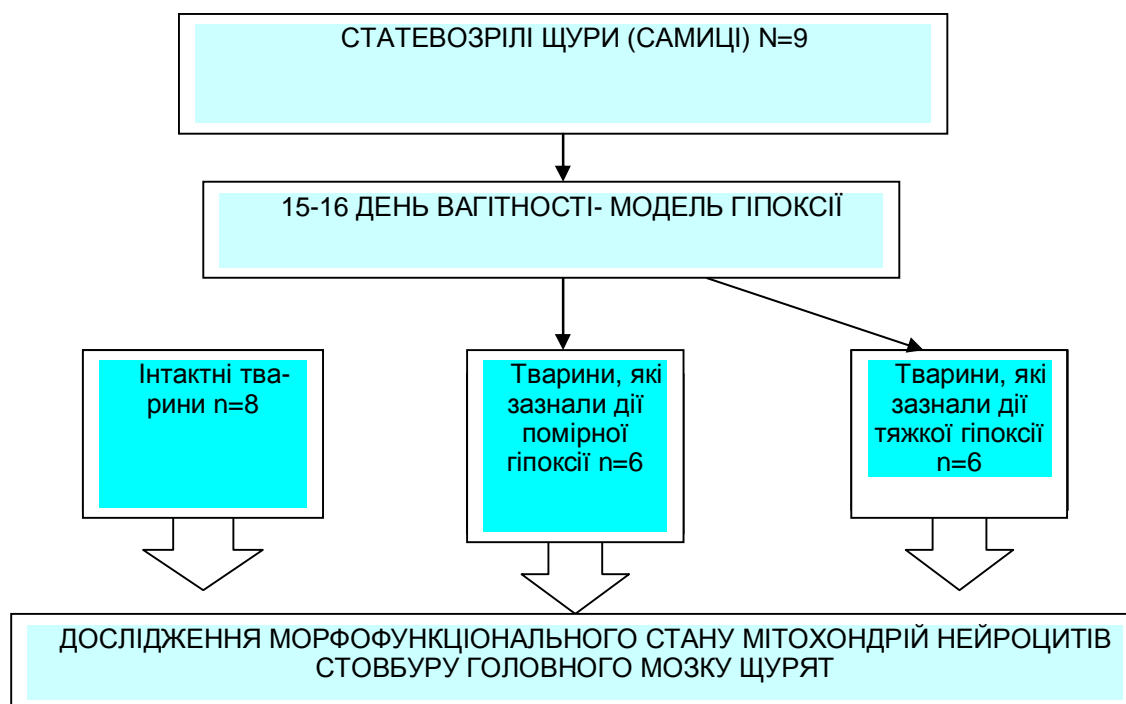


Рис. 1. Методологія проведення експерименту

Результати та їх обговорення

Отримані результати виявили вірогідно більший діаметр мітохондрій у щурят II та III підгрупи порівняно з цим показником у інтактних тварин (табл.1), що може бути обумовлено двома основними причинами: набуханням органел та змінами їх енергетичного стану [8].

Таблиця 1

Кількісний склад мітохондрій, їх діаметр, сума поверхонь в одиниці об'єму нейроцитів щурят та їх відсоткове ураження в умовах експериментальної моделі гіпоксії

Дослідні групи	Кількість мітохондрій од/мкм ² (M±m)	Питома вага ушкоджених мітохондрій (%)	Діаметр мітохондрій –d, мкм	Сума поверхонь мітохондрій в одиниці об'єму – S _{tot} , мкм ²
I підгрупа – інтактні тварини (n=8)	14, 5± 0,5	2,1	0,20±0,02	3,9±0,3
II підгрупа тварини, які зазнали дії помірної гіпоксії (n=6)	13,6 ±0,8**	6,4 * **	0,34±0,04*	4,8±0,5*
III підгрупа - тварини, які зазнали дії тяжкої гіпоксії (n=6)	8,0±0,6*	17,0*	0,41±0,02*	3,2±0,2*

* p<0,05 відносно показників у щурів I підгрупи

**p<0,05 відносно показників у щурів III підгрупи

Літературні джерела свідчать, що набухання органел може здійснюватися як за рахунок змін проникності мітохондріальних мембран, так і завдяки конформаційним (або іншим структурним) перебудовам, що призводить до відповідних змін енергетичного метаболізму, а саме активації синтезу АТФ, чи гліколізу. При цьому слід вказати на таку особливість. Якщо у тварин II підгрупи збільшення максимального діаметру мітохондрій складало у середньому 70%, що можна розглядати одним з показників переходу органел у енергезований стан, то у щурят III підгрупи досліджувані параметр змінювався більш, ніж у 2 рази. Такі зміни, що прийнято вважати незворотнім набуханням, тісно пов'язані із загибеллю мітохондрій та їх деструкцією [2].

Зміни суми поверхонь мітохондрій мають різноспрямований характер, зокрема у тварин при

помірній гіпоксії даний показник достовірно більший, ніж у щурят інтактної підгрупи (4,8±0,5 мкм² проти 3,9±0,3 мкм², p<0,05), тоді як у тварин, що зазнали дії тяжкої гіпоксії (III підгрупа), - достовірно менший (p<0,05). Слід звернути увагу на той факт, що в нейроцитах щурят, які перенесли тяжку гіпоксію (III підгрупа) зменшення загальної кількості мітохондрій досягає 1,8 рази (табл.1.), а зменшення суми їх поверхонь відбувається лише на 18%, тобто можна припустити, що окрім загальної зміни кількості органел, переважна більшість останніх знаходилася саме в стані незворотного набухання та не здатна була виконувати свої енергозабезпечуючі функції. У тварин же II підгрупи співвідношення кількості мітохондрій, їх діаметру та суми поверхонь мають більш оптимальний характер, а саме – помірно зростання діаметрів при практично стабіль-

ній кількості (табл.1.).

Ми вважаємо, що саме зменшення суми поверхонь мітохондрій в одиниці об'єму у щурят III підгрупи може розглядатись як свідчення більш тяжких та незворотних змін в структурі мітохондріального апарату нейроцитів та відповідно порушення енергетичного метаболізму.

Дослідження показало, що у щурят, які зазнали дії тяжкої гіпоксії, відбувається достовірне зменшення кількості мітохондрій порівняно з тваринами інтактною групи $8,0 \pm 0,6$ од/мкм² проти $14,5 \pm 0,5$ од/мкм² ($p < 0,05$). При цьому у щурів II підгрупи при електронній мікроскопії відмічається велика кількість везикулярних мітохондрій на тлі зруйнованих форм (рис. 2.). Так, проведене дослідження виявило достовірно більшу різницю відсотка пошкоджених мітохондрій у тварин III підгрупи у порівнянні зі щурятами II підгрупи 17,0% проти 6,4% ($p < 0,05$). Наявність мітохондрій з тубуло-везикулярними кристами прийнято розглядати як свідчення високої активності синтетичних процесів в клітинах [11].

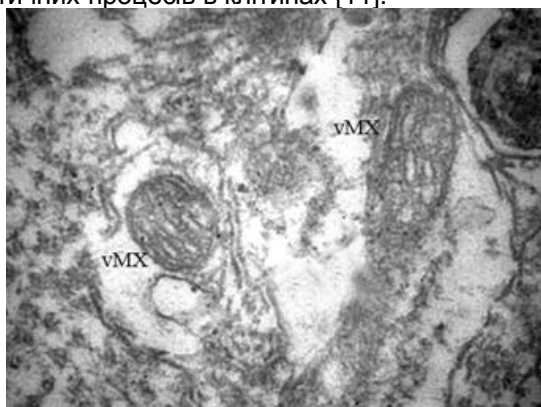


Рис. 2. Везикулярні мітохондрії на тлі зруйнованих форм при помірній гіпоксії. vMX – везикулярні форми мітохондрій. Зб. 9600.

У щурят III підгрупи констатована вірогідно більша кількість мітохондрій в стадії руйнування порівняно з тваринами II та інтактною підгруп, відповідно 17,0 % проти 6,4% у тварин II підгрупи ($p < 0,05$) та 2,1% у щурят I підгрупи ($p < 0,05$). При цьому в ушкоджених мітохондріях тварин III підгрупи відмічається деструкція та дисконфлексія крист, руйнування внутрішньої та/або зовнішньої мітохондріальних мембран, часто у органели збережена тільки оболонка завдяки гідролізу залишків мітохондрій, або подекуди має місце їх інкапсуляція (рис.3). Остання стадія змін є одним з можливих шляхів запуску апоптотичної програми в клітині [11].

Наше дослідження показало, що під дією гіпоксії у тварин також йде мозаїчне руйнування мієліну, яке найбільш виражене при тяжкій гіпоксії і викликає деструкцію з елементами набряку (рис.4.). Дані зміни можуть бути пусковими у розвитку судом [6].

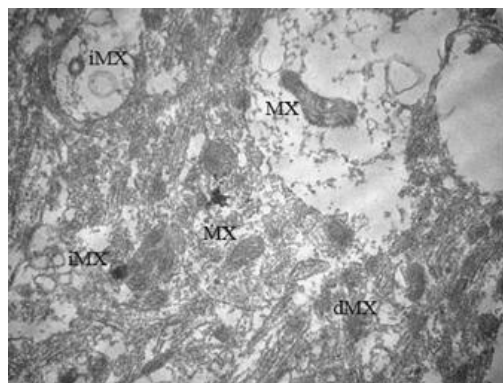


Рис.3. Різні стадії деструкції мітохондрій при тяжкій гіпоксії. MX – мітохондрії, dMX – деструкція мітохондрій, iMX – інкапсуляція мітохондрій. Зб. 6400.

Наше дослідження показало, що під дією гіпоксії у тварин також йде мозаїчне руйнування мієліну, яке найбільш виражене при тяжкій гіпоксії і викликає деструкцію з елементами набряку (рис.4.). Дані зміни можуть бути пусковими у розвитку судом [6].

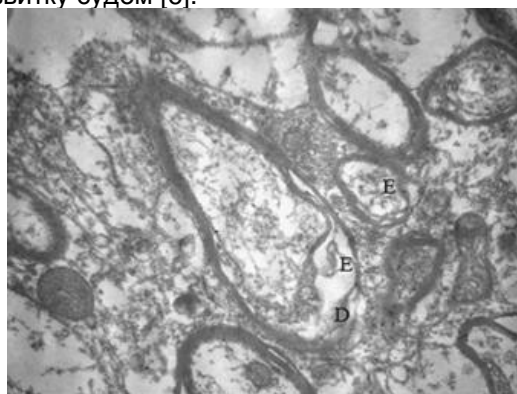


Рис. 4. Мозаїчне руйнування мієліну при тяжкій гіпоксії. Е – набряк, D – деструкція. Зб. 8000.

При електронномікроскопічних дослідженнях нами виявлено наявність «структурного дистресу» мітохондрій в клітинах мозку у щурят III підгрупи: на тлі практичної відсутності юних форм мітохондрій спостерігалися усі стадії загибелі мітохондрій – від набряку до повного розчинення, - що підтверджує незворотність саме структурних змін досліджуваних органел (рис.5.).

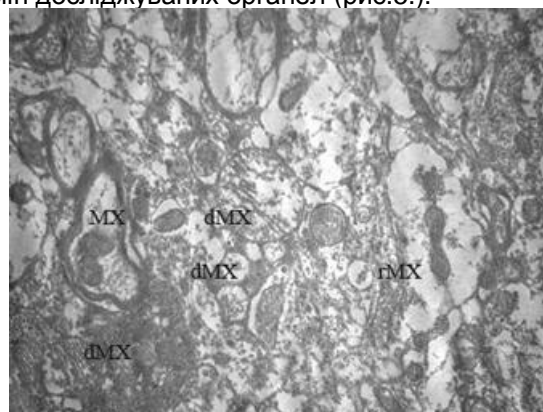


Рис. 5. «Структурний дистрес» мітохондрій нейроцитів щурят на фоні тяжкої гіпоксії. MX - мітохондрії, dMX - деструкція мітохондрій, rMX – розчинення мітохондрій. Зб. 6400.

Висновки

1. У щурят, які зазнали дії помірної гіпоксії до народження при експериментальному дослідженні, спостерігається достовірне збільшення відсотка пошкоджених мітохондрій у нейроцитах стовбура мозку відносно даного показника в інтактних тварин.
2. В умовах створення експериментальної моделі тяжкої гіпоксії у щурят відбувається достовірне зменшення кількості мітохондрій на тлі різкого вірогідного зростання пошкоджених органел порівняно з тваринами інтактною групи.
3. Дані отриманого експериментального дослідження дають можливість розробити нові підходи при застосуванні відновної терапії новонароджених, які перенесли перинатальну асфіксію.

Література

1. Беленичев И.Ф. Митохондриальная дисфункция при церебральной патологии. Нейропротекция cerebroкуринном/ И.Ф. Беленичев, Ю.М. Колесник, С.В. Павлов [и др.]. // Международный неврологический журнал. - 2008. - №4(20). - С. 20-26.
2. Вельтищев Ю.Е. Место и значение нарушения биоэнергетики организма в патологии детского возраста. Клинические и патогенетические проблемы нарушений клеточной энергетики (митохондриальная патология). - М., 1999. - С.3-4.

3. Вторичная тканевая гипоксия / Под ред. А.З.Колчинской. - К.: Наукова думка, 1983. - 254 с.
4. Гончарова О.В. Современные биохимические критерии диагностики перинатальных гипоксических поражений ЦНС у новорожденных детей/ О.В. Гончарова, М.И. Баканов, А.Г. Муталов [и др.].// Российский педиатрический журнал.-2007.-№4.-С. 13-18.
5. Краснопольская К.Д. Наследственные митохондриальные болезни: методические подходы к диагностике и лечению: Информ. письмо // Бюл. об-ва мед. генетиков.-1997.-№1.- С.9-18.
6. Мартынюк Ю.В. К вопросу об эффективности медикаментозной терапии перинатальных поражений нервной системы у детей в раннем восстановительном периоде //Материали науково-практичної школи-семінару «Сучасні принципи інтенсивної терапії та виходжування новонароджених». -2005.- Судак.- С. 29-34.
7. Нагорная Н.В. Энергетический обмен клетки в норме и патологии. Возможности его оценки/ Н.В. Нагорная, Н.А. Четверик, А.А. Федорова, Я.В. Куриленко // Здоровье ребенка.-2008.-№5(14). -С. 69-71.
8. Судакова Ю.В., Бакеева Л.Е., Цыпленкова В.Г. Энергозависимые изменения ультраструктуры митохондрий кардиомиоцитов человека при алкогольном поражении сердца // Архив патологии. - 1999. - № 2. - С.15-20.
9. Сухоруков В.С. Митохондриальная природа миокардиопатий у детей/ В.С. Сухоруков, А.И. Клембовский, В.В. Невструева //Арх. патол.-1997;59:12-18.
10. Ташке К. Введение в количественную цитогистологическую морфологию. Изд-во академии социалистической республики Румынии, 1980. - С.78-80.
11. Karbowski M., Youle R.J. Dynamics of mitochondrial morphology in healthy cells and during apoptosis // Cell Death and Differentiation. - 2003. - N 10. - P. 870-880.
12. Schapira A.M. Mitochondrial disorders // Biochim Biophys Acta. - 1999. - V. 1410. - P. 99-102.

Реферат

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ НЕЙРОЦИТОВ У КРЫСЯТ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ГИПОКСИИ

Похилько В.И., Розова К.В.

Ключевые слова: крысы, гипоксия, нейроциты, митохондрии.

В работе проведено исследование морфофункциональных изменений митохондрий нейроцитов ствола мозга у крысят в условиях экспериментальной модели гипоксии. Проведенное исследование выявило достоверное увеличение процента поврежденных митохондрий у нейроцитах крысят, которые перенесли умеренную гипоксию относительно животных интактно группы. У крысят, которые перенесли тяжелую гипоксию, происходит достоверное уменьшение количества митохондрий на фоне вероятного увеличения поврежденных органелл относительно интактных животных.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN NEUROCYTE MITOCHONDRIAL MEMBRANES IN INFANT RATS UNDER EXPERIMENTAL HYPOXIA MODELING

Pokhylo V.I., Rosova K.V.

Key words: rats, hypoxia, neurocytes, mitochondria

The paper represents the investigation of morphofunctional changes of brain stem neurocyte mitochondria in infant rats under hypoxia modeling. The investigation has shown the reliable increasing of damaged mitochondria percentage in neurocytes of infant rats experienced moderate hypoxia in comparison with the intact animals. The infant rats which had experienced severe hypoxia showed the reliable decreasing in mitochondria against the background of likely increasing in damaged organelles relative to the intact animals.

УДК: 616.5-089.843:612.13:001.891.57

РОЗРОБКА НОВИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЕЙ ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ КРОВОПОСТАЧАННЯ ВАСКУЛЯРИЗОВАНИХ КЛАПТІВ.

Радомський О.А., Радомська Н.Ю., Пархоменко М.В., Хворостяна Т.Т.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця,

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика

На підставі запропонованої класифікації типів судинної ніжки васкуляризованих трансплантатів виконано експериментальне моделювання їх ортотопічної пересадки. Визначені придатні варіанти для клінічного впровадження. Представлена концептуальна модель кровопостачання трансплантатів з осьовим типом живлення тканин є теоретичною основою для визначення механізмів кровопостачання і можливостей васкуляризації тканин в сучасній реконструктивно-відновній хірургії.

Ключові слова: кровопостачання, васкуляризовані клапті

Пересадка багатоскладових комплексів тканин на судинній ніжці для пластики поширених дефектів та реплантація відчленованих сегментів є ефективними методами лікування важкої травми. При виконанні таких операцій найважливішим є раціональне планування судинного етапу хірургічного втручання, що забезпечує гарантовану васкуляризацію пересаженого комплексу тканин або реплантата, його приживлення та функціональну придатність. Це потребує визначення механізмів кровопостачання тканин клаптів із осьовим джерелом живлення [1,4,5,7].

Мета дослідження: розробити нові експериментальні моделі вивчення механізмів кровопостачання клаптів на судинній ніжці.

Матеріал та методи дослідження. Теоретичною підставою стала розроблена нами класифікація типів судинної ніжки, яка враховує її головні параметри.

Перший параметр включає судинні компоненти. Артеріовенозний тип судинної ніжки має артеріальний і венозний компоненти (двокомпонентна ніжка). Така ніжка забезпечує природний кровообіг в судинах трансплантата - від артерії через мікроциркуляторне русло до вени.

Артеріальний і венозний (однокомпонентний) тип судинної ніжки включає осьову судину тільки однієї гемоциркуляторної ланки - артеріальної або венозної [8].

Шунтуючий тип судинної ніжки заснований на утворенні артеріовенозних сполучень (АВС). В хірургічній практиці застосовується вхідне, вихідне і проміжне АВС по відношенню до судин трансплантата. При цьому судинна ніжка комплексу може бути артеріальною, венозною або артеріовенозною [6].

Вхідна артеріовенозна фістула застосовується при вільній пересадці клаптів на венозний однокомпонентний ніжці. При цьому живляча ніжка пересаженого комплексу стає своєрідним шунтом, який пропускає артеріальну кров через венозну мережу клаптя.

Проміжне АВС накладається між дистальними кінцями артерії і вени артеріовенозної ніжки трансплантата. Мета цього анастомозування - спростити перебіг крові через судини клаптя та

збільшити об'ємну швидкість кровообігу в зоні анастомозів.

Вихідне АВС формується між дистальним, вихідним кінцем артеріальної ніжки трансплантата і реципієнтною веною, що забезпечує дренажування крові із артеріальної мережі. При цьому відбувається кровообіг артеріальної крові в мережі артеріальних судин комплексу. Такий тип ніжки можливо застосувати при реплантації дистальних сегментів пальців кисті, коли анастомозування венозних судин мізерного діаметру стає технічно неможливим.

Моделювання шунтуючого кровообігу можливо як в осьовій судині, так і в системі парних магістралей, що сполучаються між собою анастомозами (дугами).

Другий параметр - це напрям осьового кровообігу, який в судинній ніжці клаптя може бути термінальним та крізним. У першому випадку вся кров, яка поступає в головний стовбур ніжки і його бокові розгалуження в тканинах комплексу, може рухатись тільки у напрямку термінальної ланки мікроциркуляторної мережі. Крізний тип судинної ніжки має вхід до трансплантата і дренажний вихід з нього.

Кровоплин в осьових судинах клаптя може бути прямим або ретроградним. Моделювання прямої ніжки забезпечує природний напрямок руху крові в судинах трансплантата. Ретроградний кровообіг виникає в судинах при формуванні дистальної ніжки. Протилежноспрямований рух крові у венозних судинах виникає при умові функціональної недостатності клапанів, яка відбувається при ділятатії венозного каналу. Крім того, ретроградний дренаж крові здійснюється в обхід клапанів, через веновенозні анастомози.

Характер кровообігу (третій параметр) визначається можливістю крові послідовно переміщуватися у напрямку від вхідної артерії через обмінні капіляри до дренажних комунікацій. Якщо така система вазальних каналів існує в трансплантаті, то рух крові має бути односпрямованим. При цьому ділянка гарантованого кровопостачання визначається топографією ангиосому.

При пересадці тканин на однокомпонентній

судинній ніжці кров надходить в клапоть і дренується через єдину живлячу судину - артерію або вену. Перебіг крові у такій судинній ніжці та її розгалуженнях може нагадувати маятникоподібні коливання. Під час систоли, коли тиск в судинах підвищується, частина крові поступає в трансплантат і розповсюджується в мікроциркуляторній мережі певної ділянки. І, навпаки, діастолічне зниження тиску змушує кров рухатись у зворотньому напрямку. Чергове підвищення тиску знову переміщує "свіжу" порцію крові в судини клаптя. В результаті відбувається постійна маятникоподібна гемоциркуляція, яка, звісно, має обмежений характер.

Хірургічна техніка (четвертий параметр) вільної пересадки клаптів передбачає мікрохірургічне анастомозування судин живлячої ніжки і реципієнтної ділянки. У той же час транспозиція острівцевих трансплантатів не потребує зшивання судин, що значно спрощує хірургічне втручання. Така оперативна техніка має три варіанти утворення живлячої ніжки. Перший полягає у переміщенні клаптя на судинній ніжці. Другий - передбачає транспозицію трансплантата на "невральній" ніжці, яка містить осьові судини уздовж стовбура периферичного нерва і шкірні пліочки. Діаметр таких судин невеликий, тому життєздатні розміри трансплантата на "невральній" ніжці незначні. Третій спосіб транспозиції, запропонований О.А. Радомським та іншими [4], заснований на пересадці клаптів на судинно-фасціальній ніжці. При цьому живляча ніжка трансплантата утворюється із поверхневої фасції, в якій обов'язково містяться стовбури підшкірних нервів та поверхневих вен, над- та підфасціальне судинне сплетення. Домінантне живлення такого клаптя здійснюється артеріальними аркадами, які проходять у стінці вен та нервів, а фасціальне судинне сплетення створює додаткові гемоваскулярні комунікації. Ширина судинно-фасціальної ніжки має бути не меншою, ніж ширина клаптя. А довжина судинно-фасціальної ніжки разом із трансплантатом може перевищувати її ширину у 4-5 разів і більше.

Для дослідження вибрали метод експериментального моделювання на тваринах аутотрансплантації складних комплексів тканин на судинній ніжці, реплантації кінцівок та імплантації судинного пучка. Проведено 18 серій дослідів на 37 безпорідних собаках.

Для ортотопічної пересадки багатоскладових трансплантатів на судинній ніжці використовували такі донорські ділянки:

1. Медіальну поверхню стегна - медіальний клапоть стегна (МКС).

2. Зовнішню поверхню гомілки - зовнішній клапоть гомілки (ЗКГ).

3. Ділянку найширшого м'яза спини - торакодорзальний клапоть (ТДК).

Виконували пересадку клаптів на артеріальній, венозній, шунтуючій і артеріовенозній ніжці. При

цьому застосовували проксимальну, дистальну і крізну ніжку. Разом пересадили 64 фасціально-шкірних та 11 м'язовошкірних клаптів.

Шунтуючий кровообіг із використанням вихідної артеріо-венозної фістули отримано на моделі неповної ампутації гомілки (НАГ) на рівні нижньої третини.

Для вивчення процесів реваскуляризації тканин після імплантації судинного пучка застосовували транспозицію артерії гомілки і лапи (АГЛ) та її супроводжуючої вени в підшкірній клітковині присередньої поверхні стегна. Спочатку виділяли судинний пучок, розвертали ніжку на 90° і проводили її в підшкірний тунель. Другий етап експерименту виконували через 14 днів - навколо ніжки виділяли клапоть.

Життєздатність клаптів визначали протягом 2 - 3 тижнів після операції. Матеріал для морфологічного дослідження брали на 5, 10, 14 або 21 добу.

Для вивчення кровопостачання тканин та процесів реваскуляризації трансплантатів робили прижиттєву наливку судинної ніжки колоїдним розчином берлінської лазури.

Добутий матеріал досліджували загальногістологічними, нейрогістологічними, гістохімічними, гістоензиматичними методами. Морфологічне вивчення тканин доповнювали електронікроскопічним дослідженням біопсійного матеріалу.

Результати досліджень

Результати пересадки показали, що приживлення трансплантатів визначається типом судинної ніжки, видом клаптя та анатомічними особливостями його кровеносної мережі.

Найкращі результати приживлення трансплантатів отримали при пересадці клаптів на артеріовенозній ніжці (100%). Такий тип судинної ніжки забезпечує найвищий рівень адаптивно-репаративних процесів в судинах гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР), інтраорганних нервових утвореннях, тканинах клаптя і характеризується швидкою динамікою відновлювальних процесів.

Однокомпонентна (артеріальна або венозна) судинна ніжка забезпечувала приживлення трансплантатів і реплантатів тільки у 38,9% випадків; крайові або сегментарні некрози тканин виникали у 32,2% спостережень; 28,9% трансплантатів змертвіли повністю.

Пересадка клаптів на артеріальній судинній ніжці давала приживлення в 70,0%. Часткові некрози виникли в 30,0%.

Приживлення "венозних" клаптів наступило в 32,1%; крайові некрози мали місце в 46,4% випадків, решта (21,5%) - некротизувалась.

Таким чином, артеріальна ніжка забезпечувала приживлення у двічі більшої кількості трансплантатів порівняльно із венозною.

При формуванні крізної або шунтуючої судинної ніжки життєздатними було 68,0%

трансплантатів, частково некротизувалось 28,0%, повністю змертво - 4,0%.

Пересадка клаптів на однокомпонентній проксимальній ніжці була успішною лише в 26,0%, частковий некроз тканин спостерігали в 52,2%, тотальний некроз - 21,8%.

Отже, крізна судинна ніжка забезпечувала приживлення клаптів вдвічі більше порівняльно із проксимальною.

Усі комплекси тканин на дистальній однокомпонентній ніжці та безсудинні клапті змертво.

Гістологічне дослідження тканин трансплантатів на однокомпонентній судинній ніжці виявило поширені дистрофічні і некробіотичні зміни, зумовлені недостатнім кровопостачанням. Ураження тканин досягало найбільшої глибини на периферії пересаджених комплексів.

В життєздатних ділянках клаптів в цілому зберігалась нормальна структура тонкої шкіри. Ультраструктура епідерміоцитів переважно була нормальною.

В міоцитах спостерігали базофільне пофарбування волокон. Останні втрачали чіткість контурів, починала зникати скресленість їх волокон. Певна частина м'язових волокон фрагментувалась. Пізніше в м'язах розвивалась сполучна тканина. Прошарки пери-, ендомізію потовщувались за рахунок заміщення зруйнованих міоцитів. На периферії клаптя спостерігали суцільні поля некротизованих м'язів, які заміщувались грануляційною тканиною.

Осередкові дистрофічні і некробіотичні зміни виявлено також у кістковій та кістково-мозковій тканині. У компактній і губчатій частині спостерігали ділянки з нормальними остеобlastами, а в кістковому мозку - фібробласти з чіткими ядрами. Попри те, зустрічались поля клітин кісткового і фібробластичного ряду з пікнотичними ядрами або порожні лакуни.

Зміни у нервових стовбурах зводились до явищ подразнення: вздовж нервових волокон виникали різної величини і форми напливи нейроплазми, підвищена аргірофілія рецепторів, нерівномірний і рівномірний набряк терміналей. Електронімікроскопічне дослідження встановило відшарування і розшарування мієлінових оболонок, зміну за світлим типом нервових волокон. На периферії клаптів, поряд із осередками некрозу нервові волокна перебували в стані деструкції.

Вивчення гемомікроциркуляторної мережі виявило мозаїчність змін. Про це свідчила перебудова ендотеліоцитів дистрофічного, дестру-

ктивного і реактивного характеру. При цьому у венулярному відділі дистрофічні і деструктивні зміни мали більшу розповсюдженість, а ніж в артеріальному.

Вивчення процесів реваскуляризації трансплантатів на 5 добу після пересадки виявило тільки одиничні врослаючі судини між клаптем і оточуючими тканинами. І тільки на 10-15 добу кількість врослаючих судин значно збільшувалась.

Гістотопографічні зрізи неоваскуляризованих клаптів на імплантованій судинній ніжці через 2 тижні після їх пересадки виявили глибокі дистрофічні та некробіотичні зміни в тканинах. Поруч з ділянками, де шкіра зберігала структурну цілісність, зустрічались поля позбавлені епідермісу або суцільного змертвіння усіх прошарків шкіри. В дермі та клітковині домінували поля фіброзної тканини. Внаслідок оклюзії дистальна третина імплантованої ніжки не заповнювалась контрастною речовиною.

Висновок. Формування клаптя на артеріо-венозній судинній ніжці створює оптимальні умови для морфофункціональної адаптації тканин після їх пересадки. Однокомпонентна ніжка забезпечує успішну пересадку фасціальнo-шкірних клаптів лише невеликих розмірів або реплантацію дистальних сегментів пальців кисті. Усі інші види клаптів, які зазнавали глибоких дистрофічних і некротичних змін, потрібно визнати не придатними для клінічного впровадження.

Література

1. Белоусов А.Е. Пластическая реконструктивная и эстетическая хирургия. – СПб.: Гиппократ, 1998. - 744с.
2. Радомский А.А. Изучение жизнеспособности и кровоснабжения аутоотрансплантатов на венозной сосудистой ножке в эксперименте // Клін. хірургія. - 1995. - №1. - С. 29-32.
3. Радомський О.А. Математичне моделювання маятникоподібного кровообігу при трансплантації комплексів тканин на однокомпонентній судинній ніжці// Клін. хірургія. - 1996. - №4. – С. 30-33.
4. Радомський О.А. Реконструктивно-відновне лікування поширених гнійно-некротичних дефектів при пошкодженні кінцівок // Збірник наукових праць співробітників КМАПО. - 2000. - Випуск 9. - Книга III. - С. 67-69.
5. Benes C. A prospective study of microvascular free-flap surgery and outcome / Wallemark C.A. // Plast. Reconstr. Surg. - 1998. - Vol.102,N2. - P.400-406.
6. Koshima I. The use of arteriovenous for replantation of the digital phalanx of the fingers/ Soeda S. // Plast. reconstr. Surg. - 1992. - Vol.89,N4. - P.710-714.
7. Matsushita R. Blood flow and tissue survival in the rabbit flap/ Firrel J., Ogden L. // Ibid. - 1993. - Vol.91, N1. - P.127-134.
8. Thatte R.L. Venous Flaps/ Thatte M.R. // Ibid. - N 4. - P.747-751.

Реферат

РАЗРАБОТКА НОВЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ ВАСКУЛЯРИЗОВАННЫХ ТРАНСПЛАНТАТОВ

Радомский А.А., Радомская Н.Ю., Пархоменко М.В., Хворостяная Т.Т.

Ключевые слова: кровоснабжение, васкуляризированные лоскуты

На основе разработанной классификации типов сосудистой ножки васкуляризированных трансплантатов произведено экспериментальное моделирование их ортотопической пересадки. Определены клинически пригодные варианты пересадки сложно-

составных комплексов тканей. Представлена концептуальная модель кровоснабжения трансплантатов с осевым типом питания тканей, которая является теоретической основой для определения механизмов кровоснабжения и возможностей васкуляризации тканей в современной реконструктивно-восстановительной хирургии.

Summary

DEVELOPMENT OF NEW EXPERIMENTAL MODELS IN STUDYING BLOOD SUPPLY MECHANISMS OF PEDICLE FLAPS

Radomsky A., Radomsky N., Parchomenko M., Chvorostiana T.

Key words: vascularization, flap

On the grounds of the elaborated vascular pedicle types classification the experimental modeling of orthotopic transplantation of vascular flaps was carried out. There were determined the clinically suitable ways of the combined complexes of tissues transplantation. There was represented the conceptual model of the transplant blood supply with an axial type of tissular nutrition which is the theoretical basis for determining of blood supply mechanisms and the tissues revascularization possibilities in up-to-date reconstructive surgery.

УДК: 616.36-002-099.3:616-003.96

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ХРОНІЧНОГО ТЕТРАХЛОРЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ ТА ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ У НЕСТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ

Рикало Н.А.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Україна,

Розроблена нова експериментальна модель хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих білих щурів шляхом інтрагастрального введення 20% олійного розчину CCl_4 в дозі 0,1 мл/100 г двічі на тиждень в комбінації з 5% розчином етанолу для пиття протягом 3 місяців

Ключові слова: експериментальна модель, нестатевозрілі щурі, цироз печінки.

Проблема хронічних вірусних гепатитів (ХВГ) у дітей залишається актуальною як серед науковців, так і практичних лікарів усього світу, оскільки дана патологія нерідко ускладнюється цирозом печінки (ЦП), гепатокарциномою, що може спричинити летальні наслідки [1-4].

Загальновідомо, що проблема адекватної медикаментозної корекції ХВГ та ЦП у дітей потребує удосконалення, у тому числі шляхом вивчення ефективності різноманітних фармакологічних препаратів на відповідних експериментальних моделях.

Найрізноманітнішими агентами, у тому числі широковідомими гепатотоксинами (CCl_4 і етанол) можна порівняно легко і швидко викликати білкову та жирову дистрофію печінки, розлади кровообігу, порушення екскреції жовчі, тоді як фіброзування органу, особливо за типом цирозу, відбуваються лише при певних умовах дослідження та тривалому експерименті [5].

Існує чимало методик моделювання хронічного токсичного гепатиту (ХТГ), проте усі вони відтворюються на статевозрілих білих щурах, з масою 180-240 г [5-8]. Для того, щоб наблизити характер змін, що настають в структурі і функції печінки у тварин, до таких у дитячому організмі, слід моделювати хронічний гепатит та ЦП на нестатевозрілих щурах.

Мета дослідження: розробити ефективну експериментальну модель хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів.

Матеріали та методи дослідження.

З метою максимального наближення експериментальної моделі до патології, що вивчається у дітей, дослідження проводились на 45 нестатевозрілих щурах-самцях лінії Вістар, віком 1,5 місяці, з початковою масою тіла 70-80 г. Утримання тварин проводилось у віварії ВНМУ та відповідало загальноприйнятим правилам. Тварини пройшли карантин в умовах віварію протягом 14 днів. Експериментальні групи формували методом випадкової вибірки з врахуванням віку та маси тіла тварин. При проведенні експерименту щодня спостерігали за загальним станом тварин, споживанням корму і води, один раз в тиждень визначали масу тіла.

Було проведено 4 серії експерименту, для чого використано по 10 щурів у кожній серії; 5 інтактних тварин склали контрольну групу. Після введення тварин з експерименту під наркозом здійснювали забір тканини печінки для гістологічних досліджень. Шматочки тканини вказаного органу фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну і проводили через батарею спиртів з наступним зануренням в парафін за загальноприйнятою методикою. Парафінові зрізи тканини печінки фарбували гематоксиліном та еозином, а також за ван Гізон для виявлення колагенових волокон.

У 1 серії експерименту ХТГ викликали шляхом одночасного інтрагастрального введення 20% олійного розчину CCl_4 та 40% етилового спирту

* Тема НДР: Морфогенез та медикаментозний патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту, № 0104U0101145

тричі на тиждень протягом 2-3 місяців за методикою І.Д. Мансурова та співав. [5]. У 2 серії експерименту ХТГ відтворювався за моделлю Ю.В. Бакширова [6], відповідно до якої тваринам вводили інтрагастрально 25% олійний розчин CCl_4 з розрахунку 0,1 мл/100 г маси тіла тварини двічі на тиждень і 5% розчин етанолу замість води протягом чотирьох тижнів. У 3 серії експерименту ми використали модель експериментального фіброзу та ЦП за методикою [8], що передбачає інтрагастральне введення білим щурам з масою 250-300 г 50% олійного розчину CCl_4 з розрахунку 0,1 мл/кг двічі на тиждень протягом 31 доби та 5% розчину етанолу для пиття замість води. У 4 серії експерименту використовувалась власна експериментальна модель.

Результати та їх обговорення.

Методика І.Д. Мансурова та співав. передбачає введення обох гепатотоксинів протягом 2-3 місяців [5]. Тоді як у наших спостереженнях після другого введення загинуло 2 щурів, після третього – 1, після четвертого – 2, після шостого – 1, після восьмого – 2, після десятого – 1 та після 12 введення гепатотоксинів пала остання тварина. Через один місяць від початку експерименту всі тварини загинули. При проведенні патоморфологічного дослідження померлих щурів було встановлено, що причиною 100% летальності експериментальних тварин була гостра печінкова недостатність внаслідок розвитку гострої токсичної дистрофії та поширеного некрозу печінки. Гістологічно виявлено гідропічну та балонну дистрофію в поєднанні з жировою вогнищевою та великі поля переважно коліквацийного некрозу, місцями з крововиливами.

У 2 серії експерименту при використанні експериментальної моделі [6] летальність становила 40%. Всі щурі цієї групи були кволими, втрачали масу тіла до 8,3% у тиждень, а на кінець експерименту - до 33,3% у порівнянні з тваринами контрольної групи. При патоморфологічному дослідженні тварин, які не загинули у період введення гепатотоксичних отрут, після закінчення експерименту (через 1 місяць) гістологічно було встановлено розвиток білкової гідропічної з дрібними вогнищами некрозу та жирової дистрофії (рис.1). Характерною була наявність запальної інфільтрації переважно портальних трактів (рис.2), тобто ознак хронічного гепатиту. Проте у жодному випадку не розвинувся фіброз чи ЦП. На нашу думку, це пов'язано із короткою тривалістю експерименту. Очевидно, для цього потрібний більш тривалий проміжок часу.

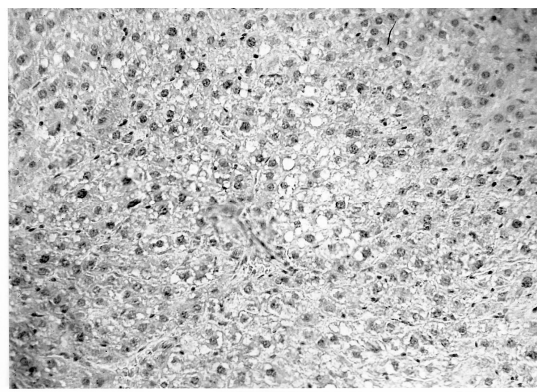


Рис.1. Поєднання білкової зернистості та жирової дистрофії без суттєвого фіброзу печінки. Фарбування гематоксилін-еозином x 200.

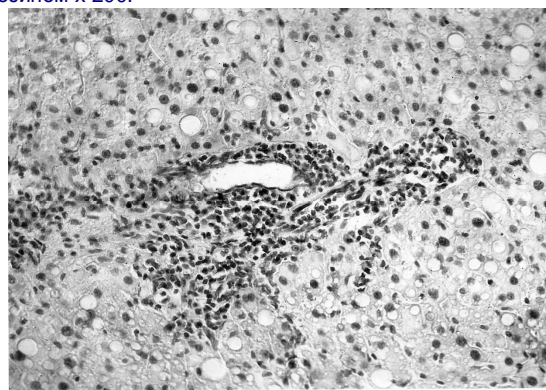


Рис.2. Запальна інфільтрація портальних трактів та помірна жирова дистрофія печінки. Фарбування гематоксилін-еозином x 200.

У 3 серії експерименту ми використали модель експериментального фіброзу та цирозу печінки за методикою [8]. Проведене дослідження показало, що введення висококонцентрованого розчину CCl_4 нестатевозрілим щурам теж призводить до високої летальності експериментальних тварин (100%) через розвиток гострої печінкової недостатності, подібно до 1 серії досліджень.

Невдалі спроби використання вищевказаних експериментальних моделей для моделювання ХТГ з розвитком фіброзу та виходом в ЦП у нестатевозрілих щурів спонукали нас модифікувати відомі методики та створити власну модель експериментального фіброзу та цирозу печінки. З цією метою у 4 серії експерименту ми інтрагастрально вводили 20% олійний розчин CCl_4 в дозі 0,1 мл/100 г маси лише двічі на тиждень проте протягом 3 місяців. Паралельно в якості пиття замість води тваринам давали 5% розчин етанолу. Летальність знизилась і становила лише 10% (одна тварина померла на 8 тижні експерименту). Тварини були кволими, частково втрачали волосяний покрив, маса тіла була на 16,7% меншою, ніж у тварин контрольної групи. При патоморфологічному дослідженні макроскопічно виявлено зменшення розмірів печінки, ущільнення тканини та навіть деформацію у вигляді зернистості. Гістологічно встановлено, що після завершення експерименту в тканині печінки, окрім осередків білкової та жирової дистро-

фії, траплялись великі вогнища некрозу (рис.3). На фоні вказаних альтеративних змін в печінці нестатевозрілих щурів даної серії характерними були розвиток запальних інфільтратів без чіткого розмежування та склерозу в портальних трактах. Всередині часточок замість центральних вен визначались дрібні септи сполучної, іноді незрілої, тканини та ознаки проліферації гепатоцитів і жовчних капілярів з формуванням несправжніх часточок (рис.4). Вказані зміни нами трактувались як ознаки експериментального цирозу печінки.

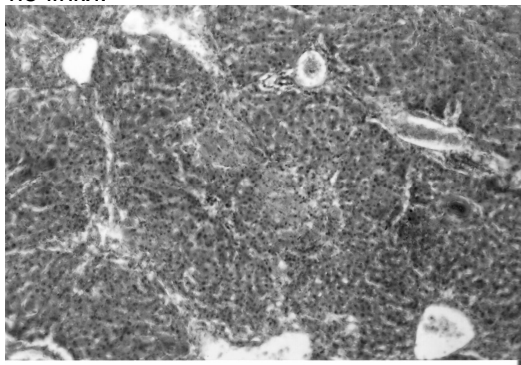


Рис.3. Вогнища некрозу на тлі новоутворення фіброзних септ та склерозу портальних трактів. Фарбування гематоксилін-еозином x 100.

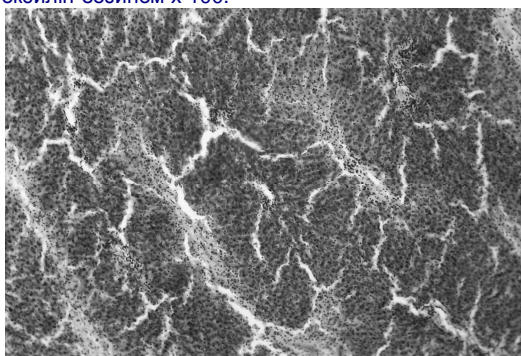


Рис.4. Цироз печінки у щура. Фарбування гематоксилін-еозином x 100.

Висновки

1. Застосування загальноприйнятих експериментальних моделей ХТГ у нестатевозрілих щурів призводить до загибелі експериментальних тварин внаслідок розвитку глибоких

дистрофічних та поширених некротичних змін у печінці, що спричинило гостру печінкову недостатність.

2. Розроблена нова експериментальна модель ХТГ та ЦП у нестатевозрілих білих щурів шляхом інтрагастрального введення 20% олійного розчину CCl_4 в дозі 0,1 мл/100 г маси двічі на тиждень в комбінації з 5% розчином етанолу в якості пиття протягом 3 місяців відтворює хронічний гепатит із фібротичними та циротичними змінами у печінці і є більш адекватною для дитячого віку.

Перспективи подальших досліджень

Розроблена експериментальна модель ХТГ та ЦП у нестатевозрілих щурів дасть можливість проводити доклінічні дослідження фармакологічних препаратів для удосконалення лікування хронічних вірусних гепатитів та цирозу печінки у дітей.

Література

1. Андрейчин М.А. Перинатальное инфицирование вирусом гепатита В и С: патоморфологические механизмы и морфофункциональное состояние плаценты / М.А. Андрейчин, Ю.А. Рандюк // Международный медицинский журнал. – 2005. - №1. – С.103-106.
2. Гунякова В.К. Вирусный гепатит В у детей: клинико-эпидемиологические и социальные аспекты / В.К. Гунякова // Российский педиатрический журнал. – 2005. - №3. – С.21-25.
3. Крамарев С.А. Вирусные гепатиты у детей / С.А. Крамарев // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2005. - №1. – С.17-20.
4. Учайкин В.Ф. Вирусные гепатиты от А до ТТV у детей / В.Ф. Учайкин, Н.И. Нисевич, Т.В. Чердиченко. - М.: Новая Волна, 2003. – 432 с.
5. Мансуров И.Д. Экспериментальная патология печени. Под ред. И.Д. Мансурова. Душанбе: «Дониш», 1976. – 215 с.
6. Башкиров Ю.В. Применение СУМС-1 и энтеросгеля при лечении токсического гепатита на мышах [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.sorbi.ru/bashkirov_p.shtml.
7. Зимин Ю.В., Сяткин С.П., Березов Т.Т. Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите // Вопросы медицинской химии. – 2001. - №3 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://medi.ru/pbmec/8810308.htm>.
8. Экспериментальный фиброз и цирроз печени. Gepatoprotektorn.affekty [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.ipharm.sp.ru/farm%20m_gepatoprotektornye%20affecty.htm.

Реферат

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ХРОНИЧЕСКОГО ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТА И ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ У НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС

Рыкало Н.А.

Ключевые слова: экспериментальная модель, неполовозрелые крысы, цирроз печени.

Разработана новая экспериментальная модель хронического токсического гепатита и цирроза печени у неполовозрелых белых крыс путем интрагастрального введения 20% масляного раствора CCl_4 в дозе 0,1 мл/100г дважды в неделю в комбинации с 5% раствором этанола для питья на протяжении 3 месяцев.

Summary

EXPERIMENTAL MODEL OF CHRONIC CARBONE TETRACHLORIDE HEPATITIS AND LIVER CIRRHOSIS IN IMPUBERAL RATS

Rikalo N.A.

Key words: experimental model, impuberal rats, liver cirrhosis.

We elaborated new experimental model of chronic toxic hepatitis and liver cirrhosis in impuberal white rats by intragastric introduction of 20% CCl_4 oil solution in a dose 0,1 ml/100 g twice a week in a combination with 5% ethanol solution for the drinking for 3 months.

УДК 611.12: 575.16 - 029.9

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ МОДЕЛІ У ВИЗНАЧЕННІ КРИТИЧНИХ ПЕРІОДІВ КАРДІОГЕНЕЗУ

Савенкова О.О., Шаторна В.Ф.

Дніпропетровська державна медична академія

Досліджували формоутворюючі процеси ембріогенезу щура та курки в нормі та під впливом фізичних факторів (нестача кисню, гіпертермія) виявляли термінаційні періоди розвитку. Матеріалом дослідження стали ембріони щура та курки ранніх етапів розвитку. Вплив гіпоксії та гіпертермією на ембріони проводився опосередковано на терміні вагітності самиці щура 8-9 діб та 3-тю добу інкубації курки. Спостерігали відставання в розвитку ембріона та формування вад розвитку серця. Виявили критичні періоди ембріогенезу.

Ключові слова: кардіогенез, ембріогенез, септація серця.

Вступ

В наш час потреби медичної галузі вимагають більш детального розуміння особливостей, механізмів та закономірностей розвитку серця для вирішення проблем, пов'язаних з виникненням уроджених вад цього важливого органу. Незважаючи на значні успіхи в діагностиці й профілактиці хвороб серця, саме вони продовжують бути основною причиною захворюваності й летальності в індустріалізованому суспільстві. Формування уроджених вад обумовлено частіше за все ранніми дефектами в розвитку серця [2, 3, 6,]. В цьому аспекті набуває значення медична ембріологія і порівняльна ембріологія та їх методи. Розробка методів експериментальних моделей уроджених вад серця та клапанного апарату крупних судин привертає постійну увагу дослідників [8, 9, 10]. У науковій літературі зустрічається значна кількість робіт, присвячених моделюванню уроджених вад серця протягом онтогенезу, і лише незначна кількість робіт останніх років, що стосуються впливу таких тератогенних факторів як гіпоксія, гіпертермія, етанол та ретіноева кислота, особливо на хід раннього ембріогенезу [1, 5, 10].

Метою дослідження було використання моделей впливу гіпоксії та гіпертермії на формування та розвиток ембріону та серця.

Матеріалом для даного дослідження були серця двох об'єктів: ембріонів курей породи білий леггорн та ембріонів білих безпородних щурів. Комісією з біоетики Дніпропетровської державної медичної академії (протокол № 7 від 27.04.06) встановлено, що проведені наукові дослідження зародків експериментальних тварин відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01.11.2005 року. Дослідження виконувались у відповідності до принципів Хельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000), Конвенції Ради Європи у правах людини та біомедицини (1997), відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983), «Загальним етичним принципам експериментів над тваринами», що затверджені І Національним конгре-

сом з біоетики (Київ, 2001) згідно з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших навчальних цілях» (Страсбург, 18.03.1986).

Результати дослідження та їх обговорення

Перед початком експерименту на щурах всі тварини були оглянуті, зважені, враховувався їхній вік, рухова активність та стан шкіри. Після зовнішнього огляду та вибраковки починали експеримент одночасно з контрольною групою. Яйця курей уважно оглядали, вибраковували яйця з напливами шкаралупи та деформовані, потім інкубували при 38°C та відносній вологості 80%. Стандартизація термінів розвитку ембріонів здійснювалася за допомогою стандартних таблиць нормального розвитку за Hamburger і Hamilton (HH). Макроскопічне дослідження проводилося для встановлення стадії розвитку, дослідження зовнішньої форми зародків для встановлення вад розвитку кінцівок, головної та тулубової частин зародків. Дослідження зовнішньої форми серця щойно вилучених зародків, після фіксації рідиною Буену та після тотального забарвлення гематоксиліном цілого ембріону, проводили при світлі, що падає, та при світлі, що проникає.

Вибрані нами об'єкти характеризуються цілим рядом переваг та є класичними об'єктами ембріологічних досліджень. Одержання чітко датованих строків розвитку зародку курки й можливість стандартизації етапів розвитку, а також простота у впливі тератогенних факторів є перевагою у виборі саме цього матеріалу для дослідження.

Моделлю для вивчення впливу гіпертермією стали 60 ембріонів курки. Вплив гіпертермією проводився на 3-тю добу інкубації впродовж 3-х годин підвищенням загальної температури в інкубаторі до 45 градусів Цельсія.

Інкубація проводилася в лабораторних умовах за загальноприйнятими методиками. Строк впливу (3-тя доба інкубації) був нами обраний не випадково. До цього періоду ембріон являє собою нестабільну систему, перегрів якої приводить до загибелі 94% усього матеріалу. У період

* Дослідження є фрагментом планових наукових робіт кафедри анатомії людини Дніпропетровської державної медичної академії «Розвиток та становлення серця, його судин, папілярно-трабекулярного і клапанного апарату в онто- і філогенезі» (номер державної реєстрації 0101U000777) та «Морфогенез серця та судин після експериментальних втручань» (номер державної реєстрації 0106U012193).

інкубації після 55 годин уже сформована 26 пара сомітів і відбуваються активні морфологічні зміни в ембріональному серці. Часові моменти, коли відбувається септація серця, були позначені нами як можливі критичні періоди розвитку серця й перевірка порушення розвитку після впливу тератогеном підтверджує або спростовує значення того або іншого строку в кардіогенезі. Після тригодинного впливу підвищеної температури нами на рівних проміжках часу вироблялися забори ембріонального матеріалу для зовнішнього й наступного більш детального внутрішнього та гістологічного вивчення.

Матеріалом для дослідження впливу гіпоксії послужили 60 ембріонів курей, розділених за часом впливу гіпоксією на 3 групи: 1 група - вплив на 2-гій добі інкубації (20 ембріонів); 2 група - вплив на 3-тій добі інкубації (20 ембріонів); 3 група - вплив на 5-тій добі інкубації (20 ембріонів) протягом 6-10 годин у закритій герметично камері.

Ідентифікація вад розвитку після впливу гіпоксією або гіпертермією проводилася при порівнянні з контрольною групою (20 ембріонів), що дозволило виявити як зовнішні вади розвитку, так і внутрішні. Наявність контрольної групи дозволила порівняти також відставання в етапах розвитку після гіпертермії та гіпоксії, а також формування виражених каліцтв.

Терміни впливу тератогенами були обрано не випадково. За результатами даних наукової літератури та попередніх власних досліджень було складено порівняльну таблицю основних етапів кардіогенезу ембріонів курки та щура та для впливу обирались моменти, що передують утворенню делямінаційної пластинки, міжшлункової перегородки, міжпередсердної перегородки, розподілу конотрункусу на аорту та легеневий стовбур, утворенню клапанного апарату. Ці моменти диференціювання та септації серця ембріона були обрані як можливі умовні критичні періоди кардіогенезу.

Модель впливу на кардіогенез ссавців реалізовували на ембріонах щурів. Перший вплив гіпоксією та гіпертермією на організм самиць-щура проводився на 10-й добі (30 самиць), а другий на 12-й добі вагітності (30 самиць). Контрольна група складала 20 щурів-самиць, які не підлягали під час вагітності впливу зазначених тераогенних факторів.

Модель впливу гіпертермією на ембріони щурів була опосередкованою через материнську гіпертермію на терміні вагітності 8-9 доби. Цей час відповідає стадіям кардіогенезу, що передують септації та подальшому диференціюванню структур серця. Підвищення температури самики викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення пірогеналу в дозі 3,0 мг/кг. У всіх тварин контролювали підвищення температури тіла наступного дня за допомогою електротермометра фірми "Microlife" (Швейцарія). Встановлено, що через 24 години після внутрішньо-

очеревинного введення щурам-самицям пірогеналу температура підвищувалася від $36,6 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$ до $38,9 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$ і втримувалася на даному рівні від 18 до 26 годин. У нашому дослідженні усі самики вижили. Забір матеріалу проводився, починаючи з 10,5 доби вагітності й до кінця пренатального розвитку (21 доба), але акцент у терміні забору матеріалу надавався важливим етапам кардіогенезу, тобто до 18 доби. На цей час вже або сформувалась вада розвитку серця, або вона вже не сформується.

Вплив гіпоксією на ембріонів щура проводився згідно з методикою Н.Ф.Іваницької (1976) та методичних рекомендацій Міністерства охорони здоров'я України (2003р.) підшкірним введенням нітрату натрію (50 мг/кг) одноразово. Тобто формували гемічну гіпоксію щура та ембріонів. Ідентифікація пороків розвитку проводилася при порівнянні з контрольною групою та відповідно таблицям нормального розвитку, що дозволило зрівняти як зовнішні ознаки порушення розвитку ембріона в цілому, так і внутрішні зміни в ході кардіогенезу. Наявність контрольної групи дозволяла виявити також відставання в етапах розвитку після впливу тератогенами.

Порівняння цілих ембріонів після впливу гіпертермією з ембріонами контрольної групи показало, що в 31,5% (у курки) та в 28,9% (у щура) випадків після впливу високою температурою спостерігається виражене відставання в розвитку на 2-3 стадії. Причому це відставання більш явно було виражено у віддаленій післядії. Кращим загальноовизнаним критерієм для діагностики стадій розвитку є диференціювання бруньок кінцівок. Ми спостерігали явне відставання в закладці й рості бруньок нижньої кінцівки у ембріона курки, навіть після 3-х діб інкубації продовжувало зберігатися характерне для 21-ї стадії однакове диференціювання бруньок ноги та крила. Із зовнішніх вад розвитку на ранніх етапах у тварин обох видів виділялися такі як порушення головного вигину (у ембріонів, що підлягали дії високою температурою та гіпоксією він був менш виражений), а також зміна згинання тулубового й хвостового відділів.

Поряд з загальними прикметами порушення розвитку ембріона курки, ми спостерігали також і порушення розвитку серця, а саме вже з 4-ї доби інкубації ми спостерігали ектопію серця (3,6%), а з 10-ї доби нами також спостерігалась кила (4,7%). Відставань у загальному розвитку ембріонів на пізніх етапах спостерігалось значно менше, але зниження вагових показників все ж відмічало порушення розвитку ембріона. Вплив гіпертермії на загальний хід розвитку ембріона щура виявлявся у виникненні зовнішніх вад розвитку ембріону у вигляді ектопії серця (4,2%), кили (3,5%) та невідповідності діагностичним ознакам.

Висновки

Таким чином, використання моделей впливу гіпоксії та гіпертермією в різні проміжки часу визначив наявність термінаційних періодів ембріогенезу та кардіогенезу, коли спостерігається пряма залежність процесів розвитку від впливу фізичних факторів. Для курячого зародка цей період становить 68-72 годин інкубації, (19 стадія за НН), а для ембріона щура цей термін відповідає 13 стадії ембріогенезу, що відбувається на 11 добі розвитку

Перспективи подальших досліджень

Порушення ембріогенезу під впливом фізичних факторів, таких як гіпоксія та гіпертермія, спровокує порушення кардіогенезу. Цікавим на наш погляд є подальше дослідження формування передсердно-шлуночкових клапанів серця, серцевої стінки, а також папілярно-трабекулярного апарату серця після впливу фізичних факторів.

Література

1. Машталір М.А. Формування конусно-стовбурового відділу серця у мишачих та курячих зародків під впливом ре-

тиноєвої кислоти // Медичні перспективи. 2006.- №1.- С.8-12.

2. Мутафьян О.А. Врожденные пороки сердца у детей. – Санкт-Петербург, 2002. – 210 с.
3. Нуджент Э.В. Врожденные пороки сердца // Клиническая кардиология. Под ред. Шланта К. и Александера Р.: Пер. с англ. – СПб.: Невский диалект, 2000. – С. 259-286.
4. Шаторна В.Ф. Формоутворення структурних компонентів серця протягом раннього кардіогенезу у ембріонів щурів// Вісн. пробл. біол. і мед. - 2007.- Вип. 3. - С. 113-118.
5. Шаторная В.Ф. Влияние гипертермии на морфогенез эмбриона крысы// Вісн. пробл. біол. і мед. - 2008.- Вип. 1.- С. 179-182.
6. Экспериментальное моделирование врожденных пороков сердца и магистральных сосудов/ Под редак. Г.С.Кириякулова.- Київ: Вища школа, 1994.-158 с.
7. Anderson R.H., Wenink A.C. Thoughts on concepts of developmental of the heart in relation to the morphology of congenital malformation // Experientia. – 1988. – №11. – P. 951-960.
8. Barry MA, Behnke CA, Eastman A. Activation of programmed cell death (apoptosis) by cisplatin, other anticancer drugs, toxins and hyperthermia. // Biochem Pharmacol. - 1990.- Vol. 40.- P. 2353-2362.
9. Effects of environmental hyperthermia on cardiovascular function in the rat embryo / Nakazawa M., Miyagawa S.T., Morishima M. et al. // Pediatr Res.- 1991.-30(6).- P.505-508.
10. Strasser A, Anderson RL. Bcl-2 and termotolerance cooperate in cell survival. // Cell Growth Differ. – 1995. – V. 6. - 799-805.

Реферат

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ КРИТИЧЕСКИХ ПЕРИОДОВ КАРДИОГЕНЕЗА

Савенкова Е.А Шаторна В.Ф.

Ключевые слова: кардиогенез, эмбриогенез, септация сердца.

Исследовали формообразовательные процессы кардиогенеза эмбриона крысы и курицы в норме и под воздействием физических факторов (недостаток кислорода, гипертермия), выявляли терминационные периоды развития. Материалом исследования стали эмбрионы крысы и курицы ранних этапов развития. Влияние гипоксией и гипертермией на эмбрионы проводилось опосредствовано на сроке беременности самки крысы 8-9 суток и 3-и сутки инкубации. Наблюдала отставание в развитии эмбриона и формирование пороков развития сердца. Выявили критические периоды эмбриогенеза.

Summary

PILOT MODELS IN DETERMINING CRITICAL PERIODS OF CARDIOGENESIS

Savencova O.O., Shatorna V.F.

Keywords: cardyogenesis, embryogenesis, heart septation.

The paper was aimed to investigate the forming processes of cardiogenesis in an embryo of rats and hens in normal condition and under the influence of physical factors (oxygen insufficiency, hyperthermia) as well as to reveal terminal periods of the development. Embryos of rats and hens of early stages of their development were the research material. The exposure to hypoxia and hyperthermia on embryos was carried out indirectly in pregnant female rat on 8-9th days and the 3rd day of incubation. There was observed the embryo developmental lagging and formation of heart failure development. The critical periods in cardiogenesis have been found out as well.

УДК [616.33 – 002.44 + 616.379 – 008.64] – 092.9

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВІДТВОРЕННЯ ВИРАЗКИ ШЛУНКА
ТА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ І ТИПУ У ЩУРІВ**

**Скрипник І.М., Непорада К.С., Гопко А.Ф.,
Давиденко С.В., Давиденко О.О., Вахненко А.В.**

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»

Запропонований метод моделювання поєднаного перебігу експериментальної виразки шлунка та цукрового діабету 1 типу ефективний та базується на відтворенні реальних етіологічних чинників: хронічного стресу, гіпокінезії, харчової депривації, детергуючої та цитотоксичної дії жовчі на слизову оболонку шлунка та вибіркової дії алоксану на β -клітини підшлункової залози.

Вивчення фундаментальних аспектів та патогенетичних механізмів розвитку виразкової хвороби шлунка на тлі цукрового діабету утруднює відсутність реалістичної моделі в експерименті. Тому нами було поставлено завдання: створити експериментальну модель виразки шлунка на тлі абсолютної інсулінової резистентності.

Відомий спосіб моделювання пептичної виразки шлунка, який відтворюють шляхом лапаротомії під внутрішньочеревним нембуталовим наркозом (50мг/кг) [4]. Однак, відомий спосіб надто травматичний за рахунок складного хірургічного втручання з використанням наркозу, що не відповідає природному розвитку пептичної виразки шлунка та не враховує патогенетичні механізми розвитку виразки у людини. Найбільш близьким до запропонованого є спосіб моделювання пептичної виразки шлунка, що включає пероральне введення жовчі на дозованого голодування (зменшення на одну третину) з відтворенням хронічного психоемоційного стресу по О. Deisiderato et al. (1974) експозицією 1 година щоденно протягом 12 діб [5]. Однак, даний спосіб не дозволяє адекватно підійти до вивчення патогенетичних механізмів та розробки сучасних методів лікування поєднаної патології за умов виразкової хвороби шлунка на фоні цукрового діабету, за рахунок відсутності важливого етіологічного чинника захворювання та сучасного способу життя – гіпокінезії.

Тому метою наших досліджень була розробка способу моделювання поєднаного перебігу експериментальної виразки шлунка та цукрового діабету шляхом удосконалення відомого, забезпечити оптимальне моделювання пептичної виразки шлунка у поєднанні з цукровим діабетом з урахуванням патогенетичних механізмів розвитку поєднаної патології у людини та підвищення ступеню його ефективності.

Нами запропонована та введена в практику (патент на корисну модель № 37739) корисна модель, що включає голодування перед початком моделювання пептичної виразки шлунка у поєднанні з цукровим діабетом всі тварини протягом 24 годин, не обмежуючи пиття [2]. Твари-

нам щоденно протягом 12 діб перорально через зонд вводили 10% розчин консервованої жовчі на фоні дозованого голодування (зменшення стандартного добового раціону на одну третину). Через 1 годину після перорального введення жовчі, яка відтворює цитотоксичну і детергентну дію на слизову оболонку шлунка, тварин піддавали дії хронічного іммобілізаційного стресу за за К. Kurijama et al. (1984) з наростаючою експозицією: 1-й день 15хв., 2-й день – 30 хв., 3-й день 45 хв., з 4-го по 12 дні - 60 хв., іммобілізуючи їх у спеціальних посудинах із зануренням їх у воду при температурі +22°C. Після закінчення дії стресорних чинників тварин розміщували у звичайні клітки.

Підтвердженням розвитку цукрового діабету 1 типу було стійке зростання рівня глюкози в сироватці крові у щурів: на 6-й день після введення алоксану, з метою моделювання цукрового діабету, рівень глюкози становив $11,04 \pm 0,57$ ммоль/л порівняно з контролем $6,0 \pm 0,91$ ммоль/л [6].

Дослідження проводились на статевозрілих щурах лінії Вістар. Щури були розподілені на контрольну групу, в якій тваринам вводили лише 10 % розчин консервованої жовчі на фоні дозованого голодування та відтворювали хронічний іммобілізаційний стрес за К. Kurijama et al. (1984) за наведеною схемою протягом 12 днів; та дослідну групу, в якій моделювали експериментальну виразку та цукровий діабет у зазначений спосіб.

На 13 добу проводили евтаназію щурів під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла внутрішньочеревно) і проводили ретельний огляд слизової оболонки шлунка за допомогою лупи, після попереднього його промивання. Враховували частоту, тяжкість, множинність та загальну площу (планіметрично) виразок шлунка [1].

Дослідженням встановлено, що запропонована модель пептичної виразки у поєднанні з цукровим діабетом є найбільш оптимальною, про що свідчать показники утворення виразок шлунка (табл.1).

Таблиця 1

Показники виразкоутворення у щурів за умов експериментальної виразки шлунка на тлі цукрового діабету, (M±m)

Показники	Експериментальна виразка шлунка (n=12)	Експериментальна виразка шлунка на тлі цукрового діабету (n=11)
Частота виразок	100	100
Множинність виразок, число виразок на 1 щура	3,51±1,24	13,13±2,76*
Тяжкість виразкового процесу, бали	2,50±0,45	6,80±0,75*
Загальна площа виразок, мм ² на 1 тварину	4,45±1,56	20,56±4,46*

*- P₁₋₂ < 0,05

Так, у тварин дослідної групи з поєднаним пептичним виразковим процесом та цукровим діабетом множинність та тяжкість виразкових уражень шлунка були достовірно вищими порівняно з контрольною групою, відповідно в 3,7 і в 2,7 рази. При цьому у тварин дослідної групи в 4,6 рази зростала загальна площа виразок шлунка (табл.1).

Таким чином, запропонований спосіб є найбільш оптимальним та адекватним для моделювання пептичної виразки шлунка у поєднанні з цукровим діабетом, оскільки враховує провідні патогенетичні механізми розвитку поєднаної патології у людини і може бути використаний для вивчення механізмів розвитку та оцінки ефективності патогенетичної корекції виразки шлунка з абсолютною інсуліновою недостатністю.

Література

1. Виноградов Л.В. Влияние нейропептидов на экспериментальную дуоденальную язву крыс/ Виноградов Л.В., Полонский В.М. // Патол. физиол. и эксперим. тер. – 1983. – №1. – С.3 – 6.
2. Пат. 37739 Україна, МПК А61В10/00. Спосіб моделювання пептичної виразки шлунка у поєднанні з цукровим діабетом/ Скрипник І.М., Непорада К.С., Гопко А.Ф., Давиденко С.В., Давиденко О.О., Вахненко А.В.; заявник та патентовласник автори – u200807638; заявл. 2008.04.06.; опубл. 2008.12.10.
3. Тарасенко Л.М. Экспериментальная модель пептической язвы желудка / Тарасенко Л.М., Непорада К.С., Скрипник И.Н., Воложин А.И. // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2001. – №4. – С.27-28.
4. Тутченко Н.И. Способ моделирования язвенного процесса в желудке / Тутченко Н.И., Гоер Я.В., Белянский Л.С. и др. // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1990. – №5. – С. 54-55.
5. Desiderato O. Development of gastric ulcers in rats following stress termination / O. Desiderato, J. MacKinnon, N. Nisson // J. Comp. Physiol. and Psychol. – 1974. – Vol. 87, N 4. – P.208 – 214.
6. Skyler J.S. Insulin-dependent diabetes mellitus. In PO Kohler (ed), Clinical Endocrinology. - New York: John Wiley. - 1986. - P. 491.

Реферат

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ОБРАЗОВАНИЯ ЯЗВЫ ЖЕЛУДКА И САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА У КРЫС

Скрипник И.Н., Непорада К.С., Гопко А.Ф., Давиденко С.В., Давиденко О.А., Вахненко А.В

Ключевые слова: модель, язва желудка, сахарный диабет.

Предложенный метод моделирования сочетанного развития экспериментальной язвы желудка и сахарного диабета 1 типа эффективный и основывается на реальных этиологических факторах: хроническом стрессе, гипокинезии, пищевой депривации, детергирующем и цитотоксическом действии желчи на слизистую оболочку желудка и избирательном действии аллоксана на β-клетки поджелудочной железы.

Summary

EXPERIMENTAL MODEL OF PRODUCING GASTRIC ULCERS AND DIABETES MELLITUS I TYPE IN RATS

Skrupnik I.N., Neporada R.C., Hopko O.F., Dsvydenko S.V., Davydenko O.A., Vakhnenko A.V.

Key words: model, gastric ulcer, diabetes mellitus.

The paper describes the technique modeling the concomitant development of experimental gastric ulcer and diabetes mellitus I type. The technique is rather effective and based on the real etiological factors: chronic stress, hypokinesia, food deprivation, cytotoxic action of bile on gastric mucosa and certain action of alloxan on pancreatic β-cells.

УДК [616-092.18+612.232]-092.9

РЕПРОДУКТИВНА ЗДАТНІСТЬ БІЛИХ ЩУРІВ-САМЦІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ВІДПРАЦЬОВАНОГО АВТОМОБІЛЬНОГО МАСЛА

Соловійова Н.В.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»

У експерименті щурів-самців, які протягом 14 тижнів інтрагастрально отримували суміш відпрацьованих моторних масел (500 мг/кг маси на добу), парували з інтактними самками. Виявлено, що тривале надходження відпрацьованого автомобільного масла до організму самців призводить до суттєвих змін репродуктивної функції спарених із ними інтактних самок, збільшенню загальної та постімплантаційної летальності, істотному зниженню індексів фертильності та плідності.

Ключові слова: відпрацьоване моторне масло, репродуктивна функція, гонадотоксичність, самці.

Вступ

Відпрацьовані моторні масла (ВММ) вважаються небезпечними відходами, що підлягають обов'язковому збору та утилізації, і викликають не менше 50% загальних забруднень нафтопродуктами. [4,9]. На основі проведеного моніторингу показано, що кількість ВММ, які щорічно утворюються в Україні, орієнтовно складає 116 тис. т у рік [9]. У зв'язку з недосконалою організацією процесу регенерації ВММ значна їх частина потрапляє у навколишнє середовище, а потім і у організм людини та тварин.

Накопичення в довкіллі великої кількості хімічних речовин розглядається як найбільш розповсюджена причина зниження чоловічої фертильності. В літературі є дані про розвиток дисбалансу статевих гормонів при дії на організм ВММ [15]. Виявлена гонадотоксичність низки речовин, що у якості присадок додаються до автомобільних масел (особливо цинку, свинцю, кадмію, молибдену) [11-14].

Нами виявлено, що тривале введення лабораторним тваринам ВММ призводить до пригнічення енергетичного обміну в сім'яниках, зростання утворення супероксиданіонрадикалу електронно-транспортними ланцюгами мітросом, мітохондрій, а також НАДФН-оксидазою лейкоцитів, розвитку патоморфологічних змін у сім'яниках (зниження індексу сперматогенезу, абсолютної кількості сперматозоїдів, їх життєздатності та рухливості) [7-6].

У той же час практично нез'ясованою залишається репродуктивна здатність ссавців, що тривалий час одержували відпрацьоване автомобільне масло.

Метою цієї роботи було дослідження змін показників репродуктивної діяльності білих щурів-самців за умов тривалого введення їм відпрацьованого моторного масла.

Матеріали та методи

Дослідження виконані на 20 самцях і 40 самках щурів лінії Wistar (вихідна маса тіла 160-180 г).

Піддослідні самці щурів одержували ВММ (500 мг/кг маси на добу) щодня, інтрагастрально за

допомогою зонда протягом 12 тижнів. Для введення тваринам використовували суміш автомобільного масла, що міститься у 1000 відпрацьованих фільтрів (надано генеральним директором ВАТ "НДІ Емальхіммаш і НТ Колан" Г.А. Колтуновим).

Часовий період обрано виходячи з термінів завершення циклів сперматогенезу та часу, необхідного для проходження гаметами придатка сім'яника.

Після закінчення введення ВММ (піддослідним самцям) та водопровідної води (контрольним) було сформовано дві групи тварин:

1 - до 5 контрольних самців підсаджували 10 інтактних самок;

2 - до 5 піддослідних самців підсаджували 10 інтактних самок.

У відібраних інтактних самок з нормальним циклом визначали еструс та кожного самця парували з двома самками [3]. Щоранку протягом періоду спарювання готували вагінальні мазки для кожної із самок для дослідження на наявність сперматозоїдів. День виявлення сперміїв у вагінальному вмісті самки приймався за 0 добу вагітності.

По закінченню 10 днів у групах вагітних самок створювали дві підгрупи. Тварин перших підгруп забивали на 20 добу вагітності, розкривали черевну порожнину, витягали і розсікали матку, потім підраховували і реєстрували для кожної самки: загальну кількість жовтих тіл у яєчниках; кількість місць імплантації; кількість мертвих плодів; кількість живих плодів; розраховували загибель ембріонів до та після імплантації, загальну ембріональну смертність.

Евтаназію тварин здійснювали шляхом поміщення їх у камеру з парами діетилового ефіру для наркозу.

Вагітних самок других підгруп залишали на пологи, щодня спостерігаючи за ними. Фіксували дату пологів, кількість щурят у приплоді. Обчислювали три головних показники, що кількісно характеризують гонадотропні ефекти токсиканта: індекс фертильності = (число вагітних самок/загальне число самок) x 100; індекс гестації

* Стаття є фрагментом планової НДР ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» "Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами" (№ держреєстрації 0108U010079).

= (число самок, що родили/число вагітних самок) x 100; індекс плідності = число новонароджених щурят/число самок, що родили [2].

Дані експериментів обробляли методами варіаційної статистики, з використанням критерію t Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Введення ВММ самцям щурів істотно впливає на ембріональну летальність (див. табл.). Зокрема, кількість місць імплантації зменшується на

29,8% ($p < 0,01$), жовтих тіл вігтності – на 27,0% ($p < 0,01$), кількість мертвих плодів підвищується в 2,3 рази ($p < 0,02$) порівняно з контролем. Кількість живих плодів поступається контрольній серії на 57,7% ($p < 0,01$). Розрахунок загибелі ембріонів до імплантації не виявив достовірних відмінностей від даних контрольної групи, проте істотно збільшилися величини загибелі ембріонів після імплантації (в 5,2 разів) та загальної ембріональної смертності (в 3,1 рази).

Таблиця

Сумарні показники стану репродуктивної функції інтактних самок, спарених із самцями, що одержували ВММ ($M \pm m$)

Показники	Після парування з інтактними самцями	Після парування з самцями, яким вводилося ВММ
Кількість живих плодів	7,8±0,5	4,5±0,8*
Кількість мертвих плодів	0,6±0,3	1,4±0,2*
Кількість місць імплантації	8,4±0,5	5,9±0,6*
Кількість жовтих тіл вігтності	8,9±0,5	6,5±0,5*
Загибель ембріонів : до імплантації, %	7,5±3,4	10,4±3,6
після імплантації, %	5,5±2,3	28,8±5,5*
загальна, %	11,4±4,3	35,0±6,7*

За умов експерименту значно змінюються величини індексів фертильності та плідності (див. рис.).

Індекс фертильності складає 50, що у 2 рази менше, ніж у контрольній групі.

Показник індексу гестації, що несе інформацію переважно про здатність до виношування вагітності, перетерплює менші зміни. Індекс гестації складає 80 (на 11,1% поступається даним контрольної групи).

Індекс плідності складає 5,2, тобто у 1,6 рази менше, ніж у контрольній групі.

У піддослідній групі тварин зменшується як число вагітних і самок, що родили, так і кількість народжених щурят, що супроводжується зниженням величин індексів фертильності та плідності. Що стосується співвідношення статі щурят, те не вдалося знайти значних зрушень величини цього параметра.

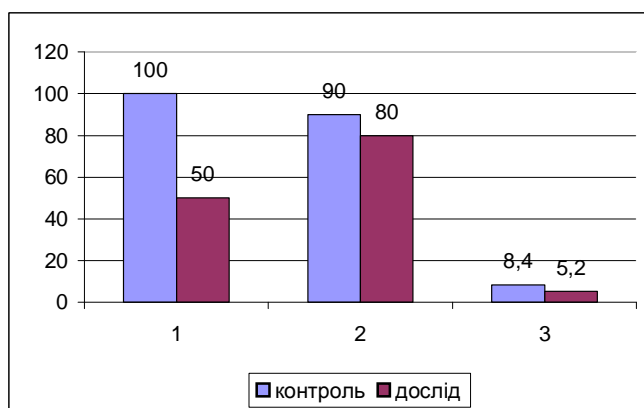


Рис. Індеси фертильності (1), гестації (2) та плідності (3) за умов введення відпрацьованого моторного масла щурам-самцям (протягом 14 діб до часу парування)

Причиною виявлених порушень репродуктивної функції слід вважати зниження запліднюючої спроможності сперми самців, що одержували ВММ.

Це може бути наслідком олігоспермії, зниження життєздатності та рухливості сперматозоїдів. Відома здатність низки металів і мікроелементів, що містяться у ВММ (алюміній, цинк, бор, берилій, кадмій, свинець (органічні і неорганічні сполуки), молібден, нікель) [10,15], порушувати репродуктивні функції [5,11-14]. Встановлено, що важкі метали сприяють виснаженню енергетич-

них субстратів і порушенню обміну електролітів у статевих клітинах, порушують морфофункціональні та ультраструктурні змін у них. Кумуляція цих сполук призводить до пригнічення кількісних і якісних характеристик спермограми щурів [1,8].

Гонадотропні ефекти ВММ можуть також бути опосередковані прооксидантною дією агресивних компонентів ВММ, що утворюються у процесі деградації масел з витратою антиокисної присадки [6].

Підвищення кількості місць резорбції і показників загибелі плодів може пояснюватися мута-

генною дією ВММ на сперматогенний епітелій [15].

Таким чином, тривале надходження відпрацьованого автомобільного моторного масла до організму самців призводить до суттєвих змін репродуктивної функції спарених із ними інтактних самок, збільшенню загальної та постімплантаційної летальності, істотному зниженню індексів фертильності та плідності.

Перспективи подальших досліджень можуть бути пов'язані з визначенням конкретних молекулярних механізмів гонадотропних ефектів відпрацьованого автомобільного моторного масла.

Література

1. Андрусишина І.М. Вплив гострого та хронічного введення малих доз свинцю на обмін електролітів в сперматозоїдах щурів / І.М. Андрусишина // Журн. АМН України. - 1999. - Т.5, №1 - С.165-170.
2. Громенко Д.С. Особенности патогенеза идиопатической патозооспермии при мужской инфертильности : автореф. дис. на соискание ученой степени доктора мед. наук : спец. 14.00.16 "Патологическая физиология" / Д.С. Громенко. - СПб., 2009. - 42 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. - К. : Авіцена, 2001. - 528 с.
4. Каменчук Я.А. Отработанные нефтяные масла и их регенерация (на примере трансформаторных и промышленных масел) : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. хим. наук : спец. 02.00.13 "Нефтехимия" / Я.А. Каменчук. - Томск, 2007. - 23 с.
5. Куценко С.А. Основы токсикологии : научно-методическое издание / Куценко С.А. - СПб. : Фолиант, 2004. - 720 с.
6. Соловйова Н.В. Кисень-залежні механізми патогенної дії відпрацьованого моторного масла на репродуктивну сис-

тему ссавців / Н.В. Соловйова, В.О. Костенко // Актуальные вопросы теоретической и прикладной биофизики, физики и химии : Мат. V Междунар. научно-техн. конф. БФФХ-2009. - Севастополь, 2009. - С. 99-101.

7. Соловйова Н.В. Особенности энергетического обмена у сам'яниках белых щуров при дії на организм відпрацьованого моторного масла / Н.В. Соловйова // Здобутки клініч. і експ. мед. - 2008. - №2. - С. 145.
8. Трахтенберг И.М. К проблеме сочетанного гонадотоксического действия тяжелых металлов (свинца и кадмия) и ионизирующего излучения / И.М. Трахтенберг, И.Н. Андрусишина // Гигиена труда. - К., 2000. - Вып.31. - С.101-110.
9. Чайка О.Г. Екотехнологія утилізації відпрацьованих олиф : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. тех. наук : спец. 21.06.01 "Екологічна безпека" / О.Г. Чайка. - Львів, 2007. - 18 с.
10. A review of the potential human and environmental health impacts of synthetic motor oils / K. Randles, L. Mazur, C. Milanese. - California Environmental Protection Agency, Office of Environmental Health Hazard Assessment, 2007. - 16 p.
11. Akinloye O. Cadmium toxicity: a possible cause of male infertility in Nigeria / Akinloye O., Arowojolu A.O., Shittu O.B., Anetor J.I. // Reprod. Biol. - 2006. - V.6, №1. - P. 17-30.
12. Khan A.T. A two-generational reproductive toxicity study of zinc in rats / A.T. Khan, T.C. Graham, L. Ogden [et al.] // J. Environ. Sci Health B. - 2007. - V.42, №4. - P. 403-415.
13. Martynowicz H. The influence of lead on testis function / H. Martynowicz, R. Andrzejak, M. Medraś // Med. Pr. - 2005. - V.56, №6. - P. 495-500.
14. Pandey R. Effects of molybdenum on fertility of male rats / R. Pandey, S.P. Singh // Biometals. - 2002. - V.15, №1. - P. 65-72.
15. Toxicological profile for used mineral-based crankcase oil / A.S. Dorsey Jr., C. Rabe, S. Thampi. - Atlanta, Georgia: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1997. - 208 p. - (U.S. Department of Health and Human Services).

Реферат

РЕПРОДУКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ БЕЛЫХ КРЫС-САМЦОВ В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ОТРАБОТАННОГО АВТОМОБИЛЬНОГО МАСЛА

Соловьёва Н.В.

Ключевые слова: отработанное моторное масло, репродуктивная функция, гонадотоксичность, самцы.

В эксперименте крыс-самцов, которые в течение 14 недель интрагастрально получали смесь отработанных моторных масел (500 мг/кг массы в сутки), спаривали с интактными самками. Выявлено, что продолжительное поступление отработанного автомобильного масла в организм самцов приводит к выраженным изменениям репродуктивной функции спаренных с ними интактных самок, увеличению общей и постимплантационной летальности, существенному снижению индексов фертильности и плодовитости.

Summary

REPRODUCTIVE ABILITY OF WHITE MALE RATS UNDER THE CONDITIONS OF LONG-TERM ADMINISTERING OF USED MINERAL-BASED CRANKCASE OIL

Solovjeva N.V.

Key words: mineral-based crankcase oil, reproductive functions, gonadotoxicity, males.

Male rats which were being administered endogastrically the mineral-based crankcase oil mixture (500 mg/kg of body wt daily) for 14 weeks were coupled with intact rat females. It has been found out the long-term inflow of mineral-based crankcase oil into the rats' bodies results in the pronounced changes of the reproductive function in coupled intact female rats, increasing of total and postimplantation lethality, significant drop of fertility and breeding power indices.

УДК 612.13:559.323.4:615.224

ВІДМІННОСТІ ГЕМОДИНАМІЧНИХ І ВАЗОМОТОРНИХ ЕФЕКТІВ ДОРОСЛИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ НОВОГО ВІТЧИЗНЯНОГО АКТИВАТОРА АТФ - ЗАЛЕЖНИХ КАЛІЄВИХ КАНАЛІВ – ФТОРОВІСНОГО АНАЛОГУ ДІАЗОКСИДУ

Тарасова К.В., Шевчук В.Г., Лісова Г.О., Французова С.Б.

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, м. Київ

На щурах лінії Wistar показано, що новий фторовісний аналог діазоксиду в умовах однократно-го внутрішньовенного введення викликає істотні зміни показників гемодинаміки, обумовлені його здатністю активувати K_{ATP} канали. Досліджувана речовина викликає у старих щурів більш суттєвий, порівняно з дорослими щурами, гіпотензивний ефект за рахунок більш істотного зменшення ударного об'єму крові, що може свідчити про зростання чутливості K_{ATP} каналів типових кардіоміоцитів при старінні. Аналог діазоксиду виявив менший вазодилатуючий вплив на ворітну вену старих щурів порівняно з дорослими щурами, що може свідчити про зниження чутливості K_{ATP} каналів гладеньких м'язів судин при старінні.

Ключові слова: старі щури, гемодинаміка, ворітна вена, активатор K_{ATP} каналів.

Вступ.

Серед безлічі факторів, які впливають на адаптацію організму до умов навколишнього середовища, часто вирішальне значення має вік. Водночас, вивчення особливостей уражень серцевого м'яза під впливом різних патогенних факторів є актуальною проблемою сучасної кардіопатології, адже смертність людей від різноманітних захворювань серця займає перше місце в світі. Вік більшості пацієнтів з даною патологією становить від 45 до 59 років (60,7%) [1]. В структурі захворюваності у віці після 50 років 50% займає артеріальна гіпертонія (АГ), а після 80 років цей показник зростає до 80%, виходячи з того, що патогенез АГ у старих людей включає в себе такі фактори як нефросклероз, зниження розтяжності аорти, збільшення чутливості до хлориду натрію, дисфункцію ендотелію [4]. А.Г.Камкін і співавт. встановили, що з віком тварин (і ще більшою мірою – при АГ) збільшується чутливість кардіоміоцитів (КМЦ) до експериментального розтягнення. Так, для змін мембранного потенціалу вимагалось більш значне розтягнення клітин серця молодих щурів, ніж старих [3]. Таке підвищення чутливості автори пояснюють збільшенням на мембрані числа механочутливих каналів. В.М.Швець і співавт. виявили, що при старінні виникають зміни супероксиддисмутазної (СОД) активності в субклітинних фракціях міокарду: у мітохондріальній - підвищення, а в цитозольній - обмеження активності СОД порівняно з величинами у дорослих тварин. І в той же час при іммобілізаційному стресі у старих щурів не виявлено змін активності СОД, а також кінетики цієї реакції в міокарді, порівняно з інтактними тваринами цієї вікової групи. Дослідники вважають, що відсутність змін з боку активності СОД при іммобілізації старих щурів є одним з проявів зниження в них лабільності метаболізму і, як наслідок, зменшення адаптивних властивостей міокарду [8]. В іншій своїй роботі В.М.Швець і співавт. висловили припущення, що однією з можливих причин прояву вікових відмінностей є зменшення концентрації відновленого глутатіону, але результати дослідження

змусили авторів спростувати це припущення: глутатіонредуктазна активність в постмітохондріальній фракції міокарду старих іммобілізованих тварин підвищувалась [9]. Іншою можливою причиною могла б бути різниця в інтенсивності стимуляції вільнорадикальних процесів в міокарді дорослих і старих щурів. Однак і це припущення авторами було спростовано: отримані ними дані свідчили про те, що у дорослих і старих щурів при іммобілізації був однаковий рівень накопичення в постмітохондріальній фракції міокарда карбонілованих протеїнів, котрі є чутливими маркерами оксидативного стресу. Вищевказане дозволило авторам припустити, що в процесі онтогенезу відбувається зміна ролі глутатіону в антиоксидантному захисті міокарду при стресі: очевидно, при старінні вона є істотно вищою порівняно з молодим віком, коли підвищується значення інших антиоксидантів в захисті міокарду від дії пошкоджуючих факторів стресу. Такі особливості реакції серцево-судинної системи пацієнтів похилого віку не можуть не проявитися і у реакціях на дію лікарських препаратів, що слід враховувати при призначенні схеми лікування та підборі доз препаратів. Численні роботи в останній час присвячені вивченню активаторів K_{ATP} каналів, які викликають коронарну і периферичну вазодилатацію, забезпечуючи протіішемічну дію і ряд позитивних гемодинамічних ефектів [10,11]. Особливої уваги заслуговує кардіопротективний потенціал: активація мітохондріальних K_{ATP} каналів розглядається як можливий механізм протидії пероксид-індукованій загибелі КМЦ в момент гострої ішемії [12]. Відомо, що K_{ATP} канали експресуються в КМЦ незалежно від строку диференціювання, і щільність $I_{K_{ATP}}$ не змінюється з віком клітин [2]. І, в той же час, на ізольованому серці щурів 6 і 24 місяців показано, що при старінні стійкість до ішемії знижується. У старих тварин порушується протекторний ефект ішемічного прекодиціювання: відновлення функції лівого шлуночка після реперфузії покращується у молодих, але не у старих щурів [13]. Ці ж дослідники, які вважають, що стійкість міокарду до короточасної ішемії зумо-

влена відкриттям K_{ATF} каналів і збільшенням активності АМФ - активованої кінази, не виявили різниці цих процесів в міокарді щурів різних вікових груп. Протягом останніх років з'явилися роботи, присвячені вивченню ефектів і механізмів дії нових вітчизняних активаторів K_{ATF} каналів - фторовмісних аналогів діазоксиду. На дорослих щурах встановлено, що обидва діазоксиди (класичний і фторовмісний) при одноразовому введенні викликають істотний гіпотензивний ефект [6]. В той же час, фторовмісний аналог, на відміну від класичного діазоксиду, не викликав структурних змін серця при тривалому введенні [7]. Ця ж сполука спричинила більш значно виражений, порівняно з класичним діазоксидом, протекторний ефект, що проявилось у більш швидкому і суттєвому відновленні амплітуди скорочень ізольованого папілярного м'яза шлуночка серця після ішемії [5]. **Мета:** порівняльне вивчення впливу фторовмісного аналогу діазоксиду на гемодинаміку і скоротливу активність ворітної вени дорослих і старих щурів.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на наркотизованих тіопенталом натрію (30 мг/кг) дорослих (6 - 7 місяців) білих лабораторних щурів-самців лінії Вістар вагою 230-270 г і старих (24-25 місяців) щурів тієї ж лінії і статі вагою 380-400 г, які утримувались в стандартних умовах у виварію. Визначали показники гемодинаміки: систолічний і діастолічний артеріальний тиск (АТ сист. і діаст., мм.рт.ст.), частоту серцевих скорочень (ЧСС, ударів/хв.), ударний об'єм крові (УОК, мл) у вихідному стані і протягом 60-90 хв. після введення досліджуваної речовини (5 мг/кг). АТ вимірювали в сонній артерії за допомогою електроманометра. ЧСС реєстрували за допомогою ЕКГ. УОК визначали методом реографії і розраховували за формулою Кубічека. Синхронний запис АТ, ЕКГ у II стандартному відведенні і реограми проводили на приладі Polygraph System 600, Nihon Kohden, Японія. Для отримання ізольованих судинних смужок наркотизованих тварин забивали декапітацією і вирізали ворітну вену, яку очищували від сполучної тканини, поміщали в препарувальну ванночку з розчином Кребса, вирізали смужку довжиною 2-3 мм і то-

вищиною 0.5-0.7 мм. Смужку поміщали в проточну камеру ємністю 0,3 мм³, перфузували розчином Кребса такого складу (ммоль/л): Na-140.3; K-5.4; Mg-1.1; Ca-2.5; Cl-149.1; Tris-10.0 (фірма "Serva", Німеччина); глюкоза 11.5. Смужку розтягували до L_{max} , залишали для стабілізації режиму роботи на 40-45 хв. Ізометричну силу в мН реєстрували за допомогою механотрону 6МХ-1С. Препарати ворітної вени володіли спонтанною активністю у вигляді періодичних фазних скорочень. Аналог діазоксиду, синтезований в інституті органічної хімії НАН України під керівництвом проф. Л.М.Ягупольського, містить в положенні 7 конденсованого гетероциклу фармакоформну диформетоксильну групу замість атому азоту. Речовину розчиняли в диметилсульфоксиді, концентрація якого була мінімальною і не впливала на показники гемодинаміки, і вводили в яремну вену в дозі 5 мг/кг та в перфузійний потік в концентрації 10^{-5} М. Результати обробляли за допомогою комп'ютерної програми Origin-8.

Результати та їх обговорення

Вихідні показники гемодинаміки дорослих щурів становили: АТ сист.-140,44±7,01 мм.рт.ст., АТ діаст.- 108,67±6,51 мм.рт.ст., ЧСС, уд./хв. - 368,22±6,39, УОК, мл. - 0,18±0,014. У старих щурів у вихідному стані АТ сист. становив 152,63±5,67 мм.рт.ст., АТ діаст.-115,67±5,9 мм.рт.ст., ЧСС уд./хв.-357,63±8,71, УОК, мл.- 0,15±0,01. Відмінності між щурами різного віку статистично недостовірні. Після введення аналогу діазоксиду дорослим щурам вищезазначені показники становили: АТ сист.- 125,27±1,78, АТ діаст. - 96,15±6,51 мм.рт.ст., ЧСС - 312,88±2,91 уд./хв., УОК, мл - 0,16±0,002. Зниження АТ почалося з 15-20 хв. після введення речовини і тривало більше 1 години. Після введення зазначеної речовини старим щурам показники становили: АТ сист.-128,53±1,54, АТ діаст.-93,47±3,1, ЧСС-297,8±3,65, УОК-0,1±0,01. Зниження АТ починалося з 20-25 хв. після введення і залишались стабільними протягом наступних 1,5-2 годин. Результати порівняльного впливу аналогу діазоксиду на гемодинаміку дорослих і старих щурів представлені на табл.1.

Таблиця 1. Вплив фторовмісного аналогу діазоксиду на гемодинаміку дорослих і старих щурів.

Групи щурів	ЧСС, ударів/хв.	АТ сист., мм.рт.ст.	АТ діаст мм.рт.ст.	УОК мл.
Дорослі	-55,34 (-15,03 %)	-15,17 (-10,8 %)	-12,52 (-11,52 %)	-0,02 (-12,9 %)
Старі	-59,8 (-16,63±%)	-24,1* (-17,3%)	-22,2* (-20,4%)	-0,05* (-33,3%)

Примітка: достовірні відмінності у вікових групах: * $p < 0,05$

З отриманих результатів видно, що досліджувана речовина викликає істотні гемодинамічні ефекти: знижує АТ, ЧСС і УОК у обох груп щурів. Доказом причетності K_{ATF} каналів до змін гемодинаміки є те, що при попередньому (за 15 хв. до введення аналогу діазоксиду) внутрішньовенно-

му введенні щурам блокатора K_{ATF} каналів глібенкламід у дозі 0,5 мг/кг зазначені ефекти не розвивались. Таким чином, фторовмісний аналог діазоксиду викликав гемодинамічні зміни, впливаючи як активатор K_{ATF} каналів. Зміни ЧСС при введенні речовини достовірно не відрізня-

лись у дорослих і старих щурів, а гіпотензивний ефект у останніх був у 1,5 рази більшим. Причому, зниження АТ у старих щурів супроводжувалося в 2,5 рази більш значним падінням УОК порівняно з дорослими. Очевидно, що основним чинником, що зумовив розвиток гіпотензивного ефекту, є зниження насосної функції серця. Виходячи з того, що зменшення ЧСС (реакція атипичних КМЦ водія ритму серця) у щурів обох вікових груп практично не відрізнялося, а насосну функцію виконують типові КМЦ шлуночків, можна припустити, що чутливість K_{ATP} каналів саме типових КМЦ змінюється при старінні: зростання вихідного K^+ струму через мембрану КМЦ, яке, в свою чергу, зменшує вхід іонів кальцію через L-тип каналів, призводить до зменшення сили скорочення, а, отже, і УОК. Отримані дані є доповненням до раніше отриманих нами результатів: дана речовина поліпшувала скоротливу функцію ізолюваного папілярного м'яза лівого шлуночка

серця старих щурів в умовах ішемії [5]. Вищеназвані корисні ефекти аналогу діазоксиду дозволили авторам говорити про перспективність подальших досліджень даної речовини як потенційного препарату для лікування ішемічної хвороби серця у пацієнтів похилого віку

Враховуючи суттєвий гіпотензивний ефект, отриманий на цілісному організмі, в наступних дослідженнях ми вивчали вплив аналогу діазоксиду на скоротливу активність ізолюваної судини. Дослідження на ворітній вені показали відмінності реакції судин дорослих і старих щурів, протилежні до змін гемодинаміки. Введення в перфузійний потік аналогу діазоксиду в концентрації $10^{-5}M$ (цей момент показано стрілочками) призвело до швидкого припинення спонтанних фазних скорочень ворітної вени дорослих щурів (рис.1), не чинячи зазначеного впливу на судинний препарат старих щурів (рис.2).

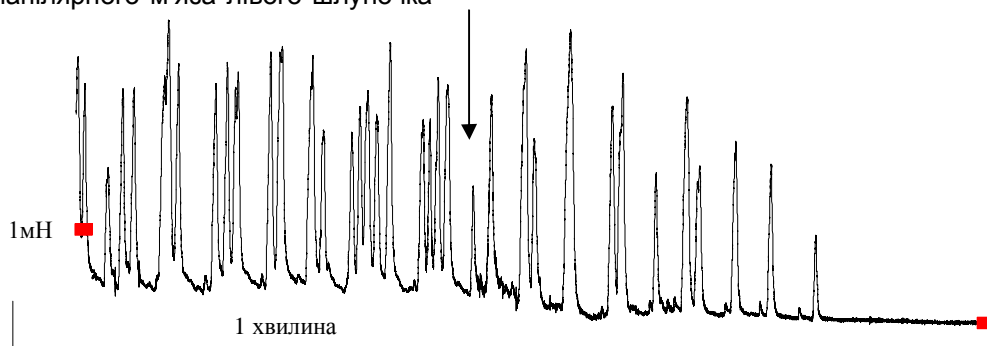


Рисунок 1. Вплив фторовмісного аналогу діазоксиду ($10^{-5} M$) на скоротливу активність ворітної вени дорослих щурів

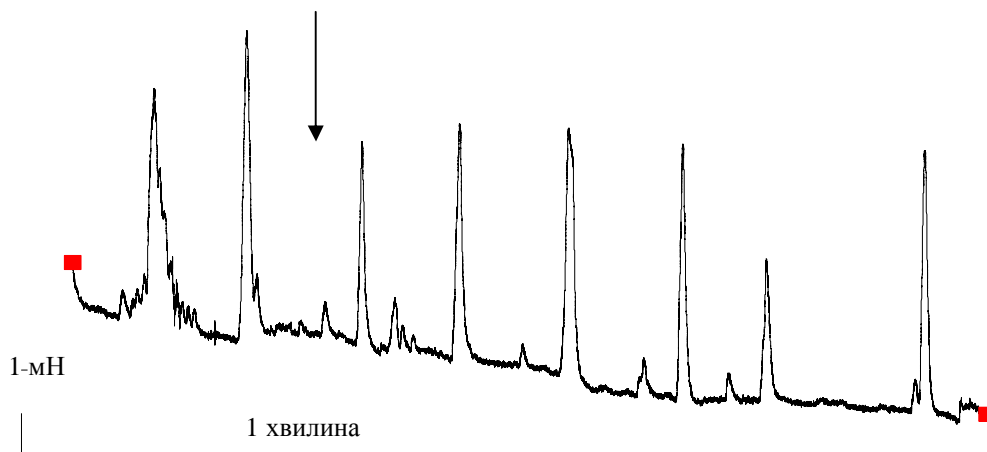


Рисунок 2. Вплив фторовмісного аналогу діазоксиду ($10^{-5} M$) на скоротливу активність ворітної вени старих щурів.

Але при підвищенні концентрації речовини до $10^{-4} M$ спонтанні скорочення зникали (рис.3). Отримані результати свідчать про меншу, порівняно з дорослими щурами, чутливість K_{ATP} каналів клітин гладенької мускулатури ворітної вени старих щурів до дії активатора.

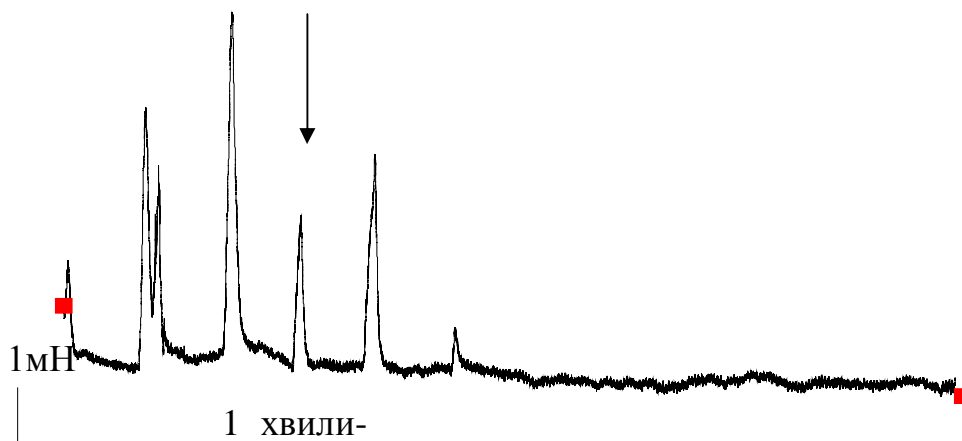


Рисунок 3. Вплив фторовмісного аналогу діазоксиду (10^{-4} М) на скоротливу активність ворітної вени старих щурів.

Висновки: 1.Новий фторовмісний аналог діазоксиду в умовах одноразового введення викликає істотні зміни показників гемодинаміки у щурів, зокрема, гіпотензивний ефект. 2. Дія аналогу діазоксиду на показники гемодинаміки обумовлена його здатністю активувати K_{ATP} канали. 3.Більш суттєвий, порівняно з дорослими щурами, гіпотензивний ефект фторовмісного аналогу діазоксиду у старих щурів реалізується саме за рахунок зменшення ударного об'єму крові, що може опосередковано свідчити про зростання чутливості K_{ATP} каналів типових кардіоміоцитів при старінні. 4.Менший вазодилатуючий вплив фторовмісного аналогу діазоксиду на ворітну вену старих щурів може опосередковано свідчити про зниження чутливості K_{ATP} каналів гладеньком'язових клітин судин при старінні. 5.Корисні гемодинамічні ефекти фторовмісного аналогу діазоксиду дозволяють розглядати зазначену речовину в якості перспективного лікарського препарату, зокрема, для корекції стану серцево-судинної системи у осіб похилого віку.

Література

1. Герасименко Д.В. Морфо - функциональные особенности ишемической болезни сердца / Д.В.Герасименко, Л.В.Коновалова, О.М.Прокопчук, Т.В. Павлова. - Под ред. А.А.Должикова.- Белгород, 2006. - 44 с.
2. Грищенко О.В. Дослідження калієвих каналів та їх ролі в кардіоміоцитах, диференційованих з ембріональних стовбурових клітин миші //Автореф. дис.. канд. біол. наук:03.00.02/НАН України. Ін-т фізіол.ім. О.О. Богомольця.К.,1998.
3. Камкин А.Г. Фибрилляция, дефибрилляция... / А.Г. Камкин, И.С.Киселева, В.Н. Ярыгин // Природа. - 2002. - №4. - С.6-16
4. Остроумова О.Д. Артериальная гипертензия у пожилых больных и состояние высших психических функций / О.Д.Остроумова, И.В.Десницкая, В.А. Поликарпов // Кардиология. - 2006. - Т.46, № 4.-С. 85 - 88.
5. Тарасова К.В. Вплив активаторів АТФ - залежних калієвих каналів (діазоксиду і його фторовмісних аналогів) на скоротливу активність ізольованого папілярного м'яза серця старих щурів в умовах ішемії міокарду/ К.В.Тарасова, В.Г.Шевчук // В друзі - 2009.
6. Тарасова К.В. Гемодинамічні ефекти нових фторовмісних аналогів діазоксиду / К.В.Тарасова, В.Г.Шевчук // Фізіол. журн.- 2006. - Т.52, №2. - С.99 - 100.
7. Тарасова К.В. Дослідження структурних змін міокарду щурів при тривалому введенні активаторів калієвих каналів (діазоксиду та його фторовмісних аналогів) / К.В.Тарасова, В.Г.Шевчук, О.В.Григорук та ін. // Вісн. Вінн. нац. мед. університету.-2007.-Т.11, №2/1. - С.538-541.
8. Швець В.М.Вікові особливості змін активності супероксиддисмутази в міокарді щурів при імобілізаційному стресі / В. М. Швець //Буковинський мед. вісн. - 2007. - Т.11, № 2. - С.120-123.
9. Швець В.Н. Возрастные особенности изменений в системе глутатиона в сердце крыс при иммобилизационном стрессе / В. Н. Швець, В. В. Давыдов // Укр. біохім. журн. - 2008. - Т.80, № 6. - С.74 - 78
10. Alvarez J. Hemodynamic effects of levosimendan following cardiac surgery/ J.Alvarez, M.Taboada, J.Rodriguez [et al.] // Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim.- 2005.-Vol.52, № 7. - P.389 - 394.
11. Gheorghiade M, Pharmacology of new agents for acute heart failure syndromes / M.Gheorghiade, J.R.Teerlink, A.Mebazaa // Am.J.Cardiol.-2005.-Vol.96, №6A. - P.68G - 73G.
12. Maytin M. Cardioprotection: a new paradigm in the management of acute heart failure syndromes / M.Maytin, W.S.Colucci // Am. J. Cardiol. - 2005. - Vol.96(6A). - P. 26G- 31G.
13. Shinmura K. Short-term caloric restriction improves ischemic tolerance independent of opening of ATP-sensitive K^{+} channels in both young and aged hearts/ K. Shinmura, K.Tamaki, R.Bolli // J.Mol.Cell. Cardiol.-2005.-V.39, №2.- P.285-296.

Реферат

ОТЛИЧИЯ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ И ВАЗОМОТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ ВЗРОСЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО АКТИВАТОРА АТФ - ЗАВИСИМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ – ФТОРСОДЕРЖАЩЕГО АНАЛОГА ДИАЗОКСИДА

Тарасова Е.В., Шевчук В.Г., Лисовая А.А., Французова С.Б.

Ключевые слова: старые крысы, гемодинамика, воротная вена, активатор K_{ATP} каналов.

На крысах линии Wistar показано, что новый фторсодержащий аналог диазоксиды в условиях однократного внутривенного введения вызывает выраженные изменения показателей гемодинамики, обусловленные его способностью активировать K_{ATP} каналы. Исследуемое вещество вызывает у старых крыс более выраженный, по сравнению со взрослыми крысами, гипотензивный эффект за счет более существенного уменьшения ударного объема крови, что может свидетельствовать об увеличении

чувствительности K_{ATP} каналов типичных кардиомиоцитов при старении. Аналог диазоксиды оказал меньшее вазодилататорное действие на воротную вену старых крыс по сравнению со взрослыми, что может свидетельствовать об уменьшении чувствительности K_{ATP} каналов гладких мышц сосудов при старении.

Summary

DIFFERENCES IN HEMODYNAMIC AND VASOMOTOR EFFECTS IN ADULTS AND AGED RATS UNDER THE ACTION OF NEW ATP-DEPENDENT POTASSIUM CHANNELS ACTIVATOR - FLUORINATED DIAZOXIDE ANALOGUE

Tarasova E.V., Shevchuk V.G., Lisovaja A.A., Frantsuzova S.B.

Key words: aged rats, hemodynamic, portal vein, K_{ATP} channels activator.

It has been shown, that fluorinated diazoxide analogue unitary introduced intravenously causes the expressed hemodynamic changes in Wistar rats. Effects of this substance are caused by its ability to activate K_{ATP} channels. This substance causes in aged rats more pronounced hypotensive effect in comparison with the adult rats due to the more considerable reduction of blood output. Such results can testify to increase K_{ATP} channels sensitivity of in typical cardiomyocytes at ageing. Diazoxide analogue produces less vasodilatation effect on a portal vein in aged rats in comparison with adult animals. It can prove the reduction in vessels smooth muscles K_{ATP} channels sensitivity at aging.

УДК: 619:57.082.25

ХІРУРГІЧНІ МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ БЕЗМІКРОБНИХ ТА ВПФ ТВАРИН

Хандкарян В.М., Курман А.Ф., Ксьонз І.М., Ленета Л.В.

Полтавська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини УААН

Полтавська державна аграрна академія

Були застосовані хірургічні методи одержання тварин-гнотобіотів. Установлено, що методами гнотобіологічної гістеротомії та гістероектомії можна отримувати безмікробних тварин.

Ключові слова: хірургічні методи, тварини-гнотобіотики.

Гнотобіологія – галузь біології, теоретичної, експериментальної і практичної ветеринарної та гуманітарної медицини, яка вивчає взаємодію макро- і мікроорганізмів в умовах норми та патології, розробляє гнотобіологічні моделі та системи, а також методи їхнього застосування у різних дослідженнях, лікуванні та профілактиці хвороб тварин і людини [8].

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми

У останні роки гнотобіологія перетворилася у інтегральну біологічну ділянку, яка сформувалася на перехресті таких наук як мікробіологія, імунологія, вірусологія, біохімія, хірургія, екологія та ін. Одночасно виникли і розвиваються три основні напрямки гнотобіології. Перший – створення гнотобіологічної апаратури, яка дозволяє одержувати безмікробних ссавців і птицю різних класів та видів (велика й дрібна рогата худоба, коні, свині, мавпи, кролі, морські свинки, щури, білі миші, курчата та ін.). Другий – власне гнотобіологія – вивчає роль нормальної мікрофлори у життєдіяльності організму хазяїна, і третій – прикладний – використання тварин-гнотобіотів як експериментально-біологічних моделей при вивченні теоретичних, експериментальних та практичних питань ветеринарної медицини [2].

Гнотобіоти можуть бути використані при вивченні різних проблем патології тварин, особливо інфекційної природи, з метою одержання

неконтамінованого мікрофлорою матеріалу для наукових досліджень (тканин, культури клітин та курячих ембріонів), біологічних препаратів (високоспецифічних діагностичних сироваток, вакцин), тестування різноманітних фармакологічних та ін. препаратів [3, 5].

Особлива зацікавленість, що проявляють експериментатори до гнотобіотичних тварин, як до експериментально-біологічної моделі, полягає у тому, що ці тварини знаходяться у суворо контрольованих умовах годівлі та утримання, не одержують специфічних антитіл з молозивом і молоком матері, не контаміновані патогенною та іншою мікрофлорою, або ж мікрофлора організму гнотобіотів відома досліднику, тобто це незрівнянно більш стандартні тварини, що дозволяють одержувати вірогідні дані у експериментальних дослідженнях [1, 2, 7].

У країнах СНД, незважаючи на наявність розроблених методичних рекомендацій з одержання і вирощування тварин-гнотобіотів, їх широке використання у дослідницькій роботі стримується через відсутність вітчизняної гнотобіологічної апаратури, спеціальних стерильних кормосумішей, доступних наборів нешкідливих препаратів для наркозу та ін.

В Україні питаннями гнотобіології займається Полтавська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини УААН.

Метою досліджень було відпрацювання хірургічних методів одержання тварин-гнотобіотів для використання їх як експеримен-

* Робота виконувалась в рамках державної наукової тематики (№ держреєстрації 0106U000372)

тально-біологічних моделей при вивченні різних аспектів інфекційної та неінфекційної патології.

Матеріали та методика досліджень

При виконанні роботи була використана розроблена нами гнотобіологічна лінія з отримання безмікробних тварин, яка включає у себе: операційну камеру, бокс-приймач, бокси для вирощування тварин-гнотобіотів, операційний станок для фіксації глибоко-вагітних тварин. Операційна камера та бокси обладнані системами стерильного повітрообміну і автоматичного підтримання температурного режиму. Крім цього, до гнотобіологічної лінії входять стерилізаційні циліндри (кани) та вся необхідна апаратура для вакуумавтоклавування поживних сумішей та усіх необхідних матеріалів, що забезпечують фізіологічну потребу життєдіяльності організму [4]. Тварин-гнотобіотів отримували шляхом проведення гнотобіологічної гістеротомії, гістероектомії. Для отримання безмікробних тварин та зі статусом ВПФ було проведено 52 операції на свино- та вівцематках та 32 – на кролематках, морських свинках та білих мишах. Контроль стерильності гнотобіологічної апаратури та отриманих тварин-гнотобіотів проводили за удосконаленою методикою Вагнера [1]. У період вирощування безмікробних тварин для їх годівлі використовували відповідні стерильні корми та кормосуміші із додаванням необхідних стерильних розчинів вітамінів та мікроелементів.

Результати дослідження

У світовій гнотобіологічній практиці одержання тварин-гнотобіотів проводиться, головним чином, оперативними методами, за допомогою двох хірургічних операцій: гістеротомії (кесарів розтин) та гістероектомії (видалення матки разом з плодами) у поєднанні з гнотобіологічними методами ізоляції. Використання названих операцій пов'язане з тим, що у період вагітності інтактна плацента матері формує надійний бар'єр, який перешкоджає проникненню та попаданню у плоди, які розвиваються, більшості інфекційних агентів. Гнотобіологічний метод дає змогу продовжити природну ембріональну стерильність плодів у штучних умовах гнотобіологічних ізоляторів. Вибір методу залежить від наявності необхідного устаткування для проведення операцій, цінності тварини та економічних можливостей. Гістероектомія виконується легко та швидко, але прооперовані тварини не можуть бути використані повторно. Гістеротомія більш складна, але тварину після операції та реабілітаційного періоду можна використовувати знову. Крім цих двох методів, для одержання тварин-гнотобіотів, використовують також і консервативні методи – метод „стерильних родів” (у свиноматок та вівцематок) та метод деконтамінації (для лабораторних тварин).

Гістеротомію виконували на свино- та

вівцематках у строки, найбільш наближені до природних родів, що відповідно становлять 113-115 та 150-154 доби вагітності.

Перед початком операції, свино- або вівцематці проводили попередній туалет (свиноматку мили теплою водою із милом, вівцематці вимивали нижню частину тулубу), після чого тваринам вводили наркоз. Для наркозу свиноматок використовували внутрішньом'язеве введення розчину азаперону (стреснілу) у дозі 4 см³ на 20 кг живої маси, або внутрішньовенне введення розчину тіопенталу натрію у дозі 0,15 мг/кг, а також проводили люмбосакральну анестезію 2 % розчином новокаїну у дозі 15-20 см³. Після введення цих препаратів наркоз наставав через 10-15 хвилин та тривав 60-80 хвилин.

Наркоз вівцематок базувався на внутрішньовенному введенні 5 % свіжоприготованого розчину тіопенталу натрію у дозі 0,15 мг/кг маси тварини та 50 % розчину анальгину у дозі 8-10 см³ у поєднанні із люмбосакральною анестезією 2 % розчином новокаїну у дозі 6-8 см³. При використанні вищезазначеного пропису уже через 3-5 хвилин наступав наркоз, який тривав більше 2 годин.

Після настання наркозу маток (свино- або вівцематку) фіксували на операційному станку у спинному положенні та готували операційне поле за усіма правилами асептики та антисептики (мили розчином перманганату калію, вибривали щетину або шерсть, тричі протирали спиртом, висушували і дворазово обробляли 5 % спиртовою настойкою йоду). Після приготування операційного поля тварину подавали під операційну камеру, попередньо зістиковану із боксом-приймачем. Шкіру операційного поля тварини та плівку операційного кільця операційної камери герметично склеювали між собою клеєм марки Н-88. Спочатку електротермокаутером пропалювали плівку операційного кільця та частково шкіру по білій лінії тварини. Таким чином покращується приклеювання плівки до шкіри та знешкоджується мікрофлора, яка затримується у волосяних фолікулах, а також прискорюється гемостаз. Потім скальпелем розтинали очеревину і через проведений розріз (довжиною 20-25 см) в операційну камеру витягали ріг матки з плодами. У місці біфуркації рогів матки, в основі кожного рогу (у свиноматок) робили розрізи, через які виймали поросят. На пуповину поросят швидко накладали дві лігатури, між якими проводили розріз. Після часткового видалення слизу із носових ходів та ротової порожнини поросят передавали через шлюз у бокс-приймач. Техніка проведення операції у вівцематок така ж як і у свиноматок, тільки розріз проводили по білій лінії, відступаючи від молочної залози на відстань 5 см, довжиною 25-30 см, обминаючи при цьому великі кровоносні судини. Тривалість операції при цьому не перевищувала 30-40 хвилин для свиноматок та 20-30

хвилин – для вівцематок.

Після вилучення та передачі усіх тварин із операційної камери, дверцята шлюзу боксу-приймача герметично закривали, свино- або вівцематку виводили із під операційної камери, накладали шви на місце розрізу та звільняли від операційного станка.

Після відокремлення операційної камери одержаних тварин-гнотобіотів у боксі-приймачі за допомогою рушників і серветок повністю звільняли від пологового слизу, ножицями зрізали ікла (у поросят), нумерували вищипами на вухах, відбирали змиви для бактеріологічного і вірусологічного контролю стерильності тварин. Після чого тварин переводили із боксу-приймача в ізоляторі групами по 3-4 тварини для утримання та вирощування їх до місячного віку.

Контроль стерильності гнотобіологічної апаратури та тварин-гнотобіотів проводили протягом всього експерименту. Перше мікробіологічне та вірусологічне дослідження здійснювали після підготовки гнотобіологічної апаратури, тобто перед операцією, подальший контроль тварин та ізоляторів – після кожного завантаження або розвантаження ізоляторів тими чи іншими матеріалами.

Всього нами було одержано 390 безмікробних поросят та 8 ягнят.

Гістероектомія, як було зазначено вище, частіше всього використовується для одержання безмікробних лабораторних тварин. У зв'язку із великою схожістю технології оперативного одержання лабораторних тварин, методику подаємо узагальнено.

Для операції відбирали тварин на останній стадії вагітності: кролів – на 30-й день, морських свинок за 1-1,5 доби до пологів, враховуючи при цьому розходження лобкових кісток на 15-20 мм, білих мишей – на 21-й день вагітності. Після попередньої підготовки, тваринам проводили місцеву анестезію. Для цього використовували 2 % розчин новокаїну, який вводили під шкіру по місцю розрізу до утворення тяжу. Після розрізу шкіри підшкірну клітковину та очеревину збризували тим же розчином.

Після фіксації тварини, підготовки операційного поля і склеювання перехідної плівки камери зі шкірою черева, проводили розріз по білій лінії за допомогою електротермокаутера (у кролематок довжина розрізу – 8-10 см, у морських свинок – 6-8 см, у білих мишей – 3-5 см). Після розтину очеревини із операційного отвору видаляли матку разом із плодами та перев'язували її в ділянці шийки двома шовковими лігатурами, вимоченими у настійці йоду і відрізали між ними. Ампутовану матку разом із плодами занурювали на 1-2 хвилини у теплу настійку йоду, після чого переносили у гідрощлюз із підігрітим бактерицидним розчином (5 % розчин хлораміну), а в подальшому – у камеру ізолятора. У ізоляторі через розрізи в матці ви-

даляли плоди, витирали їх насухо та розміщували на стерильних серветках.

Методом гістероектомії було одержано 68 безмікробних кроленят, 27 морських свинок та 28 білих мишей.

Крім оперативних методів одержання тварин-гнотобіотів ми у своїх дослідженнях використовували і консервативні методи – метод „стерильних родів” та метод деконтамінації.

За результатами досліджень нами розроблені „Методичні рекомендації з використання тварин-гнотобіотів як експериментально-біологічних моделей із врахуванням їх морфо-функціональних та імунобіологічних особливостей”, які були затверджені Вченою Радою ІВМ УААН у 2007 році та “Технологія одержання, вирощування і використання поросят-, ягнят-, лабораторних тварин-, птахів-гнотобіотів та ВПФ”, яка затверджена Держдепартаментом ветеринарної медицини України 4.11.2004 р.

Висновки

1. Проведені дослідження показали, що найбільш ефективними та надійними методами одержання безмікробних тварин є методи гістеротомії та гістероектомії, ефективність яких є 100 % при умові виконання усіх необхідних вимог гнотобіологічного експерименту.

2. Метод гістеротомії переважно використовують для одержання гнотобіотів від маток із великим плодом (поросята, ягнята та ін.), а метод гістероектомії – для одержання гнотобіотів від лабораторних тварин (кролі, морські свинки, щури та миші).

Література

1. Душкин В. А. Теоретические и практические проблемы гнотобиологии / Душкин В. А., Интизаров М. М., Петрачев Д. А.; – М.: Колос, 1983. – 254 с.
2. Теоретические и практические проблемы гнотобиологии / Всесоюз. акад. с.-х. наук им. В. И. Ленина, Академия медицинских наук СССР / под ред. В.П. Шишкова. – М.: Агропромиздат, 1986. – 239 с.
3. Хандкарян В. М. Одержання, вирощування і використання ягнят-гнотобіотів та зі статусом ВПФ / В. М. Хандкарян, А. Ф. Курман, І. М. Ксьонз [та ін.] // Ветеринарна біотехнологія (бюлетень ІВМ УААН). – 2003. – № 3. – С. 153-161.
4. Хандкарян В. М. Застосування методів гнотобіології у ветеринарно-біологічних дослідженнях // В. М. Хандкарян, В. Д. Настенко, О. О. Гавшин [та ін.] // Наук. вісник НАУ. – 2001. – № 36. – С. 217-220.
5. Чахава О. В. Гнотобіологія / Чахава О.В. – М.: Медицина, 1972. – 200 с.
6. Шишков В. П. Гнотобіологія в решении современных задач общей биологии, медицины и ветеринарии / В. П. Шишков, Ю. Ф. Исаков // Вестник сельскохозяйственных наук. – 1984. – № 8. – С.30-34.
7. Методичні рекомендації з використання тварин-гнотобіотів як експериментально-біологічних моделей із врахуванням їх морфо-функціональних та імунобіологічних особливостей / Хандкарян В. М., Курман А. Ф., Ксьонз І. М., Лепета Л. В. – Полтава, 2007. – 24 с.
8. Технологія одержання, вирощування тварин-гнотобіотів і ВПФ для використання у наукових дослідженнях та при створенні спеціалізованих господарств / Собко А. І., Хандкарян В. М., Гришок О. О. та ін. – Полтава, 2004. – 68 с.

Реферат

ХИРУРГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ БЕЗМИКРОБНЫХ И СПФ ЖИВОТНЫХ

Хандкарян В.Н., Курман А.Ф., Ксёэнз И.Н., Лепета Л.В., Локес П.И.

Ключевые слова: хирургические методы, животные-гнобиоты.

Были использованы хирургические методы получения животных-гнобиотов. Установлено, что с помощью методов гнотобиологической гистеротомии и гистерэктомии возможно получать безмикробных животных.

Summary

SURGICAL TECHNIQUES IN OBTAINING EXPERIMENTAL AMICROBIC ANIMALS

Khandkarian V.N., Kurman A.F., Ksenz I.M., Lepeta L.V., Lokes P.I.

Key words: surgical technique, gnotobiot, amicobic animals.

The paper describes the surgical techniques in obtaining animals-gnotobiotics. It has been found out that the techniques of gnotobiological hysterotomy and hysterectomy enables to obtain amicobic animals.

УДК 616.9 – 616.065 030

БІОХІМІЧНІ МОДЕЛІ ОЦІНКИ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК

Чекман І.С., Горчакова Н.О., Дяченко В.Ю., Максимчук О.О.

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

В експериментах на щурах при блокаді гліколізу натрію фторидом та роз'єднанні дихання і окислювального фосфорилування 2,4-динітрофенолом встановлені особливості змін показників енергетичного обміну міокарду, що є перспективним для доклінічних досліджень потенційних кардіопротекторних речовин.

Ключові слова: блокада гліколізу, роз'єднання дихання і окислювального фосфорилування, енергетичний обмін міокарду.

Вступ

Кардіопротектори метаболічної та метаболі-тотропної природи широко впроваджені в клінічну практику завдяки малій токсичності, широкому спектру дії як лікарські засоби супроводження, хоча більшість з них не є формулярними [1,2,3]. В основі цілісного організму функціональна активність міокарду взаємозв'язана з обмінними процесами, порушення яких має особливості при певних патологічних станах [4]. Велике значення в енергетичному забезпеченні міокарду має система аденілових нуклеотидів, дефіцит яких є однією з причин порушення скоротливості та інших життєво важливих процесів. Співвідношення аденілових нуклеотидів вважають суттєвою регуляторною ланкою між системами аеробного окиснення та гліколізу [5]. Певне значення має АТФ в утворенні нікотинамідних сполук, що є кофакторами ферментів, які відіграють важливу роль в утворенні багатих енергією фосфоромістучих сполук. Енергія фосфатного зв'язку передається від синтезованого в мітохондріях АТФ до креатинфосфату, який дифундує в цитоплазму до міофібрил та мембранних насосів, де цитоплазматична креатинфосфокиназа здійснює зворотний перенос фосфатного зв'язку від креатинфосфату до АТФ. Тому креатинкиназу систему, як і аденілатциклазу, вважають тестом швидкого реагування в умовах патології [6]. При патологічних процесах в міокарді,

в тому числі при гіпоксії, важливе значення має глікогеноліз, субстратом якого в міокарді є глікоген, що визначає толерантність організму при порушеннях енергообміну і поряд з аденіловою, креатинфосфокиназною системами і нікотинамідними коферментами [7] може вважатися інформативним показником патологічних порушень функції міокарду, за умов блокади гліколізу та роз'єднанні процесів окислювального фосфорилування і дихання і будувати сприяти розшифруванню механізму дії кардіопротекторів.

Метою дослідження було визначення змін показників енергетичного обміну міокарду щурів при блокаді гліколізу та роз'єднанні процесів окислювального фосфорилування і дихання.

Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведені на 21 щурах лінії Вістар, масою 150-180 г. Утримання тварин, введення препаратів, наркоз, евтаназію проводили відповідно до медичних рекомендацій Державного фармакологічного центру МОЗ України [8]. Блокаду гліколізу здійснювали внутрішньоочеревинним введенням натрію фториду в дозі 10 мг/кг двічі з інтервалом в 1 годину [9,10,11]. Роз'єднання процесів окислювального фосфорилування та дихання проводили внутрішньоочеревинним введенням 2,4-динітрофенолу в дозі 15 мг/кг [12,13]. Проводили декапітацію щурів через 40 хвилин під легким ефірним наркозом.

* Робота виконана в руслі науково-дослідної тематики кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету ім. Богомольця О.О. МОЗ України за темою „Вивчення кардіопротекторної дії лікарських засобів за умов токсичного ураження міокарду (№ державної реєстрації 0103U005667)“

В міокарді щурів визначали вміст аденілових нуклеотидів, неорганічного фосфору, нікотинамідних коферментів, редокс-потенціалу креатинфосфату, глікогену, активності креатинфосфокінази за загальноприйнятими методами [14].

Оцінку отриманих результатів проводили на підставі статистичної обробки методом варіаційної статистики. Вірогідність різниці між досліджуваними показниками оцінювали за критерієм Ст'юдента t . Різницю між показниками вважали статистично вірогідною при $P \leq 0,05$. Всі статистичні розрахунки проводили за ПК за допомогою спеціалізованої програми „STATISTICA вер 5.0”. F-критерій Фішера; P- рівень значущості, K кор.- коефіцієнт кореляції.

Результати та їх обговорення

Встановлено (табл. 1), що в умовах блокади гліколізу знижується вміст окислених форм нікотинамідних коферментів на $17,5 \pm 2,1\%$ та редокс потенціалу на $33,6 \pm 5,3\%$. Рівень відновлених форм нікотинамідних коферментів при цьому зростає на $22,4 \pm 2,6\%$, внаслідок чого сума нікотинамідних коферментів вірогідно не змінюється. Синхронні коливання відбуваються в системі макроергічних фосфатів. Рівень АТФ в міокарді щурів під дією неорганічного фосфору знижується на $26,7 \pm 1,9\%$, рівень АДФ зростає на $32,7 \pm 1,9\%$, а АМФ на $19,1 \pm 1,8\%$. Це веде до зниження співвідношення АТФ/АДФ на $46,3 \pm 5,5\%$ енергетичного потенціалу на $11,1 \pm 3,6\%$ та помірного росту суми аденілових нуклеотидів. При цьому також знижується рівень креатинфосфату ($-15,6 \pm 4,3\%$) та активність креатинфосфокінази ($-21,5 \pm 5,4\%$), рівень неорганічного фосфору зростає на $31,9 \pm 2,6\%$. При роз'єднанні дихання з окислювальним фосфорилуванням (див. табл.) спостерігаються більш виражені зміни показників енергетичного обміну, ніж на фоні пригнічення

гліколізу.

При аналізі динаміки стану нікотинамідної системи через 2 години після введення 2-4-динітрофенолу зростає рівень відновлених форм нікотинамідних коферментів на $24,7 \pm 2,0\%$ та знижувався вміст окислених форм на $22,4 \pm 2,6\%$. При цьому зменшилася величина співвідношення окислених та відновлених форм нікотинамідних коферментів ($-36,6 \pm 4,4\%$), однак сума цих показників вірогідно не змінилася. Встановлено також, що рівень АТФ знизився на $36,4 \pm 3,6\%$, а АДФ та АМФ підвищився на $23,3 \pm 2,5\%$ та $28,7 \pm 3,3\%$ відповідно. Значно знизився коефіцієнт співвідношення АТФ до АДФ ($-48,5 \pm 4,3\%$), енергетичний заряд ($-17,5 \pm 1,9\%$) в міокардіоцитах, а також сума аденілових нуклеотидів ($-3,4 \pm 1,1\%$). Рівень фосфору неорганічного при цьому підвищився на $43,2 \pm 3,1\%$. Встановлено пониження вмісту креатинфосфату ($-29,8 \pm 7,6\%$) і активності креатинфосфокінази ($-35,5 \pm 5,6\%$), що корелювало зі змінами аденілових нуклеотидів.

Значно при роз'єднанні дихання та окислювального фосфорилування знизився вміст глікогену ($-38,3 \pm 4,4\%$). Коливання рівня цього показника спостерігалися на фоні блокади гліколізу ($-16,3 \pm 3,8\%$).

Отримані експериментальні дані є обґрунтованими доцільності застосування моделей гістотоксичної гіпоксії міокарду з блокадою гліколізу і роз'єднанням дихання і окислювального фосфорилування для доклінічного дослідження біологічно активних речовин в якості кардіопротекторів з урахуванням їх можливого механізму дії, переважного впливу для запобігання змін функції і метаболізму міокарду при застосуванні протипухлинних, протитуберкульозних і інших засобів, що мають кардіотоксичність.

Таблиця 1

Показники	Контроль n = 7	Натрію фторид n = 7	2,4-динітрофенол n = 7
НАД+ НАДФ мкмоль/кг	492±15,6	406±8,7*	392±10,4*
НАД Н ₂ + НАДФ Н ₂ мкмоль/кг	348±19,5	426±10,9*	434±8,7*
Сума нікотинамідних коферментів мкмоль/кг	840±5,9	832±3,9*	826±7,0*
Редокс-потенціал	1,43±0,12	0,95±0,05*	0,9±0,04*
АТФ мкмоль/г	2,17±0,05	1,59±0,03*	1,38±0,05*
АДФ мкмоль/г	1,59±0,03	2,11±0,04*	1,96±0,05*
АМФ мкмоль/г	0,94±0,04	1,12±0,02*	1,21±0,04*
АТФ + АДФ+АМФ мкмоль/г	4,70±0,03	4,82±0,03	4,55±0,05*
Енергетичний потенціал	0,63±0,08	0,56±0,02*	0,52±0,01*
АТФ/АДФ	1,36±0,05	0,73±0,04*	0,70±0,03*
Фн моль/г	26,6±1,19	35,1±0,93*	38,1±1,19*
Креатинфосфат моль/г	4,21±0,18	3,46±0,15*	2,88±0,22*
Креатинфосфокіназа моль/г/год	1,58±0,11	1,24±0,09*	1,02±0,1*
Глікоген моль/г	4230±1,24	3540±1,33	2610±115*

P<0,05 порівняно з контролем

Висновки

1. При блокаді гліколізу натрію фторидом в міокарді щурів знижується вміст окислених форм нікотинамідних коферментів, сума, редокс-

потенціал, рівень АТФ, АДФ, енергетичний потенціал, співвідношення АТФ/АДФ, вміст неорганічного фосфору, креатинфосфату, глікогену, активність креатинфосфокінази та збільшується рівень відновлених форм нікотинамідних кофе-

рментів та АДФ.

2. При роз'єднанні дихання і окислювального фосфорилування при введенні 2,4-динітрофенолу спостерігаються в міокарді щурів більш виражені зміни вищезазначених показників, ніж при блокаді гліколізу. Крім того, знижується вміст суми нікотинамідних коферментів та суми аденілових нуклеотидів.

Література

1. Галенко-Ярошевский П.А. Очерки фармакологии средств метаболической терапии / П.А. Галенко-Ярошевский, И.С. Чекман, Н.А. Горчакова. – М.: Медицина, 2001. – 240 с.
2. Чекман И.С. Кардиопротекторы / [И.С. Чекман, Н.А. Горчакова, С.Б. Французова и др.] – Киев, 2005. – 204 с.
3. Мазур И.А. Метаболитотропные препараты / [И.А. Мазур, И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев и др.] – Запорожье, 2007. – 309 с.
4. Амосова К.М. Діагностика цінності неінвазивних методів діагностики ІХС у хворих ІХС в поєднанні з ХОЗЛ / К.М. Амосова, Л.Ф. Конопльова, Д.Ш. Січінава [та ін.] *Наук. вісн. нац. мед. унів. ім. О.О. Богомольця*. – 2008. – №3. – С. 100-107.
5. Амосова К.Н. Клиническая эффективность отечественного препарата метаболического типа действия АТФ-лонг и его влияние на физическое состояние больных с начальными формами ИБС / Е.Н. Амосова, И.Ф. Коноплева, Л.С. Мхитарян // *Ліки України*. – 1999. – №4. – С. 57-59.
6. Мойбенко А.А. Механизмы защитного действия неотона при иммунном повреждении сердца / А.А. Мойбенко, Г.И. Марченко, А.Ф. Попович, Т.А. Чердынченко // *Патол. физиол. и эксперимент. терапия*. – 1992. – №2. – С. 103-109.
7. Чекман И.С. Никотинамид / И.С. Чекман, Н.О. Горчакова, О.О. Нагорна, Т.Ю. Небесна. – Киев: Поліграф плюс, 2008. – 112 с.
8. Доклинические испытания лекарственных средств // *Методические рекомендации под ред. член-кор. АМН Украины А.В. Стефанова*. – Киев: Авиценна -560 с.
9. Андросов Н.С. О нарушениях углеводно-фосфорного обмена при остром отравлении фтористым натрием / Н.С. Андросов // *Фармакол. и токсикол.* – 1968. – Т. 31, №2. – С. 243-246.
10. Porta C. Endothelin-1 and 5-fluorouracil-induced cardiotoxicity / C. Porta, M. Moroni, S. Ferrarri, G. Nastagi // *Neoplasma*. – 1998. – Vol. 45. – P. 81-82.
11. Durak I. Reduced antioxidant defence capacity in myocardial tissue from guinea pigs treated with 5-fluorouracil / I. Durak, M. Karaayvaz, M. Kavatsu [et al.] // *J. Toxicol. Environ. Health*. – 2000. – Vol. 59. – P. 585-589.
12. Иванов И.И. Функция сердца и некоторые механизмы ее регуляции при моделировании адаптации к гипоксии введением 2,4-динитрофенола / И.И. Иванов, М.К. Хитров // *Кардиология*. – 1983. – Т.23, №1. – С. 94-98.
13. Капелько В.И. Контрактура миокарда при нарушении энергообразования: механизм и значение / В.И. Капелько, В.И. Векслер, Н.А. Новикова // *Метаболизм миокарда: Матер. совм. сов.-амер. симп.- М., 1988. – С. 105-118.*
14. Marshall W.J. Clinical chemistry / W.J. Marshall. – 5th ed. – London: Mosby, 2004. – 432 p.

Реферат

БИОХИМИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ОЦЕНКИ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Чекман И.С., Горчакова Н.А., Дьяченко В.Ю., Максимчук Е.А.

Ключевые слова: блокада гликолиза, разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования, энергетический обмен миокарда.

В экспериментах на крысах при блокаде гликолиза натрия фторидом и разобщении дыхания и окислительного фосфорилирования 2,4-динитрофенолом установлены особенности изменений показателей энергетического обмена миокарда, что является перспективным для доклинических исследований потенциальных кардиопротекторных веществ.

Summary

BIOCHEMICAL MODELS IN CARDIOPROTECTIVE ACTION ESTIMATION OF BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS

Chekman I.S., Gorchakova N.A., Djachenko V.Ju., Maximchuk E.A.

Key words: blockage of glycolysis, segregation of respiration and oxidative phosphorylation, myocardial energetic metabolism.

In the experiments on rats under the conditions of glycolysis blockade and segregation of respiration and oxidative phosphorylation the peculiarities of energetic metabolism changes in the myocardium have been found out that may be promising for the preclinical testing of potential cardioprotective compounds.

УДК: 616.127-018:57.086.3:616.12-008.331.1:57.084

СПОНТАННА АРТЕРІАЛЬНА ГІПЕРТЕНЗІЯ – ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ В ХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ**Чекман І.С., Горчакова Н.О., Небесна Т.Ю., Загородний М.І., Довгань Р.С.**

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

Встановлено, що спонтанна артеріальна гіпертензія у щурів є адекватною експериментальною моделлю для дослідження впливу антигіпертензивних препаратів на рівень артеріального тиску у ненаркотизованих тварин при тривалому застосуванні препаратів. Досліджувані препарати (біпролол, корвазан, ліпріл) знижують артеріальний тиск при введенні щурам протягом 90 днів.

Ключові слова: спонтанна артеріальна гіпертензія, біпролол, корвазан, ліпріл.

Вступ.

Артеріальна гіпертензія (АГ) є одним з найбільш соціально-небезпечних серцево-судинних захворювань, що веде до інвалідності і смерті. Тому, незважаючи на певні досягнення у лікуванні і профілактиці АГ за останні роки, питання раціональної фармакотерапії даної патології залишається об'єктом досліджень вчених всього світу. З діагностикою АГ пов'язаний високий ризик виникнення ішемічної хвороби серця, цереброваскулярних та ниркових захворювань [3, 4, 9]. Тому експериментатори та клініцисти продовжують дослідження з пошуку більш ефективних методів лікування. Оскільки найбільш вірогідні результати отримані на експериментальних моделях, що наближаються за патогенезом до досліджуваних хвороб, пошук фармакологічної активності препаратів доцільно проводити на щурах зі спонтанною артеріальною гіпертензією, тобто щурах зі спонтанною артеріальною гіпертензією (САГ) лінії HICAG [1, 2, 8, 10].

Мета дослідження: вивчити адекватність моделі спонтанної артеріальної гіпертензії для дослідження антигіпертензивних препаратів різного механізму дії в хронічному експерименті на не наркотизованих тваринах.

Методи дослідження.

Досліди проводили на щурах зі спонтанною артеріальною гіпертензією лінії HICAG. Артеріальний тиск вимірювали на хвостовій артерії тварин за допомогою спеціального приладу і виражали мм ртутного стовпчика (мм. рт. ст.). Кожну тварину утримували в окремих спеціальних клітках з постійним доступом до скляної поїлки. В даній роботі застосовували наступні антигіпертензивні препарати: порошки ліпрілу, біпрололу та корвазану. Ліпріл та біпролол отримували на Борщагівському фармацевтичному заводі, а корвазан – в корпорації «Артеріум». Порошки розчиняли у воді і застосовували щоденно в дозах: ліпріл - 10 мг/кг маси, біпролол – 20 мг/кг, корвазан – 20 мг/кг. Досліджувані препарати додавали до води або їжі і застосовували на протязі 90 днів.

Отримані кількісні результати обробляли математично-статистичними методами на IBM PC "Pentium" в програмі "Statistica for Windows 5.1" з визначенням частотного розподілу, середніх величин, помилок середньої величини з використанням критерію t Ст'юдента. Достовірність результатів вважали встановленими при імовірності її не менше 95 % ($p < 0,05$).

Результати та обговорення.

Таблиця 1. Динаміка змін артеріального тиску у щурів зі САГ до та після застосування досліджуваних препаратів

Групи тварини	Початок експерименту	Через 90 днів
	Артеріальний тиск у мм. рт. ст	
Нормотензивні щури (контроль)	104,4 ± 5,5	108,5 ± 5,6
Щури зі САГ	152 ± 5,6*	157,3 ± 5,4*
Щури зі САГ, що отримували біпролол	148 ± 6,5*	121 ± 5,3**
Щури зі САГ, що отримували корвазан	172 ± 5,5*	141 ± 5,8**
Щури зі САГ, що отримували ліпріл	154 ± 3,8 *	115 ± 5,8 **

* Статистично достовірні різниці порівняно з контролем ($P < 0,05$).

** Статистично достовірні різниці порівняно з показником на початку лікування ($P < 0,05$)

Як видно з даних табл. 1, у інтактних (нормотензивних) щурів артеріальний тиск на початку дослідження дорівнював 104,4 ± 5,5 мм ртутного стовпчика. Протягом 3-х місячного спостереження артеріальний тиск суттєво не змінився і дорівнював 108,5 ± 5,6 мм. рт. ст. У щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією до початку експерименту артеріальний тиск був

підвищеним і дорівнював 152 ± 5,6 мм. рт. ст. Через 90 днів тиск також був підвищений і дорівнював 157,3 ± 5,4 мм. рт. ст.

Біпролол при щоденному застосуванні в дозі 20 мг/кг маси на протязі 90 днів приводив до зменшення артеріального тиску до 121 ± 5,3 мм. рт. ст., а початковий тиск становив 148 ± 6,5 мм. рт. ст.

* Робота виконана в межах науково-дослідної тематики кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця за темою: «Розробка та впровадження нової технології лікування артеріальної гіпертензії», № державної реєстрації 0107U003592.

Корвазан при щоденному застосуванні в дозі 20 мг/кг маси на протязі 90 днів приводив до зменшення артеріального тиску до $141 \pm 5,8$ мм. рт. ст., а до застосування медикаменту артеріальний тиск у цій серії тварин дорівнював $172 \pm 5,5$ мм.рт.ст.

Ліпріл при щоденному застосуванні в дозі 10 мг/кг маси протягом 90 днів приводив до зменшення артеріального тиску до $115 \pm 5,8$ мм. рт. ст., а до застосування медикаменту артеріальний тиск у цієї серії тварин дорівнював $154 \pm 3,8$ мм.рт.ст.

Отримані результати свідчать, що досліджувані препарати (біпролол, корвазан та ліпріл) понижують артеріальний тиск у щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією.

Проведеними морфологічними (електрономікроскопічними, гістохімічними) дослідженнями встановлено, що метаболізм і структура міокарда серця щурів зі САГ відрізняються від нормотензивних тварин за розвитком ознак гіпертрофії частин кардіоміоцитів, тенденцією до посилення колагеноутворення у міжм'язовому та периваскулярному фрагментах інтерстиції, осередковим розширенням просвітів судин, гіперемією міжм'язових мікросудин і потовщенням стінок інтрамуральних коронарних артерій. Змінювалися показники енергетичного обміну – зростала активність лактатдегідрогенази, обумовлена активізацією гліколітичних процесів, що, можливо, є наслідком помірної тканинної гіпоксії, хоча активність ферментів термінального окиснення НАДНДГ і НАДФНДГ вірогідно не змінювалася. Призначення біпрололу, корвазану та ліпрілу зменшувало негативні зміни в міокарді щурів зі САГ.

Ультраструктурний аналіз лівого шлуночка серця щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією показав, що структурні компоненти міокарда – кардіоміоцити та гемомікроциркуляторне русло – зазнають суттєвих змін порівняно з контролем. У кардіоміоцитах на перший план виступають порушення скоротливого (лізис і дезінтеграція міофібрил, їх перескорочення) та енергетичного (зміни форми, розміру, електронної щільності мітохондрій, лізис їх матриксу, внутрішніх і зовнішніх мембран) апаратів. Зміни вставних дисків засвідчують порушення як механічних, так і електричних зв'язків у кардіоміоцитах. Характерною особливістю міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією є розповсюдженість набряку: у кардіоміоцитах, ендотеліальних клітинах гемомікросудин та інтерстиційному просторі.

Причиною гіпертрофії серцевого м'яза є не лише гемодинамічні, але й нейрогуморальні фактори, такі як катехоламіни, ангіотензин II, аль-

достерон та ендотелін [5, 6]. Активація ренін-ангіотензин-альдостеронової системи прискорює процес серцевих змін (гіпертрофію та фіброз). Т.ч. не лише зниження АТ, але й зменшення впливу гормональних факторів відіграє важливу роль у фармакологічній корекції артеріальної гіпертензії [1, 2, 7].

Висновки:

1. Спонтанна артеріальна гіпертензія у щурів є адекватною експериментальною моделлю для дослідження впливу антигіпертензивних препаратів на рівень артеріального тиску у не наркотизованих тварин при тривалому застосуванні препаратів.
2. Досліджувані препарати (біпролол, корвазан, ліпріл) співставимо понижують артеріальний тиск при введенні щурам протягом 90 днів.

Література

1. Писаренко О.Н. Особенности энергетического состояния тканей при спонтанной гипертензии крыс (SHR) / О.Н.Писаренко, И.М.Студнева, А.Ю. Постнов // Кардиология. – 1998. – Т. 38, № 12. – С. 37-40.
2. Постнов Ю. В. Нарушение ультраструктуры митохондриального аппарата кардиомиоцитов крыс со спонтанной гипертензией (SHR) / Ю. В. Постнов, Л. Е. Бакеева, В. Г. Цыпенкова, А. Ю. Постнов // Кардиология. – 2000. – Т. 40, № 1. – С. 66-63.
3. Рекомендації Українського товариства кардіологів з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії / [Свищенко Є.П., Багрий А.Е., Єна Л.М. та ін.]. — Київ: Віпол, 2004. — 84 с.
4. Сіренко Ю.М. Артеріальна гіпертензія / Ю.М. Сіренко — Київ: Моріон, 2002. — 204с.
5. Цырлин В.А. Фармакологическое изучение вариабельности артериального давления в эксперименте на бодрствующих животных / В.А. Цырлин, К.Е. Гавриков, Р.С. Хрусталева, Н.А. Фельдшерова // Артериальная гипертензия. – 2005. – Т.11, №3. – С. 181-184.
6. Чекман І.С. Спонтанна артеріальна гіпертензія у щурів: патогенетичні механізми розвитку / І.С. Чекман, Я.М. Корнейкова, Р.С. Довгань // Ліки. – 2007. – №1-2. – ст.10-15.
7. Cacanyiova S. Comparison of Vascular Function and Structure of Iliac Artery in Spontaneously Hypertensive and Hereditary Hypertriglyceridemic Rats / S. Cacanyiova, M. Cebova, J. Kunes, F. Kristek // Physiol. Res. – 2006. – Vol. 55, № 1. – P. 73-80.
8. Cosson E. Aortic stiffness and pulse pressure amplification in Wistar-kyoto and spontaneously hypertensive rats. / Cosson E., Herisse M., Laude D., [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Physiol. – 2007. – Vol. 292. – P. 2506-2512.
9. Duke L. M. Cardiovascular status following combined angiotensin-converting enzyme and AT1 receptor inhibition in conscious spontaneously hypertensive rats / L. M. Duke, J. Paull, R. E. Widdop // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. – 2003. – Vol 30. – P. 317-323.
10. Torok J. Functional and structural pattern of arterial responses in hereditary hypertriglyceridemic and spontaneously hypertensive rats in early stage of experimental hypertension / Torok J., Koprdova R., Cebova M. [et al.] // Physiol. Res. – 2006. – Vol.55, № 1. – P. 65-71.

Реферат

СПОНТАННА АРТЕРІАЛЬНА ГІПЕРТЕНЗІЯ – ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ДЛЯ ІССЛЕДОВАНИЯ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЛЕКАРСТВЕННИХ СРЕДСТВ В ХРОНИЧЕСКОМ ЕКСПЕРИМЕНТЕ

Чекман І.С., Горчакова Н.А., Небесная Т.Ю., Загородный М.И., Довгань Р.С.

Ключевые слова: спонтанная артериальная гипертензия, биололол, корвазан, липрил

Установлено, что спонтанная артериальная гипертензия у крыс является адекватной экспериментальной моделью для исследования влияния антигипертензивных препаратов на уровень артериального давления у ненаркотизованных животных при длительном использовании препаратов. Исследованные препараты (бипролол, корвазан, липрил) сопоставимо понижают артериальное давление при введении крысам на протяжении 90 дней.

Summary

SPONTANEOUS ARTERIAL HYPERTENSION – AN EXPERIMENTAL MODEL FOR INVESTIGATIONS OF ANTIHYPERTENSIVE DRUGS IN CHRONIC EXPERIMENT

Chekman I.S., Gorchakova N.O., Nebesna T.Yu., Zagorodniy M.I., Dovgan R.S.

Key words: spontaneous arterial hypertension, biperolol, corvasan, lipril.

It has been shown that spontaneous arterial hypertension in rats is an adequate experimental model for investigation of influence of antihypertensive drugs on the level of rats arterial pressure without narcosis in chronic experiment. Studied drugs (biperolol, corvasan, lipril) comparably decrease arterial pressure in rats after 90 days of their administration.

УДК 547.756:615.214.31

ДОКЛІНІЧНЕ ВИВЧЕННЯ НООТРОПНОЇ АКТИВНОСТІ ТА СУПУТНИХ ПСИХОТРОПНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОХІДНИХ 2-ОКСОІНДОЛІНУ

Шатілов О.В., Штриголь С.Ю., Колісник С.В., Болотов В.В.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Фармакологічний скринінг 18 похідних 2-оксоіндоліну продемонстрував, їх ноотропну дію за тестом скополамінової амнезії. Найбільший антиамнестичний ефект чинять чотири сполуки з лабораторними шифрами F, N, D, Q. Сполука-лідер F виявляє антиамнестичну дію в діапазоні доз 0,6-24 мг/кг, покращує всі фази пам'яті, особливо увід і первинну обробку інформації, консолідацію пам'ятного сліду, децю менше – репродукцію. Дана сполука значно перевершує пірацетам та є більш активною за гліцин, γ-аміномасляну кислоту, фенібут. Сполука F чинить також анксиолітичну дію на рівні діазепаму за тестом піднесеного хрестоподібного лабіринту, тобто виявляє транквілоноотропні властивості. Анксиолітична дія сполуки F, на відміну від діазепаму, є анкіоселективною, оскільки не погіршується пам'ять, дослідницька поведінка та координатія рухів.

Ключові слова: похідні 2-оксоіндоліну, скополамінова амнезія, ноотропна дія, анксиолітична дія

Вступ

Стани, що супроводжуються порушенням когнітивних функцій (уваги, пам'яті, мовлення, здатності до аналізу ситуації та прийняття рішення, орієнтації у просторі, праксису), поширюються у сучасному світі [7,9]. Вони суттєво знижують якість життя та збільшують витрати на лікування. Корекція таких порушень є складним завданням. Тому створення нових ноотропних препаратів є одним із пріоритетних напрямків сучасної медицини та фармації. У цьому аспекті можна вважати перспективними похідні 2-оксоіндоліну. Окремі сполуки даного ряду виявляють антигіпоксичні, антиоксидантні, антидепресивні, стреспротективні, мнемоторні, церебропротекторні властивості [1, 2, 4-6].

Мета роботи – провести скринінг зазначених сполук різної будови на ноотропну активність, виявити лідера, з'ясувати дозозалежність його дії, вплив на фази пам'яті та супутні психотропні властивості.

Матеріали та методи

Досліди виконано на 205 безпородних білих мишах-самцях масою 15-20 г відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на

тваринах» (2001). Мишей утримували у стандартних умовах виварію. Похідні 2-оксоіндоліну вводили внутрішньошлунково протягом 3 діб у вигляді суспензії у персиковій олії у дозі 12 мг/кг, яка забезпечує вищезазначені види активності.

Ноотропну (мнемоторну) дію досліджуваних речовин вивчали за тестом умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ) на моделі антероградної амнезії, що викликана скополаміном (1,5 мг/кг) за 30 хв до вироблення УРПУ [3]. Дана модель амнезії зумовлена порушенням холінергічних механізмів пам'яті. Тварин розміщували на освітленій платформі приладу та реєстрували латентний період входу до темної камери, де їх піддавали електрошолювому подразненню через електродну підлогу. Збереження УРПУ перевіряли через 24 год за латентним періодом входу до темної камери. Тварин, які не відвідували її протягом 180 с, вважали такими, що досягли критерію навченості. Скринінг ноотропної активності виконували за впливом на першу фазу формування пам'ятного сліду – увід та первинну обробку інформації, вводячи досліджувані сполуки перед процедурою навчання. Виявляли сполуку-лідера, яку піддавали поглибленому дослідженню (залежність мнемоторного ефекту

* Публікується відповідно до планової НДР НФаУ „Хімічний синтез і аналіз біологічно активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження” (номер держреєстрації 0103U000475)

від дози, вплив на другу й третю фази пам'яті). Останнє завдання розв'язували, змінюючи час введення досліджуваних сполук відносно процедури навчання: відразу після неї (вплив на утримання інформації, тобто консолідацію пам'ятного сліду) та перед відтворенням УРПУ через 24 год (вплив на репродукцію засвоєної інформації).

Антиамнестичну активність сполук оцінювали за модифікованою формулою Butler [5]:

$$AA = [(ЛПд-ЛПск) / (ЛПік-ЛПск)] \times 100\%,$$

де AA – антиамнестична активність, ЛПск і ЛПд – середній латентний період тварин, яким вводили відповідно тільки скополамін і скополамін на тлі досліджуваної сполуки, ЛПік – латентний період інтактного контролю.

Як препарати порівняння на моделі УРПУ використано пірацетам («Дарниця») у дозах 200 мг/кг та 400 мг/кг [6,8], а також субстанції гліцину (3,5 мг/кг), γ -аміномасляної кислоти (4,3 мг/кг) і фенібуту (6 мг/кг). Останні три субстанції обрано на підставі того, що деякі досліджувані похідні 2-оксоіндоліну містять їхні залишки у своїй структурі; наведені дози є еквімолярними.

Спектр супутньої нейро- та психотропної активності субстанції-лідера оцінювали за стандартними тестами: відкритого поля (вплив на локомоторну та дослідницьку активність, вегетативний супровід емоційних реакцій); стрижня, що обертається зі швидкістю 10 об/хв (вплив на м'язовий тонус і координацію рухів, препарат порівняння діазепам – «Реланиум» виробництва «Polfa», Польща, 10 мг/кг), піднесеного хрестоподібного лабіринту (анксіолітична дія, препарат порівняння діазепам, 10 мг/кг), та за іммобілізаційним тестом поведінкового відчаю – підвішування мишей за хвіст (вплив на депресивність, препарат порівняння іміпрамін – «Меліпрамін», «Egis», Угорщина, 25 мг/кг) [3,10].

Результати обробляли статистично за критеріями t Ст'юдента та кутовим перетворенням Фішера.

Результати та їх обговорення

У попередньому досліді на інтактних мишах встановлено, що у них добре формується УРПУ: латентний період входу до темної камери зріс із $17,2 \pm 5,0$ с до $148 \pm 21,1$ с ($p < 0,001$), тобто вони пам'ятали про небезпеку темної камери; критерію навченості досягли 5 тварин із 7 (71,4%). Контроль формування скополамінової амнезії свідчив про її гарну відтворюваність – латентний період входу не змінився (вихідний $7,3 \pm 2,7$ с, через 24 год $7,0 \pm 0,7$ с), жодна тварина не досягла критерію навченості.

Фармакологічний скринінг 18 похідних 2-оксоіндоліну показав, що всі вони виявляють ноотропну дію в дозі 12 мг/кг. Найбільшу антиамнестичну активність ($\geq 100\%$, тобто вище за активність пірацетама в дозі 400 мг/кг та інших субстанцій порівняння в еквімолярних дозах) чинять 4 з них: $F > N > D > Q$. Вони містять залишки амінокислот та їх естерів (табл.1). Лідером є гліцинвмісна сполука з лабораторним шифром F. У цілому найвищу ноотропну дію виявляють саме сполуки, що містять амінокислотні залишки.

Таблиця 1.
Порівняльний вплив похідних 2-оксоіндоліну у дозі 12 мг/кг на пам'ять в умовах моделі антероградної скополамінової амнезії у мишей

Сполуки, що містять залишок амінокислоти	Антиамнестична активність, %	Сполуки, що не містять залишків амінокислот	Антиамнестична активність, %
E	96	P	54
S	87	A	74
F	120	B	76
C	20	O	47
D	104	K	53
H	94	L	69
U	14	M	76
Q	100	J	71
N	111	G	66
Препарати порівняння			
Пірацетам 200 мг/кг	59		
400 мг/кг	99		
Гліцин 3,5 мг/кг	84		
γ -аміномасляна кислота 4,3 мг/кг	22		
Фенібут 6 мг/кг	94		

Для виявлення дозозалежності ноотропної дії сполуки-лідера F досліджено дози 0,6 мг/кг, 12 мг/кг і 24 мг/кг (табл.2). Розрахунок антиамнестичної активності свідчить, що вона становить 110%, 120% та 121% відповідно, тобто майже не змінюється у широкому діапазоні. Висока активність гліцинвмісної сполуки у дозі 0,6 мг/кг дозволяє зробити припущення про можливу пептидергічну ланку механізму ноотропної дії, адже саме пептидергічні механізми чутливі до малих кількостей регуляторних речовин.

Таблиця 2.

Дозозалежність антиамнестичної дії сполуки F та її вплив на фази пам'яті порівняно із пірацетамом на моделі скополамінової амнезії

Показники	Кон- троль амнезії (n=7)	Увід та первинна обробка інформації					Консолідація		Репродукція	
		Пірацетам		Сполука F			Пірацетам	Сполука F	Піраце- там	Сполука F
		200 мг/кг (n=6)	400 мг/кг (n=6)	0,6 мг/кг (n=7)	12 мг/кг (n=7)	24 мг/кг (n=6)				
Латентний період входу до темної камери, с: – вихідний – через 24 години	7,3±2,7 7,0±0,7	17,8±5,5 89,0±30,0*	9,6±3,2 145±31,0*	24,4±4,9 159±22,4*	21,3±5,0 172±8,9*	33,0±7,4 174±4,6*	10,2±3,7 98,0±27,5*	11,8±0,8 172±8,9*^	17,1±5,2 127±33,1*	28,1±6,2 134±28,0*
Кількість мишей, що досягли критерію навченості через 24 години	0 0%	1 16,7%	4 66,7%*#	6 85,7%*##	6 85,7%	4 66,7%	2 33,3%	5 83,3%^	2 33,3%	3 42,9%

Примітка. Статистично значущі відмінності: * – $p < 0,01$ порівняно із групою контролю, # – $p < 0,05$ із групою пірацетаму (200 мг/кг), ## – $p < 0,01$ із групою пірацетаму (200 мг/кг), ^ – $p < 0,05$ із групою пірацетаму (400 мг/кг). У числівнику – абсолютна кількість мишей, що досягли критерію навченості, у знаменнику – %.

Для дослідження впливу сполуки F на фази пам'яті використано дозу 12 мг/кг (референс-препарат пірацетам у найбільш ефективній дозі 400 мг/кг, тобто у 33 рази вищій за дозу сполуки F). Похідне 2-оксоіндоліну чинило найбільший вплив на дві перші фази пам'яті – увід і первинну обробку інформації та консолідацію пам'ятного сліду (табл.2): кількість тварин, що досягли критерію навченості, склала 85,7% та 83,3% відповідно. При дослідженні відтворення інформації цей показник становив 42,6%. За впливом на увід та первинну обробку інформації, а також на її репродукцію сполука F не поступалася пірацетаму, а за впливом на консолідацію пам'яті вірогідно перевершувала його ($p < 0,05$).

У піднесеному хрестоподібному лабіринті сполука F (12 мг/кг) проявила анкіолітичний ефект (табл.3). Значно збільшувався латентний період входу до темного відсіку та загальний час перебування у освітлених відсіках ($p < 0,01$), зменшувалася тривалість перебування у темних відсіках ($p < 0,01$), на 73% зменшувалася кількість фекальних болюсів та уринацій. Аналогічний вплив у даному тесті чинив бензодіазепіновий транквілізатор діазепам. На відміну від діазепаму, дія сполуки F є анкіоселективною, адже вона не супроводжувалась міорелаксацією та порушенням координації рухів у тесті стрижня, що обертається. Навпаки, ці показники дещо покращувались (табл.4).

Таблиця 4.

Порівняльний вплив сполуки F (12 мг/кг) та діазепаму (10 мг/кг) на тонус скелетної мускулатури та координацію рухів за тестом стрижня, що обертається (швидкість 10 об/хв)

Час утримання на стрижні	Сполука F		Діазепам (10 мг/кг)	
	Вихідний контроль (n=7)	Дослід (n=7)	Вихідний контроль (n=7)	Дослід (n=7)
До 30 с	3/43%	0 #	1/14%	5/71%*
До 1 хв	5/71%	0*#	2/28%	5/71%
До 5 хв	5/71%	2/28% #	3/43%	7/100%*
До 10 хв	5/71%	2/28% #	4/57%	7/100%*

Примітка. Статистично значущі відмінності: * – $p < 0,01$ порівняно із групою вихідного контролю, # – $p < 0,05$ порівняно із групою діазепаму.

У тесті підвішування мишей за хвіст сумарний час іммобілізації тварин під впливом сполуки F (12 мг/кг) суттєво не змінювався, тобто вона не редукувала поведінку відчаю. Меліпрамін зменшував час іммобілізації до 63% від рівня інтактного контролю ($p < 0,05$), що підтверджує придатність даного тесту до виявлення антидепресивної активності. Отже, антидепресивних властивостей сполука F за тестом поведінкового відчаю в мишей не виявляє.

У тесті „Відкрите поле” сполука F (12 мг/кг) знижувала горизонтальний компонент локомоторної активності тварин (кількість перетнутих квадратів зменшилась у 1,5 рази, $p < 0,05$), але не порушувала її вертикальний компонент (кількість

стійок) та дослідницьку активність (кількість обстежених отворів). Показники емоційності та вегетативного супроводу (кількість актів грумінгу, фекальних болюсів, уринацій) практично не змінювались.

Таким чином, фармакологічний скринінг ноотропної активності похідних 2-оксоіндоліну свідчить, що всі досліджувані речовини чинять позитивний вплив на пам'ять. Діапазон відомих мнемоторних доз сполуки-лідера (лабораторний шифр F) становить 0,6-24 мг/кг, вона добре впливає на всі три фази пам'яті. За сукупністю встановлених фармакологічних властивостей сполуку F можна вважати анкіоселективним транквілоноотропом, що є цінним і перспектив-

ним поєднанням видів активності. Можливі механізми ноотропної дії пов'язані зі стимулювальним впливом на холінергічні процеси в головному мозку, адже скополамін моделює саме холінергічний дефіцит. Неможна виключити також вплив на пептидергічні рецептори, на користь чого свідчить ноотропна активність сполуки навіть у дуже низькій дозі 0,6 мг/кг і наявність амінокислотного залишку в її структурі.

Висновки

1. 18 похідних 2-оксоіндоліну чинять антиамнестичну дію на моделі скополамінової амнезії за тестом УРПУ. Активність 4 сполук, що містять залишки амінокислот або їх естерів, є найвищою. Лідером є сполука з лабораторним шифром F, мнемотропний ефект якої виявляється у діапазоні доз 0,6-24 г/кг і стосується всіх трьох фаз пам'яті. За ноотропною активністю сполука F перевершує пірацетам, фенібут, гліцин, γ -аміномасляну кислоту.
2. Сполука F чинить анксиолітичну дію на рівні діазепаму за тестом піднесеного хрестоподібного лабіринту. Даний ефект є анкіоселективним, оскільки не погіршується пам'ять, дослідницька поведінка та координація рухів. За сукупністю психотропних властивостей сполуку F можна вважати транквілоноотропом.

Література

1. Луценко Р.В. Пошук біологічно активних речовин зі стрепротективною активністю в ряду нових похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти / Р.В.Луценко, Т.О.Дев'яткина, О.М.Важнича [та ін.] // Вісник фармації. – 2007. – №3 (51). – С.67-69.
2. Луценко Р.В. Дослідження антидепресивної активності похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти в тесті Порсолта / Р.В.Луценко, Т.О. Дев'яткина, А.Г.Сидоренко [та ін.] // Клінічна фармація. – 2009. – №1. – С.47-49.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: ИИА «Ремедиум», 2000. – 398 с.
4. Шевцов І.І. Зв'язок «структура-дія-активність» в ряду похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти / І.І.Шевцов, В.І.Березняков, Е.Л.Торяник [та ін.] // Медична хімія. – 2006. – Т.8, №1. – С.67-71.
5. Штриголь С.Ю. Ноотропні властивості нових похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти / С.Ю.Штриголь, О.О.Стіханий, С.В. Колісник [та ін.] // Вісник фармації. – 2008. – №4 (56). – С.75-77.
6. Штриголь С.Ю. Церебротекторні властивості похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти / С.Ю.Штриголь, О.О.Стіханий, С.В. Колісник [та ін.] // Вісник фармації. – 2008. – №3 (55). – С.60-63.
7. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.– 4th Ed.–Washington: DC, Amer. Psychiatric Association.–1994.
8. Flicker L. Piracetam / Evidence-based Dementia Practice // Ed. by N.Qizilbash et al. – Oxford: Blackwell Publishing. – 2002. – P.546–548.
9. Forette F., Seux M.L., Staessen J.A. et al. Prevention of dementia with antihypertensive treatment: new evidence from the Systolic Hypertension in Europe (SystEur) study // Arch. Intern. Med. – 2002. – 162(18). – 204-652.
10. Porsolt R.D. Behavioral models of depression / R.D.Porsolt, A.Lenegre, J.M.Elliot, D.J.Heal [et al.] // Experimental Approaches to anxiety and depression. – Chichester New York, 1992. – P.73-85.

Резюме

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НООТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ И СОПУТСТВУЮЩИХ ПСИХОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ 2-ОКСОИНДОЛИНА

Шатилов А.В., Штриголь С.Ю., Колесник С.В., Болотов В.В.

Ключевые слова: производные 2-оксоиндолина, скополаминовая амнезия, ноотропное действие, анксиолитическое действие

Фармакологический скрининг 18 производных 2-оксоиндолина продемонстрировал их ноотропное действие в тесте скополаминовой амнезии. Наибольший антиамнестический эффект оказывают четыре соединения с лабораторными шифрами F, N, D, Q. Соединение-лидер F проявляет антиамнестическое действие в диапазоне доз 0,6-24 мг/кг, улучшает все фазы памяти, особенно ввод и первичную обработку информации, консолидацию памятного следа, несколько меньше – репродукцию. Данное соединение значительно превосходит пирацетам и более активно, чем глицин, γ -аминомасляная кислота, фенибут. Соединение F оказывает также анксиолитическое действие на уровне диазепама по тесту возвышенного крестообразного лабиринта, т.е. проявляет транквилоноотропные свойства. Анксиолитическое действие соединения F, в отличие от диазепама, анксиоселективно, поскольку не ухудшается память, исследовательское поведение и координация движений.

Summary

PRECLINICAL STUDY OF NOOTROPIC ACTION AND CONCOMITANT PSYCHOTROPIC PROPERTIES OF 2-OXOINDOLINE DERIVATIVES

Shatilov O.V., Shtrygol' S.Yu., Kolesnik S.V., Bolotov V.V.

Key words: 2-oxoindoline derivatives, scopolamine-induced amnesia, nootropic action, anxiolytic action

Pharmacological screening of 18 of 2-oxoindoline derivatives has displayed their nootropic action according to the test of scopolamine-induced amnesia. The most anti-amnesic action has been shown by 4 compounds (laboratory cyphered as N, F, Q, D). The leading compound F has shown anti-amnesic action in 0,6-24 mg/kg dosage range, improved all phases of memorization, information input and information pre-processing along with memorization track consolidation. Less can be said as to the reproduction. Given compound considerably excels piracetam being more active than gamma aminobutyric acid, glycine and phenybut. Compound F has shown anxiolytic action at diazepam level (according to the elevated plus maze test) as well, i.e. has shown tranqilonootropic properties. Compound F has demonstrated anxiolitelective action as far as memory impairment, exploratory behavior, and coordination of movements are not seen as opposed to diazepam.

УДК 616-092;616-001;611.08;615.036

ТРАВМАТИЧНЕ УШКОДЖЕННЯ МОЗКУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТУ: ХАРАКТЕРИСТИКА МОДЕЛІ

Щербаков Т.В., Мироненко Т.В.

Луганський державний медичний університет

Наведені дані експериментальних досліджень з вивчення особливостей моделі механічної черепно-мозкової травми (ЧМТ). При цьому вивчали динаміку зміни рухової активності, вираженість емоційної, агресивної та стереотипної поведінки. Показано, що за вказаних умов у щурів відбувається виражена зміна досліджуваних типів поведінки протягом 35 діб післятравматичного періоду, яка характеризується зменшенням показників горизонтальної та вертикальної рухової активності щурів в тесті «відкрите поле», пригніченням емоційної та стереотипної поведінки. За дослідних умов спричиняється підсилення вираженості агресивно-захисної поведінки. Окрім цього, було виявлено розвиток спонтанних судом в тварин упродовж післятравматичного періоду. Робиться висновок про те, що модель механічної ЧМТ за виявленими поведінковими порушеннями є адекватною відповідному клінічному стану, за умов якої в подальшому доцільно досліджувати патофізіологічні механізми розвитку вказаної патології з метою розробки комплексних методів патогенетично обґрунтованого лікування травматичного ураження мозку або профілактики індукованого ЧМТ судомного синдрому.

Ключові слова: черепно-мозкова травма, рухова активність, емоційна поведінка, агресивна поведінка, спонтанні судоми, патофізіологічні механізми.

Вступ

Проблема травматизму за останні роки набула соціальної значущості, що обумовлено переважним ураженням осіб працездатного віку – від 20 до 49 років [1-5]. За даними ВООЗ, впродовж останніх 20 років показники смертності через травматизм у світі займають третє місце та перше – серед осіб молодого віку [6]. В загальній структурі травматизму найчастіше уражується череп та головний мозок [7]. Черепно-мозкова травма (ЧМТ) є одним із найчастіших уражень головного мозку. Щорічно в світі від ЧМТ гине 1,5 млн осіб, інвалідами стають 2,4 млн [3, 5, 6, 8]. Ураження головного мозку є одними із головних причин смертності та інвалідизації населення України. Високі статистичні показники черепно-мозгового травматизму [1-3], висока летальність та показники інвалідизації постраждалих [2, 6, 9], суттєве зростання випадків нейротравми [7, 10, 11], зміна соціального складу постраждалих та невісті дані довгострокових прогнозів надають проблемі травматизму пріоритетного значення [1, 4, 12]. Отже, актуальними постають завдання підвищення ефективності надання спеціалізованої медичної допомоги пацієнтам із ЧМТ, для чого необхідними є першочергові фундаментальні дослідження, спрямовані на вивчення патофізіологічних механізмів розвитку травматичного ушкодження мозку. Небезпечними при цьому є два чинники: безпосередня ЧМТ, а також індуковані нею комплексні патофізіологічні, морфологічні та патохімічні процеси, які в головному мозку та в організмі в цілому спричиняють розвиток дизрегуляторних процесів в ЦНС [6, 7, 9, 11, 12]. Зважаючи на це, актуальним завданням постає експериментальне дослідження патофізіологічних механізмів ЧМТ з розробкою на підставі виявлених даних нових вдосконалених схем та методів лікування вказаної патології. Виходячи із загальнотеоретичних положень, такі

досліди повинні бути проведені із застосуванням адекватної моделі ЧМТ [13]. Метою роботи було дослідження адекватності експериментальної моделі травматичної ЧМТ відповідному клінічному стану.

Матеріал та методи дослідження.

Досліди були проведені за умов хронічного експерименту на щурах-самцях лінії Вістар масою від 170 до 220 г. Щурів містили у стаціонарних умовах з природною 12-год зміною світла та темряви, вологістю 60% і температурою $22 \pm 1^\circ\text{C}$. З експериментальними тваринами працювали дотримуючись загальноприйнятих вимог по проведенню лабораторних та інших дослідів з участю тварин. За 3 доби до початку дослідів тварин утримували в пластикових експериментальних боксах з метою якомога скорішої адаптації та починали привчати до рук дослідників [14]. Теперішню роботу було ухвалено комісією ЛДМУ з біоетики проведення експериментальних досліджень.

ЧМТ у щурів відтворювали шляхом впливу падаючого груза масою 50 г з висоти 50 см на потилично-тім'яну частину черепа щура, якого в умовах ефірного рауш-наркозу фіксували таким чином, що траєкторія падіння вантажу була перпендикулярною до поверхні черепа тварини [15]. Ударна площа при цьому становила приблизно $3,5 \text{ см}^2$. Після цього тварин досліджували впродовж 60 діб, причому протягом перших 28 діб ретельно досліджували поведінку щурів. Рухову та дослідницьку активність тварин оцінювали в тесті «відкритого поля», визначаючи кількість пересічених квадратів, утримань вертикальних стійок та зазирань в отвори у підлозі [16]. Оцінювали також наявність стереотипних компонентів поведінки [17]. Вираженість агресивно-захисної поведінки (АЗП) визначали за характером поведінкової відповіді щурів при намаганні

* Робота виконана в межах НДР кафедри неврології Луганського державного медичного університету "Динаміка нейроветеринарних розладів у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС в резидуальному періоді" (№ держреєстрації 0106V001145).

взяти їх у долоні та виражали в балах за шкалою, що було запропоновано в роботі [18]. У щурів реєстрували розвиток спонтанних судом, оцінюючи їх інтенсивність та латентний період виникнення. Контрольні досліди проводили з використанням ложнотравмованих щурів. Вказані вище типи поведінку тварин реєстрували через 1, 7, 14, 21, 28 та 35 діб з моменту відтворення ЧМТ з послідовним аналізом та оцінкою поведінки кожного щура.

Отримані дані обчислювали статистично із застосуванням параметричних та непараметричних критеріїв. $P < 0.05$ обирали як критерій вірогідності.

Результати та їх обговорення

Псевдотравмовані щури пересікали в середньому 20-24 квадрати, демонстрували в серед-

ньому 4-5 вертикальних стійок та 2-3 рази зазирали до отворів в підлозі «відкритого поля» впродовж 2 хв. У тварин, які перенесли ЧМТ, через 1 добу з моменту її нанесення відзначалося більш ніж дворазове зниження числа пересічених квадратів порівняно з групою контролю ($P < 0,001$) (таблиця 1). За таких умов відзначається також триразове зменшення числа вертикальних стійок та чотириразове зменшення числа зазирань до отворів в підлозі «відкритого поля» порівняно з аналогічними даними в контрольних дослідах ($P < 0,001$). В таблиці 1 можна простежити, що суттєве зменшення рухової горизонтальної та вертикальної активності у щурів після механічної ЧМТ тривало впродовж 35 діб від моменту її нанесення ($P < 0,05$).

Таблиця

Вплив ЧМТ на динаміку зміни показників рухової активності щурів в тесті «відкрите поле»

Групи тварин	Число пересічених квадратів	Число вертикальних стійок	Число зазирань у отвори підлоги
1-а доба після ЧМТ			
Контроль, n=9	22.2±2.4	4.5±0.6	2.24±0.23
ЧМТ, n=15	8.8±1.5***	1.5±0.3***	0.50±0.05***
7-а доба після ЧМТ			
Контроль, n=9	20.9±3.4	3.9±0.6	3.02±0.38
ЧМТ, n=15	8.7±1.4***	1.2±0.3***	0.60±0.06***
14-а доба після ЧМТ			
Контроль, n=9	21.8±2.7	3.8±0.5	2.86±0.34
ЧМТ, n=14	9.4±1.4**	1.1±0.2***	0.57±0.07***
21-а доба після ЧМТ			
Контроль, n=9	20.8±3.1	3.9±0.4	2.96±0.27
ЧМТ, n=14	9.9±1.4**	1.0±0.2***	0.88±0.09***
28-а доба після ЧМТ			
Контроль, n=9	20.9±3.1	3.9±0.7	3.03±0.41
ЧМТ, n=14	10.3±1.4**	1.4±0.5**	1.18±0.12***
35-а доба після ЧМТ			
Контроль, n=9	21.3±2.4	4.0±0.4	3.00±0.40
ЧМТ, n=14	12.6±1.4**	1.7±0.6*	1.48±0.12**

Примітки: * - $P < 0.05$, ** - $P < 0.01$ і *** - $P < 0.001$ – вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з відповідними у ложнотравмованих щурів (статистичний критерій ANOVA).

Через 1 добу після нанесення механічної ЧМТ в щурів в 3 та 2. 5 рази зменшилися показники грумінга (стереотипна поведінка) та дефекації порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях ($P < 0,01$; Рис. 1). В подальшому суттєві розбіжності досліджуваних показників емоційної поведінки в травмованих щурів зберіглися до 21 доби досліду ($P < 0,01$), після чого суттєвої вірогідності до кінця спостережень (до 35 доби) набували лише показники грумінга ($P < 0,05$).

Травмовані щури демонстрували також розлади АОП – вже за 24 години з моменту відтворення ЧМТ вираженість АЗП в них дорівнювала 4 балам, що значно перевищувало відповідні контрольні показники ($P < 0,05$; Рис. 2). Щури агресивно реагували на наближаючи долоню дослідника та намагалися вкусити впродовж 21 доби після нанесення ЧМТ ($P < 0,05$), після чого показники їх АЗП не відрізнялися від такої в контрольних спостереженнях.

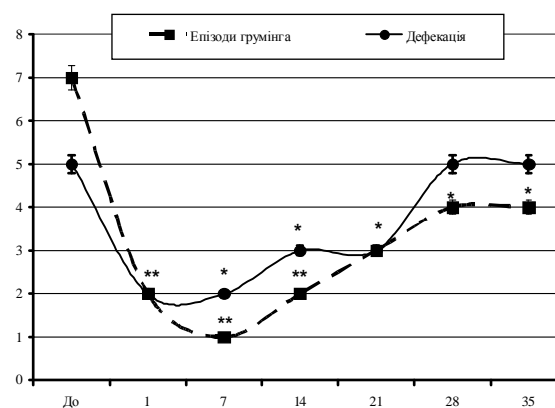


Рис. 1. Вплив ЧМТ на динаміку зміни показників емоційної поведінки в щурів.

Позначення: за віссю абсцис – доби з моменту відтворення ЧМТ. За віссю ординат – абсолютні дані, вираженість досліджуваних показників

Примітки: * - $P < 0.05$ і ** - $P < 0.01$ – вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з відповідними до відтворення ЧМТ (статистичний критерій ANOVA).

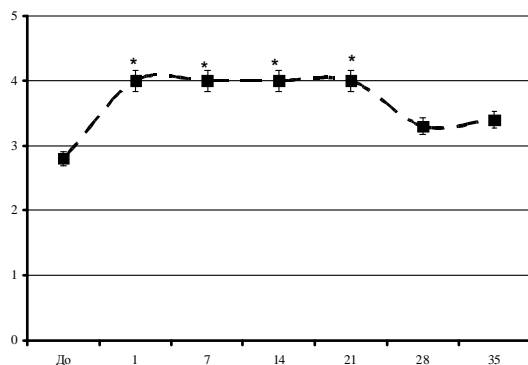


Рис. 2. Вплив ЧМТ на динаміку зміни показників агресивно-захисної поведінки в щурів.

Позначення: за віссю абсцис – доби з моменту відтворення ЧМТ.

За віссю ординат – абсолютні дані, вираженість досліджуваних показників

Примітки: * - $P < 0.05$ – вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з відповідними до відтворення ЧМТ (статистичний критерій ANOVA).

Через 52-57 діб в середньому у 6 щурів із 32 були зареєстровані спонтанні клонічні скорочення м'язів передніх та задніх кінцівок, які за загальноприйнятою шкалою оцінки судом прирівнюються до судом інтенсивністю в 2 бали. Спонтанні судоми мали тривалість в середньому не більше 70-90 сек, епізоди їх виникнення варіювали від 1 у 1 щура до 4-5 на добу – в решті щурів. Загалом ми реєстрували спонтанні судоми в щурів впритул до 64 доби після відтворення механічної ЧМТ.

Таким чином, проведені дослідження та отримані дані свідчать про те, що у щурів після нанесення їм механічної травми до потиличної ділянки розвився комплекс поведінкових порушень, які проявлялися наступним чином. В щурів відзначалося суттєве зменшення показників вертикальної та горизонтальної рухової активності в тесті «відкрите поле». В щурів із ЧМТ суттєво пригнічувалася емоційна поведінка, а також зростала вираженість АЗП. Всі досліджувані порушення поведінки тривали впродовж якнайменше 35 діб, що є нагадує аналогічний клінічний стан. Окрім цього, важливо відзначити ми вважаємо факт розвитку спонтанних судом в щурів через 52-57 діб після нанесення травматичного ушкодження головного мозку. Слід зазначити, що отримані дані узгоджуються з відповідними клінічними результатами, що свідчить про високу клінічну адекватність обраної нами моделі ЧМТ. Іншою позитивною рисою на користь експериментальної моделі ЧМТ, яку ми обрали, є незначна летальність, яка за наших умов становила 3%.

Висновки

1. У щурів після механічної ЧМТ розвивається комплекс поведінкових порушень, які характеризуються принаймні зменшенням показників горизонтальної та вертикальної рухової активності щурів в тесті «відкрите поле», пригніченням

емоційної та стереотипної поведінки.

2. За дослідних умов спричиняється підсилення вираженості агресивно-захисної поведінки.

3. Всі виявлені порушення поведінки тривали впродовж якнайменше 35 діб.

4. В щурів протягом посттравматичного періоду розвиваються спонтанні відстрочені судоми.

5. Модель механічної ЧМТ за летальністю тварин та виявленими поведінковими порушеннями є адекватною відповідному клінічному стану, за умов якої в подальшому доцільно досліджувати патофізіологічні механізми розвитку вказаної патології з метою розробки комплексних методів патогенетично обґрунтованого лікування травматичного ураження мозку або профілактики індукованого ЧМТ судомного синдрому.

Література

1. Курако Ю.Л. Легкая закрытая черепно-мозговая травма / Ю.Л. Курако, В.В. Букина. – Киев : Здоров'я, 1989. – 136 с.
2. Лихтерман Л.Б. Клиническая классификация и концептуальные подходы к лечению последствий ЧМТ / Л.Б. Лихтерман, А.А. Потапов, А.Д. Кравчук [и др.] // Журн. вопр. нейрохир. – 1999. – №3. – С. 3-6.
3. Макаров А.Ю. Последствия ЧМТ и их классификация / А.Ю. Макаров // Неврол. журн. – 2001. – Т.6, №2. – С. 38-42.
4. Никифоров А.С. Клиническая неврология / А.С. Никифоров, А.Н. Коновалов, Е.И. Гусев. – [Учебник. В 3 томах]. – Т. II. – М. : Медицина, 2002. – 792 с.
5. Bullock R. Head injuries-surgical management: Traumatic intracranial hematomas / R. Bullock, G.M. Teasdale // R. Brakman (Ed.) Vinken and Bruyn's Handbook of Clinical Neurology, Head Injury. - Vol. 24. – Amsterdam : Elsevier, 1991. – P. 249-298.
6. Карахан В.Б. Травматические поражения центральной нервной системы / В.Б. Карахан, В.В. Крылов, В.В. Лебедев // Н.Н. Яхно, Д.Р. Штульман (ред.) Болезни нервной системы. – М. : Медицина, 2001. – 744 с.
7. Курако Ю.Л. Морфофункциональные соотношения в патогенезе сотрясения головного мозга / Ю.Л. Курако, В.В. Букина, А.В. Перькова // Неврология и психиатрия. – Киев : Здоров'я, 1989. – С. 9-11.
8. McIntosh T.K. Novel pharmacologic therapies in the treatment of experimental traumatic brain injury: a review / T.K. McIntosh // J. Neurotrauma. – 1993. – Vol.10. – P. 215-261.
9. Мякотных В.С. Клинические, патофизиологические и морфологические аспекты отдаленного периода закрытой ЧМТ / В.С. Мякотных, Н.З. Тачанкина, Т.А. Боровкова // Журн. неврол. психиатр. им. Корсакова. – 2002. – Т.102, №4. – С. 61-65.
10. Babb T.L. Metabolic, morphologic and electrophysiologic profiles of human temporal lobe foci: An attempt at correlation / T.L. Babb // Adv. Exp. Med. Biol. – 1986. – Vol.203. – P. 115-125.
11. Gaetz M. The neurophysiology of brain injury / M. Gaetz // Clin. Neurophysiol. – 2004. – Vol.115. – P. 4-18.
12. Травматическая болезнь / Под ред. И.И. Дерябина, О.С. Насонкина – Л. : Медицина, 1987. – 304 с.
13. Morales D.M. Experimental models of traumatic brain injury: Do we really need to build a better mousetrap? / D.M. Morales, N. Marklund, D. Lebold [et al.] // Neurosci. – 2005. – Vol.136. – P. 971-989.
14. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – 400 с.
15. Finnie J. Animal models of traumatic brain injury: a review / J. Finnie // Aust. Vet. J. – 2001. – Vol.79, №9. – P. 628-633.
16. Александрова Ж.Г. Индивидуальные особенности поведения, обучения и адаптации крыс к экстремальным воздействиям / Ж.Г. Александрова, Н.Б. Суворов, Ю.Н.

- Шалин [и др.] // Физиол. ж. СССР – 1984. – Т.70, №9. – С. 1294-1300.
17. Ree J.M. Behavioral approach to the study of the brain / J.M. Ree, D. de Weid // Discuss. Neurol. – 1988. – Vol.5, N1. – P. 1-60.
18. Post R.M. The effect of amygdala kindling on spontaneous and cocaine-induced motor activity and lidocaine seizures / R.M. Post, K.M. Squillace, A. Pert [et al.] // Psychopharmacol. (Berl). - 1981. - Vol.72, №2. - P. 189-196.

Реферат

ТРАВМАТИЧЕСКОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ: ХАРАКТЕРИСТИКА МОДЕЛИ

Щербakov Т.В., Мироненко Т.В.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, двигательная активность, эмоциональное поведение, агрессивное поведение, спонтанные судороги, патофизиологические механизмы.

Представлены данные экспериментальных исследований по изучению особенностей модели механической черепно-мозговой травмы (ЧМТ). При этом исследовали динамику изменений двигательной активности, выраженность эмоционального, агрессивного и стереотипного поведения. Показано, что в данных условиях у крыс существенным образом изменяется выраженность исследованных типов поведения в течение 35 дней посттравматического периода, что характеризуется снижением показателей горизонтальной та вертикальной двигательной активности крыс в тесте «открытое поле», угнетением эмоционального и стереотипного поведения. При этом усиливается выраженность агрессивно-оборонительного поведения. Кроме того, в течение посттравматического периода у части крыс было отмечено развитие спонтанных судорог. Авторы делают вывод о том, что модель механической ЧМТ по выявленным нарушениям поведения является адекватной соответствующему клиническому состоянию, в условиях которой в дальнейшем целесообразно исследовать патофизиологические механизмы развития указанной патологии с целью разработки комплексных методов патогенетически обоснованного лечения травматического повреждения мозга или профилактики вызванного ЧМТ судорожного синдрома.

Summary

EXPERIMENTAL BRAIN TRAUMATIC INJURY: CHARACTERISTIC OF MODEL

Shcherbakov T.V., Mironenko T.V.

Key words: brain trauma, motor activity, emotional behavior, aggressive behavior, spontaneous seizures, pathophysiological mechanisms.

The paper represents the experimental data referring to the mechanical brain trauma (BT) peculiarities. Motor activity, emotional, aggressive and stereotype behavior dynamic throughout the 35 days of posttraumatic period was studied. It has been shown that under these conditions the rats dramatically changed the intensity of the above mentioned behavioral types for the 35 days of post-traumatic period that characterized by "open field" horizontal and vertical motor activity indexes decrease, both emotional and stereotype behavior suppression. This coincides with the aggressive behavior increase. Moreover during this period some rats demonstrates the occurrence of spontaneous convulsions. The authors have concluded that mechanical BT model is relevant to clinical condition that allows to investigate its pathophysiological mechanisms aiming to elaborate new schemes of pathogenetically proved treatment of brain injuries and the BT-induced spontaneous seizures prevention.

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

УДК-618.14-08

СУЧАСНІ АСПЕКТИ ЛІКУВАННЯ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЮ

Громова А.М., Тарановська О.О., Афанасьєва О.Є.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

В статті приведені дані про ефективність АгнРГ в лікуванні гіперпластичних процесів ендометрію. Запропонована схема комплексного лікування із застосуванням препарату Люкрин-депо, що дозволяє зменшити ризик рецидивування патології та мінімізує необхідність застосування оперативного лікування.

Ключові слова: гіперплазія ендометрія, агоністи гонадотропін-релізінг-гормонів, Люкри-депо.

Гіперплазія ендометрію (ГЕ) є основою для формування злоякісних пухлин. За останні 10 років частота цієї патології зросла з 2,1% до 3,8%; у жінок пізнього репродуктивного і пременопаузального віку сягає 16-46% [2,5]. Частота злоякісного переродження ГЕ коливається в межах 0,25-50% і визначається тривалістю захворювання, віком пацієнтки, наявністю екстрагенітальної патології [6].

ГЕ поділяється на залозисту ГЕ, що включає кістозну, залозисто-кістозну та поліпоїдну форму, та аденоматозну ГЕ. Бохман Я.В. [1] розцінює залозисто-кістозну ГЕ як фоновий процес для раку ендометрію, а аденоматозні форми вважає передраковими і зауважує, що в 40% випадків атипова ГЕ протягом від 1 до 13 років переходить в аденокарциному. Сметнік В.П., Тумілович Л. Г. відмічають, що ризик аденокарциноми при неатиповій ГЕ складає 4%, на фоні атипової ГЕ – від 14-30% [5].

Механізми регуляції проліферативної активності ендометрія є складною взаємодією гормональних та негормональних факторів [1,5,6]. Ведучу роль в генезі ГЕ відіграє абсолютна або відносна гіперестрогенія. Патогенетична її роль доведена багатьма експериментальними дослідженнями. Н.М.Побединський, І.В. Кузнєцова [3] зауважують, що для розвитку простої ГЕ гіперестрогенія є необхідною та достатньою умовою, в той час як для розвитку атипової ГЕ гіперестрогенія є важливою, але недостатньою умовою. Щодо можливої ролі гіперестрогенної стимуляції у виникненні поліпів ендометрію, то згідно досліджень В.С.Аблакулової поліпи ендометрію розвиваються на фоні гормональних співвідношень, притаманних 2-фазному менструальному циклу з повноцінною лютеїновою фазою. Тобто, етіопатогенез ГЕ неможливо пояснити тільки з гіперестрогенної стимуляції.

Останнім часом доведено, що в регуляції клітинної проліферації беруть участь не лише естрогени, але й біологічні аміни, що виробляються клітинами так званої дифузної ендокринної системи – АПУД-системи. В злоякісних нейроендокринних пухлинах різної локалізації, враховуючи ендометрій, констатовано багаторазове збільшення їх концентрації [7]. До продуктів апудоцитів відносять і простагландини [8]. Доведено, що надлишок простагландинів відіграє важливу роль в імунному балансі між пухлиною та організмом, оскільки не тільки пригнічують ріст пухлини, але й обумовлюють супресію імунітету. О.В.Хайт на пряму зв'язує ГЕ з порушенням імунітету, оскільки ГЕ супроводжується зниженням коефіцієнту хелперів/супресорів і функціональної активності нейтрофілів. При цьому однією з імовірних причин імунного дисбалансу є інфекційно-запальний процес слизової оболонки матки, обумовлений хронічною персистенцією того чи іншого інфекційного агента [9].

Деякі автори розглядають ГЕ як стан, при якому інгібована як проліферація, так і апоптоз, оскільки тканинний гомеостаз в ендометрію забезпечується програмованим помиранням клітин [6]. Ще одним новітнім напрямком є дослідження, що свідчать про генетичну детерміновану схильність організму до розвитку ГЕ. Технологія діагностики на основі експресійних ДНК-біочипів є на сьогодні основним інструментом пошуку у масштабах генома діагностичних генних маркерів ГЕ, розробки на їх основі методів ранньої діагностики та лікування [2]. Таким чином, сучасні погляди на патогенез ГЕ не обмежуються «традиційними» концепціями «гіперестрогенії». В постійному пошуку оновлюються уявлення про роль того чи іншого фактора, а висока ступінь розповсюдженості, та ризик передраку і раку ендометрія – усе це обумовлює актуальність

данної проблеми, вимагає детального вивчення різних патогенетичних ланок, та розробки нових методик лікування. [2,4]. Метою нашої роботи стало вивчення ефективності комплексного лікування ГЕ з використанням АГРГ після попередньо проведеної протизапальної терапії.

Матеріали та методи

Нами було обстежено 40 жінок репродуктивного віку (від 28 до 45 років, в середньому 36,3,2 роки), що знаходилися на лікуванні в гінекологічному відділенні ПМКПБ з приводу гіперплазії ендометрію. Ведучим симптомом при поступленні до відділення всі вони мали порушення менструального циклу переважно по типу гіперполіменореї, дисфункційних маткових кровотеч, між менструальних кров'янистих виділень. Для уточнення діагнозу усім жінкам проводилось детальне обстеження, що включало в себе лікувально-діагностичне вишкрібання матки з послідуючою гістологією вишкребу, цитологія аспірату матки, гормональний скринінг. Усіх жінкам в динаміці (до лікувально-діагностичного вишкрібання, після 3 та 6 місяців лікування) проводилося УЗД. Про наявність ГЕ судили при збільшенні М-еха більше $15 \pm 0,4$ мм. Окрім того, визначали ендометріально-матковий коефіцієнт, значення якого при ГЕ перевищували 0,3.

Результати та їх обговорення

Нами було з'ясовано, що переважна більшість жінок мали прояви ГЕ на фоні інших дисгормональних станів. Так, найчастіше серед обстежених були діагностовано первинні та вторинні форми непліддя (26%), 22,5% обстежених мали недостатність лютеїнової фази, підтверджену гормональним профілем та тестами функціональної діагностики, у 18% жінок був виявлений склерополікістоз яєчників. Ще 12% мали поєднання ГЕ з фіброміомою матки.

За допомогою гістологічного дослідження вишкрібів з матки у 24 жінок (60%) була виявлена залізисто-кістозна ГЕ. У 9 жінок (22,5%) на фоні залізисто-кістозної ГЕ мали місце запальні явища у вигляді набряку строми та лейкоцитарної інфільтрації. У 5 жінок (12,5%) гістологічно виявлена атипова ГЕ з такими ж запальними змінами, ще у 2 – аденокарцинома. З приводу аденокарциноми жінки підлягали оперативному лікуванню, тож з подальшого дослідження були виключені.

Звертає на себе увагу той факт, що майже в 35% вишкрібів явища ГЕ поєднувалися із запальним компонентом. Це спонукало нас до лабораторного виключення інфекції в зразках тканин ендометрію, вилученого під час вишкрібання матки. За допомогою полімеразноланцюгової реакції, бакпосівів та мікроскопії нами було з'ясовано структура збудників у обстежених хворих. Найпоширенішими серед них були *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, їх частка становила 47,6%. *Candida albi-*

cans була виявлена у 24,7% вишкрібів, *Gardnerella vaginalis* у 17%, *Enterococcus faecalis* у 10%. Частота асоціацій збудників досягала 38%. Враховуючи це було вирішено розпочати лікування ГЕ з призначення протизапальної терапії з урахуванням збудника та його чутливості до антибіотиків. Після цього призначався 6-місячний курс гормональної терапії, направлений на пригнічення системи яєчники-ендометрій. Використовували агоніст ГнРГ (АГнРГ) – препарат лейропроліду ацетату – люкрин-депо, який вводився в дозі 3,75 мг підшкірно чи внутрішньом'язово один раз на місяць.

Як відомо, механізм впливу АГнРГ полягає в блокаді рецепторів ЛГ та ФСГ та виключенні гонадотропінсинтезуючої функції гіпофізу. Їх дія при тривалому використанні реалізується в 2 етапи. Спочатку відбувається короточасна стимуляція рецепторів ЛГ та ФСГ з наростанням їх секреції, що опосередковує збільшення синтезу естрадіолу в яєчниках. В послідуючому відбувається тривала десенсибілізація гіпофіза, блокада рецепторів ЛГ та ФСГ, гальмування виділення гонадотропінів та зменшення утворення естрадіолу до постменопаузального рівня. Відновлення функції усієї гіпоталамо-гіпофізарно-яєчничкової системи в репродуктивному віці відбувається через 14-121 день після відміни препаратів. Враховуючи це, з метою зменшення вірогідності рецидиву після лікування АГнРГ, ми призначали гестагени. Жінкам вводилася гестаген-місна внутрішньоматкова система «Мірена». Контроль лікування проводився за допомогою УЗД товщини ендометрію через 3 та 6 місяців лікування. Окрім того, через 3 місяця від початку введення АГнРГ проводили аспірацію ендометрію з послідуючим цитологічним скринінгом аспірату. Через 6 місяців (після проведення лікування АГнРГ) проводили контрольне гістологічне дослідження повного вишкребу слизової матки.

Через 3 місяці після початку введення АГнРГ ефективність лікування становила 57,3% - 21 жінка з 38, що підлягали лікуванню не мали ознак ГЕ в аспіраті з матки. З них по 20 пацієнток продовжили призначений 6 – місячний курс лікування, а 11 – з різних причин були вимушені перервати прийом АГнРГ. Останнім в подальшому лікування проводилося шляхом призначення дюфастону по 20 мг 2 рази щодобово безперервному режимі. Така терапія була ефективною у 81,8 % хворих (9 жінок), 2 жінкам в результаті неефективності гормональної терапії було проведено оперативне лікування. З 27 жінок, що отримали 6-місячний курс Люкрин-депо, повного виліковування було досягнуто у 92,5% випадків (27 пацієнток). З метою попередження рецидиву захворювання після проведеного лікування усім пацієнткам було введено внутрішньоматкову левоноргестрел-систему «Мірена». 2 жінкам, лікування АГнРГ у яких виявилось неефективним, проведена гістеректомія.

Висновки

Ефективність АГнРГ, а саме препарату Люкрин-депо, у лікуванні ГЕ є досить високою і становить 92,5 % при 6-місячному курсі лікування. При 3-місячному використанні ефект лікування становить 57,3%, однак послідовний перехід на прийом протягом гестагенних препаратів (наприклад, дюфастону) дає змогу потенціювати його до 81,8 % після 6 місяців прийому.

Висока частота запальних змін в гіперплазованому ендометрії, а також спектр збудників, виявлених при мікробіологічному дослідженні тканин ендометрію, свідчать про суттєву роль хронічного запального процесу у виникненні ГЕ та диктують необхідність проведення протизапального лікування як попереднього етапу перед призначенням гормонотерапії.

Комплексне трьохетапне лікування, що включає в себе протизапальні засоби, призначення 6-місячного курсу гормонотерапії АГнРГ та послідовне застосування гестагенів шляхом введення внутрішньоматкової системи «Мірена» дає змогу суттєво підвищити ефективність лікування ГЕ, зменшує ризик рецидиву патології та дозволяє мінімізувати необхідність застосування оперативного лікування.

Література

1. Бохман Я. В. // Руководство по онкогинекологии. М., 1989. С. 275-290.
2. Дубиніна В.Г., Доменюк В.П., Вербицька Т.Г. та ін. // Ідентифікація нових генів-маркерів раку ендометрію на підставі поліморфізму ISSR-регіонів ДНК. // Педіатрія, акушерство та гінекологія – 2007 - №1 - С. 97-99.
3. Побединський Н.М., Кузнецова И.В., Томілова М.В. // Развитие гиперпластических процессов эндометрия при хронической ановуляции. // Акушерство и гинекология – 2007 - №1 – С. 30 – 34.
4. Родкіна Р.А., Давідян Л.Ю., Богдасаров Л.С., Целкович Л.С., Целкович Р.Б. // Сравнительная эффективность комплексной терапии гиперпластических процессов эндометрия у больных с различной техногенной нагрузкой среды проживания // Акушерство. и гинекология – 2002 - №1 – С. 52-54.
5. Сметник В. П., Тумилович Л.Г. // Неоперативная гинекология. М., 2003. С. 263-278.
6. Сухих Г. Т., Чернуха Г. Є., Сметнік В. П. и др. // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 5. – С. 25-29.
7. Abramovich DR, Amso N, Cullimore J, Parker M. // Uterine balloon therapy under local analgesia: is it the way forward. // World Congress of Gynecology and Obstetrics, Copenhagen., 1997. P. 22.
8. Hamou J. // Hysteroscopic and resectoscopic myomectomy. // Endoscopy in the diagnosis and treatment of uterine pathology. – 1997. P. 77.
9. Pepper J, Dewart PJ, Oyesanya OA. // Altered uterine artery blood flow impedance after danazol therapy: possible mode of action in dysfunctional uterine bleeding. // Fertil Steril – 1999 – #72 – P. 66–70.

Реферат

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, агонисты гонадотропин-релизинг-гормонов, Люкрин-депо

Громова А.М., Тарановская Е.А., Афанасьева Е.Е.

В статье приведены данные об эффективности АГнРГ в лечении гиперпластических процессов эндометрия. Предложена схема комплексного лечения с применением препарата Люкрин-депо, позволяющая уменьшить риск рецидивирования патологии и минимизировать необходимость применения оперативного лечения.

Summary

CONTEMPORARY ASPECTS OF TREATMENT OF ENDOMETRIAL HYPERPLASIA

Gromova A., Taranovskaya E., Afanasyeva E.

Key word: endometrial hyperplasia, gonadotrophin-releasing-hormone antagonists, Lucrin-depot.

The paper represents the data on the effectiveness of gonadotrophin-releasing-hormone antagonists in the therapy of endometrial hyperplasia processes in women of reproductive age. We elaborated the scheme of complex therapy including Lucrin-depot (gonadotrophin-releasing-hormone antagonist) that allows to reduce the risk of relapse and to minimize the necessity in surgery.

УДК [616-089:616.94]-085.33

ФАРМАКОЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗБУДНИКІВ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНОЇ ІНФЕКЦІЇ ХІРУРГІЧНИХ ВІДДІЛЕНЬ ЗАГАЛЬНОГО ПРОФІЛЮ**Должковий С.В.**

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

В роботі проведено аналіз мікробного спектру та антибіотикочутливості флори первинного та вторинного бактеріального пасажу двох хірургічних відділень загального профілю. Незважаючи на спільність змін складу флори в динаміці бактеріального пасажу хірургічних відділень обох лікарень, у вторинному бактеріальному пасажі відмічаються значні розбіжності в антибіотикочутливості мікроорганізмів.

Ключові слова: бактеріальний пасаж, антибіотикограма, антибіотики резистентність, збудник гнійно-запальної інфекції.

Антибактеріальна терапія є невід'ємною частиною лікування хірургічних інфекцій. Тактика вибору антибіотиків визначається реальним клінічним завданням, вірогідною етіологією збудника, тяжкістю стану пацієнта [1].

В зв'язку з широким використанням різноманітних антибактеріальних препаратів змінюються властивості мікроорганізмів. Завдяки значній здатності до пристосування у них збільшується вірулентність та знижується чутливість до хіміо-терапевтичних препаратів [2].

У випадку призначення неадекватної «стартової» емпіричної терапії відбувається значного збільшення часу перебування хворих у стаціонарі та селекція полірезистентних штамів мікроорганізмів, виникають також додаткові витрати на лікування, адже 50-60% відсотків витрат на медикаменти припадає на антибактеріальні препарати [3,4]. Тому формування мікроорганізмами-збудниками інфекційних захворювань стійкості до антибактеріальних препаратів є одним з провідних факторів, що значно зменшують ефективність даної групи лікарських засобів. Слід зазначити, що спектр чутливості мікрофлори має і суттєві відмінності у різних географічних регіонах [5].

Завдяки цьому вивчення фармакоепідеміології флори первинного та вторинного бактеріального пасажу (БП) є актуальним.

Мета роботи — визначити перелік антибактеріальних препаратів, що мають максимально широкий спектр дії на типових збудників виявлених при вивченні первинного та вторинного БП хворих хірургічних відділень (ХВ) загального профілю Полтавської обласної клінічної лікарні (ПОКЛ) та 1-ї міської клінічної лікарні (МКЛ) м. Полтава.

Матеріали і методи дослідження

Було проаналізовано 140 антибіотикограм пацієнтів із гнійно-запальними захворюваннями,

котрі проходили лікування у вищезазначених ХВ протягом 2007-2008 рр. Із ХВ ПОКЛ до дослідження було включено 83 пацієнти (104 антибіотикограми), із ХВ 1-ї МКЛ — 25 пацієнтів (36 антибіотикограм).

Забір матеріалу для виявлення видового складу та чутливості до антибіотиків флори первинного і вторинного БП проводили протягом 48 годин з моменту госпіталізації пацієнта та на 5-7 добу лікування відповідно.

Результати та їх обговорення

При аналізі антибіотикограм пацієнтів ПОКЛ виявлено, що у первинному БП превалювали *E. coli* (21,95%), *S. aureus* (18,29%) та *Ent. faecalis* (12,2%), найменшу питому вагу мали *P. aeruginosa* (1,22%), *St. pyogenes* (1,22%), *Acinetobacter sp.* (2,44%). Серед флори повторного БП превалювали *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Citrobacter* (по 18,18%), найменшу питому вагу мали *St. epidermidis*, *Kl. pneumoniae*, *Enterobacter sp.* (по 4,55%) (таб. 1).

У випадку 1-ї МКЛ для первинного БП характерним є переважання *S. aureus* (40%), *E. coli* (20%), *Ent. faecalis* (15%), найменшу частку складали *St. epidermidis*, *Citrobacter sp.* (по 5%). Повторний БП характеризується превалюванням *S. aureus* (25%), *P. aeruginosa* (18,75%), *St. epidermidis* (12,5%), мінімально представлені *E. coli*, *Citrobacter sp.* (по 6,25%).

Щодо показників антибіотикорезистентності виявлено, що флора первинного БП ПОКЛ найбільш чутлива до сульфоперазону (100%), фуразидину (95,83%), левофлоксацину (94,44%), мінімально — до амоксициліну (25,93%), азитроміцину (48,39%). У повторному БП спостерігається висока чутливість до фуразидину, лінезоліду (100%), сульфоперазону (83,33%), низька — до цефуроксиму (14,29%), цефтріаксону (17,65%), резистентність до амоксициліну (0%).

Таб. 1 — Питома вага окремих збудників гнійно-запальних інфекцій*

Збудники хірургічної інфекції	Первинний БП, %		Повторний БП, %	
	ПОКЛ	1-ша МКЛ	ПОКЛ	1-ша МКЛ
<i>S. aureus</i>	18,23	40,00	18,18	25,0
<i>Streptococcus sp.</i>	4,88	5,00	0,00	0,00
<i>E. coli</i>	21,95	20,00	9,09	6,25
<i>Kl. pneumoniae</i>	9,76	10,00	4,55	6,25
<i>Kl. Oxysoxa</i>	6,10	0,00	0,00	6,25
<i>P. aeruginosa</i>	1,22	0,00	18,18	18,75

*- Примітка. В таблицю включені представники мікрофлори, спільної для порівнюваних ХВ.

Для ХВ 1-ї МКЛ у первинному БП спостерігається найвища чутливість до макропену (80%), цефепіму (77,8%), цефуроксиму, гентаміцину (по 75%), найнижча — до цефотаксиму левоміцетину (по 28,57%), резистентність до ампіциліну (0%). У повторному БП виявлена максимальна чутливість до оксациліну (83,3%), цефепіму (62,5%), мінімальна — до норфлоксацину (8,33%), цефтріаксону (8,33%), гентаміцину (9,09%).

Висновок

Незважаючи на спільність змін складу флори в динаміці бактеріального пасажу ХВ обох лікарень (зниження питомої ваги *E. coli* та збільшення її для *P. aeruginosa*), у повторному БП відмічається значні розбіжності в антибіотикочутливості мікроорганізмів. Отже, для забезпечення адекватної хіміотерапії необхідно визначення повторного БП, що дає можливість визначити

оптимальні схеми антибіотикотерапії для лікування гнійно-запальних інфекцій м'яких тканин та черевної порожнини.

Література

1. Белобородов В.Б. Актуальные аспекты антимикробной терапии хирургических инфекций / В.Б. Белобородов // Consilium Medicum. — 2004. - №1. — С.21-23.
2. Ерюхин И.А. Хирургические инфекции. / И.А. Ерюхин, Б.Р. Гельфанд. - М.: «Литтерра», 2006. — 653 с.
3. Венцель Р. Руководство по инфекционному контролю в стационаре / Р.Венцель, Т. Бревнер, Ж.П. Бутцлер [пер. с англ.]. — Смоленск.: МАКМАХ, 2003. — 536 с.
4. Розенсон О.Л. Оценка стоимости и эффективности антибактериальной терапии / О.Л. Розенсон, Л.С. Страчунский // Русский медицинский журнал. — 1998. - Т.6, №4. - С.34-37.
5. Сидоренко С.В. Тенденции в распространении антибиотикорезистентности среди возбудителей внебольничных инфекций на территории Российской Федерации / С.В. Сидоренко // Consilium Medicum. — 2007. — Т.9, №1. - С.14-17.

Реферат

Фармакоэпидемиологические характеристики возбудителей гнойно-воспалительной инфекции хирургических отделений общего профиля
Должковой С.В.

Ключевые слова: бактериальный пассаж, антибиотикограмма, антибиотикорезистентность, возбудитель гнойно-воспалительной инфекции.

В работе проведен анализ микробного спектра и антибиотикочувствительности флоры первичного и вторичного бактериального пассажа двух хирургических отделений общего профиля. Несмотря на общность изменений состава флоры бактериального пассажа хирургических отделений обеих больниц, в повторном пассаже отмечаются значительные разбежности в антибиотикочувствительности микроорганизмов.

Summary

THE PHARMACOEPIDEMYOLOGIC CHARACTERISTICS OF PUS-INFLAMMATORY INFECTIONS IN THE GENERAL SURGERY UNITS.

Dolzhkovy S. V.

Key words: bacterial passage, antibioticogram, antibiotic resistance, surgical infections.

The research was devoted to the analysis of the pharmacoepidemiologic characteristics of the primary and secondary bacterial passage in two general surgery units. Though the changes of the bacteriological spectrum in both units are quite similar, there is significant difference in antibiotic resistance of microorganisms in the repeated passage.

УДК 616.36 – 008.5 – 089.168

МЕДИКАМЕНТОЗНА ТЕРАПІЯ У ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОМУ ПЕРІОДІ У ХВОРИХ З ГОСТРИМ ДЕСТРУКТИВНИМ ХОЛЕЦИСТИТОМ

Кучеренко Д.О.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

Проаналізовано лікування 85 хворих в післяопераційному періоді з гострим холециститом. Дослідну групу склали 43 хворих, у яких застосовано патогенетично обгрунтовану терапію згідно власних досліджень, групу порівняння склали 42 хворих, у яких проводилося загальноприйняте традиційне лікування. Проведене дослідження показало, у дослідної групи хворих в результаті проведення запропонованої терапії з застосуванням гепатопротекторів суттєво стабілізувалися клінічні і лабораторні показники, покращився перебіг післяопераційного періоду, спостерігалось зменшення кількості післяопераційних ускладнень, середнього ліжко-дня. Запропоновані засоби патогенетичної медикаментозної терапії з застосуванням гепатопротекторів, може бути рекомендоване у хворих на гострий холецистит в післяопераційному періоді.

Ключові слова: гострий холецистит, лікування, післяопераційний період.

Гострий холецистит і на теперішній час є актуальною проблемою клінічної хірургії, що обумовлюється ускладненістю і несвоєчасністю діагностики, тяжкістю клінічного перебігу, розвитком численних ускладнень, часом малозадовільних результатів хірургічного лікування [1,2].

Попередження переходу в стадію декомпенсації діяльності органів і систем – одне з важливих завдань проблеми лікування хворих з гострим холециститом [5,9]. Своєчасно виконане оперативне втручання не є вирішенням питання, для цього необхідне проведення адекватної медикаментозної терапії в післяопераційному періоді, яка повинна бути спрямована на відновлення функції уражених органів та детоксикацію організму [3,7]. Необхідно взяти до уваги, що ті порушення органів і систем, які виникають до операційного втручання, різко ускладнюються в післяопераційному періоді в наслідок дії операційної травми та наркозу, а також і внаслідок патогенетичних особливостей ураження внутрішніх органів при гострому холециститі та його ускладненнях [4]. Враховуючи це, необхідно брати до уваги патогенетичні аспекти механізму нормалізації запального процесу та жовчовиділення. Інтенсивна терапія при гострому деструктивному холециститі повинна бути направлена не лише на корекцію метаболічних порушень та детоксикацію організму, але і забезпечувати повноцінне адекватне парентеральне харчування в умовах післяопераційного періоду [6].

До останнього часу не вироблено єдину тактику медикаментозного лікування в післяопераційному періоді у хворих на гострий холецистит [9]. Це визначало мету роботи.

Матеріали і методи дослідження

Проведено аналіз перебігу післяопераційного періоду 85 хворих з деструктивними формами гострого холециститу. Вік хворих коливався від 26 до 82 років, серед яких жінок було 62, чоловіків - 23.

43 хворим в післяопераційному періоді призначалася інфузійна терапія, направлена на корекцію порушень гомеостазу на основі власних

досліджень, інші хворі (42) отримували загальноприйняте лікування.

Усім хворим проводилися загальноклінічні та біохімічні аналізи крові з обов'язковим визначенням вмісту загального білка та його фракцій, специфічного ферментного спектру – АлТ, АсТ, ЛФ, загального білірубіна та його фракцій в сироватці крові, загальних ліпідів, загальний аналіз сечі та діастаза, ультразвукове дослідження гепатопанкреатобіліарної зони. Деяким хворим за показаннями проводили комп'ютерну томографію, ендоскопічну ретроградну панкреатохолангіографію, також застосовували фіброезофагогастродуоденоскопію та рентгенологічне дослідження шлунково-кишкового тракту. Хворим виконувалися традиційні та ендовідеолапароскопічні методики холецистектомії. В післяопераційному періоді хворі отримували реабілітаційні міроприємства та методи лікування згідно поділу на групи, біохімічні дослідження крові проводили на 3, 7, 14 добу після операційного втручання. Результати досліджень були оброблені статистично за допомогою програми Microsoft Excel 2003.

Результати досліджень

Необхідним засобом інфузійної терапії у хворих з деструктивним холециститом є реополіглюкін, який дозволяє коригувати порушення реологічних властивостей крові та кровотока в судинах мікроциркуляторного русла, збільшуючи об'єм плазми за рахунок переміщення інтерстиціальної рідини в судинне русло, викликає дезагрегацію формених елементів крові, відновлює кровотік в судинах малого калібру. При застосуванні реополіглюкіну контролюють функціональний стан нирок. Реополіглюкін призначали у дозі 200-400 мл на добу, поступово зменшуючи дозу. Для підвищення стану системної гемодинаміки, яке пов'язано зі зниженням ОЦК, пригніченням функції міокарда та підвищенням загального периферичного опору, застосовували колоїдні та кристалоїдні розчини. Для відновлення фізіологічних втрат рідини вводили ізотонічний розчин хлориду натрію в об'ємі 400 – 800 мл за добу, до

загального об'єму, що за підрахунками становить близько 50 мл/кг маси, потребу організму заміщували 5% глюкозою з інсуліном з розрахунку 1 Од на 5 г сухої речовини. Для усунення гіпопротеїнемії, ступінь якої посилюється в ранньому післяопераційному періоді у зв'язку з порушенням білковосинтетичної функції печінки та катаболічними процесами, застосовували препарати амінокислот та альбумін. Хворі з гострим холециститом недовго знаходяться на парентеральному харчуванні, тому досить ведення амінокислотних сумішей перші дві доби, з подальшим переведенням на раннє ентеральне (за показаннями череззондове) харчування.

Для нормалізації біохімічних процесів призначали калія оротат по 1 табл. 2 рази, кокарбоксилазу по 100 мг 2 рази, АТФ по 2 мл внутрішньом'язово.

За показниками коагулограми для підвищення згортання крові призначали внутрішньовенно 20 мл 10% розчину хлориду калію, вікасол 2 мл.

Хворим призначалася вітамінотерапія, групами В (В₁, В₆, В₁₂), С, Е. Впливаючи на різні ланки обміну речовин, вони сприяли нормалізації гомеостазу. Вітаміни вводили в середньотерапевтичних дозах згідно добової потреби, що складало для вітамінів групи В і Е по 1 мл на добу, С по 5-10 мл.

Важливим напрямком профілактики та лікування інтраабдомінальної інфекції при гострому холециститі являється антибіотикотерапія. Антибіотикотерапії є необхідним компонентом комплексної терапії захворювання, направлена на попередження інтраабдомінального реінфікування, що продовжується в післяопераційному періоді та формування екстраабдомінальних вогнищ інфекції, антибактеріальні препарати повинні мати адекватні фармакокінетичні характеристики і добре проникати у вогнище запалення, застосовуватися з урахуванням супутніх захворювань. При застосуванні антибіотиків після операції для оцінки позитивного ефекту керувалися такими критеріями, як зниження температури тіла до норми на протязі не менше двох діб, регрес ознак системної запальної реакції, позитивна динаміка функціонального стану шлунково-кишкового тракту. Антіінфекційна хіміотерапія має кілька варіантів проведення: профілактична, емпірична. При гострому деструктивному холециститі емпіричну антибіотикотерапію розпочинали одразу ж після оперативного втручання призначенням біофуроксиму в дозі 1,5 г внутрішньовенно, далі на протязі двох діб двічі на добу та метронідазолу 100 мл. також двічі на добу. При необхідності встановлювали показання для розширення антибактеріальної терапії, яку за необхідності доповнювали внутрішньом'язовим введенням амікацину в дозі 0,75 г. двічі на добу. У ряді випадків проведення антибіотикотерапії намагалися максимально спростити, використовуючи цефтріаксон 1 г двічі на добу або амокцилав 1,2 г двічі на добу у серед-

ньому протягом трьох діб.

Особливий наголос при лікуванні хворих дослідної групи ставився на застосування гепатопротекторів та вивчався їх вплив на функцію печінки при гострому деструктивному холециститі. З цією метою проводилося дослідження препарату "Діаліпон" на основі α -тіоктової кислоти. Її унікальні властивості як коензиму в окислювальному декарбоксилюванні α -кетокислот відіграють важливу роль в енергетичному обміні клітини. В амідній формі вона є есенціальним кофактором мультиферментних комплексів, що каталізують декарбоксилювання α -кетокислот циклу Кребса-Корнберга. Її притаманні антиоксидантні властивості, вона здатна відновлювати інші антиоксиданти, зокрема, при цукровому діабеті з гальмуванням розвитку периферичної нейропатії. Сприяючи зниженню вмісту глюкози у крові та накопиченню глікогену у печінці, α -тіоктова кислота впливає на обмін холестерину, бере участь у регулюванні ліпідного та вуглеводного обміну, поліпшує функцію печінки внаслідок гепатопротекторної, антиоксидантної, детоксикаційної дії. У післяопераційному періоді препарат застосовували внутрішньовенно у дозі 10-20 мл/добу шляхом інфузії з фізіологічним розчином хлориду натрію.

Також інфузійну терапію доповнювали препаратом аргініну «Тівортін» 100 мл. на добу. Він впливає на ендогенний синтез оксиду азоту, є важливим попередником сполучної тканини, що сприяє швидкій регенерації тканин у післяопераційному періоді; через перетворення в орнітиновому циклі аргінін приймає участь в знешкодженні аміаку в організмі [8].

Застосовували спазмолітичну терапію внутрішньом'язовим введенням но-шпи 2 мл тричі на добу з подальшим переходом на двократний прийом, в подальшому на таблетовану форму.

В результаті застосування комплексної програми ведення післяопераційного періоду у дослідної групи хворих відмічено статистично достовірне зменшення кількості післяопераційних ускладнень та середнього ліжко-дня, спостерігалася більш рання нормалізація лабораторних показників.

Висновки

Після оперативного втручання у хворих з гострим холециститом інфузійно-медикаментозна терапія повинна призначатися з урахуванням індивідуальних особливостей: віку хворих, тривалості захворювання до операції, обсягу хірургічного втручання, загального стану, лабораторних даних, супутніх захворювань, ускладнень. Результати досліджень свідчать про суттєві переваги запропонованої нами патогенетичної терапії у післяопераційному періоді у співставленні з групою порівняння.

Література

1. Барсуков В.С., Должиков А.А. К патоморфологии печени при желчно-каменной болезни // Морфогенез и регенерация. - Курск.-1999.-С.10-11.
2. Батвинков Н.И., Нефедов Л.И., Фомин К.А. Функциональное состояние печени при воспалительных заболеваниях желчного пузыря и желчнокаменной болезни // Клін. хірургія. - 1993. - №5. - С. 53-60.
3. Бебуришвили А.Г., Быков А.В., Зюбина Е.Н., Бурчуладзе Н.Ш. Эволюция подходов к хирургическому лечению осложненного холецистита // Хирургия. - 2005. - №1. - С.43 - 47.
4. Виноградов В.В., Зима П.И., Кочиашвили В.И. Непроходимость желчных путей. М.: Медицина, 1977. - 240 с.
5. Подымова С.Д. Болезни печени. М.: Медицина, 1993.- 544с.
6. Шалимов А.А., Шалимов С.А., Ничитайло М.Е., Доманский Б.В. Хирургия печени и желчевыводящих путей. - К.: Здоровья, 1993. - 512 с.
7. Шалимов А.А., Шалимов С.А., Ничитайло М.Е., Радзиховский А.П. Хирургия поджелудочной железы. К., 1997. - 560 с.
8. Дмитренко Н.П., Кишко Т.О., Шандренко С.Г. Український хіміотерапевтичний журнал. - К.: ТОВ «ВЕЛЕС», 2008 № 1-2. - 141 с.
9. Gitlin N. Hepatic encephalopathy // Hepatology: a textbook of liver disease. V. 1. - Philadelphia.: W.B.S., 1996. - P. 605-617.
10. Lillemoe K.D. Surgical treatment of biliary tract infections // Am. Surg. - 2000. - Vol. 66, № 2. - P. 138-144.

Реферат

Медикаментозная терапия в послеоперационном периоде у больных с острым деструктивным холециститом

Кучеренко Д.А.

Ключевые слова: острый холецистит, лечение, послеоперационный период.

Проанализировано лечение 85 больных в послеоперационном периоде с острым холециститом. Исследовательская группа составляла 43 больных, у которых применена патогенетически обоснованная терапия согласно личных исследований, группу сравнения составили 42 пациента, у которых проводилось общепринятое традиционное лечение. Проведенное исследование показало, что у исследуемой группы больных в результате проведения предложенной терапии с применением гепатопротекторов существенно стабилизировались клинические и лабораторные показатели, улучшилось течение послеоперационного периода, наблюдалось снижение количества послеоперационных осложнений, среднего койко-дня. Предложенные методы патогенетической медикаментозной терапии с применением гепатопротекторов могут быть рекомендованы у больных с острым холециститом в послеоперационном периоде.

Summary

DRUG THERAPY OF PATIENTS WITH ACUTE DESTRUCTIVE CHOLECYSTITIS DURING POST-OPERATIVE PERIOD

Kucherenko D.A.

Key words: acute cholecystitis, therapy, post-operative period.

There were studied 85 courses of treatment of patients with acute cholecystitis. Test group included 43 patients who underwent the pathogenetically proved course of drug therapy according to their findings, the group of comparison included 42 patients subjected to the conventional therapy. The study has shown the suggested therapy including hepatoprotectors results in the considerable stabilization of clinical and laboratory findings in the test group, the improvement of the course of post-operative period, the lowering of post-operative complications. The method of pathogenetically proved drug therapy including hepatoprotectors may be advised to the patients with acute cholecystitis in post-operative period.

УДК 616.34-007.43-056.5-089

МОНІТОРИНГ ВНУТРІШНЬОЧЕРЕВНОГО ТИСКУ ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ ВЕНТРАЛЬНИХ ГРИЖ З ОЖИРІННЯМ

Лавренко Д.О.

Вищий державний навчальний заклад України „Українська медична стоматологічна академія” м.Полтава

В умовах хірургічного відділення багатoproфільного лікувального закладу м. Полтава за період 2004-2008 рік проліковано 106 хворих з вентральними грижами та ожирінням. З них 11 (10,3%) чоловіків, 95 (89,6%) жінок. Хворі були у віці від 25 до 82 років. Середній вік пацієнтів складав 53 роки. У процесі проведення багатofакторних досліджень були встановлені критерії для вибору використання різних видів пластики черевної стінки. Вибір тактики хірургічного лікування хворих з вентральними грижами та ожирінням повинен плануватися в залежності від результатів доопераційних обстежень. Методику аутопластики варто застосовувати при пластиці малих гриж. При виконанні аллогерниопластики перевагу варто надавати методі "sublay", метод "inlay" - змушено використовувати при дефіциті тканин у ділянці грижового дефекту.

Ключові слова: вентральні грижі, ожиріння, внутрішньочеревний тиск.

Вступ

Хворі з вентральними грижами (ВГ), поєднаними з ожирінням формують постійний контингент хірургічних стаціонарів і їх кількість постійно збільшується [1,3,9,12]. Лікування і реабілітація таких хворих дотепер представляє досить складну і актуальну проблему в хірургії [2,6,8,14].

Не зважаючи на досягнуті певні успіхи при хірургічному лікуванні ВГ з ожирінням, рівень після-

операційної летальності за останні роки залишається досить високим. Головним чином це пов'язане з виникненням ранніх післяопераційних ускладнень, серед яких провідне місце займає дихальна недостатність (ДН) на фоні внутрішньочеревної гіпертензії (ВЧГ) [4,7,10,11]. Розвиток ДН пов'язаний з тим, що при неадекватній абдомінопластиці, за рахунок зменшення об'єму черевної порожнини, виникає підвищення внутрішньочеревного тиску (ВЧТ), що особливо ак-

туально при ожирінні [7,8,12,13]. Саме тому багато хірургів при найменшій погрозі розвитку дихальних ускладнень у хворих із ВГ та ожирінням відмовлялися від оперативного лікування, остерігаючись проявів ранніх післяопераційних ускладнень.

При ВЧГ виникає зміщення діафрагми в грудну порожнину, зменшуючи її обсяг і підвищуючи внутрішньогрудний тиск, що супроводжується здавлюванням легеневої паренхіми, коллабіюванням підлеглих до діафрагми альвеол з виникненням ателектазів [5,9,14]. Погіршується вентиляційно-перфузійне співвідношення, зростає легеневий шунт [4,6,9,12]. Цей патофізіологічний процес призводить до гіпоксемії, респіраторного ацидозу і сприяє розвитку ішемії органів і тканин з подальшим виникненням поліорганної дисфункції [1,3,9,10,13,14]. Зміни з боку дихальної системи настають відносно рано і швидко прогресують з розвитком декомпенсації та ризиком можливого переведення пацієнта на штучну вентиляцію легень (ШВЛ). Таким чином показник ВЧТ є домінуючим критерієм у виборі методу пластики при великих вентральних грижах.

Мета дослідження: покращити результати лікування хворих з ВГ та ожирінням за рахунок достовірного відображення рівня ВЧТ, що дозволяє визначати адекватний спосіб хірургічного лікування без можливого виникнення в післяопераційному періоді внутрішньочеревної гіпертензії, що, в свою чергу, запобігає виникненню післяопераційних ускладнень та покращує результати лікування цієї категорії хворих.

Матеріали та методи

В умовах хірургічного відділення багатопрофільного лікарняного закладу м. Полтава, для реалізації поставленої мети нами досліджено за період 2004 - 2008 років 106 хворих. Чоловіків було 11 (10,3%), жінок - 95 (89,6%). Хворі були у віці від 25 до 82 років. Середній вік пацієнтів становив 53 роки. Головним етіологічним критерієм появи ПОВГ були оперативні втручання: на органах системи травлення 25 (23,5%); гінекологічні операції 22 (20,7%); урологічні операції 5 (4,7%); операції з приводу онкопатології 6 (5,6%); лапаротомія (діагностична, травма живота) 7 (6,7%); первинні операції з приводу первинних гриж (пупочні, білої лінії живота) 12 (11,4%); а також операції з приводу рецидивних вентральних гриж 21 (19,8%).

У 16 (15,1%) хворих діагностовано злукову хворобу, яка супроводжувалася явищами часткової кишкової непрохідності. У 64 (60,3%) осіб діагностовано супутню патологію: фонові дихальна недостатність (ДН): ДН-I 18 (17,0%), ДН-II 8 (7,5%); фонові серцева недостатність (СН): СН-IA 16 (15,1%), СН-IB 7 (6,6%), СН-IIA 10 (9,4%), СН-IIB 5 (4,7%). У всіх хворих спостерігалось ожиріння різних ступенів. Для визначення ступеню ожиріння використовували класифікацію за індексом маси тіла (ІМТ) – індекс Кетле. Таким

чином: I ст.- 52 (49,1%) хворих, II ст.-29 (27,3%), III ст.- 25 (23,6%). Для адекватного розподілу хворих за розмірами та локалізацією грижового дефекту, враховуючи частоту рецидивів, використовували міжнародну класифікацію Chevrel J.P., Rath A.M (SWR-classification), 1999 (Мадрид- Іспанія). Згідно цієї класифікації грижі серединні малого розміру мали місце у 5 (4,7%), серединні середнього розміру у 17 (16,0%), серединні обширні - у 48 (45,3%), серединні велетенські грижі - у 30 (28,4%) госпіталізованих. Грижа бокового відділу живота середнього розміру була у 1 (0,9%), обширні у 2 (1,8%), та велетенські – 2 (1,8%). Сочетана грижа спостерігалася у 1(0,9%) хворого. Невправима грижа діагностована у 86 (81,1%) чоловік.

У всіх хворих визначався індекс дефекту передньої черевної стінки (ІДПЧС) по запропонованій нами методиці (патент України на корисну модель № 30403), що дозволяє достовірно відображати дефіцит передньої черевної стінки в залежності від розміру грижового дефекту.

Для виявлення внутрішньочеревної гіпертензії (ВЧГ) і контролю внутрішньочеревного тиску (ВЧТ), у хворих використовували непрямий метод вимірювання тиску в сечовому міхурі [6,9,10,12].

Результати дослідження

Всі хворі в обов'язковому порядку були обстежені в доопераційному періоді за розробленою нами схемою. Окрім традиційного обсягу загальноклінічних та лабораторних досліджень, включаючи оцінку фонові патології та рівня її компенсації, додаково проводили визначення розміру грижового дефекту за допомогою УЗ-апарату, моніторинг ВЧТ, показників зовнішнього дихання в динаміці, призначали УЗД, КТ черевної порожнини з метою виявлення супутньої патології та передбачення можливих симультанних втручань. Операції виконували під ендотрахеальним знеболенням. Вибір розтину для проведення пластики обирався в залежності від рівня розвитку підшкірножирової клітковини за умов необхідності проведення абдомінопластики у вигляді дермоліпектомії. Повну і остаточну характеристику грижового дефекту отримували на операційному столі. Виділяли грижовий мішок, виконували герніолапаротомію з послідовною ревізією органів черевної порожнини. Особливого значення надавали визначенню стану грижового мішка, можливості його використання для відокремлення аллотрансплантанту. Всім хворим інтраопераційно проводили моніторинг ВЧТ за допомогою уретрального катетера, що дало змогу адекватно оцінити і запобігти виникненню внутрішньочеревної гіпертензії в залежності від обраного методу пластики.

Визначаючи рівень ВЧТ в міліметрах ртутного стовпчика, при умові інтраопераційного зведення країв апоневрозу, ми отримали систематизовані показники залежності внутрішньочеревного

тиску від індексу дефекту передньої черевної стінки (ІДПЧС), що наглядно демонструє нижче-

приведена таблиця № 1.

Таблиця № 1
Залежність рівня внутрішньочеревного тиску (ВЧТ) від показника індексу дефекту передньої черевної стінки (ІДПЧС)

ІДПЧС (%)	Кількість хворих (n=106)		ВЧТ (мм.рт.ст)
	абс	%	
до 10	16	15,1	9 ± 0,7
від 10 до 15	21	19,8	12 ± 0,3
від 15 до 20	31	29,2	23 ± 1,1
від 20 до 25	27	25,4	26 ± 1,4
від 25 до 30	7	6,6	29 ± 0,3
30 і >	4	3,8	36 ± 0,8
Всього	106	100%	

Таким чином, згідно з отриманими показниками, чітко видно залежність рівня ВЧТ від показника ІДПЧС. Виходячи з отриманих даних, визначення ІДПЧС дозволяє прогностично оцінити рівень внутрішньочеревного тиску без використання інвазивного методу катетеризації сечового міхура, тим самим об'єктивізує вибір методу пластики з виключенням ризику виникнення ВЧГ в післяопераційному періоді.

Всім 106 хворим виконані радикальні хірургічні втручання з використанням як аутогерніопластики так і аллогерніопластики, які були поєднані з дермоліпектомією при умові наявності на це показників (ІМТ > 35) та з урахуванням косметичного фактору.

Виконані наступні хірургічні втручання: аутопластика – 37 (34,9%) хворих; аллогерніопластика з розташуванням ендопротезу "sublay" – 58 (54,7%); "inlay" – 11 (10,4%). При поперекових грижах завжди використовували аллогерніопластику з розташуванням поліпропіленової сітки з фіксацією до широких м'язів спини, до нижнього краю реберної дуги, до медіального краю прямих м'язів живота, на рівні верхньої ості здухвинної кістки. Розмір імплантату визначали по загальноприйнятій методиці – з розрахунку що протез повинен перекривати дефект грижових воріт на 5 см.

У хворих з ІДПЧС до 15% ми використовували пластику місцевими тканинами – аутогерніопластику, за умов зростання ВЧТ згідно таблиці № 1 до 12 мм.рт.ст., при інтраопераційному зведенні грижових воріт. Такий метод пластики був максимально адекватним у використанні, що дало змогу уникнути в післяопераційному періоді наявності ВЧГ, яка б потребувала декомпресії.

При ІДПЧС від 15% до 25% використовували аллогерніопластику з ретромускулярним розміщенням протезу "sublay", оскільки цей варіант найбільш фізіологічний і забезпечує надійну пластику передньої черевної стінки при середніх та обширних розмірах грижового дефекту (від 5 до 15 см в d) без змін ВЧТ.

Решта хворих у яких ІДПЧС становив 25 і > % були прооперовані по методиці "in lay". Цей метод застосовували при складних пластиках, за умов наявності грижового дефекту гігантського розміру. Даний вид пластики є вимушеним і ви-

користовувався при відсутності достатнього обсягу власних тканин черевної стінки та грижового мішка, для розташування імплантату "sublay", за умов герметизації органів черевної порожнини.

Запропонований метод прогнозування рівня ВЧТ в залежності від показнику ІДПЧС, при хірургічному лікуванні вентральних гриж з ожирінням, дозволяє об'єктивізувати вибір методу пластики грижового дефекту, за умов виключення розвитку в післяопераційному періоді абдомінального компартмент-синдрому. Таким чином, вибір методу пластики черевної стінки при ВГ з ожирінням повинен залежати від прогнозування рівня внутрішньочеревної гіпертензії, та розміру дефекту черевної стінки (ІДПЧС).

Література

1. Андрущенко В.П., Мельников В.А., Дворчин А.С. та ін. досвід клініки в хірургічному лікуванні гриж черевної стінки // Хірургія України. - 2008, № 2 (26). - С. 4-6.
2. Афанасьев С.В., Дзевицький Д.І., Снігар А.В. позитивні і негативні наслідки герніопластик "важкими" сітчастими трансплантатами // Хірургія України. - 2008, № 2 (26). - С. 9 - 32.
3. Грубник В.В., Парфентьев Р.С., Венгер Н.Д. Сучасні методи пластики вентральних гриж із застосуванням синтетичних протезів. // Хірургія України. - 2008, № 2 (26). - С. 22 - 24.
4. Даценко Б.М., Кутелова Е.В. Особенности диагностики и технология аллогерниопластики рецидивных вентральных грыж // Хірургія України. - 2008, № 2 (26). - С. 25 - 26.
5. Жебровский В.В., Ильченко Ф.Н. Атлас операций при грыжах живота.-Симферополь, 2005. - 315 с.
6. Жебровский В.В., Косенко А.В., Чемоданов Е.Б. й др. Основные принципы лечения гигантских вентральных грыж // Хірургія України. - 2008, №2(26).-С. 30-33.
7. Усенко А.Ю., Лаврик А.С., Мануйло Н.В., Доскуч О.А. Хирургическое лечение послеоперационных и паховых грыж с использованием полипропиленовых сеток // Хірургія України. - 2008, № 2 (26). - С. 123.
8. Саенко В.Ф., Белянский Л.С., Манойло Н.В. Выбор метода лечения грыжи брюшной стенки // Клін. хірургія. - 2002. - №1. - С.5-9.
9. Яценюк М.Н., Фелештинский Я.П. Влияние комплексной предоперационной подготовки на функцию дыхания у больных с большими и огромными грыжами. // Клін. хірургія. - 1989. - № 2. - С. 6-9.
10. Amendolara M., Perri S., Breda E. Inguinal hernioplasty: current trends // J. di Chirurgia. - 1995. - Vol.16. - N5. - P.239-244.
11. Bang R.L. Behbehani A.I. Repair of large, multiple, and recurrent ventral hernias an analysis of 124 cases. // Europ. J. Surg. - 1997. - Vol.163, № 2. - P.107-114.
12. Garcia C., Parramon F., Delas F., Codina A., Plaja I., Arxer T., Villalonga A. Abdominal compartmental syndrome

in non-injured patients // Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim. – 2000. - №3. – P.126-129

13. Grubben AC, van Baardwijk AA, Broering DC, Hoofwijk AG. Pathophysiology and clinical significance of the ab-

dominal compartment syndrome // Zentralbl. Chir. – 2001. - №8. - 605-609

14. Myers B. Use of laparoscopic instrumentation to quickly stretch the abdominal wall in repair of giant inguinal hernias // Surgery. – 1997. - №4. - P.477-479.

Реферат

МОНИТОРИНГ ВНУТРИБРЮШНОГО ДАВЛЕНИЯ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ВЕНТРАЛЬНЫХ ГРИЖ С ОЖИРЕНИЕМ
Лавренко Д.А.

Ключевые слова: вентральные грыжи, ожирение, внутрибрюшное давление.

В условиях хирургического отделения многопрофильного лечебного учреждения г. Полтава за период 2004-2008 год пролечено 106 больных с вентральными грыжами и ожирением. Из них 11 (10,3%) мужчин, 95 (89,6%) женщин. Больные были в возрасте от 25 до 82 лет. Средний возраст пациентов составил 53 года. В процессе проведения многофакторных исследований были установлены критерии для выбора применения различных видов пластики брюшной стенки. Выбор тактики хирургического лечения больных с вентральными грыжами и ожирением должен планироваться в зависимости от результатов дооперационных обследований. Методику аутопластики следует применять при пластике малых грыж. При выполнении аллогениопластики преимущество следует предоставлять методу "sublay", метод "inlay" – вынуждено использовать при дефиците тканей в участке грыжевого дефекта.

Summary

MONITORING OF INTRA-ABDOMINAL PRESSURE UNDER SURGICAL TREATMENT OF VENTRAL HERNIA IN OBESE PATIENTS.
Lavrenko D.A.

Key words: ventral hernia, obesity, intra-abdominal pressure.

106 obese patients (11 (10.3 %) males, 95 (89.6 %) females) aged from 25 to 82 were operated on for ventral hernia at the surgical department of the Poltava medical institutions for 2004 -2008. Mean age of the patients was 53 years old. During the carrying out multifactor investigations the criteria in choosing the proper type of plastic surgery of abdominal wall have been elaborated. The choice of surgical tactics towards the obese patients with ventral hernias should be planned depending on the findings of pre-operative investigations. The autoplasty technique should be practiced under the plastic surgery of minor hernias. When practicing allohernioplasty the "sublay" technique should predominate, while the "inlay" technique should be used under the deficiency of tissues at the area of hernia defect.

УДК 616.711-002-007.43-089

ОСОБЛИВОСТІ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ РЕЦИДИВІВ ГРИЖ МІЖХРЕБЦЕВИХ ДИСКІВ ПОПЕРЕКОВОГО ВІДДІЛУ ХРЕБТА

Педаченко Є.Г., Єрошкін О.А.

ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова АМН України" (м. Київ)

Рецидив кили диску – це поширена та актуальна нейрохірургічна проблема. Вона може виникати у 5-15% випадків первинного хірургічного лікування кил поперекових дисків. Видалення рецидиву кили поперекового диску потребує педантичної хірургії техніки з виконанням мікроскопу.

Ключові слова: грижа міжхребцевого диску, рецидив, хірургічне лікування.

Введення

Незважаючи на те, що в більшості випадків хірургічне лікування грижи поперекового міжхребцевого диску дає задовільні результати, в післяопераційний період, в певній кількості випадків, спостерігаються рецидиви із посиленням болю в спині або нозі. Стандартна відкрита дискотомія асоціюється з 5%-20% незадовільних результатів [1-3]. Впровадження в клінічну практику нових сучасних мініінвазивних методів хірургічного лікування, як з використанням інтраканального доступу – мікрохірургічна дискотомія, так і позаканального – пункційна лазерна мікродискотомія, ендоскопічна портальна мікродискотомія, з визначенням показів до кожного методу оперативного втручання, за даними більшості авторів, безумовно підвищило ефективність хірургічного лікування, але залишило певну кількість реци-

дивів захворювання. Більшість цих випадків відомі в клінічній практиці, як "синдром невдало оперованого хребта", причиною якого часто є розширення показів до того чи іншого методу дискотомії [4], прогресування дегенеративних змін в оперованому сегменті [4,5], недостатня хірургічна декомпресія [6], рецидив грижі диску на оперованому рівні, часто з поєднанням явищ рубцево-спайкового епідуриту [9-10] та інколи нестабільності. Частота рецидиву грижі диску поперекового відділу хребта після дискотомії, в залежності від методу первинного хірургічного втручання, за даними різних авторів коливається в межах 5%-15% випадків [11-13].

Багато клінічних досліджень, присвячених "синдрому невдало оперованого хребта" після перенесеної дискотомії, описують випадки появи грижі міжхребцевого диску на новому рівні або з

іншого боку, епідурального фіброзу, локального арахноїдиту, стенозу каналу хребта, нестабільності, спонділіту та спонділодисциту оперованого сегменту [1, 7, 14-18], проте дуже мало наукових праць сфокусовані на проблемі особливостей хірургічної тактики та хірургічного лікування при істинному іпсілатеральному рецидиві грижі диску після дисксектомії в залежності від методу первинного оперативного втручання (пункційна лазерна мікродисксектомія, ендоскопічна портальна мікродисксектомія, класична мікродисксектомія, дисксектомія), з урахуванням виду доступу до грижі диску по відношенню до каналу хребта.

Метою цієї роботи було виявити особливості хірургічного лікування рецидивів гриж поперекових міжхребцевих дисків в залежності від методу первинного хірургічного втручання, виду доступу (інтра- або позаканального) та оцінити результати повторного хірургічного лікування.

Матеріали та методи дослідження

Групу аналізу склали 157 пацієнтів, що були оперовані з приводу рецидивів гриж міжхребцевих дисків поперекового відділу хребта в відділенні лазерної ендоскопічної спинальної нейрохірургії ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова АМН України" з 1996 по 2008 роки (2,4% від загальної кількості операцій): 65 жінок та 92 чоловіків. Середній вік яких на момент реоперації складав 44 роки (в межах від 27 до 64 років). Всі пацієнти спостерігалися мінімум 1 рік. Середній період рецидиву захворювання склав 34,8 місяця (в межах від 2 до 127 місяців). П'ять пацієнтів (14%) відмічали фактор травми, який передував рецидиву захворювання. Рівень рецидиву грижі диску був L2-L3 (n=1), L3-L4 (n=4), L4-L5 (n=86) и L5-S1 (n=66). Всі випадки стосувались лише іпсілатеральних рецидивів гриж. В залежності від хірургічного доступу первинні нейрохірургічні втручання розподілилися на внутрішньоканальні та позаканальні. До внутрішньоканальних методів відносились мікродисксектомія (з використанням лазеру або асестуючої відеоендоскопії), ендоскопічна мікродисксектомія по Дестандо та відкрите інтерламінарне видалення грижі диску. До позаканальних методів хірургічного лікування були віднесені перкутанна лазерна мікродисксектомія та ендоскопічна портальна мікродисксектомія.

Головним критерієм, за яким були відібрані пацієнти з іпсілатеральними рецидивами в групу ретроспективного аналізу, були рецидиви грижі міжхребцевого диску на тому ж рівні та з тієї ж сторони після проміжку задовільного клінічного ефекту з моменту виконання першої дисксектомії. Пацієнти з грижею диску на новому рівні або з іншої сторони, в порівнянні з попереднім втручанням, були виключені з цього дослідження. Рецидив грижі диску був підтверджений при дослідженні пацієнтів на магнітно-резонансній томографії (МРТ) у 151 пацієнтів (96,2%), МРТ з внутрішньовенним введенням парамагнетиків

(омніпак, ультравіст) у 36 пацієнтів (22,9%) та за допомогою комп'ютерної томографії (КТ) у 12 пацієнтів (7,6%).

Повторне хірургічне втручання виконувалось пацієнтам з вираженим больовим синдромом в випадку неефективності консервативної терапії, яка тривала від 3 до 11 тижнів, або раніше – в випадках гострого корінцево-судинного синдрому.

Результати хірургічного лікування в різні строки після втручання оцінювали за критеріями шкали J.MacNab (J.MacNab at. al., 1971), а також за допомогою візуально-аналогової шкали оцінки больового відчуття до та після повторного хірургічного втручання. Різниця між доопераційними та післяопераційними значеннями була показником результатів хірургічного лікування. Ці два методи допомогли об'єктивно оцінити різноманітні аспекти результатів хірургічного лікування пацієнтів з рецидивами гриж дисків в поперековому відділі хребта.

Результати та їх обговорення

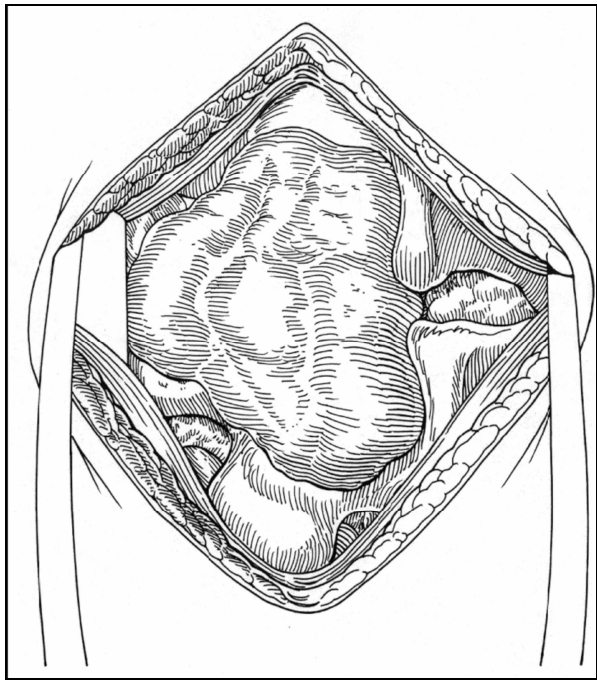
Аналізуючи випадки рецидивів гриж міжхребцевих дисків поперекового відділу хребта, на себе звертали увагу необхідність диференційованого підходу до планування повторного хірургічного втручання в залежності від методу першої операції (традиційні методики, мікродисксектомія, пункційна лазерна мікродисксектомія, ендоскопічна портальна мікродисксектомія), виконаного доступу (інтра- або позаканального), та пов'язаних з ними супутніх післяопераційних змін.

Особливість диференційованого підходу при плануванні повторного хірургічного втручання в випадках виконання під час первинних операцій інтраканального доступу полягала в наявності виражених післяопераційних змін в ділянці оперованого сегменту: рубцево-спайкових явищ, додаткових кісткових резекцій (аркотомій, часткових фасетектомій), іноді нестабільності, стенозування каналу хребта, в той час, як при використанні первинно позаканальних методик це було не характерно, та частіше зустрічалися явища супутнього фораміностенозу.

Під час планування доступу перед повторною дисксектомією за допомогою МРТ сканування, часто з підсиленням (36) випадків, проводилося оцінювання ступеню рубцевої перебудови тканин внаслідок попередньої операції, та прогресування дегенеративних явищ. У випадках первинного використання інтраканального доступу це було важливим для визначення нормальних анатомічних орієнтирів перед повторною операцією. Кращим орієнтиром під час реоперації зазвичай була візуалізація кісткових структур: суміжні дуги хребців, гостистий відросток та фасетковий суглоб. Можливість визначити ці структури та виділити рубцеву тканину від країв кісткових орієнтирів, особливо в ділянці дефектів напівдуг хребців, зазвичай визначало ступінь успі-

ху в запобіганні більшості характерних ускладнень при повторних хірургічних втручаннях, включаючи високий ризик пошкодження нервового корінця або твердої мозкової оболонки, не обґрунтовано надмірну фасетектомію, та, як наслідок – нестабільність оперованого сегменту, стійкий біль в спині, раневу інфекцію, лікворею.

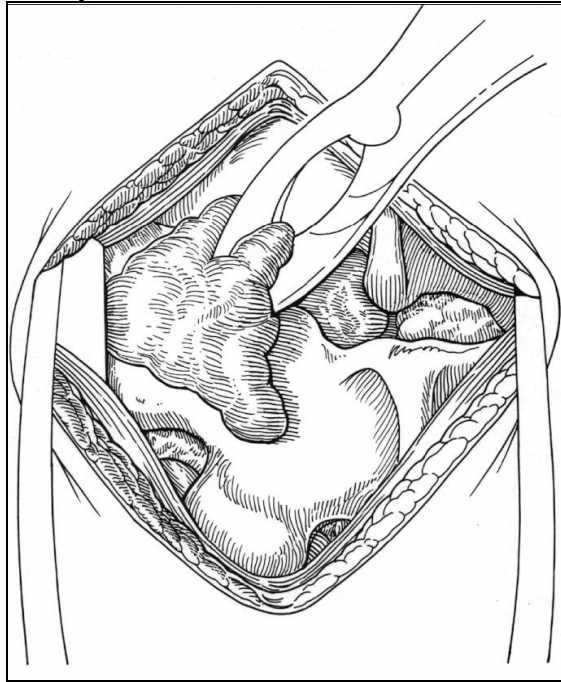
Всім пацієнтам була виконана повторна дискетомія рецидиву грижі диску. Доступ виконував-



Біполярна електрокоагуляція та кусачки Керісона використовувалися для виділення рубця при роботі в ділянці дефекту напівдуг хребців. Рубцева тканина видалювалась за допомогою кусачок Керісона та мобілізувалась до верхнього краю дуги, вивільняючи кісткової тканини від фіксованого рубця в цій ділянці безпосередньо над корінцем та оболонкою. Особливої обережності вимагало виділення корінця в медіальній частині фасеткового суглобу. Агресивна фасетектомія, в випадках первинного використання інтраканальних методів під час виконання попередньої дискетомії, іноді робила це неможливим, внаслідок часткової відсутності фасеткового суглобу. Після завершення виділення кісткових структур виконувалась мікродиссекція з метою видалення епідурально рубцевої тканини, що залишилась. Місце виходу корінця зазвичай визначалося в медіальній частині корня дуги. Мобілізувавши ТМО, її можливо було зсунути медіально та побачити матеріал рецидиву грижі диску, який видалявся ронжером звичайної форми. Використання зворотньої кюретки або корінцевого гачка з метою видалення залишків диску медіально з-під ТМО вимагало особливої обережності внаслідок імовірної вентральної дуральної адгезії та високого ризику пошкодження ТМО.

Наприкінці додатково виконувалася фораміно-

сія в положенні пацієнта на боці. Використання нейрохірургічного мікроскопу суттєво допомогло при невеликих розмірах оперованих структур та давало можливість краще ідентифікувати післяопераційно змінні тканини. Ретрактор Вільямса встановлювався медіально по відношенню до гостистого відростку, латерально до параспінальної мускулатури та по центру над фасетковим суглобом.



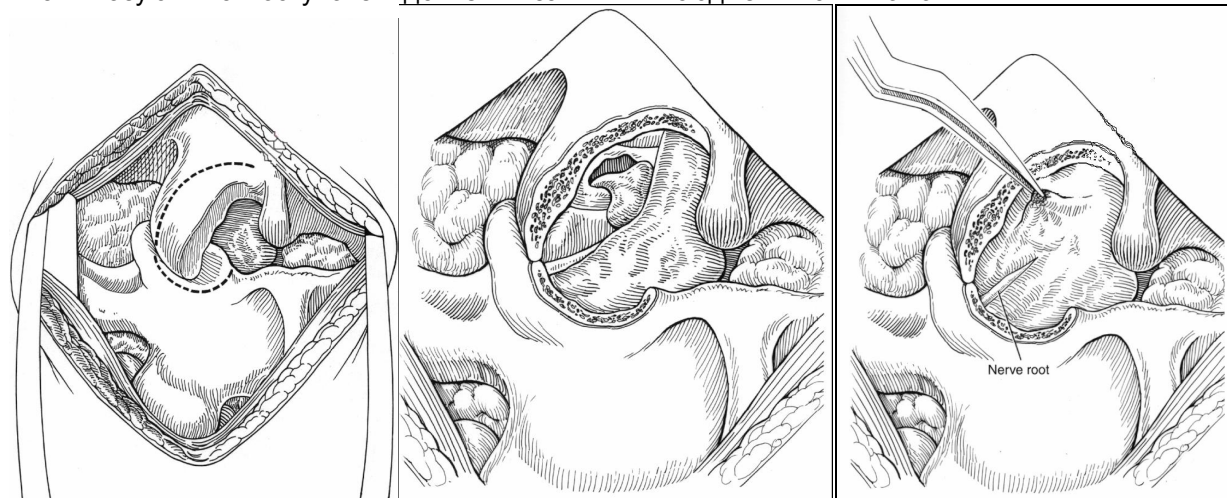
томія в місці виходу нервового корінця з метою гарантованої повноцінної декомпресії (особливо в випадках первинного використання інтраканальних методик). Ретельний гемостаз під час завершення операції та використання епідурального жиру дозволяло знизити надмірне рубцювання. У всьому іншому закривання виконувалося звичайним способом.

Базуючись на оцінці результатів хірургічного лікування згідно з критеріями шкали J. MacNab, відсоток пацієнтів з добрим та задовільним результатом після повторної операції (83%) був дещо нижчим, ніж відсоток після першої операції (95%, $P < 0.05$); та відсоток незадовільних результатів був дещо вищим (5,4% в порівнянні з 2,7%, $P < 0.05$). Згідно з оцінкою результатів за візуально-аналоговою шкалою, 94% пацієнтів відмічали відсутність болю в нозі.

Незважаючи на значний прогрес в мікрохірургічній техніці спинальної хірургії, клінічний результат після першої мікродиссектомії кращий ніж, після реоперації. Літературні дані про задовільні результати після першої реоперації знаходяться в межах 72%-85% та значно знижуються з наступними хірургічними втручаннями [4,6,9,17]. Віддалені результати реоперацій через 5 років по тому поступово погіршуються та найбільш часто представлені прогресуванням

дегенеративних змін. Клінічні дані, особливо в групі пацієнтів середнього та похилого віку, зазвичай вказують на поступове підсилення зали-

шкового радикального болю, незважаючи на те, що біль в спині залишається найбільш розповсюдженим симптомом.



На початку 1980-х років Фінеган та Ротман, узагальнивши результати реоперацій з приводу механічної компресії корінців внаслідок рецидиву грижі диску або стенозу каналу хребта та нестабільності, констатували високий процент позитивних результатів, тоді як діагноз епідурального рубця або фіброзу був асоційований з незадовільними результатами. Висновки цих досліджень в наш час стали загальновизнаними більшістю спинальних хірургів, як стандартні рекомендації. Якщо це істинний рецидив грижі диску, компресія корінців кістковими структурами або комбінація цих факторів, то за допомогою хірургічного лікування можливо домогтися добрих результатів. Частота задовільних результатів після першої реоперації коливається в межах 72%-85% випадків. Проте більшість авторів спостерігають прогресивне погіршення результатів реоперацій з кожним наступним хірургічним втручанням.

Успіх реоперації тісно пов'язаний не тільки з поставленням точного діагнозу, але і з бездоганною технікою виконання, без ускладнень, які можуть бути причиною повторних хірургічних втручань в майбутньому. Комплексна невральна декомпресія та видалення грижі диску є ключем до задовільного віддаленого результату лікування. Хірургічне планування операції повинно розглядати можливість проведення, поруч з ревізійною мікродискектомією, спинальної інструментарії тільки в випадках супутньої нестабільності оперованого сегменту, що може виникнути внаслідок прогресування дегенеративних явищ та надмірної первинної фасетектомії.

Погляди більшості авторів збігаються на тому, що ефективність хірургічного втручання збільшується при мінімальному доступі, який викликає найменші пошкодження тканинних структур та зберігає підтримуючий кістковий, м'язовий та зв'язковий апарат.

Хірург повинен підготувати пацієнта до можливого незначного ступеню покращення після

проведення повторного хірургічного втручання та націлити його змінити спосіб життя для запобігання ризику повторних операцій.

Проведений ретроспективний аналіз результатів хірургічного лікування при рецидивах гриж міжхребцевих дисків в поперековому відділі хребта з диференційованим вибором тактики хірургічного втручання в залежності від методу первинної операції та виконаного доступу (інтра- або позаканального), дозволив виявити особливості та розробити практичні рекомендації при плануванні та виконанні повторної операції:

1. за допомогою рентгендіагностики та методів нейровізуалізації (МРТ, КТ) необхідно виявити об'єм додаткових кісткових резекцій, проведених при виконанні первинної операції інтраканальним доступом, та поширеність рубцево-спайкового процесу;
2. в випадках використання при первинній операції інтраканальних методик доступ до рецидиву грижі потрібно виконувати не через післяопераційний рубець, а із застосуванням латеральних доступів;
3. інтраопераційно виявити та виділити нормальні анатомічні орієнтири оперованої ділянки (медіаліні відділи фасеткового суглобу, залишки жовтої зв'язки, частково резеційовані напівдуги суміжних хребців);
4. виявити та вивільнити не змінену рубцево-спайковим процесом тверду мозкову оболонку з нервовим корінцем (зазвичай в ділянці нижнього краю вищележачої напівдуги, в медіальних відділах фасеткового суглобу, у основи та по ходу нижчого суставного відростку);
5. при медіальному відведенні корінця з ТМО та перед видаленням матеріалу рецидиву грижі диску, в випадках виявленої вентральної дуральної адгезії, необхідно провести додаткову дисекцію залишених злук, з метою запобігання травмуванню нервових структур при видаленні грижі диску;

6. хірургічна тактика при видаленні рецидиву грижі диску після первинного використання позаканальних методик повинна враховувати визначальний фактор форамінального компоненту компресійно-ішемічної радикулопатії у зв'язку з розповсюдженням явищем, в таких випадках, зниження міжтілового проміжку та супутнього фораміностенозу.

Представлені хірургічні принципи стосуються лише іпсилатеральних рецидивів гриж міжхребцевих дисків та враховують наявність супутніх рубцево-спайкових змін з явищами латерального стенозу, при відсутності нестабільності оперованого сегменту, яка потребує додаткової стабілізації.

Заключення

Особливість диференційованого підходу при плануванні та проведенні повторного хірургічного втручання з приводу рецидивів гриж поперекового відділу хребта в випадках виконання під час первинних операцій інтраканального доступу, полягає в наявності виражених післяопераційних змін в ділянці оперованого сегменту: рубцево-спайкових явищ, додаткових кісткових резекцій (аркотомій, часткових фасетектомій), іноді нестабільності, стенозування каналу хребта, в той час, як при використанні первинно позаканальних методик це було не характерно, та частіше зустрічалися явища супутнього фораміностенозу. Повторна відкрита мікродискектомія в таких випадках може розглядатися як стандартний та ефективний метод лікування пацієнтів з рецидивом грижі диску.

Література

1. Hu R.W., Jaglal S., Axcell T. et al. A population-based study of reoperations after back surgery. // Spine 1997.-V.22.-P.2265-70.
2. Spengler D.M. Lumbar discectomy. Results with limited disc excision and selective foraminotomy. // Spine 1982.-V.7.-P.604-7.

3. Savitz M.H., Katz S.S. Microsurgical vs standard lumbar discectomy. // Neurosurgery 1988.-V.23.-P.271.
4. Long D.M., Filtzer D.L., BenDebba M. et al. Clinical features of the failed-back syndrome. // J Neurosurg 1988.-V.69.-P.61-71.
5. Spengler D.M., Freeman C., Westbrook R. et al. Lowback pain following multiple lumbar spine procedures. Failure of initial selection? // Spine 1980.-V.5.-P.356-60.
6. Burton C.V., Kirkaldy-Willis W.H., Yong-Hing K. et al. Causes of failure of surgery on the lumbar spine. // Clin Orthop Relat Res 1981.-V.157.-P.191-9.
7. Law J.D., Lehman R.A., Kirsch W.M. Reoperation after lumbar intervertebral disc surgery. // J. Neurosurg. - 1978.-V.48.-P.259-63.
8. Laus M., Alfonso C., Tigani D. et al. Failed back syndrome: a study on 95 patients submitted to reintervention after lumbar nerve root decompression for the treatment of spondylotic lesions. // Chir Organi Mov 1994.-V.79.-P.119-26.
9. Burton C.V. Lumbosacral arachnoiditis // Spine 1978.-V.3.-P.24-30.
10. Benoist M., Ficat C., Baraf P. et al. Postoperative lumbar epiduro-arachnoiditis. Diagnostic and therapeutic aspects. // Spine 1980.-V.5.-P.432-6.
11. Babar S., Saifuddin A. MRI of the post-discectomy lumbar spine. [Review] // Clin Radiol - 2002.-V.57.-P.969-81.
12. Carragee E.J., Han M.Y., Suen P.W. et al. Clinical outcomes after lumbar discectomy for sciatica: the effects of fragment type and anular competence. // J Bone Joint Surg Am. - 2003.-V.85-A.-P.102-8.
13. Suk K.S., Lee H.M., Moon S.H. et al. Recurrent lumbar disc herniation: results of operative management. // Spine. - 2001.-V.26.-P.672-6.
14. Cauchoux J., Ficat C., Girard B. Repeat surgery after disc excision. // Spine. - 1978.-V.3.-P.256-9.
15. Finnegan W.J., Fenlin J.M., Marvel J.P. et al. Results of surgical intervention in the symptomatic multiplyoperated back patient. Analysis of sixty-seven cases followed for three to seven years. // J Bone Joint Surg Am. - 1979.-V.61.-P.1077-1082.
16. Baba H., Chen Q., Kamitani K. et al. Revision surgery for lumbar disc herniation. An analysis of 45 patients. // Int Orthop. - 1995.-V.19.-P.98-102.
17. Ozgen S., Naderi S., Ozek M.M. et al. Findings and outcome of revision lumbar disc surgery. // J Spinal Disord. - 1999.-V.12.-P.287-92.
18. Keskimaki I., Seitsalo S., Osterman H. et al. Reoperations after lumbar disc surgery: a populationbased study of regional and interspecialty variations. // Spine. - 2000.-V.25.-P.1500-8.

Реферат

ОСОБЕННОСТИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РЕЦИДИВОВ ГРЫЖ МЕЖПОЗВОНКОВЫХ ДИСКОВ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА

Педаченко Е.Г., Ерошкин А.А.

Ключевые слова: рецидив, грыжа межпозвонкового диска, хирургическое лечение.

Рецидив грыжи диска – это распространенная и актуальная нейрохирургическая проблема. Он может возникать в 5 – 15% случаях первичного хирургического лечения грыж поясничных дисков. Удаление рецидива грыжи поясничного диска требует педагогической хирургической техники с использованием микроскопа.

Summary

PECULIARITY OF SURGICAL TREATMENT OF RECURRENT INTERVERTEBRAL LUMBAR DISC HERNIATIONS

Pedachenko E.G., Eroshkin A.A.

Key words: recurrent, intervertebral disc herniation, surgical treatment.

Recurrent lumbar disc herniation is a widespread and an actual neurosurgical problem. It has been noted to occur in 5 to 15% of cases of primary surgical treatment of lumbar disc herniation. The ablation of recurrent lumbar disc herniations requires meticulous surgical technique with the use of a microscope.

УДК 116.381 – 002 – 089.168 - 08

ЛІКУВАННЯ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ПЕРИТОНІТУ ПІСЛЯ ПЕРВИННОЇ САНАЦІЇ ПРИ ГОСТРІЙ АБДОМІНАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ.

Ситнік Д.А.

Вищий державний навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава

Мета роботи - оцінити ефективність лікування післяопераційного перитоніту при гострій абдомінальній патології. Матеріали та методи. Проаналізовано історії хвороб 42 хворих у віці від 25 до 86 років, які лікувалися з приводу післяопераційного перитоніту (ПП), котрий виник після первинної санації черевної порожнини при гострій абдомінальній патології. Результати та їх обговорення. ПП виник після операцій з приводу гострої кишкової непрохідності у 10 (23,81%) хворих, з приводу операцій на шлунку та дванадцятипалій кишці 8 (19,05%), на печінці та жовчних шляхах 10 (23,81%), на товстій та прямій кишках 6 (14,29%), з приводу гострої гінекологічної патології 3 (7,14%), рецидивуючих перфوراцій тонкої кишки 1 (2,38%), інші 3 (7,14%). 19 хворим виконано по 1 релапаротомії, у 10 хворих - 2, у 5 - більше 2. У 8 хворих накладено лапаростому за оригінальною методикою [6] та виконувались програмні релапаротомії до повної ліквідації перитоніту. Померло 12 (28,57%) хворих із них 2 - після накладання лапаростоми. Причина смерті у хворих були розвиток інфекційно-токсичного шоку та прогресуючої поліорганної недостатності.

Ключові слова: післяопераційний перитоніт, релапаротомія, лапаростомія, санація черевної порожнини.

Вступ

Проблема післяопераційного перитоніту (ПП) набула характеру самостійного напрямку в абдомінальній хірургії [1]. За літературними даними він виникає у 0,7 – 1% оперованих хворих. Відсутність за останні десятиріччя суттєвих змін у лікуванні ПП спонукає до великої кількості досліджень, в кожному з яких пропонуються свої підходи до вирішення цієї проблеми [3,4].

Фундаментальна доктрина хірургічного лікування перитоніту була сформульована німецьким хірургом М. Kirschner ще 1926 р. [2]:

1) джерело інфекції повинно бути надійно усунене (санація вогнища);

2) мікроорганізми та токсини повинні бути повністю евакуйовані із черевної порожнини.

Неможливість реалізації цих класичних принципів в окремих клінічних ситуаціях під час першої операції і призвела до впровадження в практику двох варіантів хірургічної тактики лікування розповсюдженого перитоніту – релапаротомії "за вимогою", коли несприятливий перебіг захворювання після однократної хірургічної корекції не прогнозувався, та планової релапаротомії, коли несприятливий розвиток захворювання при одноразовій хірургічній корекції оцінювався як вірогідний [2, 3, 4, 5].

Мета дослідження – оцінити ефективність лікування післяопераційного перитоніту при гострій абдомінальній патології.

Матеріали та методи дослідження

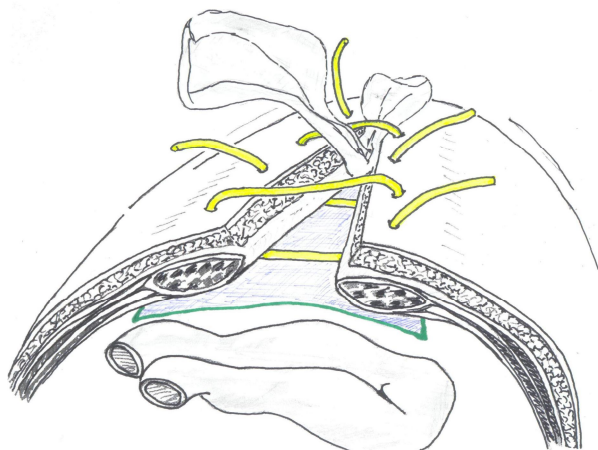
Проаналізовано історії хвороб 42 хворих у віці від 25 до 86 років, які лікувалися з приводу післяопераційного перитоніту (ПП), який прогресував після первинної санації черевної порожнини при гострій абдомінальній патології з 1995 по 2008 рр. Серед хворих було 29 чоловіків (69,9%), та 13 жінок (30,1%). До дослідження бу-

ли включені хворі, які відповідали наступним критеріям: виконана екстрена операція з приводу гострої абдомінальної патології, з наступним розвитком ПП, що спонукало до повторної санації черевної порожнини. З дослідження були виключені хворі з канцероматозом органів черевної порожнини, панкреонекрозом та тотальним мезентеріальним тромбозом, як такі, яким неможливо під час первинної санації ліквідувати джерело перитоніту.

ПП виник після операцій з приводу гострої кишкової непрохідності у 10 (23,8%) хворих, з приводу операцій на шлунку та дванадцятипалій кишці 8 (19,1%), на печінці та жовчних шляхах 10 (23,8%), на товстій та прямій кишках 6 (14,3%), з приводу гострої гінекологічної патології 3 (7,1%), рецидивуючих перфорацій тонкої кишки 1 (2,4%), інші 3 (7,1%). Найбільш часто (75%) ПП розвивався внаслідок недостатності швів анастомозу, накладених на шлунково-кишковий тракт та жовчні шляхи.

Досліджувані хворі були розподілені на 2 групи. Першу групу склали 34 (80,9%) хворих, яким для санації черевної порожнини при ПП використовували релапаротомію "за вимогою". Другу - 8 (19,1%) хворих, яким для санації черевної порожнини при ПП використовували лапаростомію за оригінальною методикою для виконання програмованих санацій черевної порожнини до повної ліквідації перитоніту. Пацієнтів обох груп зіставляли за статтю, віком та характером патології.

* Дана робота є фрагментом науково-дослідної роботи "Порушення гомеостазу організму при хірургічній патології, прогнозування і корекція виявлених порушень, оптимізація діагностики і лікувальної тактики" № 0105V007095



Результати дослідження

Серед пацієнтів першої групи: 19 хворим виконано 1 релапаротомію, 10 хворим - 2, 5 хворим - 3 і більше. Релапаротомію "за вимогою" виконували тоді, коли несприятливий перебіг захворювання під час першої операції не прогнозувався: прогресування розповсюдження гнійного перитоніту в післяопераційному періоді; інфаркт кишечника, який розвинувся після первинної операції; абсцеси черевної порожнини та за очеревинного простору; інфіковані гематоми або флегмони заочеревинного простору; гостра злукова кишкова непрохідність; перфорації виразок; неспроможність швів шлункових та кишечних анастомозів. До недоліків подібних хірургічних втручань слід віднести: небезпеку неповної елімінації джерела інтраабдомінальної інфекції під час першої операції та запізнілу діагностику розвитку ускладнень.

Розвитку ПП сприяли наступні чинники:

- 1) не виконувалась декомпресія шлунку, кишечника;
- 2) була неповна ревізія черевної порожнини, залишились дефекти шлунка, кишечника, загальної жовчної протоки;
- 3) неадекватна оцінка життєздатності дестрангульованої кишки, не була виконана резекція, або виконувалась "економна резекція";
- 4) виконувалась первинна резекція з одномоментним накладанням анастомозу між кінцями кишки при завороті та некрозі сигмоподібної кишки або повної обтурації її пухлиною;
- 5) недостатня санація або недостатнє дренивання черевної порожнини.

У пацієнтів другої групи (8 хворих) накладено лапаростому за оригінальною методикою [6] з метою проведення програмованих санацій черевної порожнини до повної ліквідації перитоніту. Дана методика характеризується тим, що в якості лігатур використовуються поліхлорвінілові трубки діаметром 0,5 см. Формуються отвори, що перфорують всі шари черевної стінки через прямий м'яз живота з обох країв операційної рани на відстані 5-7 см один від одного. Посегмен-

тно здійснюється шнурування передньої черевної стінки двома або трьома Z-подібними швами в залежності від довжини рани. Це забезпечує швидке відкриття та закриття лапаростоми, зниження травмування черевної стінки за типом прорізування швів після повторних санацій черевної порожнини та створює можливість розподілення внутрішньочеревного тиску найбільш оптимально по всій черевній порожнині.

Використання лапаростомії має свої переваги перед релапаротомією. Так, при першому методі внутрішньочеревний тиск довічно атмосферному, тому виключається розвиток абдомінального компартмент синдрому. Тоді як при використанні методики релапаротомії для лікування ПП, в герметично замкненій черевній порожнині виникає абдомінальний компартмент синдром з послідовним розвитком поліорганної недостатності.

Перебіг захворювання в обох групах був тяжким, екстраабдомінальні ускладнення виникли у 25(73,5%) хворих першої групи, та у 3(37,5%) хворих другої групи.

Померло 12 (28,6%) хворих із них 2 - після накладання лапаростоми. Причиною смерті у хворих були розвиток інфекційно-токсичного шоку та прогресуючої поліорганної недостатності.

Висновки

1. Програмований метод лікування хворих з розповсюдженим перитонітом дозволяє достовірно знизити летальність та частоту інтраабдомінальних ускладнень.
2. Перевищення показань до етапного хірургічного лікування не слід розглядати як тактичну помилку, оскільки вона може бути виправлена при першій етапній реоперації. Однак відмова від етапного методу лікування часто призводить до релапаротомії "за вимогою" або смерті хворого.

Література

1. Каминский И.В. Послеоперационный перитонит / Каминский И.В., Торатадзе Н.Н. // Клінічна хірургія. - 2008. - № 11-12. - С. 43.
2. Савельев В.С. Программируемая релапаротомия в лечении распространенного перитонита / Савельев В.С., Филимонов М.И., Подачин П.В. // Анналы хирургии. - 2004. - № 2. - С.42 - 48.
3. Шаповальянц С.Г. Диагностика интраабдоминальных инфекционных осложнений после неотложных операций на органах брюшной полости / Шаповальянц С.Г., Линденберг А.А., Таймаскина М.Т. [и др.] // Анналы хирургии. - 2007. - №2. - С.71 - 77.
4. Жебровский В.В. Ранние и поздние послеоперационные осложнения в хирургии органов брюшной полости / Жебровский В.В. - Симферополь : Издательский центр КГМУ, 2000. - 687 с.
5. Годлевський А.І. Післяопераційний перитоніт / Годлевський А.І., Шапринський В.О. - Вінниця : Видавництво ВНМУ ім. М.І.Пирогова, 2001. - 240 с.
6. Пат. № 38959 Україна, МПК А61В17/00. Спосіб закриття черевної стінки при лапаростомії / Шейко В.Д., Ситнік Д.А. ; заявник та патентовласник Вищий державний навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава. - № у 2008 11004; заявл. 09.09.2008; опубл. 26.01.2009. - Бюл. № 2.

Реферат

ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИТОНИТА ПОСЛЕ ПЕРВИЧНОЙ САНАЦИИ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПУСТОТЫ ПРИ ОСТРОЙ АБДОМИНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Сытник Д.А.

Ключевые слова: послеоперационный перитонит, релапаротомия, лапаростомия, санация брюшной полости.

Цель работы - оценить эффективность лечения послеоперационного перитонита при острой абдоминальной патологии. Материалы и методы. Проанализированы истории болезней 42 больных в возрасте от 25 до 86 лет, лечившиеся по поводу послеоперационного перитонита (ПП), который возник после первичной санации брюшной полости при острой абдоминальной патологии. Результаты и их обсуждение. ПП возник после операций по поводу острой кишечной непроходимости в 10 (23,81%) больных, по поводу операций на желудке и двенадцатиперстной кишке 8 (19,05%), на печени и желчных путях 10 (23,81%), на толстой и прямой кишках 6 (14,29%), по поводу острой гинекологической патологии 3 (7,14%), рецидивирующих перфораций тонкой кишки 1 (2,38%), другие 3 (7,14%). 19 больным выполнено по 1 релапаротомии, в 10 больных - 2, в 5 - больше 2. В 8 больных наложено лапаростому по оригинальной методике [6] и выполнялись программные релапаротомии до полной ликвидации перитонита. Умерло 12 (28,57%) больных из них 2 - после наложения лапаростомы. Причиной смерти в больных были развитие инфекционно-токсического шока та прогрессирующей полиорганной недостаточности.

Summary

TREATMENT OF POSTOPERATIVE PERITONITIS AFTER PRIMARY SANATION OF ABDOMINAL VISCERA UNDER ACUTE ABDOMINAL PATHOLOGY

Sytnik D.A.

Key words: postoperative peritonitis, relaparotomy, laparostomy, sanation of abdominal cavity.

The work was aimed to estimate the efficiency of postoperative peritonitis treatment under acute abdominal pathology. There have been studied 42 case histories of the patients aged 25-86 treated on acute post-operative peritonitis which occurred after the primary abdominal sanation under acute abdominal pathology. Post-operative peritonitis developed in 10 (23,81%) patients operated on for acute intestinal obstruction, in 8 (19,05%) patients operated on for stomach and duodenum, in 6 (14,29%) patients - for large intestine and rectum, in 3 (7,14%) patients operated on for acute gynecological pathologies, in 1 (2,38%) on recurrent perforation of small intestine. 19 patients were subjected to 1 relaparotomy, 10 patients experienced the procedure 2 times, and 5 patients - more than 2 times. 12 (28,57%) patients died, and 2 of them died after laparostomy. The causes of patients' death are mainly caused by the development of infectious-toxic shock and progressing polyorganic insufficiency.

МОРФОЛОГІЯ ТА ФІЗІОЛОГІЯ

УДК: 616.22-006.04-074

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИ ГЛИБОКІЙ ІНВАЗІЇ МАЛОДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ ГОРТАНІ СКЛАДКОВОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ

Гасюк А. П., Гасюк Ю. А.

Вищий державний навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава

Проведені імуногістохімічні дослідження малодиференційованого плоскоклітинного раку гортані складочної локалізації при глибокій інвазії показали, що у ракових комплексах, в яких формуються ШИК-позитивні «ракові перлини», визначається різна ступінь експресії цитокератина СК 34 βЕ 12, а також виражена експресія маркера Ki-67 у більшості атипічних клітин, що свідчить про їх високу проліферативну активність. Помірна експресія VEGF в ендотемії новоутворених кровоносних судин свідчить про процеси неоангіогенезу. В зонах більше глибокої інвазії, в яких формуються суданофільні «ракові перлини», спостерігається менший ступінь експресії цитокератина СК 34 βЕ 12, чим у зонах ШИК-позитивних «ракових перлин». Висока ступінь інтрануклеарної експресії маркера p-63 характеризує малодиференційований стан подавляючої більшості атипічних клітин навколо суданофільних «ракових перлин».

Ключові слова: плоскоклітинний рак гортані, імуногістохімічні маркери.

Вступ

В структурі загальної онкозахворюваності рак гортані посідає 8-ме місце та складає 60-70% в структурі онкооториноларингології [1; 8]. Запізнена діагностика карциноми даної локалізації обумовлює високу летальність, а також в більшості випадків радикальні підходи в її лікуванні, що приводить до інвалідизації хворих. Злоякісні новоутворення гортані в 95% випадків представлені різними гістологічними типами плоскоклітинного раку [1; 5; 6; 7; 9]. Серед них найбільш несприятливим клінічним перебігом та прогнозом виділяється малодиференційований плоскоклітинний рак (МПР) [2; 5; 7; 9]. Вивченню імуногістохімічних характеристик плоскоклітинного раку гортані присвячена значна кількість багатогранних досліджень [3; 4; 10; 11; 12; 15]. Дані наукові праці стосуються переважно експресії основних імуногістохімічних маркерів, які мають важливе прогностичне значення щодо перебігу та ефективності лікування раку гортані [3; 4; 12; 13; 14; 16]. В той же час, імуногістохімічні дослідження МПР гортані в залежності від його гістохімічних особливостей не проводились. В зв'язку з цим, дослідження в даному напрямку представляють собою досить актуальну та перспективну проблему як в теоретичній, так і в практичній онкології.

Метою даного дослідження стало вивчення

імуногістохімічних особливостей при глибокій інвазії малодиференційованого плоскоклітинного раку гортані складочної локалізації.

Об'єкт та методи дослідження.

Вивчення імуногістохімічних особливостей при глибокій інвазії малодиференційованого плоскоклітинного раку гортані складочної локалізації проводилось на ретроспективному аналізі клініко-анатомічного матеріалу, взятому у 15 хворих. З метою комплексного дослідження нами використані різні імуногістохімічні маркери, а саме маркери цитокератину СК 34 βЕ 12, антионкогену p-53 та його гомолога p-63, а також Ki-67, VEGF, α-IsmA.

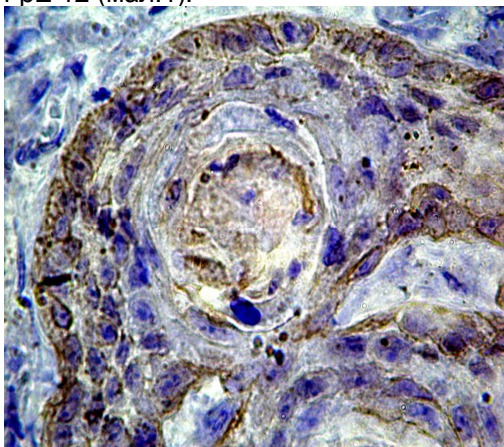
Результати дослідження.

В результаті проведених досліджень встановлено, що малодиференційований плоскоклітинний рак гортані (МПР) складочної локалізації характеризується вузликотипно-розгалуженою формою росту з ендотипно-інфільтративним проростанням. В залежності від ступеня інвазії вузликів, визначаються ракові комплекси, що відрізняються за ступенем диференціювання клітин. В зв'язку з цим, в них формуються гетерогенні за гістохімічними характеристиками „ракові перлини”. При цьому, в ракових комплексах, що характеризуються глибоким ступенем інвазії, тобто проростають у фіброзноеластично-

* Публікація є фрагментом планової науково-дослідної роботи ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" "Вивчення закономірностей структурної організації внутрішніх органів в нормі та при патології", номер держреєстрації: 0106U003236.

м'язевий шар гортані, формуються ШИК-позитивні „ракові перлини”. В той же час, в зонах ще глибшої інвазії, в ході ракової прогресії МПР гортані, формуються суданофільні „ракові перлини”.

Проведені імуногістохімічні дослідження показали, що в зонах ШИК-позитивних (глікоген-вмісних) „ракових перлин” спостерігається досить різний ступінь експресії цитокератину СК 34 β Е 12. Так в центральній частині „ракової перлини” визначається високий ступінь експресії в окремих паракератозних клітинах. В самих рогових лусочках спостерігаються лише сліди експресії даного маркера. В той час, у веретеноподібних ракових клітинах його експресія взагалі відсутня. На периферії ракового комплексу розташовані атипові клітини великих розмірів, які мають також високий ступінь експресії цитокератину СК 34 β Е 12 (мал.1).



Мал.1 Експресія цитокератину СК 34 β Е 12 в зоні ШИК-позитивної „ракової перлини” при МПР гортані.

1. сліди експресії в рогових лусочках 2. високий ступінь експресії в паракератозних клітинах 3. відсутність експресії в веретеноподібних клітинах 4. високий ступінь експресії в периферійних ракових клітинах.

ІГХ метод, забарвлення на цитокератин СК 34 β Е 12. 36. 100 \times 10.

Проведені імуногістохімічні дослідження показали, що в зонах ШИК-позитивних „ракових перлин” МПР гортані визначається високий та помірний ступінь експресії маркера Ki-67 в більшості атипових клітин. При цьому в паракератозних ракових клітинах спостерігається лише помірний ступінь інтрануклеарної експресії, що проявляється світло-коричневим забарвленням їх ядер. В ядрах більшості інших ракових клітин визначаються крупнобрильчаті включення темnobруннатного кольору, що свідчить про високий ступінь експресії маркера Ki-67. Необхідно відмітити, що в клітинах центральної частини „ракової перлини” ядра мають більший розмір та округлу, або овальну форму, в той час як клітини, що розташовані на периферії, характеризуються витягнутими або веретеноподібними ядрами менших розмірів.

Згідно з даними літератури [3; 12; 16], моноклональні антитіла маркера Ki-67 реагують лише з клітинними елементами, які перебувають

на стадії мітозу, а також з тими, що готуються або виходять з нього. В зв'язку з цим, виражена експресія даного маркера в більшості атипових клітин в зонах ШИК-позитивних „ракових перлин” свідчить про їх високу проліферативну активність.

З метою дослідження процесів неопластичності при МПР гортані нами проведені імуногістохімічні дослідження експресії маркера VEGF – фактору росту ендотелію судин. Встановлено, що по периферії від „ракових перлин”, серед малодиференційованих атипових клітин формуються кровоносні судини, в ендотелії яких визначається помірна експресія VEGF у вигляді світло-коричневого забарвлення.

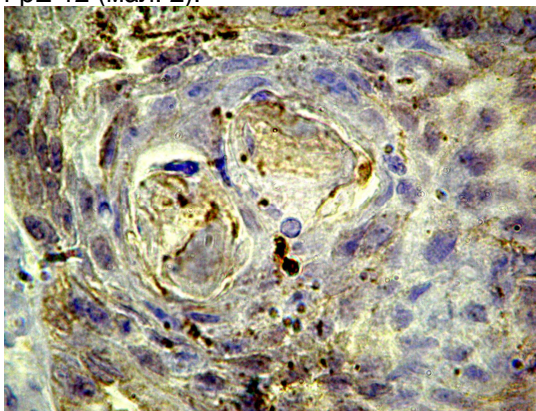
Фактор росту ендотелію судин в процесі пухлинного неопластичності обумовлює формування незрілих кровоносних судин, які забезпечують трофіку ракових клітин. В зв'язку з цим, отримані дані підтверджують наявність процесів неопластичності при МПР гортані, які, в свою чергу, обумовлюють швидкий ріст пухлини, а також тенденцію до її метастазування.

Таким чином, проведені імуногістохімічні дослідження свідчать про різний ступінь експресії цитокератину СК 34 β Е 12 в зонах ШИК-позитивних „ракових перлин”, а також виражену експресію маркера Ki-67 в більшості атипових клітин, що свідчить про їх високу проліферативну активність. Крім того, в ендотелії новоутворених кровоносних судин спостерігається помірна експресія VEGF, що свідчить про наявність неопластичності в зоні інвазії МПР в фіброзноеластично-м'язевий шар гортані.

Проведені імуногістохімічні дослідження показали, що в зонах більш глибокої інвазії МПР гортані, в яких формуються суданофільні „ракові перлини”, спостерігається менший ступінь експресії цитокератину СК 34 β Е 12, ніж в зонах ШИК-позитивних „ракових перлин”.

Безпосередньо в центральній частині „ракової перлини”, в осередку зроговіння, виявляється дифузна або осередкова реакція на даний маркер із різною інтенсивністю забарвлення – від світло-жовтого до світло-коричневого. На відміну від ШИК-позитивних „ракових перлин”, в суданофільних „ракових перлинах” паракератозні клітини відсутні, проте в даних структурах на фоні експресії цитокератину визначаються світлі проміжки. Очевидно, що в останніх знаходились ліпіди, які вимились в процесі приготування препаратів спиртом або ксилолом. Навколо осередку зроговіння концентровано розташовані веретеноподібні ракові клітини, які характеризуються відсутністю експресії цитокератину СК 34 β Е 12. По периферії від них спостерігаються клітинні елементи великих розмірів з прозорою, місцями пінистою вакуолізованою цитоплазмою, які іноді мають „перснеподібну” форму. В цитоплазмі даних клітин визначається низький ступінь

експресії цитокератину СК 34 βЕ 12. Проте в деяких місцях в ракових комплексах, в яких формуються суданофільні „ракові перлини”, зустрічаються атипові клітини витягнутої форми з високим ступенем експресії цитокератину СК 34 βЕ 12 (мал. 2).



Мал. 2 Експресія цитокератину СК 34 βЕ 12 в зоні ліпід-вмісної „ракової перлини” при МПР гортані.

1. осередок зроговіння 2. світлі проміжки без експресії 3. відсутність експресії в веретеноподібних ракових клітинах 4. низький ступінь експресії в персноподібних клітинах 5. високий ступінь експресії в ракових клітинах.

ІГХ метод, забарвлення на цитокератин СК 34 βЕ 12. 3б. 100х10.

Проведені імуногістохімічні дослідження показали високий та помірний ступінь експресії маркера α-Ism в ракових клітинах, що оточують суданофільні „ракові перлини”. При цьому слід відзначити, що в округлих атипових клітинах спостерігається більш інтенсивна експресія даного маркера, ніж у витягнутих або веретеноподібних ракових клітинах. Враховуючи специфіку маркера α-Ism забарвлювати актинові проміжні фібрили, можна прийти до висновку, що інвазивне проростання пухлинних комплексів, в яких формуються суданофільні „ракові перлини”, в сполучну тканину здійснюється завдяки активному скороченню актинових фібрил.

Значний інтерес представляють отримані результати імуногістохімічних дослідження з визначенням ступеня експресії маркера p-63 в атипових клітинах навколо суданофільних „ракових перлин”. В зонах інвазивного росту МПР гортані спостерігається висока ступінь інтрануклеарної експресії маркера p-63 в переважній більшості поліморфних малодиференційованих клітин.

Згідно з даними літератури [10; 11], ген p-63 являє собою гомолог антионкогена p-53. При цьому, якщо p-53 експресується переважно в диференційованих клітинних елементах, то експресія гена p-63 виявляється в ембріональних, стовбурових, а також малодиференційованих клітинах. Крім того, ген p-63 являє собою протоонкоген та є природнім інгібітором антионкогена p-53. Згідно даним [10; 11], експресія p-63 забезпечує недиференційований стан клітини. В зв'язку з цим стає зрозумілою висока ступінь експресії

маркера p-63 в більшості малодиференційованих атипових клітин в зонах глибокої інвазії МПР гортані.

Висновки

1. В ракових комплексах, в яких формуються ШИК-позитивні „ракові перлини”, визначається різний ступінь експресії цитокератину СК 34 βЕ 12, а також виражена експресія маркера Ki-67 в більшості атипових клітин, що свідчить про їх високу проліферативну активність.
2. Помірна експресія VEGF в ендотелії новоутворених кровоносних судин свідчить про процеси неоангіогенезу в зоні інвазії МПР в фіброзноеластично-м'язовий шар гортані.
3. В зонах більш глибокої інвазії МПР гортані, в яких формуються суданофільні „ракові перлини”, спостерігається менший ступінь експресії цитокератину СК 34 βЕ 12, ніж в зонах ШИК-позитивних „ракових перлин”.
4. Виражена експресія маркера α-Ism в ракових клітинах, що оточують суданофільні „ракові перлини”, свідчить, що інвазивне проростання пухлинних комплексів в оточуючу сполучну тканину здійснюється завдяки активному скороченню актинових фібрил.
5. Висока ступінь інтрануклеарної експресії маркера p-63 характеризує малодиференційований стан переважної більшості атипових клітин навколо суданофільних „ракових перлин”.

Література

1. Абизов Р.А. Онкоотоларингологія. Лекції. - К.: Книга плюс, 2001. - 272 с.
2. Апатенко А.К. Эпителиальные опухоли и пороки развития кожи. - М.: «Медицина», 1973. - 239 с.
3. Горбань Н.А., Тен В.П., Панкратов В.А. Экспрессия антигена Ki-67 и белка p53 как показателей агрессивности течения плоскоклеточного рака гортани // Вопросы онкологии. - 2007. - Т. 53, №6. - С.668-673.
4. Гриценко П.А. Плоскоклеточный рак гортани: иммуногистохимический профиль цитокератинов и значение их в диагностике // Патология. - 2006. - №3. - С.37-40.
5. Пальцев М.А., Аничков Н.А. Атлас опухолей человека. - М.: «Медицина», 2005. - С. 369-381.
6. Патология. Руководство под ред. М.А. Пальцева, В.С. Паукова, Е.Г. Улумбекова. - М.: «Медицина», 2002. - С. 253-283.
7. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека. Руководство в 2-х томах под ред. Н.А. Краевского, А.В. Смоляникова, Д.С. Саркисова. Т. I. - М.: «Медицина», 1993. - С.443-457.
8. Пачес А.И. Опухоли головы и шеи. - М.: Медицина, 2000. - 467 с.
9. Atlas of Tumor Pathology. Eds. Rosai, L. Sobin. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 2000. - P. 453-508.
10. Choi H.R., Batsakis J.G., Zhan F., et al. Differential expression of p53 gene family members p63 and p73 in head and neck squamous tumorigenesis // Hum. Pathol. - 2002. - Vol.33. - P.158-64.
11. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry. - Churchill Livingstone, 2006. - 828 p.

12. De Vincentiis M., Di Cello P., Censi F., et al. Immunohistochemical expression of fatty acid synthase, Ki-67 and p53 in squamous cell carcinomas of the larynx // Int. J. Biol. Markers – 2008. – Vol.23. – P.176-81.
13. Hotz M., Bosq J., Zbaeren P. et al. Spontaneous Apoptosis and the Expression of p53 and Bcl-2 Family Proteins in Locally Advanced Head and Neck Cancer // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 1999. – Vol.125, №4. – P.417–422.
14. Klatka J. Prognostic value of the expression of p53 and bcl-2 in patients with laryngeal carcinoma // Eur. Arch. Otorhinolaryngology. – 2001. – Vol.258. – P.537–541.
15. Moll R., Franke W., Schiller D. et al. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells // Cell. – 1982. – Vol.31, №1. – P.11–24.
16. Smilek P., Dusek L., Vesely K. et al. Correlation of expression of Ki-67, EGFR, cerbB- 2, MMP-9, p53, bcl-2, CD34 and cell cycle analysis with survival in head and neck squamous cell cancer // J. Exp. Clin. Cancer Res. – 2006. – Vol.25, №4. – P.549–555.

Реферат

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИ ГЛУБОКОЙ ИНВАЗИИ МАЛОДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ГОРТАНИ СКЛАДОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Гасюк А.П. Гасюк Ю.А.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак гортани, иммуногистохимические маркеры.

Проведенные иммуногистохимические исследования малодифференцированного плоскоклеточного рака гортани складочной локализации при глубокой инвазии показали, что в раковых комплексах, в которых формируются ШИК-положительные „раковые жемчужины“, определяется разная степень экспрессии цитокератина СК 34 βЕ 12, а также выраженная экспрессия маркера Ki-67 в большинстве атипичных клеток, что свидетельствует об их высокой пролиферативной активности. Умеренная экспрессия VEGF в эндотелии новообразованных кровеносных сосудов свидетельствует о процессах неоангиогенеза. В зонах более глубокой инвазии, в которых формируются суданофильные „раковые жемчужины“, наблюдается меньшая степень экспрессии цитокератина СК 34 βЕ 12, чем в зонах ШИК-положительных „раковых жемчужин“. Высокая степень интрануклеарной экспрессии маркера p-63 характеризует малодифференцированное состояние подавляющего большинства атипичных клеток вокруг суданофильных „раковых жемчужин“.

Summary

IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF LOW DIFFERENTIATED SQUAMOUS CELL CANCER OF LARYNX WITH VOCAL LOCALIZATION UNDER DEEP INVASION

Gasyuk A. P. Gasyuk Y. A.

Keywords: squamous cell cancer of larynx, immunohistochemical markers.

The immunohistochemical researches of low differentiated squamous cell cancer of larynx with vocal localization under the deep invasion have shown that in the cancer complexes where PASK-positive „cancer pearls“ are formed, the various intensity of expression of CK 34 βЕ 12 cytokeratine is determined as well as the pronounced expression of Ki-67 marker in the majority of atypical cells, that proves their high proliferative activity. Moderate expression of VEGF in endothelium of newly formed blood vessels testifies to the processes of neoangiogenesis. In the areas of deeper invasion, where sudanophil „cancer pearls“ are formed, there is less intensity of CK 34 βЕ 12 cytokeratine, than in the areas of PASK-positive „cancer pearls“. The high intensity of intranuclear expression of p-63 marker characterizes the low differentiated state of the majority of atypical cells around sudanophil „cancer pearls“.

УДК 611.69:616-006.0

ОСОБЛИВОСТІ СОСОЧКОВОГО ТИПУ ВНУТРІШНЬОПРОТОКОВОГО РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ В АСПЕКТІ ОНТОГЕНЕЗУ

Ніколенко Д.Є.

Вищий державний навчальний заклад України “Українська медична стоматологічна академія”, м. Полтава

Комплексно вивчена гістологічна структура і каріометричні особливості сосочкових форм внутрішньопротокового раку молочної залози у зіставленні з її онтогенезом. Виявлено, що в основі утворення псевдососочкових і сосочкових структур внутрішньопротокового раку молочної залози лежить вегетация атипичного епітелію камбіального, секретуючого і сорбційного типів, котрі подібні до епітелію зародка залози та її генеративної зони в репродуктивному періоді жінки.

Ключові слова: внутрішньопротоковий рак молочної залози, онтогенез молочної залози, каріометрія.

Проблема раку молочної залози (РМЗ), переважно у жінок, продовжує бути болючою темою в медицині. У Європі та США [15] кількість захворювань на цю недугу осіб складає 26%, в Україні – 18% [16]. За даними Українського (національного) канцерреєстру за останні 5 років абсолютна кількість зареєстрованих хворих на РМЗ жінок становить не менше як 15 тисяч [7,13]. Найбільш високі показники РМЗ в нашій державі відзначаються в південних регіонах (Донецька, Дніпропетровська, Харківська області - від 700 до 1000). Нижчі показники - в центральних регіонах, серед них і Полтавська область [13]. Серед органної онкопатології РМЗ посідає II місце після раку ле-

гень [2,12] і I місце в Україні у жінок з іншою онкопатологією репродуктивної системи. При цьому смертність від РМЗ в Україні після лікування впродовж перших 5 років складає майже 50%, той час як у США - тільки 18% [5].

Частіше РМЗ має протокове походження. Причому, згідно з МКХ -10 (1993) та МКП (2003) [17] прийнято протоковий РМЗ поділяти на неінвазивний (внутрішньопротоковий) та інвазивний [12]. Перший відноситься умовно до початкових стадій РМЗ і складає близько 10% від усіх раків даного органу [3,4]. Але, незважаючи на теоретично сприятливий прогноз при своєчасній діагностиці і лікуванні, проблема внутрішньопротоково-

го раку молочної залози (ВПРМЗ) не завжди вирішується позитивно, через те, що він дає віддалені у часі метастази (до 9%), тому що росте мультицентрично [6]. Ось чому при неінвазивній формі ВПРМЗ проблема потребує подальшого морфологічного вивчення.

Метою даного дослідження стало вивчення особливостей патоморфології неінвазивного ВПРМЗ сосочкових типів росту в порівнянні з гістологічною будовою зародка залози в пренатальний період та генеративною зоною МЗ жінки репродуктивного віку.

Матеріал і методи дослідження

Із гістологічного архіву Полтавського обласного патологоанатомічного бюро проаналізовано 15 випадків захворювань на ВПРМЗ жінок віком 30-39 років (операційний та біопсійний матеріал) з підтвердженням діагнозом, що мав різноманітну сосочкову будову. Гістологічні зрізи з парафінових блоків забарвлювали гематоксиліном та еозином, за ван-Гізон, за Хартон (на сполучну тканину і еластичні волокна). В кожному випадку проводили каріометрію 200 ядер епітеліальних елементів пухлини з обчисленням десятичного логарифму об'єму ядер за формулою обертаю-

$$V = \frac{\pi}{6} k^3 d^2 D$$

чого овоїда : де D – великий діаметр ядра, d – малий діаметр ядра, K- коефіцієнт збільшення об'єкту [14].

Результати досліджень та їх обговорення

При гістологічному дослідженні верифіковано ВПРМЗ з урахуванням морфологічної структури, нами було виявлено чотири типи росту пухлини: псевдососочковий, сосочковий, кріброзний, солідний або змішаний варіант. Дослідженню підлягали перші дві форми росту ракової пухлини. При оглядовій світловій мікроскопії зрізів РМЗ, забарвлених гематоксиліном та еозином, виявлено комплекси розширених канцеризованих протоків, вистелених псевдобагаторядним поліморфним атиповим епітелієм. Це засвідчують гіперхромні ядра клітин округлої та витягнутої форми за рахунок конденсованого гетерохроматину, велика кількість фігур патологічного мітозу. Ядра атипових клітин знаходяться на різній відстані від базальної мембрани протоків. Звертає на себе увагу, що ядра сплющеного епітелію мають переважно паралельну орієнтацію щодо збереженої базальної мембрани. Ці клітини не досягають просвіту протоки. І навпаки, видовженої форми клітинні елементи з косим і перпендикулярним орієнтуванням ядер, що знаходяться на більшій відстані від базальної мембрани, апікальною частиною цитоплазми направлені у просвіт протоки (рис.1).

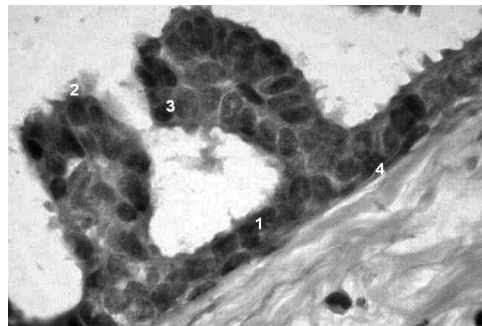


Рис.1 Вегетація атипових епітеліальних клітин у просвіт канцеризованої протоки при псевдососочковому типі внутрішньопротокового раку молочної залози.:

1- псевдобагаторядний епітелій, 2- апокриноподібна секреція, 3- фігури мітозу 4- базальна мембрана. Заб. гематоксиліном та еозином. Зб. x1000

Цитоплазма атипового епітелію протока навколо ядра містить невелику кількість зернистої речовини, котра при збільшенні висоти клітин міняє свої тинкторіальні властивості та характеризується базофілією або набуває виражено гранулярно-еозинофільного характеру. У першому випадку, вірогідно, за рахунок білок синтезуючої функції клітин, у другому, скоріш за все, містить мукополісахариди, які також рясно вкривають апікальні поверхні клітин і відокремлюються у просвіт пухлинних проток. Останнє нагадує секреторну активність подібну до апокринної. В цих же протоках пухлини МЗ виявлені булавовидної форми розростання (псевдососочки) у вигляді вегетацій, що складаються з подібних до вищеописаних атипових клітинних елементів. Псевдососочки направлені у просвіт проток з тими ж особливостями ядер і цитоплазми. Однак звертає на себе увагу, що з витягнутими, овоїдної форми ядрами, клітини в сосочках мають косонаправлену орієнтацію до внутрішньої, більш світлої еозинофільної речовини з базофільним компонентом, в яку занурені, так звані, базальні частини клітин. Очевидно, що ця речовина представлена кислими глікозаміногліканами і утворюється як подібність до стромального компоненту цими ж атиповими клітинами. Останнє, безумовно, відіграє важливу роль у підтриманні живлення проліферуючих клітин, що набувають автономного росту і знаходяться вже далеко як від базальної мембрани протока, так і від строми молочної залози.

За результатами забарвлення за ван-Гізон та Хартон, базальна мембрана канцеризованих протоків тонка і оточена гомогенною, місцями гіалінізованою сполучною тканиною з лімфоїдно-клітинними елементами на відстані. Останнє підтверджує поки що внутрішньопротоковий атиповий проліферативний процес.

Таким чином, дослідження атипових протокових пристінкових і псевдососочкових структур РМЗ виявило високу проліферативну активність епітелію з утворенням псевдобагаторядності, при цьому функціональну здатність виявляють клітинні елементи верхнього шару псевдососоч-

ків у вигляді секретії. Остів в останніх структурах, як продукт діяльності ракових клітин, являє собою безсудинне утворення, що засвідчує про незрілість стромального компоненту.

Останнє підтверджує проведена каріометрія атипичного проліферата ВП РМЗ з псевдососочковими структурами, яка виявила існування наступних модальних ядерних класів. Найменший відсоток (20,5% від максимального ядерного класу) склав ядерний клас з LgV 0,55 і був характерним для базально-розташованих клітинних елементів псевдобагаторядної структури [10]. Цей ядерний клас за своїми каріометричними властивостями нагадував камбіальні елементи паренхіматозних структур посмугованого відділу (генеративної зони) молочної залози жінок репродуктивного віку [11], а також клітинні елементи зародка (зачатка) МЗ – молочної точки, виявлених нами на ранніх стадіях онтогенезу МЗ у ембріонів [9].

Разом з цим, каріометрично, у більшості випадків досліджених клітин ВПРМЗ (80%) визначився ядерний клас з LgV 1,05. Він належав атипичним клітинам даного РМЗ з виявленою секреторною активністю у просвіт протоки і був характерним для пристінкового псевдобагаторядного епітелію.

Нарешті максимальний ядерний клас характеризується LgV 1,2 і належить псевдососочковим структурам, котрі активно проявляли двосторонню секретію, як у просвіт атипичної протоки, так і псевдобазально в сосочках.

При порівнянні морфометричних показників LgV ядер епітелію стінки протоки та псевдопапілярних структур в ньому з однотипними показниками гістологічно не зміненої протоки МЗ у спокої [11], виявлено не лише присутність камбіальних елементів, характерних генеративній зоні МЗ, а й ядерні класи зі зростанням LgV ядра, які не вкладаються в пропорційний ряд ритмічного росту ядер за Хесінім. Тобто це демонструє зростання плоідності ядер, але з порушенням розподілу хромосомного матеріалу - анеуплоїдію в наслідок патології мітозу. На явища відмінності хромосомного набору та вмісту ДНК в ядрах ракових клітин на відміну від клітин похідної тканини та явища поліплоїдії, що характеризує злоякісну пухлину, звертає увагу у своїх роботах Г.Г. Автанділов [1]. Визначені вище ядерні класи також виявлені нами в ембріогенезі МЗ – в її зародку, і у внутрішньоацинарних протоках МЗ (генеративній зоні), які характеризувались активним проліферативним процесом і початковим етапом диференціювання.

Сосочкова форма росту ВПРМЗ, на відміну від попередньої - псевдососочкової, представлена в екстазованих протоках вистілкою з поліморфного атипичного епітелію. Разом з цим, епітелій втратив ознаки псевдобагаторядності і прийняв більш сплюснену форму. Останній представлений двома типами клітин. Перший тип - розташований довгою віссю паралельно до базальної

мембрани, має гіперхромні, базофільно забарвлені ядра, що за даними літератури свідчить про превалювання в них неактивного конденсованого гетерохроматину [1,8]. Цитоплазма цих атипичних клітин слабо виражена у вигляді еозинофільного вузького обідка. Другий тип атипичних епітеліальних клітин видовженою віссю орієнтований перпендикулярно до базальної мембрани протоки. Ядра цих клітин мають світло-рожеве забарвлення за рахунок переважаючого еухроматину, з чітким обрисом ядерця, що вказує на інтерфазний період клітинного циклу. Цитоплазма останніх має вигляд вузького еозинофільного обідка, що свідчить, за даними літератури, також про низьку синтетичну активність цих атипичних клітинних елементів. Таким чином, епітелію, що вистилає стінку атипичного ракового протоку при сосочковій формі росту ВПРМЗ в порівнянні з псевдососочковим, припущення значно слабша проліферативна активність та зростання синтетичної активності клітин, через появу ознак диференціації, при знаходженні в інтерфазі клітинного циклу (рис.2).

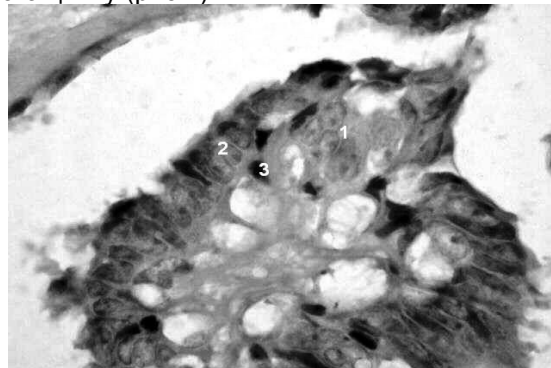


Рис.2 Клітинний поліморфізм сосочкового типу внутрішньопротокового раку молочної залози:

1- гігантські атипичні клітини з переважаючим еухроматином у ядрі та ядерцем, 2- атипичний мікророслинчастий епітелій, 3- атипичний міоепітелій. Заб. гематоксином та еозином.36. x1000

Разом з цим сосочкові структури ВПРМЗ мають і низку інших відмінностей. Так, остов сосочків представлений гомогенною еозинофільною речовиною і широкою основою виходить із стінки канцеризованої протоки в її просвіт. В ньому виявлені примітивні судини, вистелені набухлим ендотелієм на тонкій мембрані, а у просвіті містяться еритроцити.

Для спроби верифікації клітинних елементів ракових комплексів пухлини нами проведено каріометричний аналіз атипичної паренхіми сосочків. Зовнішня поверхня сосочкових структур теж складається з атипичного епітелію, що має ядра, віддалені щодо умовної базальної мембрани на різну відстань. При цьому зустрічаються клітини з блідим забарвленням ядер, за рахунок переважаючого еухроматину, та з чіткими ядерцями; в них дрібнозерниста еозинофільна цитоплазма, а в апікальній частині, спрямованій у просвіт канцеризованої протоки, ворсинчасті структури, очевидно для виконання резорбтивної функції.

Каріометрично ядра даного епітелію знаходяться в межах інтервалу LgV 0,9 і складають 62% від максимального ядерного класу. Останнє нагадує диференційований, функційно-активний епітелій, котрий визначений нами раніше в паренхіматозних елементах зародку МЗ та генеративній зоні протокової системи залози.

Разом з цим в сосочкових структурах РМЗ визначались в ядрах епітелію чисельні фігури мітозу, в тому числі з нерівномірним розподіленням хроматину, що за даними літератури відповідає патології мітотичної активності. Це були клітинні елементи з темно-базофільними ядрами, оточені вузькою смужкою еозинофільної цитоплазми, що мали LgV ядра 0,55 і складали 33%. Аналог останнього визначений нами раніше в нормі як камбіальний малодиференційований епітелій МЗ.

Однак як за морфологічними, тинкторіальними, так і каріометричними характеристиками клітинні елементи, що відповідають міоепітелію і резервному епітелію в паренхімі зрілої молочної залози, при дослідженні ракової пухлини не мали достовірного підтвердження. Окрім цього, наявність патологічних мітозів в ядрах ракових клітин з нерівномірним розподілом хроматину, вказує на атиповий характер паренхіми сосочкової структури, розлад процесів утворення і диференціації епітеліальних структур.

Крім вищеперерахованих, в гомогенній, так званій стромі, виявлено ще ряд клітин з ядерними класами в інтервалі LgV 1,05 (69%); 1,45 (100%) та 1,6 (77%), тобто зростаючого характеру. При цьому два останні ядерних класи були притаманні лише атиповим сосочковим структурам, та не зустрічались при дослідженні зачатку молочної залози та її генеративної зони. Звертає на себе увагу, що в деяких клітинах ядра пікнотичні і зміщені до периферії цитоплазми. Остання оточує їх широким обідком і містить на фоні нерівномірно еозинофільної і базофільну речовину, можливо вони білкового і мукополісахаридного характеру.

Переважає більшість ракових клітинних елементів з вищезазначеними ядерними класами 1,05;1,45;1,6 були представлені гігантськими клітинами зі світлими базофільними ядрами внаслідок переважання еухроматину, чітко вираженими ядерцями, частина клітин мала вакуолізовану цитоплазму. До того ж присутність атипового епітелію в гомогенно – еозинофільному стромальному компоненті ракової внутрішньопротокової сосочкової структури свідчить про несформованість базальної мембрани та строми.

Строма навколо ракових протоків представлена фібробластами з тонкими, видовженої форми гіперхромними ядрами, що засвідчує в них конденсований стан хроматину і відсутність синтетичної активності.

Висновки:

1. В основі утворення псевдобагаторядних структур та псевдососочкових структур при розвитку внутрішньопротокового раку молочної залози, лежить атипова вегетація епітелію, подібна до проліферації камбіальних елементів генеративної зони молочної залози, а також до проток-утворюючого брунькування молочної залози в репродуктивному періоді жінки, проте характеризується як клітинним, так і тканинним атипізмом.

2. Раковий епітелій, що утворює внутрішньопротокові сосочкові структури за морфологічними властивостями та ядерними класами, подібний до камбіальних елементів і функціонуючих клітин протокової системи молочної залози. Однак представництво атипових міоепітеліальних і резервних клітин в раковій пухлині молочної залози потребує додаткових імуногістохімічних досліджень.

Література

1. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию / Г.Г. Автандилов.- М.: Медицина, 1980.-С. 164-187.
2. Автандилов Г.Г. Патологоанатомическая диагностика предопухолевых процессов и опухолей молочной железы / Автандилов Г.Г., Перов Ю.А., Григорьева С.Г., Зайратьянц О.В. // Арх.патол.- 2001.-№2.-С.26-30.
3. Баженова А.П. Ранняя онкологическая патология / [А.П. Баженова, Е.Ф. Странадко, Г.А. Франк]; под ред. Б.Е. Петерсона, В.И. Чиссова.-М.: Медицина, 1985.-С.-141-158.
4. Волченко Н.Н. Внутривидовый рак молочной железы /Н.Н. Волченко// Арх.патол.-2000-№2.-С.22-26.
5. Ганцев Ш.Х. Патология и морфологическая характеристика опухолевого роста. Учебное пособие / Ш.Х. Ганцев, Ш.М. Хуснутдинов.-Москва : ООО Медицинское информационное агенство.- 2003.-С.112-153.
6. Головин Д.И. Ошибки и трудности гистологической диагностики опухолей: руководство для врачей /Д.И. Головин.-Л.: Медицина.- 1982.-С.182-200.
7. Захарцева М.М. Современные аспекты диагностики рака молочной железы. Прогностическое значение гистологических вариантов /Л.М. Захарцева, М.В. Дятел, К.А. Пекур // Патологоанатомічна діагностика хвороб людини: здобутки, проблеми, перспективи: Всеукраїнська науково-практична конференція, присв.100-річчю з дня народження професора Н.М. Шінкаренка (засновника кафедри та патологоанатомічної служби на Буковині : Мат.конф.-Чернівці, 2007.-С.96-101.
8. Казанцева И.А. Болезни молочных желез.-В кн.: Патология: Руководство /Под ред. М.А. Пальцева, В.С. Паукова, Э.Т. Улумбекова.-М.: ГЭОТАР - Мед.- 2002.-С.520-528.
9. Ніколенко Д.Є. Зародок молочної залози, як прототип її гермінативної зони у жінки репродуктивного віку / Д.Є. Ніколенко // Світ медицини та біології – 2008.ч.II.-№2.-С.78-82.
10. Ніколенко Д.Є. Каріометричні особливості внутрішньопротокового раку молочної залози / Д.Є. Ніколенко // Сучасні проблеми експериментальної і клінічної онкології: VIII Конференція молодих онкологів з міжнародною участю: Тези конф.-Київ, 26-27 квітня, 2007.-С 57.
11. Ніколенко Д.Є. Морфологія молочної залози жінки репродуктивного віку / Д.Є. Ніколенко // Актуальні проблеми сучасної медицини.-2007.-Т.7, Вип. 4(20) С.275-278.
12. Пальцев М.А. Атлас патологии опухолей человека: /М.А. Пальцев, Н.М.Аничков.-М.: ОАО Изд-во «Медицина».- 2005.-С.266-284.
13. Романюк А.М. Математичне моделювання діагностичного процесу пухлинних захворювань молочної залози / А.М. Романюк, А.С. Довбиш, Л.І. Карпенко, Н.А. Лисенко, Р.А. Москаленко // Світ медицина та біології.-2008.-№2.-С.56-57.

14. Хесин Я.Е. Размеры ядер и функциональное состояние клетки. /Я.Е. Хесин.-М.Медицина.- 1967.-С.10-12.
15. Crum C.P., Lester S.C., Cotran R.S. The Female Genital System and Breast.-In: Robbins Basic Pathology /Eds V.Kumar, R.S. Cotran, S.L. Robbins.-Philadelphia, London, Toronto, Monreal, Sydney, Tokio: Saunders.- 2003.-P.679-718.
16. Gorradini D., Diadone M.Y. Biomolecular prognostic factors in breast cancer //Curr.Opin. Obstet. Gynecol.-2004.- Vol.16.,№1.-P.49-55
17. Tumor of the Breast and female genital organs. Word Health Organization Classification of Tumors / edit. By F.A. Tavasoli, P. Devi Lee, Lyon: JARC Press.- 2003.-P.432.

Реферат

ОСОБЕННОСТИ СОСОЧКОВОГО ТИПА ВНУТРИПРОТОВОКОВОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В АСПЕКТЕ ОНТОГЕНЕЗА

Николенко Д.Е.

Ключевые слова: внутрипротоковый рак молочной железы, онтогенез, кариометрия.

Изучена комплексно гистологическая структура и кариометрические особенности сосочковых форм внутрипротокового рака молочной железы в сопоставлении с ее онтогенезом. Выявлено, что в основе образования псевдососочковых и сосочковых структур внутрипротокового рака молочной железы лежит вегетация атипического эпителия камбиального, секреторного и сорбционного типов, которые подобны эпителию зачатка железы и ее герминативной зоне в репродуктивном периоде женщины.

Summary

CHARACTERISTICS OF PAPILLARY INTRADUCTAL BREAST CARCINOMA IN ONTOGENETIC ASPECT

Nikolenko D.E.

Keywords: breast carcinoma, ontogenesis.

The paper represents the complex study of histologic structure and karyometric characteristics of papillary intraductal breast carcinoma in ontogenetic aspect in comparison with its ontogenesis. It has been revealed that the formation of pseudopapillary and papillary structures of papillary intraductal breast carcinoma mainly consists in the vegetation of atypical epithelium of cambial, secretion and absorption types, which are similar to the epithelium a mammary gland rudiment and its germinative zone in the reproductive period of the woman.

УДК 611.013.395

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОЕНИЯ ЗАЧАТКОВ ПЕРВЫХ И ВТОРЫХ МОЛОЧНЫХ МОЛЯРОВ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОДОНТОГЕНЕЗА.

Старченко И.И.

Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава.

В работе изучалась сравнительная характеристика зачатков первых и вторых молочных моляров человека на 10-12 неделях внутриутробного развития. На основании проведенных исследований установлено, что в изучаемый период в зачатках первых молочных моляров наблюдается ранняя стадия периода формирования и дифференцировки зубных зачатков. Зачатки вторых моляров существенно отстают в развитии от зачатков первых моляров и находятся на этапе закладки зубных зачатков. Высказывается предположение о наличии прямой корреляции между степенью зрелости зачатков молочных зубов на ранних этапах одонтогенеза и сроками прорезывания соответствующих молочных зубов.

Ключевые слова: зубные зачатки, прорезывание зубов, одонтогенез.

В настоящее время известно, что развития молочных зубов у человека начинается на 6 недели внутриутробного развития с периода закладки зубных зачатков, который, к 10 недели сменяется периодом формирования и дифференцировки зубных зачатков [1,2,3,5,7].

Приведенные выше сведения справедливы в полной мере для зачатков молочных резцов, изучение развития которых в основном и проводилось авторами [5]. В тоже время в литературе отсутствует сравнительная характеристика строения зачатков молочных зубов различных групп на ранних этапах внутриутробного развития.

В связи с изложенным выше, определённый интерес представляет изучение особенностей развития зачатков молочных зубов различных

групп, с учётом сроков прорезывания.

Цель исследования: изучение строения зачатков первых и вторых моляров человека на 10-12 неделях внутриутробного развития.

Объект и методы исследования.

Объектом исследования являлись зачатки верхних и нижних молочных моляров плодов человека в период от 10 до 12 недель внутриутробного развития, которые были получены после искусственного прерывания беременности по социальным и медицинским показаниям. Забор материала проводили с учётом рекомендаций по взятию материала для морфологических исследований.

После фиксации в нейтральном формалине, из тотальных препаратов верхних и нижних челюстей (всего 12 объектов) изготавливали эпок-

сидные шлифы, содержащие зачатки молочных моляров по специально разработанной нами методике [4,6], с последующей окраской их 1% раствором метиленового синего на 1% растворе буры.

Изучение и фотографирование микропрепаратов проводили с помощью микроскопа Laborlux-S фирмы Leica.

Результаты исследования и их обсуждение

На 10-12 неделях внутриутробного развития зачатки верхних и нижних первых молочных моляров, имеют форму близкую к овоидной (рис.1). В составе каждого из зачатков описываемых зубов в изучаемый период представляется возможным различить три составляющие части:

1- зубной сосочек; 2- эмалевый орган, 3- зубной мешочек.

Зубной сосочек представлен соединительной тканью, большинство клеточных элементов которой относятся к фибробластам различной степени зрелости. Плотность и характер расположения клеток в различных частях зубного сосочка примерно одинаковы, что не даёт оснований на данном этапе одонтогенеза различить в нём отдельные зоны.

Зубной мешочек зачатков описываемых зубов представлен соединительной тканью, которая отличается от окружающей мезенхимы более плотным расположением кровеносных микрососудов и клеточных элементов. Среди последних в количественном отношении преобладают специализированные фибробласты, цитоплазматические отростки которых имеют циркулярную ориентацию вокруг эмалевого органа. Соединительную ткань зубного мешочка от пульпы эмалевого органа отделяет наружный эпителий эмалевого органа, большинство клеток которого в изучаемый период имеют кубическую, либо призматическую форму.

Внутренний эпителий эмалевого органа, отделяющий соединительную ткань зубного сосочка от пульпы эмалевого органа, представлен одним слоем высоких призматической формы клеток, ядра в которых распложены на разных уровнях. Среди описанных клеток преобладают эпителиоциты, в цитоплазме которых ядра занимают базальное положение. Несколько меньше эпителиальных клеток с центральным расположением ядер и лишь в отдельных эпителиоцитах ядра занимают положение противоположное базальному.

Анализируя изложенные факты, представляется возможным прийти к заключению, что в изучаемый период развития в зачатках первых молочных моляров среди клеток внутреннего эпителия эмалевого органа в количественном отношении преобладают эпителиоциты не включившиеся в процесс дифференцировки в преенамелобласты.

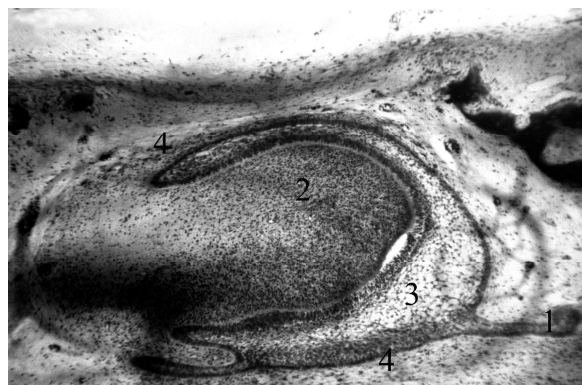


Рис.1. Зачаток первого нижнего молочного моляра на 10-12 неделях внутриутробного развития.

1- остатки зубной пластинки; 2- зубной сосочек; 3- пульпа эмалевого органа; 4- зубной мешочек. Эпоксидный шлиф. Окраска метиленовым синим. Об-4 \times ; ок-10 \times .

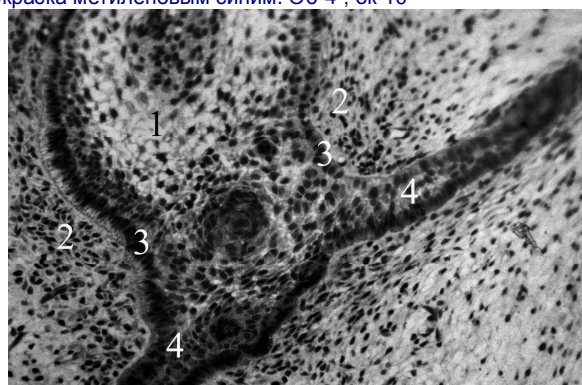


Рис.2. Зачаток второго молочного моляра верхней челюсти на 10-12 неделях внутриутробного развития.

1- формирующаяся пульпа эмалевого органа; 2- соединительная ткань формирующегося зубного мешочка; 3 - краевые эпителиоциты; 4- зубная пластинка. Эпоксидный шлиф. Окраска метиленовым синим. Об-10 \times ; ок-10 \times .

Зачатки верхних и нижних вторых моляров на 10-12 неделях внутриутробного развития представляют собой расширенное выпячивание зубной пластинки, в составе которой в изучаемый период различается два вида эпителиальных клеток: занимающие периферическое положение краевые эпителиоциты и расположенные между ними центральные эпителиоциты зубной пластинки (рис.2). Ограниченное краевыми эпителиоцитами выпячивание зубной пластинки представляет собой пульпу развивающегося эмалевого органа, в которой, в изучаемый период удаётся распознать два типа клеточных элементов эпителиального происхождения. Непосредственно к краевым эпителиоцитам прилежит несколько слоёв клеточных элементов относительно небольших размеров с тёмными ядрами, которые без чёткой границы продолжают в центральные эпителиоциты зубной пластинки и имеют с последними сходные морфологические характеристики. По-видимому, описываемые клетки являются предшественниками пристеночных ретикулоэпителиоцитов, которые обнаруживаются в пульпе эмалевого органа зубных зачатков, в период их формирования и дифференцировки [5]. Наиболее внутреннее

положение в развивающемся эмалевом органе занимают светлые полигональные клетки с длинными цитоплазматическими отростками, которые имеют тенденцию к концентрическому расположению относительно геометрического центра формирующегося эмалевого органа. Учитывая морфологические особенности и топографию данных клеточных элементов уместно предположить, что они являются предшественниками звездчатых ретикулоцитов пульпы эмалевого органа.

Вокруг формирующегося эмалевых органов зачатков вторых молочных моляров определяются хаотично расположенные клеточные элементы, плотность расположения которых несколько больше, по сравнению с окружающей зубной зачаток мезенхимой. Данные клетки представляют собой малоспециализированные фибробласты, которые по своим морфологическим свойствам не отличаются от клеточных элементов окружающей мезенхимы. По всей видимости, данная морфологическая картина соответствует самым начальным этапам формирования зубного мешочка.

Выводы

1. В зачатках первых молочных моляров на 10- 12 неделях внутриутробного развития наблюдается ранняя стадия периода формирования и дифференцировки зубных зачатков.
2. Зачатки вторых молочных моляров в изучаемый период эмбриогенеза значительно отстают в развитии от зачатков первых моляров и находятся на этапе

закладки зубных зачатков.

3. Существенных различий в строении зачатков соответствующих верхних и нижних молочных моляров на 10- 12 недели эмбриогенеза не обнаруживается.
4. Существует прямая корреляция между сроками прорезывания молочных зубов и степенью зрелости их зачатков на ранних этапах одонтогенеза.

Перспективы дальнейших исследований:

В последующем планируется провести сравнительный анализ строения зачатков молочных зубов различных групп на поздних этапах одонтогенеза.

Литература

1. Быков В.Л. Функциональная морфология и гистогенез органов полости рта. – СПб., 1995. – 270 с.
2. Гемонов В.В., Лаврова Э.Н., Фалин Л.И. Развитие и строение органов ротовой полости и зубов.-М.:ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. - 256 с.
3. Карлсон Б.М. Основы эмбриологии по Пэттену. // Пер. с англ.- М.: Мир, 1983. - Т. 1. - 357 с. - Т. 2. -389 с.
4. Костиленко Ю.П., Бойко И.В., Старченко И.И., Прилуцкий А.К. Метод изготовления гистологических препаратов, равноценных полутонким срезам большой обзорной поверхности, для многоцелевых морфологических исследований. - Морфология. - 2007. -№5. - С.94-96.
5. Прилуцкий О.К. Структурне забезпечення трофіки емалевого органа зубних зачатків людини в ембріогенезі: Автореф. дис. ...канд.мед.наук.-Харків, 2004.-18с.
6. Старченко И.И., Прилуцкий А.К. Применение метода пластинации в стереоморфологических исследованиях.// Вісник проблем біології і медицини. – 2006. - Вип. 2, с.420-422.
7. Фалин Л.И. Гистология и эмбриология полости рта и зубов. – М.: Гос. изд-во мед. лит., 1963. – 234 с.

Реферат

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БУДОВИ ЗАЧАТКІВ ПЕРШИХ І ДРУГИХ МОЛОЧНИХ МОЛЯРІВ НА РАННІХ ЕТАПАХ ОДОНТОГЕНЕЗУ.

Старченко І.І.

Ключові слова: зубні зачатки, прорізування зубів, одонтогенез

У роботі вивчалася порівняльна характеристика зачатків перших і других молочних молярів людини на 10-12 тижнях внутрішньоутробного розвитку. На підставі проведених досліджень встановлено, що в період, що вивчається, в зачатках перших молочних молярів спостерігається рання стадія періоду формування і диференціювання зубних зачатків. Зачатки других молярів істотно відстають в розвитку від зачатків перших молярів і знаходяться на етапі закладки зубних зачатків. Висловлюється припущення про наявність прямої кореляції між ступенем зрілості зачатків молочних зубів на ранніх етапах одонтогенезу і термінами прорізування відповідних молочних зубів.

Summary

COMPARATIVE DESCRIPTION OF THE STRUCTURE OF FIRST AND SECOND MILK MOLAR GERMS AT THE EARLY ODONTOGENESIS.

Starchenko I.I.

Keywords: dental germs, tooth eruption, odontogenesis.

Comparative description of human first and second milk molar germs during the 10-12th weeks of fetal development was carried out. Our researches allow to find out that during the above mentioned in the first milk molar germs there was observed the early stage of the period of formation and differentiation of dental germs. The second molar germs significantly remained behind the first molar germs in their development and were on the stage of dental germ anlagng. It allows to assume the presence of direct correlation between the degree of maturity of milk dental germs on the early stages of odontogenesis and the terms of the eruption of certain milk teeth.

УДК 611. 018. 7

СТРОЕНИЕ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ КОЖИ СВОДА ЧЕРЕПА ЧЕЛОВЕКА

Тихонова О.А.

Высшее государственное учебное заведение Украины
«Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

Результаты проведенных морфологических исследований кожного покрова свода черепа 5-тимесячных плодов человека свидетельствуют, что на данном этапе эмбриогенеза, в коже теменной области головы имеют место вполне сформированные волосистые фолликулы, рассредоточенные по волосным линиям отдельными триадами, со своими отличительными чертами строения, а также зачатки сальных желез.

Ключевые слова: эмбриональная кожа, волосные фолликулы, эпидермис, волосная триада.

Введение

Необходимые сведения по данному вопросу содержатся в традиционно известных источниках литературы [7,8] однако они не являются достаточно полными. К сожалению, в последние годы вопрос об особенностях развития в эмбриогенезе кожи волосистого отдела головы человека не был предметом морфологических исследований, несмотря на то, что он представляет интерес в плане лучшего понимания строения таковой взрослого человека, что в свою очередь, необходимо в целях раскрытия патогенеза различных форм облысения. Восполнение этого пробела явилось целью нашего исследования.

Материал и методы исследования

Материалом исследования служили покровные пластинки свода черепа, включающие кожный покров вместе с его перепончатой основой, иссеченные в области теменных бугров пяти особей 5-тимесячных плодов человека, которые получены в Полтавском патологанатомическом бюро после искусственного прерывания беременности по социальным и медицинским показаниям (шифр 300) в рамках договора о сотрудничестве между ВГУЗ «Украинская медицинская стоматологическая академия» и названным заведением с учетом этических норм и требований при выполнении морфологических исследований.

После фиксации в 10% растворе нейтрального формалина, отмывки и обезвоживания в спиртах с плавным переходом в ацетон, препараты подвергали пропитке эпоксидной смолой эпон – 812. Затем их помещали в чистую смесь эпон-812. Спустя 3 часа после выдержки при комнатной температуре ,препараты извлекали и помещали между двумя предметными стеклами с полиэтиленовыми прокладками между ними и препаратом. Собранные таким образом, в виде «сендвича» блоки, сжимали с помощью канцелярского зажима, для придания препаратам плоской формы, и помещали в термостат для полимеризации. После полимеризации, освобожденные от предметных стекол, уплотненные препараты отбирали для дальнейшего изготовления тонких шлифов в плоскости эпидермиса и в поперечном сечении. Окрашивание полированных шлифов проводили 1% раствором мети-

ленового синего на 1% растворе буры. Препараты изучали и документировали с помощью бинокулярной лупы (МБС -9) и светового микроскопа, оснащенных цифровой фотоприставкой.

Результаты исследования и их обсуждение

На 5-м месяце эмбриогенеза в соединительнотканной основе перепончатого черепа, в ее центральном слое, уже имеется хорошо развитая сеть анастомозирующих костных трабекул. То, что они представляют собой в целом единую анастомозирующую сеть, хорошо видно на эпоксидных шлифах сделанных в плоскости эпидермиса. На поперечных шлифах заметно, что остеогенный матрикс перепончатого черепа в реакции с метиленовым синим, приобретает несколько светлую окраску, в отличие от двух противоположно ограничивающих его слоев, один из которых находится со стороны кожного покрова, а другой обращен в сторону полости черепа (рис.1). Первый из них является зачатком в образовании наружной надкостницы, тогда как второй относится к формированию твердой мозговой оболочки. Как известно, кожа свода головы человека тесно спаяна с сухожильным шлемом, который от надкостницы покровных костей черепа отделен прослойкой рыхлой волокнистой соединительной ткани. Такие же взаимоотношения, но только в зачаточном состоянии, мы видим и у 5-ти месячного плода, что отчетливо распознается на микрофотографиях

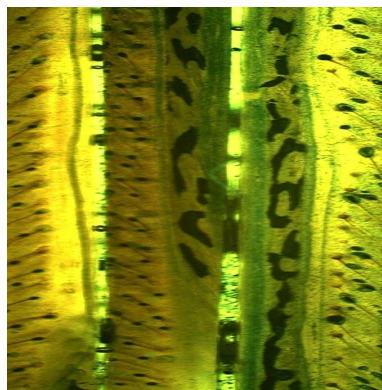


Рис.1. Поперечные эпоксидные шлифы покровного комплекса теменной области плодов человека. Окраска метиленовым синим. Объектив 4. 5-ти месячный плод. 1 – зачатки волосных фолликулов, 2 – боковой отдел теменной области, 3 – область бугра теменной кости, 4 – костные трабекулы, 5 – волосные фолликулы

Поперечные шлифы покровной комплексно-тканевой пластинки теменной области 5-месячного плода, позволяют в наглядном виде представить общий характер расположения в соединительнотканной основе эмбриональной кожи, основных дериватов ее эпидермиса, к которым относятся волосяные фолликулы и зачатки сальных желез. Потовые железы в этом возрасте нами не обнаружены. На рис.1, мы видим, что в толще эмбриональной дермы находятся вполне оформленные волосяные фолликулы, в которых, в виде булавовидных расширений выделяются корневые луковицы и выходящие из них по осевому центру фолликулов, эмбриональные волосы (лануго). Хорошо видно, что корневые луковицы располагаются на различной глубине в толще соединительнотканной основы эмбриональной кожи. Одни из них занимают самый глубокий ряд, на близком расстоянии от эмбрионального зачатка сухожильного шлема. Другие расположены в срединном слое дермы, а третий, самый поверхностный ряд, принадлежит самым коротким фолликулам.

На первый взгляд напрашивается вывод, что данная расстановка волосяных фолликулов в эмбриональной строке кожи головы у плодов на 5-м месяце внутриутробного развития отражает их разные по времени закладки генерации. Не исключено, что это действительно так. Однако, если учесть, что корни волос у взрослого человека расположены также на различной глубине, то вполне вероятно, что уже на 5-м месяце эмбриогенеза данная особенность имеет место. В пользу этого свидетельствует тот факт, что несмотря на разный уровень залегания в эмбриональной коже волосяных фолликулов, все они содержат волосы.

Еще одна особенность, которая характерна для постоянных волос, заключается в том, что на пятом месяце эмбриогенеза волосы головы приобретают отчетливо выраженный наклон к поверхности эпидермиса под углом примерно в 45 градусов. Поперечные шлифы позволяют также отметить, что волосяные фолликулы в толще эмбриональной кожи располагаются рядами в регулярном порядке примерно на равноудаленном расстоянии между собой. Однако истинный характер их расположения по поверхности эмбриональной кожи можно увидеть только со стороны эпидермиса на цельных препаратах, заключенных в эпоксидную смолу(рис.2).

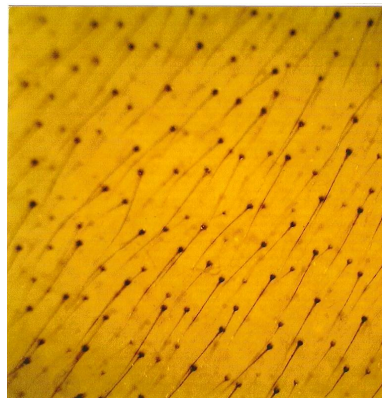


Рис.2. Наружная поверхность теменной области кожи 5 – месячного плода человека. За счет просветляющего эффекта эпоксидной смолы эмбриональные волосы видны во всей толще кожи, начиная от корневых луковиц. Объектив 2. А. В области бугра теменной кости; Б. Боковая поверхность теменной области.

Более отчетливо, данная особенность распределения волос в эмбриональной коже раскрывается после снятия путем сошлифовки эпидермиса, при котором после поверхностной окраски эпоксидных шлифов метиленовым синим становятся отчетливо видны в поперечном сечении волосяные фолликулы с выходящими из их сердцевин корневыми частями эмбриональных волос (рис.3). Вместе с тем, на этих препаратах обнаруживается особенность, которая незаметна при рассмотрении поверхности эпидермиса. Оказывается, что непосредственно под эпидермисом волосяные фолликулы располагаются в групповом порядке, как правило, по три в группе. Каждая такая триада включает один фолликул большого диаметра и два, расположенных от него по бокам, – малого диаметра. В связи с этим, мы сочли возможным называть последние фолликулами-сателлитами. В процессе послойного изучения эпоксидных шлифов нами установлено, что фолликулы большого диаметра относятся к тем, волосяные луковицы которых занимают в толще эмбриональной дермы самый глубокий ряд, то есть вблизи от зачатка сухожильного шлема. Установлено также, что они содержат самые толстые эмбриональные волосы, тогда как фолликулы-сателлиты, располагаясь в коже более поверхностно, образуют сравнительно тонкие волосы. Интересно, если очертить на микрофотографиях овальными окружностями данные фолликулярные триады, то их большие диаметры будут направлены перпендикулярно к траекториям волосяных линий в коже теменной области плода. Следует думать, что эта закономерность в порядке закладки и развития волосяного покрова головы в эмбриогенезе, будет сохраняться на всем остальном протяжении жизни и останется запечатленной в строении кожи волосистой части головы взрослого человека.

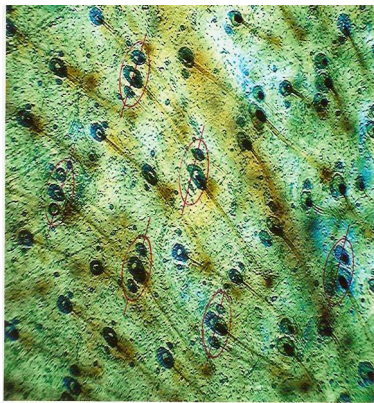


Рис.3. Поверхностный эпоксидный шлиф со стороны эпидермиса кожи теменной области 5-тимесячного плода. Окраска метиленовым синим. А. Объектив 2; Б. Объектив 10. Овальными окружностями очерчены волосяные триады.

Согласно нашим, а также данным литературы [1,2,3,4,5,6,7], волосяные фолликулы эмбриональной кожи теменной области головы человека в точности являются копией в (миниатюре) таковых взрослого человека (рис.4). Однако, в своем строении их отличают некоторые детали, которые в литературе не отмечены. Прежде всего обращает внимание, что в эпителиальной стенке эмбрионального волосяного фолликула отсутствуют признаки дифференцировки клеток на два слоя. Поэтому для центрально расположенного волоса имеется одно общее влагалище, которое состоит из нескольких рядов неодинаковых по форме клеток. Среди них выделяется базальный ряд, представленный цилиндрическими клетками. Нами прослежена хорошо известная их связь с базальными, герминативными, эпителиоцитами эмбрионального эпидермиса, который имеет многослойное строение. Как известно переход фолликулярного эпителия в эпидермис происходит в области волосяных воронок, через которые выступают наружу волосы. Согласно нашим данным эмбриональный волос преимущественно представлен корковым веществом (твердый кератин), покрытым тончайшей кутикулой. Но все же в центре волоса просматривается тонкая осевая прожилка, относящаяся к мозговому веществу.

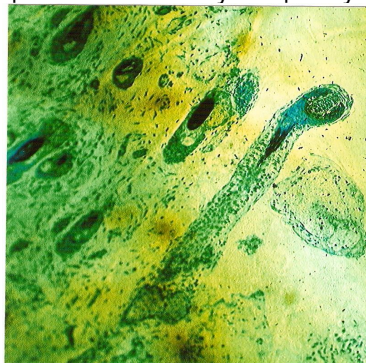


Рис.4. Эпоксидный шлиф кожи теменной области головы 5-тимесячного плода. Окраска метиленовым синим. Объектив 10. 1 – волосяные фолликулы, 2 – влагалище волосяного фолликула, 3 – сумка волосяного фолликула, 4 – корневая луковица, 5 – корневой сосочек, 6 – зачатки сальных желез.

Другой отличительной особенностью эмбриональных волосяных фолликулов является чрезвычайно тонкая у них соединительнотканная сумка, состоящая из двух-трех рядов тончайших волокон, и находящихся между ними уплощенных, веретенообразных клеток фибробластического типа, которые тесно прилежат к базальным, митотически активным клеткам фолликула. Как было отмечено выше, к сопутствующим волосяным фолликулам структурам относятся только сальные железы, которые встречаются с закономерным постоянством, как в глубоких слоях эмбриональной дермы, так и поверхностно, около эпидермиса.

Весьма примечательным является то, что они связаны в волосяных триадах только с толстыми осевыми фолликулами.

Из проведенного нами анализа структурной организации кожи теменной области головы 5-тимесячных плодов человека по своему новшеству и значению для более глубокого понимания особенностей строения кожи и волос волосистой части головы взрослого человека заслуживают внимания, по нашему мнению, следующие положения.

1. В 5-месячном возрасте внутриутробного развития в коже теменной области находятся вполне сформированные волосяные фолликулы, которые, как и у взрослого человека, находятся в регулярном порядке в наклонном положении к поверхности эпидермиса под углом примерно в 45 градусов. Их корневые луковицы занимают разную глубину в эмбриональной дерме, таким образом, что среди них выделяется глубокий, средний и поверхностный ряд.

2. Волосяные фолликулы в эмбриональной коже располагаются не по отдельности, а сосредоточены по волосяным линиям отдельными триадами, каждая из которых состоит из одного, центрально расположенного, толстого фолликула и двух боковых, сателлитных фолликулов, отличающихся от первого меньшим диаметром. Толщина эмбриональных волос находится в прямой зависимости от толщины соответствующих фолликулов.

3. Являясь подобными таковым взрослого человека, эмбриональные волосяные фолликулы имеют отличительные черты строения, которые заключаются в отсутствии четкой дифференцировки влагалищного эпителия и слабой развитости соединительнотканной сумки.

4. Наряду с волосяными фолликулами в эмбриональной коже теменной области имеют место зачатки сальных желез, являющихся производными базального слоя фолликулярного эпителия.

Литература

1. Баринов Э.Ф. Современные представления о гистофизиологии волосяных фолликулов / Э.Ф. Баринов, О.Н.Сулаева // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 35, № 4. – С. 65- 77.

2. Барсуков Н.П. Міжтканинні кореляції у ранньому ембріогенезі людини / Н.П.Барсуков, Г.А.Барсукова // Актуальні питання морфогенезу : Мат. конф.- Чернівці, 1996. – С. 30-31.
3. Барсукова Г.А. Органні особливості міжтканевих відношень в пренатальному онтогенезі людини / Г.А.Барсукова, Н.М.Романенко // Актуальні питання морфогенезу : Мат. конф. – Чернівці, 1994. – С. 19-20.
4. Буянова О.В. Розвиток артеріол в шкірі людини в пренатальному періоді онтогенезу // О.В.Буянова // Галицький лікарський вісник. – 1998. – Т.5, №4. – С. 14-16.
5. Гаджигорова А.Г. Волосы. Генетическая алопеция / А.Г.Гаджигорова // Экспериментальная и клиническая дерматология. – 2003. – №2. – С.33.
6. Галкина Ю.М. Развитие и строение органов человека и млекопитающих животных в онтогенезе / Ю.М.Галкина // Российские морфологические ведомости. – 1999. – №1-2. – С.49.
7. Иванов О.Л. Кожные и венерические болезни : учебник / О.Л.Иванов, В.А.Молочков, Ю.С.Бутов, С.С.Кряжева. – М.:Шико, 2002. – 480 с.
8. Хэм А. Гистология. / А.Хэм, Д.Кормак. – М.: Мир, 1983. – Т.4.- 245 с.
9. Blount M. In vitro degradation of the inner root sheath in human hair follicles lacking sebaceous glands / M.Blount, S. Goff, P.Slusarewicz // Br J Dermatol. – 2007. – V.26.

Реферат

БУДОВА ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ШКІРИ СКЛЕПІННЯ ГОЛОВИ ЛЮДИНИ

Тихонова О.О.

Ключові слова: ембріональна шкіра, волоссяні фолікули, епідерміс, волоссяна тріада.

Результати проведених морфологічних досліджень шкіри склепіння черепа 5-тимісячних плодів людини свідчать, що на даному етапі ембріогенезу, в шкірі тім'яної ділянки голови мають місце достатньо сформовані волоссяні фолікули, які розташовані окремими тріадами, з власними рисами будови, а також зачатки сальних залоз.

Summary

STRUCTURE OF EMBRYONIC SKIN OF HUMAN CRANIAL VAULT

Tikhonova O.A.

Keywords: embryo skin, hair follicles, epidermis, hair triad.

The results of the morphological researches of the skin covering the cranial vault in 5-month human fetuses prove that on this stage of embryogenesis on the parietal area there are completely formed hair follicles located as separated triads, with their own structural features and sebacea gland germs.

УДК: 378. 661.159.923

НЕЙРОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИЧНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПРОФИЛЯ МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ (ПРАВШЕСТВА И ЛЕВШЕСТВА)

Ткаченко Е.В., Фазели Н.М., Махмуди А, Луценко Б.А., Щириков А.В.

Высшее Государственное Учебное Медицинское Заведение Украины
«Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава

В изучаемой популяции (63 студентов УМСА) истинных левшей было 25 человек (39,6%, $p < 0,05$), скрытых левшей – 10 (15,8%, $p < 0,05$), ложных левшей – 15 (28,8%, $p < 0,05$), правшей – 10 (15,8%, $p < 0,05$), амбидекстров – 3 (4,8%, $p < 0,05$). Из них холериков – 8 (12,6%, $p < 0,05$), сангвиников – 19 (3,01%, $p < 0,05$), флегматиков – 6 (9,5%, $p < 0,05$), меланхоликов – 30 (74,89%, $p < 0,05$). В исследуемой группе было 24 экстраверта (38%, $p < 0,05$), 32 интроверта (57%, $p < 0,05$) и 7 (5%, $p < 0,05$) амбивертов. В популяции левшей преобладали меланхолики, правшей – сангвиники, а среди амбидекстров – также меланхолики при полном отсутствии сангвиников и флегматиков. И при разделении популяции левшей на подгруппы мы получили преобладание меланхоликов среди них. Среди истинных, скрытых и ложных левшей, а также амбидекстров преобладали интроверты, среди правшей – экстраверты.

Ключевые слова: левши, правши, амбидекстры, экстраверты, интроверты, темперамент.

Изучение индивидуальности личности необходимо для того, чтобы познать себя, людей и сделать свою жизнь более приятной, научившись управлять собой и другими людьми. С этой целью учёные делят людей на группы или типы, члены которых обладают какими-то сходными особенностями. За многие годы создано множество типологий и до сих пор продолжают создаваться новые. Очень важно принять во

внимание следующее: все типы личности одинаково ценны; у всех есть свои сильные и слабые стороны; тип личности не бывает ни лучше, ни хуже; он не делит людей на умных и глупых, больных и здоровых; тип личности не определяет умственные способности, не сулит успехов и не указывает на то, кто лучше, а кто хуже приспособлен к жизни, а он показывает пути достижения личностью тех или иных результатов, да-

вая представления про индивидуальные когнитивные стили; теория типологий лишь помогает лучше понять, какие мотивы лежат в основе поведения человека, определяя так называемые стили поведения. Кроме того, та или иная типология определяет склонность к возникновению тех или иных патологических процессов, что имеет прикладной характер [8, 15]. Приведём некоторые примеры таких типологий и взаимосвязей.

Ещё в 1924 году Е.Кречмер сделал попытку установить взаимосвязь между конституцией человека и тенденцией к тем или иным физиологическим и патофизиологическим процессам [1]. Так, пикников он определил висцеротониками, атлетов соматотониками, астеников церебротониками [2]. Пикники, по его наблюдениям, были склонны к маниакально-депрессивным состояниям, атлеты – к эпилепсии, астеники – шизофрении. В 1940 году У.Шелдон дифференцировал эктоморфный (подобен астеникам), мезоморфный (атлетам) и эндоморфный (пикникам) соматотипы. Ростан (1824) и Сиго (1914) говорили о дигестивном, мускулярном и церебральном типах конституции, которые позднее были соотнесены с пикниками, атлетами и астениками соответственно.

Во всём мире известны типы акцентуаций (К.Леонгард, А.Ничко) и широко используются психологами, психофизиологами и психиатрами.

Гендерный аспект также имеет отношение к различным заболеваниям [10]. Девушки и женщины более внушаемы, гипнабельны, склонны к конформизму. Дислексии и дисграфии присутствуют у мальчиков и мужчин чаще [7, 13].

Более известны следующие [3, 17]. Греческая (или греко-арабско-персидско-таджикская) медицина основана на признании четырёх элементов или стихий природы: воздуха, воды, огня или земли. Соответственно в организме человека различаются четыре основные материи, каждая из которых соответствует одному из элементов или стихий природы (кровь, лимфа, желчь, чёрная желчь). Комбинация этих материй и определяет особенности, тип поведения человека. Эта идея легла в основу первой **классификации темпераментов**, изложенной в трудах **Гиппократ**. Он считал, что уровень жизнедеятельности человека зависит от соотношения четырёх жидкостей (материй), циркулирующих в организме – крови, желчи, чёрной желчи и слизи (лимфы, флегмы).

Смесь этих жидкостей определяет индивидуальное своеобразие каждого организма. В переводе с греческого на латинский слово «смесь» звучит как «temperamentum». Отсюда классификация индивидов была названа классификацией темпераментов. И сейчас она известна как учение Гиппократ о четырёх типах темпераментов и включает холериков, сангвиников, флегматиков и меланхоликов по преобладанию желчи, крови, слизи и чёрной желчи. Эта классифика-

ция может быть применима как к животным, так и к людям. И.П.Павлов создал теорию «человеческих» типов темперамента и выделял художественный (правополушарный), мыслительный (левополушарный) и смешанный тип.

Люди могут страдать различными синдромами дереализации и деперсонализации, в частности в результате того, что темперамент влияет на восприятие единицы времени. Для холериков характерно опережение субъективно переживаемого времени по сравнению с реальным временем, что сопровождается устремлённостью вперёд, в будущее, острым дефицитом времени. Для сангвиников также свойственно опережение субъективно переживаемого времени, хоть и не столь сильное, постоянное стремление в будущее в совокупности с желанием успеть как можно больше, подвижность. Меланхолик «стоит во времени», отличительной чертой этого типа является то, что субъективная единица времени синхронизирована объективной единицей. В отличие от предыдущих типов, субъективное время флегматика отстаёт от объективного, поэтому субъективно переживаемое время движется медленно и равномерно, в жизни флегматика всегда хватает, даже избыток времени; он ориентирован в прошлое, а к изменениям, приходящим из будущего, привыкает медленно и с большим трудом. Приведённые данные могут быть полезны для профилактики и лечения дисхронозов. В свою очередь, психосоматическая патология связана с хронобиологией и хрономедициной.

Развитие человека сочетает в себе разные процессы становления: нарастание продуктивности одних функций, понижение работоспособности других и стабилизацию уровней функционирования третьих [10, 4]. Определённое соотношение моментов стабилизации, снижения и повышения было выявлено в развитии интеллектуальных функций (мышление, память, внимание), нейродинамических характеристик (сила и динамичность нервных процессов), психомоторных и физиологических показателей, связанных с энергетическими процессами (основной обмен, теплопродукция). Таким образом, психофизиологическое онтогенетическое развитие (как сенсорно-перцептивных процессов, так и высших психических функций) носит сложный характер и подчиняется закону гетерохронности. Термин «гетерохронность» был определён как сложное переплетение эволюционных и инволюционных процессов, зависящее от социально-исторических условий жизни человека и особенностей его собственной деятельности (трудовой, коммуникативной, гностической).

Важным принципом дифференциации является возрастной аспект становления и изменения функций организма в онтогенезе [6].

Ещё одним важным аспектом дифференциации личности является учёт индивидуального профиля межполушарной асимметрии, который

оценивается по принадлежности человека к левшам или правшам. Известно, что левши составляют от 10 до 15% людской популяции (в США и Японии даже 95-98% населения является леворуким) и их число увеличивается [11, 12]. Популяция левшей также не является однородной и включает истинных, скрыто-истинных и ложных левшей [5]. Левши характеризуются своими физиологическими и патологическими особенностями [14, 16, 18]. Левшество представляет собой экспрессию асимметрии на популяционном уровне и изучается в наше время учёными многих стран мира, теоретиками и клиницистами. В мире даже начинают создавать приборы для левшей, в частности, в Турции и России (Белгороде) [19].

Целью нашей работы стало изучение нейродинамических особенностей личности (типа темперамента, экстра-интроверсия) в зависимости от индивидуального профиля межполушарной асимметрии (правшества-левшества).

Задачи исследования:

1. Оценить индивидуальный профиль межполушарной асимметрии в группе испытуемых: количество правшей, истинных, скрытых и ложных левшей, а также амбидекстров.
2. Определить тип темперамента у студентов исследуемой группы.
3. Изучить способ взаимодействия с окружающим миром и основное место направления энергии (на свой внутренний мир или во внешний мир) – интроверсию-экстраверсию.
4. Определить тип темперамента в зависимости от ведущей конечности испытуемых.
5. Оценить тип темперамента в зависимости от характера левшества (у истинных, скрытых и ложных левшей).
6. Определить экстраверсию-интроверсию у правшей, левшей (истинных, скрыто-истинных и ложных), а также амбидекстров.

Объектом исследования были 63 студента УМСА, парни (50) и девушки (13), 19-27 лет.

Методы исследования.

Мы проводили оценку индивидуального профиля межполушарной асимметрии с использованием следующих методик.

1) Ведущая рука – рука, которой пользуется испытуемый на момент исследования для письма и преимущественного выполнения тех или иных видов деятельности.

2) Ведущий палец – при переплетении пальцев рук сверху всегда оказывается один и тот же палец; если левый – значит, есть скрытое левшество.

3) Ведущий глаз – обращали внимание на ведущий глаз при прицеливании. «Прицеливание» осуществляли, выбрав мишень и глядя на неё через своеобразную мушку – карандаш или ручку. При зажмуривании «ведущего глаза» мишень смещалась относительно мушки. В неко-

торых случаях прицеливание осуществляли сквозь дырочку в листе бумаги. Ведущий левый глаз рассматривали признаком левшества у испытуемых.

4) Поза Наполеона – наличие левой руки сверху при переплетении рук на груди рассматривалось как один из признаков левшества.

5) Проба с аплодированием. Если удобно хлопнуть левой рукой, говорили о преобладании активности левого полушария, если левой – правого полушария, то есть элементе левшества.

Эти показатели считали в последующем показателями индивидуального профиля межполушарной асимметрии.

Для оценки типа леворукости нами использованы следующие данные. Истинная леворукость передаётся исключительно по наследству.

Ложная леворукость проявляется в тех случаях, когда у правши понижена либо полностью отсутствует деятельность левого полушария, управляющей двигательной активностью правой руки, либо была получена травма правой руки. Иногда этот тип левшества называют вынужденным. В этом случае двигательная активность правой руки оказывается либо частично пониженной, либо полностью отключенной, и поэтому правша вынужден работать левой рукой [5].

Скрыто-истинная леворукость проявляется в тех случаях, когда у левши повышена активная деятельность двигательной коры правого полушария, управляющей активностью левой руки. В этом случае двигательная функция левой руки оказывается повышена и истинный левша будет работать левой рукой.

Мы использовали метод анкетирования с выяснением анамнеза (наличие левшей среди ближайших родственников испытуемого, наличие травм верхних конечностей или полушарий у испытуемых).

Для оценки типа темперамента, экстра-интроверсии нами использован опросник Айзенка с последующей интерпретацией полученных результатов.

Результаты исследования

Результаты проведенного исследования показали, что распределение студентов по профилю межполушарной асимметрии выявилось следующим: истинных левшей – 25 человек (39,6%, $p < 0,05$), скрытых левшей – 10 (15,8%, $p < 0,05$), ложных левшей – 15 (28,8%, $p < 0,05$), правшей – 10 (15,8%, $p < 0,05$), амбидекстров – 3 (4,8%, $p < 0,05$).

Распределение по типам темперамента было следующим: холериков – 8 (12,6%, $p < 0,05$), сангвиников – 19 (3,01%, $p < 0,05$), флегматиков – 6 (9,5%, $p < 0,05$), меланхоликов – 30 (74,89%, $p < 0,05$).

Нами проведена оценка количества лиц различного темперамента с учётом ведущей конечности (таблица 1).

Таблица 1
Тип темперамента у студентов УМСА в зависимости от профиля межполушарной асимметрии

Левши, n=50				Правши, n=10				Амбидекстры, n=3			
холерики	сангвиники	флегматики	меланхолики	холерики	сангвиники	флегматики	меланхолики	холерики	сангвиники	флегматики	меланхолики
6	13	4	27	1	6	2	1	1	0	0	2

p<0,05

Как свидетельствуют полученные результаты, среди левшей 27 человек (54%, p<0,05) составляли меланхолики, 13 человек (26%, p<0,05) – сангвиники, 6 человек (12%, p<0,05) – холерики и 4 человека (8%, p<0,05) – флегматики.

Среди правшей 6 человек (60%, p<0,05) составляли сангвиники, 2 человека (20%, p<0,05) – флегматики, а количество холериков и меланхоликов составило по 1 человеку (или 10%, p<0,05).

В популяции амбидекстров преобладали ме-

ланхолики – 2 человека (66%, p<0,05), 1 (34%) человек был холериком, а сангвиники и флегматики вообще не наблюдались.

Таким образом, в популяции левшей преобладали меланхолики, правшей – сангвиники, а среди амбидекстров – также меланхолики при полном отсутствии сангвиников и флегматиков.

На следующем этапе наблюдений нами проведено исследование распределения типов темперамента в зависимости от индивидуального профиля межполушарной асимметрии (таблица 2).

Таблица 2
Тип темперамента студентов УМСА в зависимости от индивидуального профиля межполушарной асимметрии

Истинные левши, n=25				Скрытые левши, n=10				Ложные левши, n=15				Правши, n=10				Амбидекстры, n=3			
х	с	ф	м	х	с	ф	м	х	с	ф	м	х	с	ф	м	х	с	ф	м
4	8	4	9	0	2	0	8	2	3	0	10	1	6	2	1	1	0	0	2

p<0,05

Примечание: х – холерики, с – сангвиники, ф – флегматики, м – меланхолики.

Проанализируем только структуру популяции левшей, ибо таковая правшей и амбидекстров была описана нами после таблицы 2.

Среди истинных левшей 9 человек (36%, p<0,05) составили меланхолики, 8 человек (32%, p<0,05) – сангвиники, по 4 человека (16%, p<0,05) составили холерики и флегматики.

Среди скрытых левшей 8 человек (80%, p<0,05) составили меланхолики, 2 человека (20%, p<0,05) – сангвиники, в то время как холерики и флегматики вообще отсутствовали.

Наконец, в популяции ложных левшей мы получили следующее распределение: 10 человек (66%, p<0,05) составили меланхолики, 3 человека (20%, p<0,05) – сангвиники, 2 человека (14%,

p<0,05) – холерики, а флегматики вообще отсутствовали.

Таким образом, и при разделении популяции левшей на подгруппы мы получили преобладание меланхоликов среди них.

Как продемонстрировали результаты проведенной работы, среди исследуемой группы студентов (63 человека) было 24 экстраверта (38%, p<0,05), 32 интроверта (57%, p<0,05) и 7 (5%, p<0,05) амбивертов.

Нам также стало интересно, каково будет распределение экстра-интроверсии в зависимости от показателей индивидуального профиля межполушарной асимметрии.

Таблица 3
Экстра-интроверсия у студентов УМСА в зависимости от индивидуального профиля межполушарной асимметрии

Истинные левши, n=25			Скрытые левши, n=10			Ложные левши, n=15			Правши, n=10			Амбидекстры, n=3		
э	и	а	э	и	а	э	и	а	э	и	а	э	и	а
10	12	3	2	7	1	5	8	2	6	3	1	1	2	0

p<0,05

Примечание: э – экстраверты, и – интроверты, а – амбиверты (экстраверты).

По данным таблицы 3, среди истинных левшей 12 человек (48%, p<0,05) составляли интроверты, 10 человек (40%, p<0,05) – интроверты и 3 человека (12%, p<0,05) – амбиверты.

Экстраверсия-интроверсия у скрытых левшей распределилась следующим образом: 7 человек (70%, p<0,05) составили интроверты, 2 человека (20%, p<0,05) – экстраверты и 1 человек – (10%, p<0,05) – амбиверты, у которых экстраверсия-

интроверсия однозначно не определялась.

В популяции ложных левшей 8 человек (53,3%, p<0,05) составили интроверты, 5 человек (33,3%, p<0,05) – экстраверты и 2 человека (13,4%, p<0,05) – амбиверты.

Среди правшей 6 человека (60%, p<0,05) составили экстраверты, 3 человека (30%, p<0,05) – интроверты, а амбивертом был 1 человек, что составило 10% (p<0,05).

В групі амбидекстров 2 человека (66,6%, $p < 0,05$) були інтровертами, 1 человек (33,4%, $p < 0,05$) – екстравертом при відсутності амбівертов.

Таким образом, среди истинных, скрытых и ложных левшей, а также амбидекстров преобладали интроверты, среди правшей – экстраверты.

Выводы

1. В популяции левшей преобладали меланхолики, правшей – сангвиники, а среди амбидекстров – также меланхолики при полном отсуствии сангвиников и флегматиков.

2. При разделении популяции левшей на подгруппы также отмечалось преобладание меланхоликов.

3. Среди истинных, скрытых и ложных левшей, а также амбидекстров преобладали интроверты, среди правшей – экстраверты.

Практические рекомендации.

Проведенная работа может помочь при изучении индивидуальности личности. Дифференциальная психология и психофизиология занимают важную позицию среди Наук о Человеке в настоящее время, в частности, в Педагогике, Логопедии, Педиатрии, Биологии и Хронобиологии, Физиологии и Патологии, Психологии, Хрономедицине, Фармакологии.

Литература

1. Близнюк А.И. Практическая психология.-Минск: Вышшая школа, 2004.-207 с.
2. Вітенко І.С., Вітенко Т.І. Основи психології.-Видання друге, перероблене і доповнене.-Вінниця: НОВА КНИГА, 2008.-256 с.
3. Данилова Н.Н., Крылова А.Л. Физиология высшей нервной деятельности. Серия «Учебники и учебные пособия».-Ростов-на-Дону «Феникс», 2002.-480с.
4. Дифференциальная психология: Учебное пособие /Под ред. С.К.Нартовой-Бочавер.-М.:Флинта, Московский социально-психологический институт, 2003.-280 с.
5. Дроздовская А.А. Биолокационное определение типов леворукости с помощью биомеханической трёхдипольной модели биополя человека // Эниология XXI века: Материалы IV Международного конгресса (9-14 сентября 2002г.).-Одесса: Одесский Национальный университет им. И.И.Мечникова. Ассоциация эниологов, 2002.-С.98-102.
6. Зиллов В.Г., Смирнов В.М. Физиология детей и подростков.-М.: Медицинское информационное агенство, 2008.-572 с.
7. Ильин Е.П. Дифференциальная психофизиология мужчины и женщины.-СПб: Питер, 2002.-224 с.
8. Ильин Е.П. Психология индивидуальных различий.-СПб: Питер, 2004.-710с.
9. Кокун О.М. Психофізіологія.-Київ, 2006.-181с., Марютина Т.М., Ермолаев О.Ю. Введение в психофизиологию.-4-е изд.-М.:Флинта, 2004.-400 с.
10. Кондрашихина О.А. Дифференциальная психология: Учебное пособие.-К.: Центр учебной литературы, 2009.-232 с.
11. Леутин В.П., Николаева Е.И. Функциональная асимметрия мозга: мифы и действительность.-СПб: Речь, 2005.-368с.
12. Пивоваров О.В. Розробка лікувально-профілактичних заходів для учнівської та студентської молоді з ознаками синістральності: Монографія /Під ред. проф. В.Г. Самохвалова.-Х.: ХНМУ, 2007.-400 с.
13. Практикум по гендерной психологии /Под ред. Клециной Е.И.-М., 2003.-345 с.
14. Ткаченко О.В. Особливості реології та еритроцитарної ланки гемостазу в симетричних регіонах кровообігу у тварин та людей: Автореферат дис...к.м.н.-Вінницький національний медичний університет ім.М.І.Пирогова.-Вінниця, 2007.-23с.
15. Холодная М.А. Когнитивные стили: о природе индивидуального ума.-СПб: Питер, 2004.-384с.
16. Чабан О.С., Гуменюк М.М., Вербунко В.А. Нейропсихологія (лекції та додатковий матеріал курсу).-Тернопіль, 2008.-92 с.
17. Шостак В.И., Лытаев С.А., Березанцева М.С. Психофизиология: Учебное пособие: ЭЛБИ-СПб, 2007.-350 с.
18. Saadat S.A., Fazeli K.M.N., Vojdanifakhr H. Face asymmetries dependence on human individual prophile //Матеріали V Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Молодь та медицина майбутнього»:2-3 квітня 2008.-Вінниця, 2008.-С.266.
19. Sandalli N., Cildir S., Guler N. Clinical investigation of traumatic injuries in Yeditepe University, Turkey during the last 3 years //Dental Traumatology.-2005.-V.21, N.4.-P.188-194.

Реферат

НЕЙРОДИНАМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОСОБИСТОСТІ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ІНДИВІДУАЛЬНОГО ПРОФІЛЮ МІЖПІВКУЛЬОВОЇ АСИМЕТРІЇ (ПРАВШЕСТВА ТА ЛІВАЦТВА)

Ткаченко О.В., Фазелі Н.М., Махмуді А. Луценко Б.О., Щирич О.В.

Ключові слова: лівші, правші, амбідекстри, екстраверти, інтроверти, темперамент.

У популяції студентів, яка вивчалася (63 студентів УМСА) справжніх лівшів було 25 чоловік (39,6%, $p < 0,05$), прихованих лівшів – 10 (15,8%, $p < 0,05$), несправжніх лівшів – 15 (28,8%, $p < 0,05$), правшів – 10 (15,8%, $p < 0,05$), амбидекстрів – 3 (4,8%, $p < 0,05$). 3 них холериків – 8 (12,6%, $p < 0,05$), сангвініків – 19 (3,01%, $p < 0,05$), флегматиків – 6 (9,5%, $p < 0,05$), меланхоліків – 30 (74,89%, $p < 0,05$). У групі, яка вивчалася, було 24 екстраверта (38%, $p < 0,05$), 32 інтроверта (57%, $p < 0,05$) і 7 (5%, $p < 0,05$) амбівертів. У популяції лівшів переважали меланхолики, правшів – сангвініки, а серед амбидекстрів – також меланхолики при повній відсутності сангвініків і флегматиків. І при розділенні популяції лівшів на підгрупи ми отримали переважання меланхоліків серед них. Серед справжніх, прихованих і несправжніх лівшів, а також амбидекстрів переважали інтроверти, серед правшів – екстраверти.

Summary

NEURO-DYNAMIC PECULIARITIES DEPENDENTLY ON INTERHEMISPHERICAL ASYMMETRY OF INDIVIDUAL PROFILE (DEXTERITY AND SINISTRALITY)

Tkachenko E.V., Fazeli N.M., Mahmmoudi A., Lutsenko B.A., Schirov A.V.

Key words: sinisters, dexters, ambidexters, extravert, introverts, temperament.

The studied population (63 students of the UMSA) included 25 true sinisters (39,6%, $p < 0,05$), 10 (15,8%, $p < 0,05$) latent sinisters, 15 (28,8%, $p < 0,05$) pseudosinisters, 10 (15,8%, $p < 0,05$) dexters, and 3 (4,8%, $p < 0,05$) ambidexters. Among them there were 8 (12,6%, $p < 0,05$) choleric, 19 (3,01%, $p < 0,05$) sanguinics, 6 (9,5%, $p < 0,05$) phlegmatics, and 30 (74,89%, $p < 0,05$) melancholics. There were 24 extraverts (38%, $p < 0,05$), 32 introverts (57%, $p < 0,05$) and 7 (5%, $p < 0,05$) ambiverts in the test group. Melancholics predominated among the sinisters, sanguinics – among dexters. Also melancholics predominated among the ambidexters while the sanguinics and phlegmatics were completely absent. Having divided the sinisters into th subgroups we have obtained the melancholics dominance. Introverts were dominant among the true, latent and pseudosinisters while extraverts were dominant among the dexters.