

**СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В СЕЛЕЗІНЦІ ЩУРІВ
У ПІЗНІХ СТАДІЯХ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ
ПІСЛЯ КОРЕКЦІЇ ІНФУЗІЙНИМ РОЗЧИНОМ НАЕС-LX-5%****Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (м. Вінниця)****bulkomikola@gmail.com**

Дослідження є фрагментом НДР Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова «Морфогенез та патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту, сечостатевої, нейроендокринної та імунної системи». № державної реєстрації: 0111 У 010551.

Вступ. Частота опіків в Україні останніми роками знижується. Разом з тим, ступінь тяжкості опіків значно зростає, особливо серед пацієнтів похилого і старечого віку, а також у дітей до 3 років [4]. Недавні дослідження показали, що опіки шкіри пов'язані із запаленням та імунною дисфункцією [9]. Опікова травма викликає складну реакцію хворого, руйнує гомеостаз імунної системи та призводить до розвитку інфекційних і запальних ускладнень [8].

Селезінка є найбільшим лімфоїдним органом в організмі людини і ссавців, який підтримує клітинну та гуморальну імунні відповіді, вродженого і придбаного імунітету, кількісний та якісний склад імуніцитів крові, лімфи й інших лімфоїдних органів [3,5]. На зовнішні і внутрішні чинники селезінка реагує зміною морфології, цитології, біохімії, імунології і фізіології. Збільшення фактора некрозу пухлини -альфа у селезінкових макрофагів після опіку уже задокументована [7].

За правилами інтенсивної або реанімаційної терапії необхідно забезпечення адекватного венозного доступу (катетеризація центральної або периферичної вени в залежності від тяжкості травми) і початок інфузійної терапії. Завданням інфузійної терапії при опіковій травмі є зниження ступеня мікроциркуляторних порушень, особливо у внутрішніх органах, на тлі наростаючої гіповолемії. В експерименті на крілях на моделі токсичного гепатиту, який викликаний проведенням підшкірних ін'єкцій чотирихлористого вуглецю, застосування розчину НАЕС-LX-5% в дозі 10 мг/кг маси тіла виявляло наявність значних дезінтоксикаційних властивостей препарату [1]. Однак дослідження дії інфузійного препарату НАЕС-LX-5% після опіку на гістоструктуру селезінки щурів у пізніх термінах спостереження (14, 21 та 20 доба) не проведено.

Мета дослідження. Визначити структурні зміни селезінки на пізніх стадіях експериментальної опікової травми після фармакологічної корекції новим інфузійним розчином НАЕС-LX-5%.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження експериментальної опікової хвороби (контрольна група, 14-а, 21-а та 30-а доба після опіку) були виконані на 30 білих щурах самцях масою 150-

170 г. Всі щури, які було отримано із віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України, утримувались у віварії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (ВНМУ) на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Тварини отримували харчування у вигляді збалансованого корму за встановленими нормами. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались рекомендацій Європейської комісії щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин та методичними рекомендаціями Державного фармакологічного центру МОЗ України. Досліди проводились з урахуванням «Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних препаратів (GLP)».

Тварини були розподілені на 3 групи по 10 щурів у кожній: I – інтактні тварини, у крові яких визначали фоновий рівень досліджуваних показників; II, III – щури з опіком та встановленим катетером у стегновій вені, яким проводилась окрема інфузія 0,9% розчину NaCl (контрольна група), 5% розчину НАЕС-LX у дозі 10 мг/кг. Для цього в умовах пропофолового наркозу виконували катетеризацію стегнової вени та просували катетер до нижньої порожнистої вени. Катетер встановлений у стегновій вені підшивався під шкіру, його просвіт по всій довжині заповнювався титрованим розчином гепарину (0,1 мг гепарину на 10 мл 0,9% розчину NaCl) після кожного ведення речовин. Інфузії виконувались раз на добу. Усім тваринам перед моделюванням патологічного стану, бічні поверхні тулуба брили механічно машинкою та безпечною бритвою. Опіковий шок викликали шляхом прикладання 4-ох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом 6-ти хв у воді на дерев'яній підставці з постійною температурою 100°C. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складає 21-23% при експозиції 10 сек, що є достатнім для сформовування опіку III ступеня та викликання шокового стану середнього ступеня важкості. Евтаназію щурів проводили шляхом передозування пропофолу через 7, 14 та 30 діб після опіку. Ці терміни вибрані відповідно до певних періодів опікової хвороби [2].

Для гістологічного дослідження фрагменти селезінки фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, промивали в проточній воді, обезводнювали в батареї спиртових розчинів зростаючої концентрації та заключали в парапласт. Зрізи товщиною

3-5 мкм. Виготовляли на ротаційному мікротомі, забарвлювали гематоксилін еозином та за Ван-Гізон. Мікроскопічні дослідження проводили на 30 добу. Гістологічні препарати досліджували в світловому мікроскопі OLYMPUS BH-2 з використанням об'єктивів x10 та x40, окуляра x10.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати дослідження показали, що на 14 добу лікування після опіку в червоній пульпі селезінки на тлі повнокрів'я визначається розсіяна лімфоїдна тканина у вигляді селезінкових тяжів і лімфатичних периартеріальних піхв, а також окремих і групових мегакаріоцитів як ознак селезінкового екстрамедулярного гемопоезу, дуже помірно вираженого (**рис. 1**).

Біла пульпа представлена середніми і великими селезінковими лімфоїдними тільцями з усіма їх зонами. До вузлика наближена лімфатична периартеріальна піхва, спостерігається розширення маргінальної зони.

Вузлики класично містять всі належні зони та й мають значні розміри. У світлих реактивних центрах багато лімфобластів. Представницькою є пери артеріальна Т-залежна зона, а також помірно цитогенна мантийна зона навколо світлого центру. В цих ділянках помітні гіпертрофовані ретикулярні клітини і макрофаги. У останніх однак немає активованої фагоцитарної активності. Відмічається наявність розширених маргінальних зон (**рис. 2**).

У світловому реактивному центрі вузликів виявляються лімфобласти, моноцити, поодинокі фігури мітозу, набухання ендотеліоцитів у капілярах; переважно темні лімфоцити в мантийній зоні. Клітинний склад маргінальної зони: більшість лімфобластів, моноцити – поміж ними повнокровні капіляри.

На 21 добу лікування щурів розчином HAES-LX повнокровність червоної пульпи супроводжує значну цитогенність таких її лімфоцитарних утворень як селезінкові тяжі Більрота та лімфатичні периартеріальні піхви. Крім того, серед ретикулярних стромальних клітин присутні осередки гемоцитопоезу, котрі містять мегакаріоцити (**рис. 3**).

Саме на цей термін такого лікування щурів з опіком більше, ніж на 14-ту добу, збуджується зазначений селезінковий гемопоез: на площі гістологічних зрізів частіше можна бачити незначні та значні колонії мегакаріоцитів серед клітин моноцитарного та лімфоцитарного рядів. Активність таких осередків підтверджується, мабуть, ще наявністю премегакаріоцитів – великих з еозинофільно цитоплазмою та великим базофільним ядром клітини. Там ще й багато плазмобластів і плазмоцитів, котрі покинули маргінальну зону.

В утвореннях білої пульпи на цей час впливу HAES-LX активізується фагоцитарна активність макрофагів, яка була майже притаманною для дії лактопротеїна. Вона візуалізується у Т-залежній зоні і реактивних центрах суміжних лімфоїдних вузликів (**рис. 4**). Подекуди відбувається послаблення цитогенності в сегментах мантийної зони (**рис. 4**).

На 30 добу лікування щурів з опіком та веденням HAES-LX – мікроскопічно в селезінці спостерігається повнокрів'я червоної пульпи, місця розмноження і ущільнення її ретикулярної основи. Біля трабекуляр-

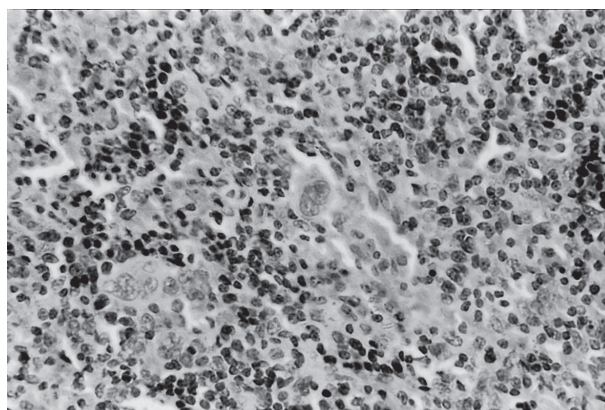


Рис. 1. Червона пульпа з гемопоетичними й лімфопоетичними складовими.
Опік. Лікування HAES-LX, 14 доба.
Забарвлення гематоксилін-еозин, x400.

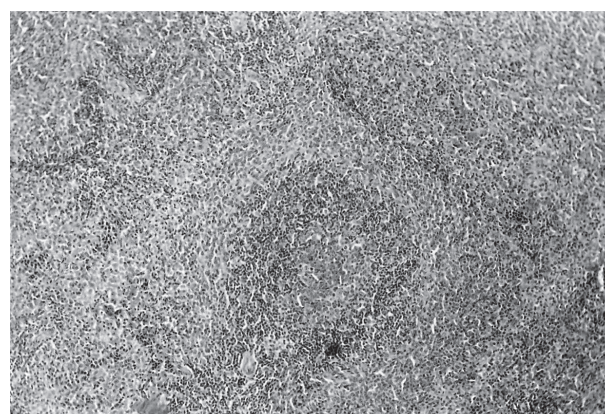


Рис. 2. Структуроване селезінкове тільце з розширеною маргінальною зоною.
Опік. Лікування HAES-LX, 14 доба.
Забарвлення гематоксилін-еозин, x100.

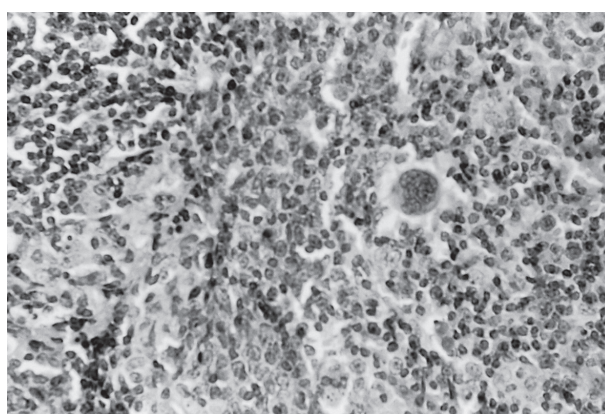


Рис. 3. Осередок гемоцитопоезу, мегакаріоцит.
Опік. Лікування HAES-LX, 21 доба.
Забарвлення гематоксилін-еозин, x400.

них смуг – лімфоїдні ділянки з макрофагами. На великому збільшенні мікроскопу різноманітні форми лімфоїдних клітин, клітин м'якої тканини ряду, в тому числі мегакаріоцити.

Значно насичені клітинами лімфатичні периартеріальні піхви. У центральній частині В-лімфоцити, плазмоцити, чимало плазмобластів. На периферії –

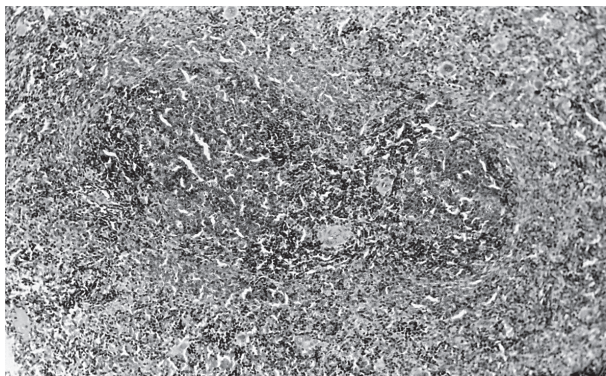


Рис. 4. Активация макрофагов у різних зонах білої пульпи з широкими реактивними центрами і розширеними маргінальними зонами. Опік. Лікування HAES-LX, 21 доба. Забарвлення гематоксилін-еозин, x100.

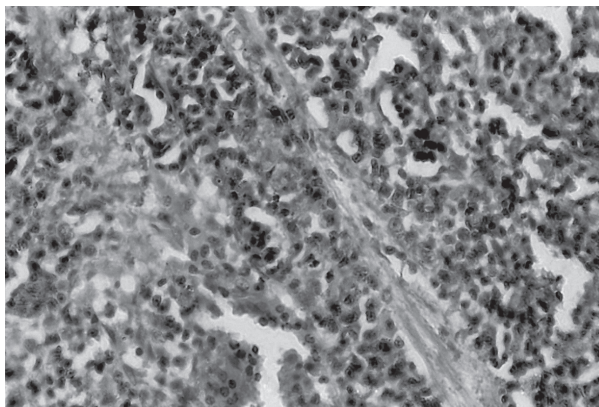


Рис. 5. Лімфатична периартеріальна піхва. Опік. Лікування HAES-LX, 30 доба. Забарвлення гематоксилін-еозин, x400.

малі темні лімфоцити. Оточується це утворення по-вонокровою червоною пульпою з форменими елементами й мієлоцитами (**рис. 5**).

У білій пульпі на цей термін слід визначити наступні морфофункціональні особливості. По-перше, – зростання лімфатичних вузликів у розмірах, як і в попередньому терміні; по-друге, – фактичне зростання їх кількості. Адже часто як і в попередньому терміні, помітні ніби переходи одного вузлика в другий. Характерним також можна рахувати розвинутість периартеріальної Т-залежної зони і світлого реактивного центру. Як і на 21 добу, функціонально-активні макрофаги – або переважно в одній зоні, або фактично в Т- і в В-зонах вузликів, маргінальна зона розширена, скупчення мегакаріоцитів у ділянці мієлогенезу.

Отже, виявляється ніби стала ознака дії HAES-LX, – розширення маргінальної зони вузликів. Дійсно, багато рисунків можна перелічити з цією ознакою саме в селезінці щурів без опіку, на яких випробувалася дія HAES як досліджуваного нового лікарського засобу. В селезінці щурів цієї серії виникало це явище. Та при лікуванні щурів з опіком в поєднанні HAES-LX ця ознака нагадує про себе. Крім того, додається ще й значне розмноження макрофагів і активація їх фагоцитарної активності, яка, є візитівкою, що супроводжує дію на організм контрольних щурів лактопротеїну.

У маргінальній зоні для якої характерно її розширення і просвітлення, в структурі білої пульпи спостерігається масове заселення моноцитів, серед яких помітні плазмобласти, плазмоцити, малі темні лімфоцити. У сусідній червоній пульпі гіпертрофовані ретикулярні клітини, селезінкові тяжі Більрота з помірною цитогенністю. Структура функціональних зон селезінки більшою мірою залежить від функціонального стану імунної та кровотворної систем, які визначають стан гемопоєзу, інтенсивність імунної відповіді й індивідуальну реактивність [6].

Висновки. Після застосування для лікування опікової травми 5% розчину HAES-LX на 14 добу в селезінці поживаються процеси мієлопоєзу, які посилюються на 21 добу. Для цього терміну стверджуються структурні ознаки активності гуморального імунітету та клітинного імунітету, зростає чисельність та фагоцитарна активність макрофагів. Характерною ознакою впливу HAES-LX є значне розширення маргінальної зони навколо лімфоцитарних осередків білої пульпи, починаючи з 14 доби спостереження.

Перспективи подальших досліджень. В подальших дослідженнях доцільно вивчити компенсаторно-приспосувальні зміни селезінки після опіку шкіри II-III ступеня при використанні комплексних інфузійних колоїдно-гіперосмолярних розчинів лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX-5%.

Література

1. Кондрацький Б.О. Вплив нового інфузійного препарату HAES-LX-5% на перебіг експериментального токсичного гепатиту / Б.О. Кондрацький, В.Л. Новак, Я.Б. Кондрацький [та ін.] // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія – 2015. – № 2. – С. 19-27.
2. Крылов К.М. Роль раневой инфекции в развитии системного воспалительного ответа у пострадавших с тяжелой термической травмой / К.М. Крылов, О.В. Филиппова, И.В. Шлык, В.А. Ильина // Скорая медицинская помощь. – 2006. – Т. 7, № 3. – С. 61-62.
3. Мороз Г.О. Динаміка відносної маси наднирникових залоз, тимуса і селезінки щурів під впливом гіпергравітації / Г.О. Мороз // Морфологія. – 2009. – Т. 3, № 2. – С. 42-46.
4. Нагайчук В.І. Сучасні підходи до надання допомоги хворим з опіками / В.І. Нагайчук // Мистецтво лікування. – 2010. – № 5(71). – С. 24-27.
5. Прасолова Л.А. Влияние рестрикционного стресса на некоторые морфофункциональные характеристики селезенки у крыс разного поведения / Л.А. Прасолова, И.Н. Оськина, С.Г. Шихевич // Морфологія. – 2004. – Т. 125. С. 59-63.
6. Kebede T. Spleen length in childhood with ultrasound normal based on age at Tikur Anbessa Hospital / T. Kebede, D. Admassie // Ethiop. Med. J. – 2009. Vol. 47, № 1. – P. 49-53.
7. Noel G. Postburn monocytes are the major producers of TNF-alpha in the heterogeneous splenic macrophage population / G. Noel, X. Guo, Q. Wang [et al.] // Shock. – 2007. – Vol. 27, № 3. – P. 312-319.

8. Stoecklein V.M. Trauma equals danger – damage control by the immune system / V.M. Stoecklein, A. Osuka, J.A. Lederer // J. Leukoc. Biol. – 2012. – Vol. 92, № 3. – P. 539-551.
9. Zhao G. Simvastatin reduces burn injury-induced splenic apoptosis via downregulation of the TNF- α /NF- κ B pathway / G. Zhao, Y.M. Yu, M. Kaneki [et al.] // Ann. Surg. – 2015. – Vol. 261, № 5. – P. 1006-1012.

УДК: 612.46:616.61-089.878:611.61.018

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В СЕЛЕЗИНЦІ ЩУРИВ У ПІЗНІХ СТАДІЯХ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ПІСЛЯ КОРЕКЦІЇ ІН-ФУЗІЙНИМ РОЗЧИНОМ HAES-LX-5%

Булько І. В.

Резюме. В експерименті на щурах вивчені структурні зміни селезінки при дії нового колоїдно-гіперосмолярного інфузійного розчину HAES-LX-5%. Встановлено морфологічні зміни структурних компонентів селезінки на пізніх стадіях експериментальної опікової травми після фармакологічної корекції новим інфузійним розчином HAES-LX-5%. Після застосування для лікування опікової травми 5% розчину HAES-LX на 14 добу в селезінці виникають процеси мієлопоєзу, які посилюються на 21 добу. Характерною ознакою впливу HAES-LX є значне розширення маргінальної зони навколо лімфоцитарних осередків білої пульпи, починаючи з 14 доби спостереження.

Ключові слова: селезінка, морфологічні зміни, опікова травма, HAES-LX-5%.

УДК: 612.46:616.61-089.878:611.61.018

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС В ПОЗДНЕЙ СТАДИИ ОЖОГОВОЙ ТРАВМЫ ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ ИНФУЗИОННЫМ РАСТВОРОМ HAES -LX -5 %

Булько И. В.

Резюме. В эксперименте на крысах изучены структурные изменения селезенки при действии нового коллоидно-гиперосмолярного инфузионного раствора HAES-LX-5%. Установлены морфологические изменения структурных компонентов селезенки на поздних стадиях экспериментальной ожоговой травмы после фармакологической коррекции новым инфузионным раствором HAES -LX-5%.

После применения для лечения ожоговой травмы 5% раствора HAES -LX на 14 сутки в селезенке возникают процессы миелопоэза, которые усиливаются на 21 сутки. Характерным признаком влияния HAES-LX является значительное расширение маргинальной зоны вокруг лимфоцитарных ячеек белой пульпы, начиная с 14 суток наблюдения.

Ключевые слова: селезенка, морфологические изменения, ожоговая травма, HAES-LX-5%.

UDC: 612.46:616.61-089.878:611.61.018

STRUCTURAL CHANGES IN THE SPLEEN OF RATS' IN THE LATER STAGES OF BURN INJURY AFTER CORRECTION INFUSION HAES-LX- 5%

Bul'ko I. V.

Abstract. Introduction. The bodies of the immune system and immunocompetent blood cells are able to very quickly and finely respond to changes in environmental conditions. The combination of benign qualities crystalloid component and low starch tetra occurred during the process of creating a new hyperosmolar colloid infusion solution HAES-LX- 5%.

The purpose of the study – to establish morphological signs of damage and compensatory-adaptive changes in rats' spleen after 14, 21 and 30 days after the burn skin II-III degree and manifestations of damage correction resulting from use of integrated infusion of colloid-hyperosmolar solutions HAES-LX- 5%.

Materials and methods. Experimental studies of burn injury were made on 30 rats of both sexes weighing 150-170 g. In the group number 1 (control group – 10 animals) were rats without care after for 5-6 minutes intravenous infusion of the inferior vena cava 0,9% NaCl solution at a dose of 10 ml/kg. The group number 2 (10 animals) – rats with burns, which was performed for 5-6 minutes intravenous infusion of the inferior vena cava solution of 0,9% NaCl solution at a dose of 10 ml/kg. The group number 3 – the rats with thermic injuries, which was performed for 5-6 minutes intravenous infusion of the inferior vena cava solutions HAES-LX- 5% (10 animals).

Results and discussion. The morphological changes of the structural components of the spleen in the later stages of the experimental burn injury after a pharmacological correction of a new infusion solution HAES-LX-5% have been installed.

On the 14 day there was statistically significant increase of cell growth continued by 14.8% in comparison with intact animals. In the future, the number of cells in S-phase decreased. Compared to intact animals on the 30, 60, 90 days the cells in this phase were less by 13.2%, 22.0%, 40.0% respectively. Comparison of distribution of nuclei in the kidney cortex cell cycle of immature and mature animals showed that the number of cells in S phase 7 and 14 days was statistically more higher (by 23.6% and 17.5% respectively) in immature.

Conclusions. After use in the treatment of burn trauma 5% solution HAES-LX on the 14 day in the spleen myelopoiesis processes become more intensive and are enhanced by 21 days. A characteristic feature of the effect of HAES-LX is a significant expansion of the marginal zone surrounding the white pulp lymphocytic cells, starting from the 14-day observation period.

Keywords: spleen, morphological changes, burn injury, HAES-LX-5%.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 22.03.2016 року