

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 611.611-02:616.711/714-001.3-085361:511.013]-092.9

©Р. М. Борис¹, Т. В. Дацко²

**ДП “Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України”, м. Одеса¹
ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”²**

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ НИРОК У ДИНАМІЦІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ КРАНІОСКЕЛЕТНОЇ ТРАВМИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ ФЕТАЛЬНИМИ НЕРВОВИМИ КЛІТИНАМИ

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ НИРОК У ДИНАМІЦІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ КРАНІОСКЕЛЕТНОЇ ТРАВМИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ ФЕТАЛЬНИМИ НЕРВОВИМИ КЛІТИНАМИ – В умовах експериментальної краніоскелетної травми структурні зміни нирок проявляються ішемією кіркової речовини і венозним повнокров'ям мозкової речовини з подальшим розвитком дистрофічно-некротичних змін епітелію каналців, що наростають до 25 доби експерименту. Введення піддослідним тваринам суспензії краніоконсервованих фетальних нервових клітин потенціює розвиток адаптаційних механізмів і частково покращує структурну організацію тканини нирок за рахунок зменшення гострих порушень кровообігу і впливає на проліферацію епітеліоцитів у вивідних каналцях.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧЕК В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КРАНИОСКЕЛЕТНОЙ ТРАВМЫ И ЕЕ КОРРЕКЦИИ ФЕТАЛЬНЫМИ НЕРВНЫМИ КЛЕТКАМИ – В условиях экспериментальной краниоскелетной травмы структурные изменения почек проявляются ишемией коркового вещества и венозным полнокровием мозгового вещества с последующим развитием дистрофически-некротических изменения эпителия канальцев, которые нарастают к 25 суткам эксперимента. Введение опытным животным суспензии краниоконсервированных фетальных нервных клеток потенцирует развитие адаптационных механизмов и частично улучшает структурную организацию ткани почек за счет уменьшения острых нарушений кровообращения и влияет на пролиферацию эпителиоцитов в выводных канальцах.

THE STRUCTURAL CHANGES OF KIDNEYS IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL CRANIO-SKELETAL INJURYS AND ITS CORRECTION BY FETAL NERVE CELLS – In the conditions of experimental cranio-skeletal injury structural changes kidneys manifest by ischemia and cortical venous plethora with the subsequent development of degenerative and necrotic changes in the tubular epithelium, which grow to 25 days of the experiment. The injection of suspension of cryopreserved fetal nerve cells enhances the adaptive mechanisms and partially improves the structural organization of the kidney tissue by reducing acute circulatory disorders and affects the proliferation of epithelial cells in the excretory tubules.

Ключові слова: краніоскелетная травма, нирки, клітинна терапія.

Ключевые слова: краниоскелетная травма, почки, клеточная терапия.

Key words: cranio-skeletal injury, kidney, cell therapy.

ВСТУП Травматична хвороба належить до гострих проблем сучасності. Її основу становлять травматичний шок, крововтрата, порушення функції пошкоджених органів, травматичний токсикоз, некроз тканин, що призводять до різкого зниження імунітету [4, 5]. Проте поряд із цим в організмі формуються тою чи іншою мірою адаптивні реакції, що проявляються перерозподілом крові, посиленням еритропоезу, над-

ходженням в судини екстравазальної рідини та регенерацією тканин.

Сукупність патогенних відхилень на тлі травматичної хвороби часто призводять до розвитку поліорганної недостатності, яка тяжко піддається традиційним засобам інтенсивної терапії і вимагає нових підходів до її профілактики і корекції [6]. Серед них важливе місце займає застосування фетальних нервових клітин, які завдяки наявності недиференційованих клітин здатні продукувати низку біологічно активних речовин, що належать до регуляторів “надсистемної” дії [1, 7]. Це робить їх перспективним засобом зниження інтенсивності системної реакції організму на запалення, що виникає в умовах травматичної хвороби. Одним із перших органів, які піддаються цьому впливу на тлі тяжкої травми, є легенева тканина [2]. Тому дослідження її патоморфологічних відхилень у динаміці політравми є важливим критерієм оцінки ефективності системного впливу фетальних нервових клітин і вимагає спеціального дослідження.

Метою роботи стало вивчити структурну перебудову нирок у динаміці періодів ранніх і пізніх проявів травматичної хвороби на тлі краніоскелетної травми та за умов введення суспензії кріоконсервованих фетальних нервових клітин щура.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експерименти виконано на 104 нелінійних білих щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на три групи: контрольну і дві дослідні. У контрольну групу увійшло 8 інтактних тварин. В обох дослідних групах – по 48 тварин під тіопентало-натрієвим наркозом (40 мг × кг⁻¹ маси тіла) моделювали закрити черепно-мозкову травму за методикою [1, 7] у власній модифікації. Енергія удару становила 0,375 Дж, що відповідало травмі середнього ступеня тяжкості. Крім цього, спеціально розробленим пристроєм наносили однократний удар по кожному стегну, що викликало закритий перелом стегнових кісток.

Через 12 год після травмування в одній із дослідних груп внутрішньочеревно вводили суспензію кріоконсервованих фетальних нервових клітин щура в дозі 5×10⁶ клітин на 100 г маси тварини [7]. Суспензію фетальних нервових клітин виготовляли в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків) шляхом ошадної механічної дисоціації фрагментів мозку ембріонів щурів 11-ти днів гестації і кріоконсервування на програмному заморожувачі УОП-6. Відігрівання зразків проводили на водяній бані при температурі 37 °С. В іншій дослідній групі внутрішньочеревно вводили еквівалентний об'єм фізіологічно-

го розчину. Тварин виводили з експерименту через 3, 7, 14 і 25 діб посттравматичного періоду. Для гістологічного дослідження тканину нирок фіксували у нейтральному 10 % розчині формаліну і заливали в парафін. Гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Оцінювали структурну організацію ниркової тканини.

Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались міжнародних вимог про гуманне поводження з тваринами відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (European Convention, 1984); методичних рекомендацій ДЕЦ МОЗ України про Доклінічні дослідження лікарських засобів (2001). Евтаназію щурів в усіх експериментах проводили шляхом тотального кровопускання з серця після попереднього тіопентало-натрієвого наркозу (60 мг × кг⁻¹ маси тіла тварини внутрішньочеревно).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При гістологічному дослідженні тканини нирок тварин, яким моделювали краніоскелетну травму на 3 добу експерименту мали місце розлади кровообігу, які представлялись нерівномірним кровонаповненням капілярів клубочків (рис. 1), судин строми кіркового і мозкового шарів, поодинокими стазами та сладжуванням еритроцитів. Більшість клубочків кіркового шару мала знижене кровонаповнення або була ішемізова-

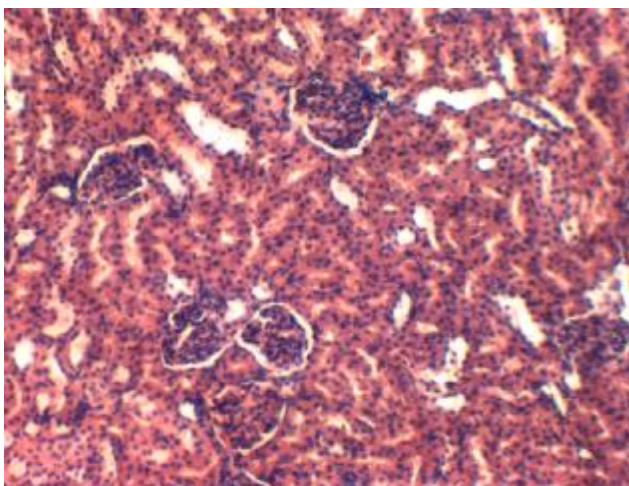


Рис. 1. Нерівномірне кровонаповнення (ішемія) капілярів клубочків кіркового шару нирки у тварин на 3 добу після моделювання краніоскелетної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. × 180.

На 14 добу експерименту клубочки дещо збільшувались, розширювались, за рахунок повнокров'я судин (рис. 3), фільтраційна зона при цьому зменшувалась. Судини венозного русла також дещо розширювались, ставали повнокровними, візуалізувались дрібні периваскулярні точкові крововиливи.

Більшість просвітів вивідних каналців розширювалась, спостерігалась невелика кількість серозного ексудату. В петлях Генле і прямих каналцях було набубнявіння епітелію, що призводило до різкого звуження їх просвітів.

До 25 доби експерименту ниркові клубочки дещо збільшувались за повнокров'я судин, при цьому про-

ною. Незначні структурні зміни виявлялися і в епітелії проксимальних та дистальних відділів каналців. Епітелій виглядав дещо набубнявілим, місцями спостерігалась апікальна його десквамація. Цитоплазма незначної частини клітин була зернистою, в інших – вакуолізованою. Ядра спостерігались практично у всіх клітин. Дистрофічні зміни епітеліоцитів були незначними.

На 7 добу експерименту спостерігалось різке зморщення ниркових клубочків, зниження їх кровонаповнення (рис. 2) та часткове розширення фільтраційних просторів капсул. При цьому судини венозного русла дещо розширювались, були повнокровними, візуалізувались дрібні периваскулярні точкові крововиливи та незначний периваскулярний набряк. Переважна більшість просвітів вивідних каналців розширювалась, в них спостерігався серозний ексудат (рис. 2), а в окремих полях зору виявлялись поодинокі еритроцити. В петлях Генле і прямих каналцях мав місце виражений набряк епітелію, який призводив місцями до різкого звуження просвітів. В дистальних каналцях спостерігалась виражена гідропічна білкова дистрофія, еозинофілія цитоплазми, а також слабкий зв'язок пошкодженого епітелію із базальною мембраною. Більшість епітеліоцитів містила ядра, розташовані близько базальних мембран, хоча спостерігалась їх вогнищева десквамація.

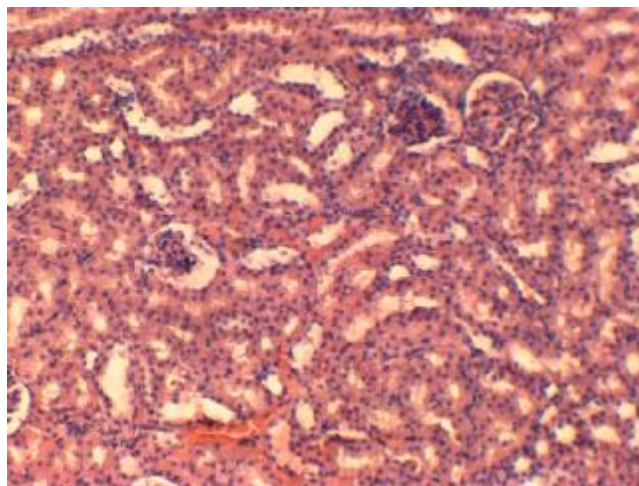


Рис. 2. Зморщення ниркових клубочків та розширення просвітів вивідних каналців через 7 діб після моделювання краніоскелетної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. × 180.

світи їх візуалізувались слабо (рис. 4). Судини венозного русла дещо розширювались, були повнокровними. Більшість вивідних каналців розширювалась, у їх просвітах спостерігався серозний ексудат, а в окремих полях зору виявлялись поодинокі еритроцити. В петлях Генле і прямих каналцях ми спостерігали виражений набряк епітелію, що призводив місцями до різкого звуження просвітів.

В епітелії дистальних каналців мали місце різко виражена гідропічна білкова дистрофія, еозинофілія цитоплазми та місцями вогнищева десквамація епітелію. У судинах мозкового шару також спостерігалось повнокров'я та периваскулярний набряк, який

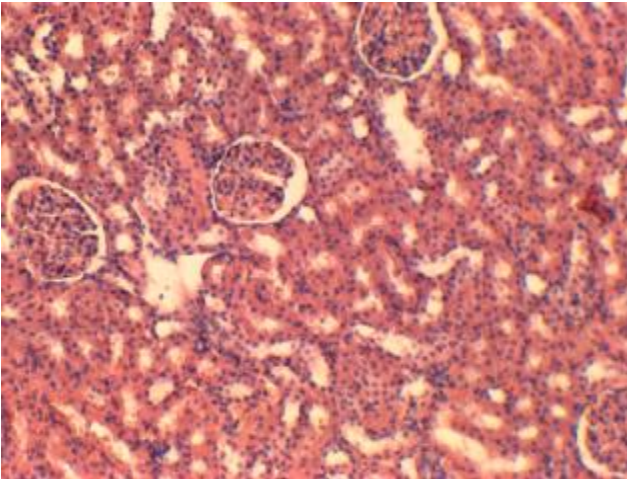


Рис. 3. Нерівномірне кровонаповнення судин, дистрофічні зміни епітелію каналців на 14 добу моделювання краніоскелетної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

поєднувався із незначною периваскулярною лімфогістіоцитарною інфільтрацією.

Введення суспензії кріоконсервованих фетальних нервових клітин щурам із моделюваною краніоскелетною травмою показало, що через 3 доби експерименту спостерігався перерозподіл крові з ішемією судин клубочків та повнокров'ям венозного русла строми (рис. 5).

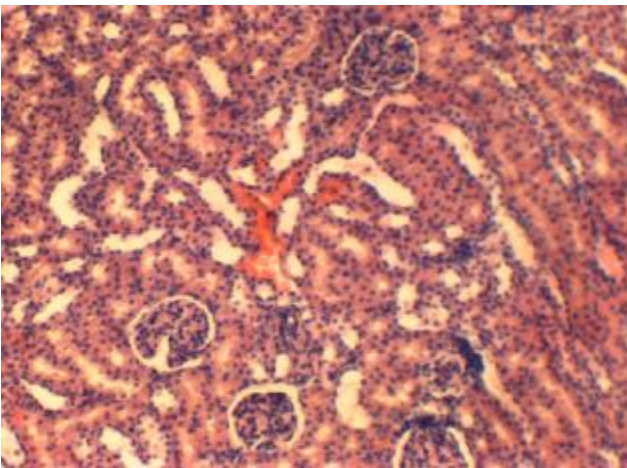


Рис. 5. Ішемія судин клубочків та повнокров'я венозного русла строми на 3 добу краніоскелетної травми та корекції фетальними нервовими клітинами. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

На 7 добу експерименту структурні зміни нирки проявлялися слабовираженими розладами кровообігу, що були представлені нерівномірним кровонаповненням капілярів клубочків та судин строми кіркового та мозкового шарів, поодинокими стазами. Більшість клубочків кіркового шару мала нерівномірне кровонаповнення або була ішемізованою. Незначні структурні зміни виявлялися і в епітелії проксимальних та дистальних відділів каналців. Епітелій виглядав дещо набубнявілим. Цитоплазма незначної частини клітин була зернистою, в інших – вакуолізованою. Ядра у більшості клітин не змінювались.

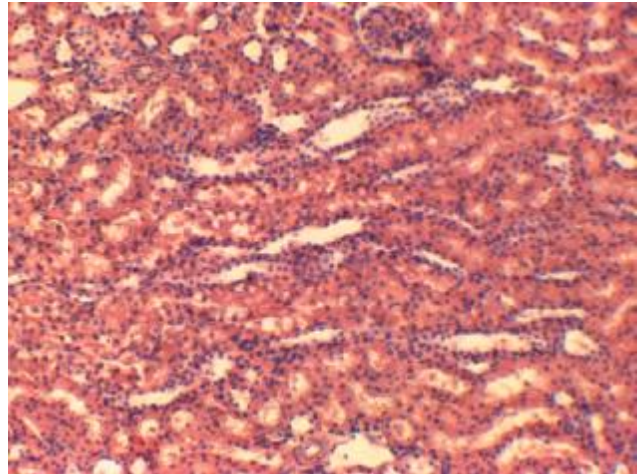


Рис. 4. Дистрофічно-некротичні зміни альвеолоцитів із вогнищевою десквамацією через 25 днів після моделювання краніоскелетної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

Незначні структурні зміни виявлялися і в епітелії проксимальних та дистальних відділів каналців. Епітелій виглядав дещо набубнявілим, місцями спостерігалася апікальна його десквамація. Цитоплазма незначної частини клітин була зернистою. Ядра у більшості клітин не змінювались. Аналогічні зміни продовжували наростати до 7 доби експерименту (рис. 6).

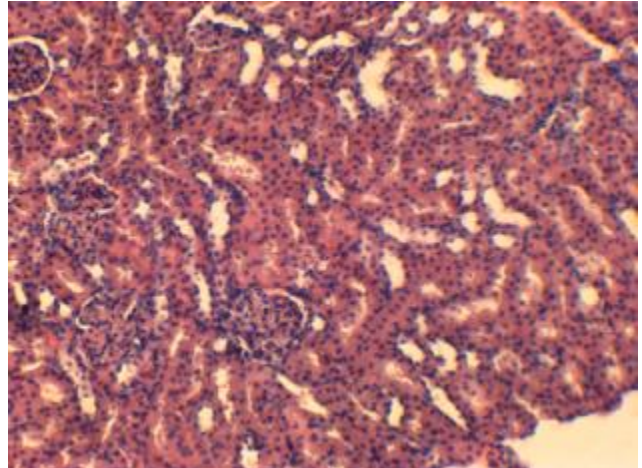


Рис. 6. Виражена ішемія судин клубочків до 7 доби краніоскелетної травми та корекції фетальними нервовими клітинами. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

На 14 добу експерименту структурні зміни нирки проявлялися слабовираженими розладами кровообігу, незначними дистрофічними змінами епітелію проксимальних та дистальних відділів каналців.

До 25 доби спостерігалось часткове покращення кровопостачання клубочків нефрона (рис. 7), проте ще залишались слабовиражені розлади кровообігу.

Структура більшості вивідних каналців не відрізнялась від структури контрольних тварин. Окремі епітеліоцити містили пігмент гемосидерин.

Таким чином, при корекції фетальними нервовими клітинами посттравматичного періоду структура

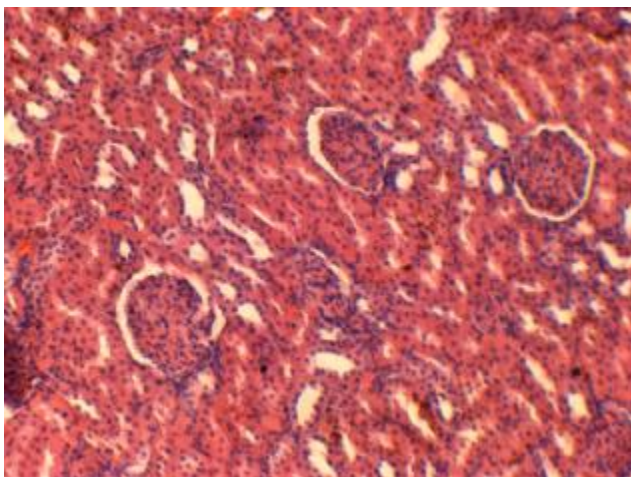


Рис. 7. Слабовиражені розлади кровообігу, накопичення гемосидерину в епітеліоцитах на 25 добу краніоскелетної травми та корекції фетальними нервовими клітинами. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

нирки вражається значно менше на 7 та 14 доби. А виражене відновлення епітеліоцитів вивідних каналців, що відбувається до 25 доби у корегованих тварин, вказує на можливість системного впливу фетальних нервових клітин в умовах модельованої травми та перспективність застосування фетальної клітинної терапії в умовах тяжкої травми, що вимагає поглибленого дослідження.

ВИСНОВКИ 1. За умов експериментальної краніоскелетної травми у тканині нирки структурні зміни проявляються ішемією кіркової речовини та венозним повнокров'ям мозкової речовини, та розвитком дистрофічних змін епітелію каналців, що наростають до 25 доби експерименту.

2. Введення суспензії кріоконсервованих фетальних нервових клітин потенціуює адаптаційні механізми

та частково покращує структурну організацію тканини за рахунок зменшення гострих розладів кровообігу та впливає на проліферацію епітеліоцитів вивідних каналців.

Перспективи подальших досліджень У перспективі передбачається поглибити вивчення властивостей фетальної клітинної терапії в умовах тяжкої травми з використанням інших критеріїв її системних проявів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Апоптические процессы в тимусе и головном мозге при развитии экспериментального аллергического энцефаломиелита до и после лечения фетальными нервными клетками / А. Н. Гольцев, Е. А. Порожан, Н. Н. Бабенко, М. В. Останков // Патология. – 2001. – Т. 8, № 2. – С. 69–72.
2. Клинико-патофизиологическое обоснование феномена взаимного отягощения у пострадавших при сочетанной закрытой травме / В. Н. Денисенко, В. В. Бурлука, Я. Л. Заруцкий [и др.] // Проблемы військової охорони здоров'я. – 2002. – С. 15–22.
3. Ельский В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.
4. Ельский В. Н. Патопфизиология, диагностика и интенсивная терапия тяжелой черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, А. М. Кардаш, Г. А. Городник ; под ред. В. И. Черния. – Донецк: Новый мир, 2004. – 200 с.
5. Peden M. World report on road traffic injury prevention / M. Peden, R. Scurfield, D. Sleet [et al.] // Geneva, Switzerland: World Health Organization. – 2004.
6. Надання медичної допомоги постраждалим з політравмою на догоспітальному етапі : методичні рекомендації / [Г. Г. Рошцін, Ю. О. Гайдаєв, О. В. Мазуренко та ін.]. – К., 2003. – 33 с.
7. Терапия фетальными нервными клетками в остром периоде экспериментального ишемического инсульта (антиоксидантный эффект) / Д. В. Лебединец, С. Е. Овсянников, В. В. Лебединец [и др.] // Проблемы криобиологии. – 2010. – Т. 20, № 3. – С. 338–347.

Отримано 30.05.13