

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, короткі повідомлення, замітки з практики (у складі НТ) обсягів, різким дефіцитом кількості та об'єму ГК та подоцитів на фоні превалювання мезангіального матриксу. Ці морфологічні зміни супроводжувалися помірною (в 45%) та значною (55%) протеїнурією, причому ступінь добової втрати білка корелював з відсотком втрачених подоцитів ($r=0,821$), зменшенням площі ГБМ ($r=0,733$) та розширенням мезангіума ($r=0,882$). На відміну від 1 групи, поява протеїнурії та морфологічних змін в нирках в щурів 2 групи була зареєстрована через 1 місяць в 25% тварин, тоді як в інших щурів розвиток ініціація ДН відбувалася лише через 2-3 місяці після початку експерименту.

Висновки. Отримані дані свідчать про те, що низька резервна потужність eNOS є патоген-

етичним фактором, що провокує ранній розвиток гломерулопатії, ініціальними проявами якої є міграція лейкоцитів, ушкодження ендотелію та подоцитів. Це призводить до порушення регенерації ГБМ, активації проліферації та секреторної активності мезангіальних клітин, наслідком чого є склерозування СК.

Перспективи подальших досліджень. Визначення індивідуальних характеристик роботи системи eNOS-NO дозволить адекватно оцінити ступінь ендотеліальної дисфункції, розробити програму її корекції, що може стати основою в формуванні стратегії ренопротекції за умов ЦД.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ossman S.S. Diabetic Nephropathy: Where We Have Been and Where We Are Going // Diabetes Spectrum. - 2006. - Vol. 19. - P. 153-156.

2. Jones L.C., Hingorani M.B. Genetic regulation of endothelial function of heart. - 2005. - Vol. 91, № 10. - P. 1275-1277.

3. Шишкин А.Н. Дисфункция эндотелия у пациентов с прогрессирующими заболеваниями почек // Нефрология- 2005.- Т. 9, № 2.- С. 16-23.

4. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. - М.: Медицина, 1991.

RENAL CORPUSCLE MORPHOGENESIS IN RATS WITH DECREASED POWER OF NO-SYNTASE IN DIABETES MELLITUS MODEL

©E.F. Barynov, V.M. Huzenko, K.V. Hryhoryan

Donetsk State Medical University by M. Horky

SUMMARY. The analysis of structural and functional state of renal corpuscles was performed in rats with normal and decreased NO-synthase activity during diabetic nephropathy development. It was shown that low intensity of NO production is a risk factor in early (since 14 day) initiation of glomerulopathy under diabetes, which is accompanied by filtration barrier structures damage with proteinuria development against a background of glomeruli cellular condition change: podocytes loss and activation of proliferation and secretory function of mesangial cells.

KEY WORDS: kidney, glomeruli, NO-synthase.

УДК 616-001.5: 616.155.34]-037

ЦИТОХІМІЯ НЕЙТРОФІЛІВ У ПРОГНОЗУВАННІ ПЕРЕБІГУ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ

©М.Е. Барінова, М.В. Свіридов, О.М. Сулаєва

Донецький державний медичний університет ім. М. Горького

РЕЗЮМЕ. В роботі проведено оцінку активності ферментів, залучених до киснезалежних та кисненезалежних систем антимікробного захисту нейтрофілів в динаміці лікування за умов загоєння та тривалого незагоєння ран стопи в 22 хворих на цукровий діабет. Визначено, що загоєння ран асоційоване з нормалізацією балансу між швидкою та повільною фазами бактеріолізу, відновленням потужності початкової та термінальної ланок кисень-залежного антимікробного захисту нейтрофілів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нейтрофіли, ферменти, загоєння ран.

Вступ. Однією з патогенетичних ланок різноманітних захворювань шкіри та слизових оболонок порожнистих органів (гнійно-некро-

тичні ураження шкіри за умов цукрового діабету, опіки, екзема, виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки тощо) є порушення про-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, короткі повідомлення, замітки з практики

цесу загоєння. Спроба розшифрувати його механізми закінчилися накопиченням значного фактичного матеріалу щодо патохімічних подій, які лежать в основі запалення та регенерації [1, 2]. Але при цьому оцінка функціонального стіну ефекторних клітин-учасниць запально-репаративного процесу, в першу чергу, нейтрофілів (НФ), випала з поля зору дослідників. Проте НФ має високий антимікробний потенціал, завдяки чому блокує інфекційну агресію, визначаючи вираженість та терміни завершення альтеративної фази запалення [3]. Враховуючи аутохронність запалення та каскадний характер залучення клітин до запально-репаративного процесу, логічно стверджувати, що структурно-функціональний стан перших клітин-учасниць ранового процесу визначає подальші події та кінцевий результат. Зрозуміло, що класичні методи вивчення цитохімічних характеристик НФ можуть дозволити визначити причини розвитку дизрегенеративної тканини.

Мета дослідження - аналіз цитохімічних характеристик НФ у визначенні критеріїв прогнозування перебігу ранового процесу. В якості моделі в роботі використано рани шкіри нижніх кінцівок у хворих на цукровий діабет (ЦД) за умов загоєння або тривалого незагоєння ран.

Матеріал і методи дослідження. Проведено оцінку цитохімічних параметрів НФ у 22 хворих на ЦД, середній вік яких складав (62,3±6,5) року, на момент госпіталізації та в динаміці загальноприйнятої терапії (на 3-5, 10-14 та 30 добу). В 14 пацієнтів загоєння відбувалося протягом 18-24 діб (1 група). В 8 хворих (2 група) протягом лікування виникла потреба виконання багатоетапної некретомії, загоєння ран тривало більше 1 місяця. В НФ оцінювали активність кислої (КФ) та лужної фосфатази (ЛФ) за модифікованим методом Gomori. Катіонні білки (КБ) досліджували за методом Б.С. Нагоева, мієлопероксидазу (МПО) - за модифікованим методом Sato [4]. Внутрішньоклітинний киснезалежний метаболізм оцінювали за допомогою НСТ-тесту [5]. Крім того, розраховували функціональний резерв НФ, який визначали як розбіжність між активностями індукованої та спонтанної НСТ-реакції. В пробірці з 0,1 мл суспензії НФ додавали 0,05 мл 0,2% розчину НСТ в 0,1 мл фосфатного буфера. Суміш інкубували 30 хв (37 С). Пробірки центрифугували, з осадку готували мазки, фіксували метанолом, забарвлювали 0,1% розчином сафроніну протягом 5 хв та враховували інтенсивність спонтанної НСТ-відновлювальної активності. Паралельно в кожну пробірку з НФ вносили по 0,1 мл суспензії монодисперсного полістерольного латексу діаметром 1,5 мкм (концентрація 109 частинок на 1 мл) для визначення

кількості індукованих НСТ-позитивних клітин. Під час обліку реакції визначали відсоток НСТ-позитивних клітин та враховували інтенсивність реакції за формулою:

$$\text{Інтенсивність НСТ} = (A \cdot 3 + B \cdot 2 + C \cdot 1) / 100,$$

де А, В і С - кількість клітин з відкладенням діформазану, обсяг якого, відповідно, перевищував розміри ядра, займав більш 1/3 площі цитоплазми і був менше 1/3 її площі. Отримані результати обробляли статистично.

Результати й обговорення. НФ хворих на ЦД на момент госпіталізації знаходилися в активному стані. При цьому в них зареєстровано зниження активності КФ (на 39,4% та 48,5%, $p < 0,01$) і КБ (26,5% і 37,4%, $p < 0,01$) на фоні підвищення рівня ЛФ (в 4 і 2,1 раза) відповідно в 1 та 2 групах порівняно з контролем. Враховуючи, що бактеріоліз в НФ відбувається в 2 фази: швидку при рН не нижче 6,5 з участю ЛФ, та повільну - за рахунок вивільнення в фагосому вмісту первинних гранул при рН 5,0-5,5, отримані дані свідчать про пригнічення повільної фази на фоні компенсаторного підйому швидкої фази бактеріолізу. Наслідком цього може бути незавершеність та низька ефективність фагоцитозу, і як результат - пролонгування мікробної агресії в рані. Цікаво, що, окрім цього, в НФ хворих визначено пригнічення і киснезалежних механізмів дії, причому як початкової, так і термінальної ланок. В 1 групі активність спонтанної та індукованої НСТ-реакції була на 44,2% і 36,6% ($p < 0,01$), а МПО - на 30,1% ($p < 0,01$) нижче контролю. Ці дані відбивають зниження ефективності кілінгу мікробів, і свідчать про комплексне зниження антимікробного потенціалу НФ, результатом чого є пролонгування запалення в рані, тривала незавершеність альтеративної фази та затримка трансформації нейтрофільної інфільтрації на моноцит-макрофагічну, що ініціює репаративні процеси.

В результаті лікування спостерігалася різна динаміка цитохімічних показників у хворих на ЦД з гнійно-некротичним ураженням шкіри стопи. Так, в пацієнтів 1 групи вже з 3-5 доби було зареєстроване поступове зростання активності КФ (в 2 рази, $p < 0,001$) і КБ (на 8,4%, $p < 0,05$), на фоні зменшення активності ЛФ. Паралельно відбувалося відновлення рівня киснезалежних процесів в НФ переважно за рахунок інтенсивності респіраторного вибуху: активність спонтанної НСТ реакції зросла на 38,5%, а індукованої - на 23,46%. Ці цитохімічні зміни супроводжувалися завершенням фази альтерації в рані та активацією з 10-14 доби репаративних процесів в шкірі. До кінця 1 місяця цитохімічні показники НФ наближалися до контрольних значень, лише

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, короткі повідомлення, замітки з практики

рівень КБ вірогідно відрізнявся від контролю, що може розцінюватися як фактор ризику рецидивування інфекції.

На відміну від цього, в 2-й групі було зареєстровано толерантність до традиційних терапевтичних заходів. На 3-5 добу лікування на фоні помірного підвищення активності КФ на 17,6% ($p < 0,05$) не спостерігалось змін активності КБ. Активність ЛФ також не змінювалася, підтримуючи високу потужність швидкої фази бактеріолізу на фоні дефіциту активності лізосомальних ферментів. При цьому киснезалежні процеси також залишалися на низькому рівні. Подальше лікування не призвело до значущих змін: рівень КБ не досяг достовірного зросту навіть до 30 доби, активність КФ зросла до 10-14 доби на 34,7%, але була нижчою від контролю на 30,61% і не змінювалася до кінця місяця. На фоні дефіциту лізосомальних ферментів відбувалося компенсаторне підвищення ЛФ, активність якої наприкінці 1 міс. була в 3 рази вище показника в НФ здорових людей. Залишалися зниженими й показники киснезалежних процесів, відбиваючи низьку потужність респіраторного вибуху та мікробіцидної активності НФ хворих 2 групи. Це корелювало з пролонгуванням мікробної агресії,

тривалим підтриманням альтернативної фази в рані, формуванням нових осередків запалення та некрозу, що потребувало повторного хірургічного втручання.

Висновки. Загоєння ран супроводжувалося зростанням активності лізосомальних ферментів НФ та підвищенням потужності киснезалежних процесів з 3-5 доби лікування, відновленням балансу між швидкою та повільною фазами бактеріолізу, початкової та термінальної ланок киснезалежного антимікробного захисту НФ. Реакція НФ є проявом індивідуальної реактивності організму хворих (на рівні гранулоцитопоезу) та їх чутливості до терапевтичних заходів, що дозволяє використовувати оцінку цитохімічних характеристик НФ для прогнозування перебігу ранового процесу та контролю ефективності проведеної терапії.

Перспективи подальших досліджень. Визначення механізмів, що лежать в основі індивідуальної реакції організму на розвиток патологічного процесу, деталізація даних щодо міжклітинних кооперацій та їх молекулярної регуляції в ході ранового процесу, дозволить підійти до розробки системи адекватного діагностичного обстеження та індивідуалізованої терапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Молекулярная клиническая диагностика. Методы / Под ред. С. Херрингтона, Дж. Макги: Пер. с англ. - М., 1999. - С. 261-279.
2. Lobmann R., Schultz G., Lehnert H. Molecular fundamentals of wound healing in diabetic foot syndrome // Med. Clin. - 2003. - Vol. 98. - P. 292-301.
3. Долгушин И.И. Нейтрофилы и гомеостаз. - Екатеринбург, 2001.

4. Козинец Г.И., Макаров В.А. Исследование системы крови в клинической практике. - М, 1997.
5. Зинкин В.Ю., Годков М.А. Способ количественной оценки кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов человека // Клин. и лаб. диагностика. - 2004, №8. - 26-29.

NEUTROPHILS CYTOCHEMISTRY IN PROGNOSIS OF WOUND HEALING

© **M.E. Barinova, M.V. Svirydov, O.M. Sulayeva**

Donetsk State Medical University by M. Horky

SUMMARY. The activity of neutrophil enzymes which participate in oxygen-dependent and oxygen-independent processes in antimicrobial neutrophils defence was estimated in 22 diabetic patients during therapy of healed and non-healed foot wounds. It was shown that wound healing is associated with optimization of rapid and slow phases of bacteriolysis balance, and restoration of early and terminal stages of oxygen-dependent system of neutrophils.

KEY WORDS: neutrophils, enzymes, wound healing.