

**Summary**

**ULTRASTRUCTURAL PLACENTAL CHANGES IN PREECLAMPSIA**

Ivanov I.I., Zagorulko A.K., Prochan E.N.

Key words: pregnancy, preeclampsia, placenta, electronic microscopy, morphology.

Preeclampsia is among the main causes of maternal and perinatal mortality. The purpose of our research is to study ultrastructural changes in placental tissues of women with different severity of preeclampsia. The material for morphological study was placental fragments taken according to standard techniques and then studied by transmission electronic microscopy method. It was revealed the most expressed and irreversible changes of ultrastructural organization of elements composing placental cilia occurred in severe preeclampsia. In cases of either mild or moderate preeclampsia placental changes are reversible, and, consequently, may be corrected with the adequate therapy.

УДК: 616-001.17-092.9:612.017.1

**Звягинцева Т.В., Кривошапка А.В., Миронченко С.И.**

**ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ В РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖОГА**

Харьковский национальный медицинский университет, Украина

*Показано, что течение раневого процесса у крыс с термическим ожогом характеризовалось повышением уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови – ИЛ-1β на протяжении 3-х недель наблюдения, ИЛ-8 и ФНО-α в течение всего времени наблюдения (28 суток), что свидетельствует о хронизации процесса, удержании раневого процесса в стадии персистирующего воспаления.*

Ключевые слова: провоспалительные цитокины, ожоговая рана, раневой процесс ожога.

В связи с повышением частоты возникновения ожогов и смертности пациентов актуальной для комбустиологии остается проблема лечения ожогов [1]. Выявление механизмов, ответственных за дисфункцию иммунной системы после ожоговой травмы, имеет важное значение для разработки более совершенных методов лечения [2].

Развитие воспалительных и репаративных процессов в ране обусловлено функционированием и взаимодействием разных видов клеток. Активность и последовательность клеточного состава раны отражают как скорость ее заживления, так и направленность раневых процессов [3]. На сегодняшний день в регуляции процессов заживления ключевую роль отводят межклеточным взаимодействиям, которые реализуются с помощью цитокинов [4]. Цитокины регулируют все последовательные этапы развития воспаления и иммунного ответа. Усиление продукции провоспалительных цитокинов (хемокинов, ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6, фибринопептидов, кининов и др.) является необходимым в начальных фазах воспаления и носит патологический характер, если их активация сохраняется в течение всего заболевания [5].

Однако исследований, посвященных изучению продукции цитокинов в динамике формирования и заживления раны вследствие термического ожога, проведено недостаточно.

Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение провоспалительных цитокинов в динамике развития экспериментального

**Материалы и методы**

Эксперименты по моделированию ожогов выполнены на 30 крысах популяции WAG массой 200–250 г. На выстриженном участке спины под барбитуровым наркозом вызывали термический ожог площадью 400мм<sup>2</sup> [6]. Для этого использовали прибор с установленной температурной шкалой и электропаяльником, на конце которого крепится съемная металлическая насадка [6]. Время экспозиции нагретой до 200<sup>0</sup>С контактной пластинки составляло 10 сек. При соблюдении этих условий ожог кожи у крыс соответствовал IIIA степени клинической классификации ожогов. Данный метод позволяет получить стандартные по площади и глубине всей толщине кожи ожоги. Наблюдения за процессами заживления ожоговых ран проводили на 3, 7, 14, 21, 28 сутки. В эти сроки регистрировали состояние раны и проводили измерение ее площади [6]. О темпах заживления судили по скорости уменьшения раневой поверхности, которую вычисляли по формуле [7]:

$$V = \frac{(S - S_n)}{S} \times 100$$

где V – скорость уменьшения раневой поверхности

S – площадь раны при предыдущем измерении

S<sub>n</sub> – площадь раны в день измерения

Об общем состоянии экспериментальных животных судили на основании поведенческих ре-

\* «Создание, изучение и патогенетическое обоснование применения новых комбинированных лекарственных средств и лекарственных средств политропного действия», государственный регистрационный номер 0109U001748

акций, аппетита, массы тела, выживаемости.

Для количественного определения ключевых маркеров раневого процесса цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ФНО- $\alpha$  в периферической крови использовали метод иммуноферментного анализа [8], используя тест-системы ООО «Укрмедсервис» (Донецк, Украина). Исследования проводили также на интактных животных.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия t-Стьюдента с поправкой Бонферони при уровне достоверности  $p < 0,05$  [9].

**Результаты и их обсуждение**

При визуальном осмотре появление ожоговой раны возникло сразу после термического воздействия с образования сухого светлорыжевого струпа. Окружающие рану ткани были отечны и гиперемизированы. Завершение формирования ожоговой раны произошло на 2-е сутки от начала опыта. Уже с третьих суток начиналось размягчение центральной части тол-

стого струпа, при надавливании из-под него выделялся серозно-гноенный экссудат. На 7-е сутки ожоговая рана представляла собой зону глубокого некроза и серозно-гноенного экссудата. В тканях дна раны сохранялся отек с образованием грануляционной ткани на границе очага поражения. На протяжении следующих двух недель наблюдения (14-е–21-е сутки) в центре ожоговой раны отмечались уменьшение зоны некроза и эпителизация раневого дефекта. К 28 суткам ожоговая рана была частично эпителизирована с образованием тонкого нежного рубца.

Заживление ожоговой раны сопровождалось постепенным уменьшением площади раневого дефекта (табл. 1): на 8 % к 3 суткам, на 30 % к 7 суткам, на 59 % к 14 суткам, на 85 % к 21 суткам и на 99 % к 28 суткам в сравнении с исходной площадью раны. Полного заживления раны к 28-му дню не происходило.

Таблица 1  
Изменение площади раневой поверхности в динамике заживления после нанесения термического ожога у крыс

Сутки после нанесения ожога	Исходная	Площадь ожоговой раны, мм <sup>2</sup>	
		Исходная	После ожога
		400	
	3		367,8 $\pm$ 35,8
	7		278,2 $\pm$ 42,6
	14		162,4 $\pm$ 28,7
	21		57,4 $\pm$ 12,4
	28		0,9 $\pm$ 0,2

Самопроизвольное заживление ожоговой раны имело мало выраженную динамику (рис. 1). Кривая скорости закрытия раневого дефекта имеет пологий характер и запаздывает, в то

время как для неосложненной раны этот показатель резко возрастает между 7 и 14 сутками, а полное закрытие раневого дефекта наблюдается к 15-16 суткам [10].

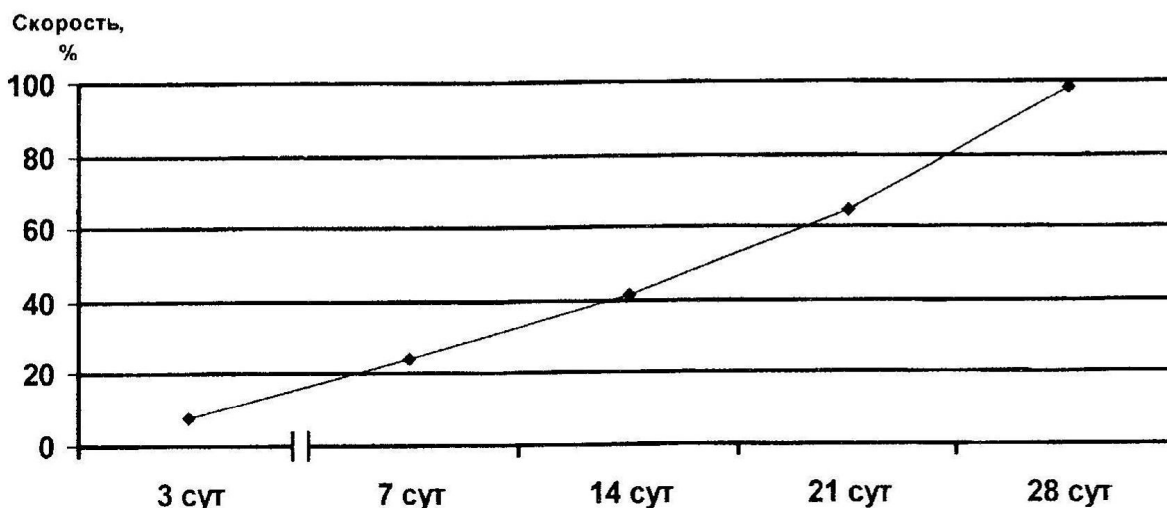


Рис. 1. Скорость закрытия площади раневой поверхности в динамике заживления ожоговой раны у крыс

В процессе наблюдения за экспериментальными животными установлено, что на третьи сутки после нанесения термического ожога живот-

ные были вялыми и адинамичными, снизилось потребление корма, уменьшилась их масса (на 5–10%) в сравнении с животными интактной

группой. На 7-е сутки нормализовался аппетит, на 14-е сутки увеличилась масса животных. Гибели животных в течение всего периода наблюдения не отмечалось.

Содержание ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови интактных животных составляло  $68,30 \pm 6,04$ . Исследование ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови животных с термическим ожогом показало увеличение цитокина на протяжении трех недель наблюдения (рис. 2). Так, на 3-и сутки его концентрация составила  $89,29 \pm 11,76$ , на 7-е сутки –  $116,27 \pm 9,84$ , превы-

шая на 31% и 70% соответственно таковой показателем у интактных животных. На 14-е сутки содержание ИЛ-1 $\beta$  было максимальным, составляя  $171,03 \pm 14,48$ , что в 2,5 раза выше уровня цитокина интактных животных. К 21-м суткам его концентрация ( $101,56 \pm 18,67$ ) снижалась по сравнению с предшествующим сроком, но превышала норму на 49%. Лишь к 28 суткам содержание ИЛ-1 $\beta$  ( $82,37 \pm 7,63$ ) достоверно не отличалось от показателя интактных животных (рис. 2).

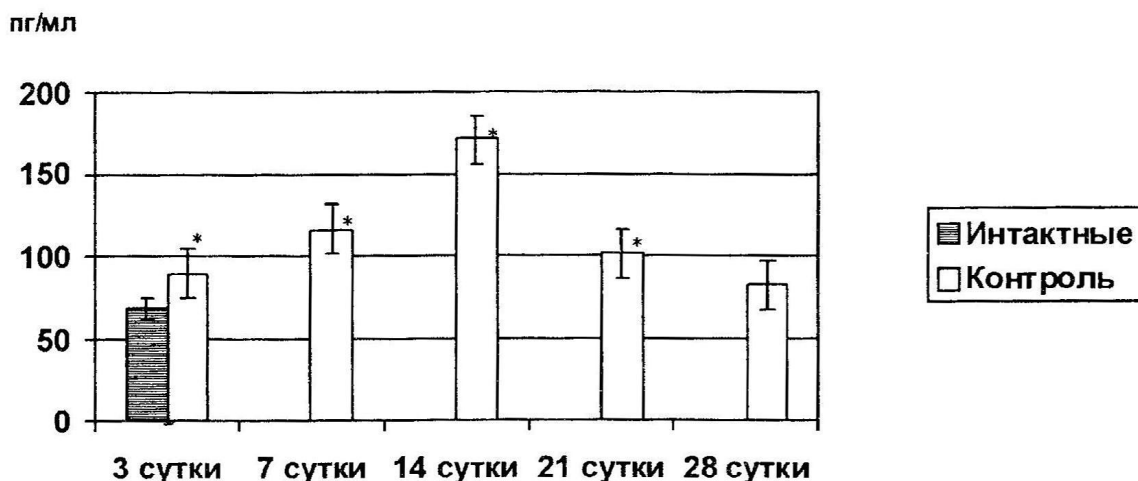


Рис. 2. Уровень ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови крыс в динамике развития ожоговой раны. Здесь и на рис. 2, 3 и 4 \* достоверность различий с группой интактных животных,  $p < 0,05$

Уровень ИЛ-8 в сыворотке крови интактных животных составлял  $100,59 \pm 10,53$ . У животных с ожоговой раной его содержание на протяжении

всех сроков наблюдения было выше, чем у интактных животных (рис. 3).

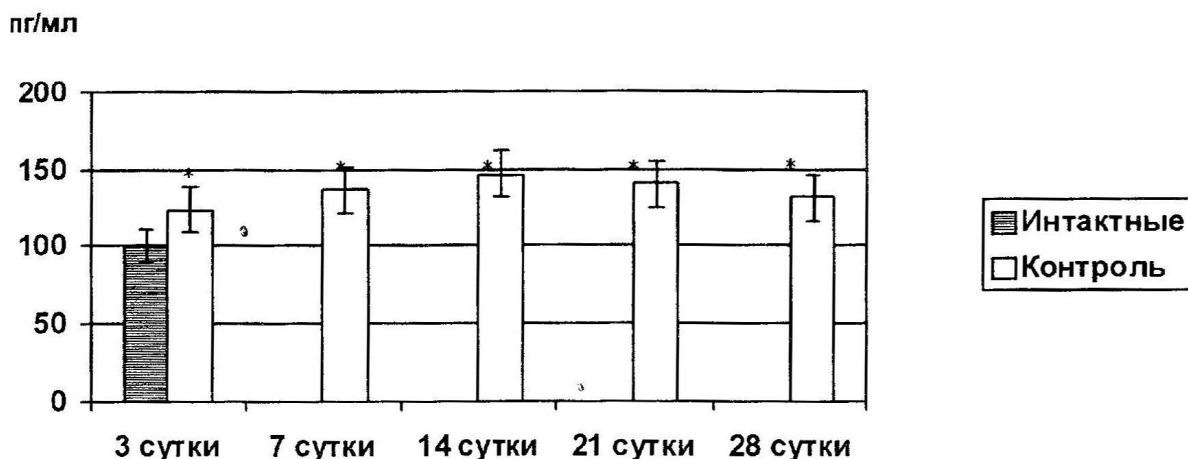


Рис. 3. Уровень ИЛ-8 в сыворотке крови крыс в динамике развития ожоговой раны

На 3-и сутки уровень ИЛ-8 ( $123,49 \pm 9,27$ ) увеличивался на 23 %, на 7-е сутки ( $136,11 \pm 14,58$ ) – на 35 % по сравнению с интактными животными. На 14-е сутки его концентрация ( $146,22 \pm 12,37$ ), также как и концентрация ИЛ-1 $\beta$ , достигала пиковых значений, превышая норму в 1,5 раза, и оставалась высокой до конца срока наблюде-

ния. На 21-е сутки его уровень составлял  $139,93 \pm 21,74$ , на 28-е сутки –  $131,29 \pm 14,76$ , превышая аналогичный показатель интактных животных на 39 % и 31% соответственно (рис. 3).

Концентрация ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови интактных животных составляла  $30,09 \pm 3,16$  (рис. 4).

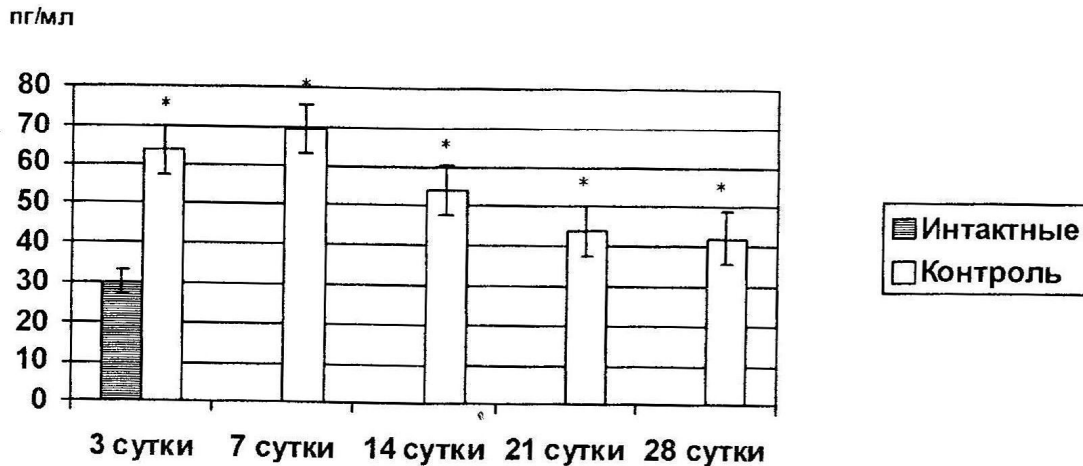


Рис. 4. Уровень ФНО-α в сыворотке крови крыс в динамике развития ожоговой раны

Исследование уровня ФНО-α в крови животных с термическим ожогом так же, как и ИЛ-8 показало его повышение в течение всего времени исследования. На 3-и и 7-е сутки содержание ФНО-α возрастало в 2,1-2,3 раза относительно интактных животных, достигая максимальных значений  $63,49 \pm 5,27$  и  $69,11 \pm 6,58$  соответственно. В последующие три недели наблюдения концентрация ФНО-α постепенно снижалась по сравнению с предшествующими сроками, но была выше, чем у интактных крыс. На 14-е сутки уровень ФНО-α превышал на 80% ( $54,22 \pm 6,37$ ), на 21-е сутки – на 46% ( $43,91 \pm 4,27$ ), на 28-е сутки – на 41% ( $42,36 \pm 5,73$ ) аналогичный показатель интактных животных (рис. 4).

Таким образом, увеличение провоспалительных цитокинов ИЛ-1β на протяжении 3-х недель наблюдения, а ФНО-α в течение всего времени наблюдения (28 суток) свидетельствует о хронизации процесса, удержании раневого процесса в стадии персистирующего воспаления (Menko et al., 2007). Это подтверждается и увеличением концентрации ИЛ-8 на протяжении всего эксперимента. Очевидно, экспрессия провоспалительных цитокинов играет важную роль в задержке основных явлений репарации при ожоговой ране. В этом случае перспективными могут оказаться лечебные мероприятия, направленные на снижение и нормализацию провоспалительных цитокинов в организме при ожогах.

#### Выводы

1. Развитие экспериментального термическо-

#### Реферат

### ПРОЗАПАЛЬНІ ЦИТОКІНИ В РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОПІКУ

Звягінцева Т.В., Кривошопка О.В., Миронченко С.І.

Ключові слова: прозапальні цитокіни, опікова рана, рановий процес.

Показано, що перебіг ранового процесу у щурів з термічним опіком характеризувався підвищенням рівня прозапальних цитокінів в сироватці крові - ІЛ-1β протягом 3-х тижнів спостереження, ІЛ-8 і ФНО-α протягом всього часу спостереження (28 діб), що свідчить про хронізацію процесу, утримання ранового процесу в стадії персистуючого запалення.

го ожога III А степені характеризується хронічним теченням раневого процесу, проявляючимся в запаздванні сроков и скорости закрытия раневого дефекта.

2. Течение раневого процесса у крыс с термическим ожогом сопровождается повышением уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови – ИЛ-1β на протяжении 3-х недель наблюдения, ИЛ-8 и ФНО-α в течение всего времени наблюдения (28 суток).

#### Література

1. Saffle J. R. Multiple organ failure in patients with thermal injury / J. R. Saffle, J. J. Sullivan, G. M. Tuohig [et al.] // Crit. Care Med. – 1993. – V. 21(11). – P. 1673–1683.
2. Nguyen T.T. Current treatment of severely burned patients / T.T.Nguyen, D.A.Gilpin, N.A.Meyer [et al.] // Ann. Surg. – 1996. – V. 223 (1). – P. 14–25.
3. Кузин М. И. Патогенез раневого процесса. Обмен веществ и энергии в ране / М.И.Кузин, Л.Л.Шимкевич // Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей; под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко. – [2-е изд.] – М.: Медицина, 1990. – С. 113-124.
4. Звягинцева Т. В. Межклеточные взаимодействия в заживлении ран. Перспективы фармакологической коррекции раневого процесса / Т.В.Звягинцева // Медицина сегодня и завтра. – 2004. – №4. – С. 25-32.
5. Симбирцев А. С. Цитокиновая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9–16.
6. Яковлева Л. В. Фармакологическое изучение новой ранозаживляющей мази «Пролидоксид» / Л. В. Яковлева, С.С. Кальф-Калиф, О.В. Ткачева // Провизор. – 1999. – №1. – С. 44–45.
7. Фенчин К. М. Заживление ран / Фенчин К. М. – К.: Здоровье, 1979. – 166 с.
8. Современные методы в биохимии / [ред. В.Н. Ореховича] – М.: Медицина, 1977. – С. 63–66.
9. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Гланц С. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
10. Липшиц Р.У. Высвобождение серотонина и гистамина при экспериментальной кожной ране / Р. У. Липшиц, Т. В. Звягинцева // Физиологический журнал. – 1982. – №1. – С. 107–109.

**Summary**

**PROINFLAMMANTORY CYTOKINES IN DEVELOPMENT OF MODELED BURNS**

Zvyagintseva T.V., Kryvoshapka A.V., Myronchenko S.I.

Keywords: proinflammatory cytokines, burn wound, wound process.

It is shown that wound healing of thermal burns in rats is characterized by increased levels of proinflammatory cytokines in blood serum - IL-1 $\beta$  during the 3 weeks of observation, and by increased IL-8 and TNF- $\alpha$  during the whole observation time (28 days). These findings show the chronicity of the wound process, keeping it in the stage of persistent inflammation.

УДК 616.441-008.64-001-036.17:112.013.1

**Золотухин С.Е., Махнева А.В., Шпаценко Н.Н., Крюк Ю.Я., Баешко А.А.  
СВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА С ТИРЕОИДНЫМИ ГОРМОНАМИ ПРИ  
ГИПОТИРЕОЗЕ, ПРИ ТЯЖЕЛОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ И ПРИ ИХ СОЧЕТАНИИ**

НИИ травматологии и ортопедии

Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, Украина

*В экспериментах на крысах моделировали мерказолиловый гипотиреоз и травму по Кеннону. Выделяли три степени тяжести гипотиреоза и три типа течения посттравматической реакции: нешоковый, шоковый несмертельный и шоковый смертельный. В крови и тканях коры головного мозга определяли содержание тиреотропного гормона (ТТГ), тироксина (Т<sub>4</sub>) и трийодтиронина (Т<sub>3</sub>), а также показатели перекисного окисления липидов (ДК, МДА) и антиоксидантной системы (активность СОД, каталазы, концентрацию  $\alpha$ -ТФ). В крови также выявляли концентрацию МСМ. В исследовании показано, что мерказолиловый гипотиреоз усиливает нарушения внутриклеточного метаболизма ПОЛ/АОС, вызванные тяжелой механической травмой. В характере выраженности и направленности коэффициентов корреляции антиоксидантных показателей с ТТГ, Т<sub>3</sub> и Т<sub>4</sub> при разных типах течения посттравматической реакции имеются различия. При нешоковом и шоковом несмертельном типах посттравматической реакции эти различия указывают на связь метаболических нарушений с механизмом угнетения синтеза и выделения ТТГ при сохранности рецепции Т<sub>3</sub> и конверсии Т<sub>4</sub> в Т<sub>3</sub> в периферических тканях. При шоковом смертельном типе констелляции свидетельствуют о расстройстве механизма выделения и рецепции тканями щитовидной железы ТТГ, а также о нарушении механизма рецепции периферическими тканями Т<sub>3</sub> и конверсии Т<sub>4</sub> в Т<sub>3</sub>. Полученные данные дают основание для коррекции отмеченных нарушений с помощью антиоксидантных средств.*

Ключевые слова: гипотиреоз, травма, свободно-радикальное окисление

Тяжелая механическая травма, полученная на фоне гипотиреоза, характеризуется высокой летальностью и частотой осложнений. Этому способствует нарушение различных функций органов и систем, понижение основного обмена и замедление процессов регенерации поврежденных тканей и восстановительных процессов, свойственных гипотиреозу [1, 9]. Состояние свободнорадикальных процессов, особенно в головном мозге, при механической травме имеет исключительно важное значение для понимания механизмов поражения ЦНС и всех видов внутриклеточного обмена [10]. Особенно важным является изучение особенностей реализации эффекта прооксидантных факторов, проявляющихся в организме под воздействием механического поражения с последующим развитием посттравматической реакции [2, 3].

На сегодняшний день вопросы нарушения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС) при тяжелой механической травме, протекающей на фоне гипотиреоза, изучены недостаточно. Это сдерживает выбор и использование на практике при такой тяжелой сочетанной патологии ряда антиоксидантных препаратов.

Цель исследования: установление патогене-

тической значимости нарушений ПОЛ/АОС при тяжелой механической травме, протекающей на фоне гипотиреоза и обоснование их коррекции антиоксидантными средствами в эксперименте.

**Материалы и методы исследования**

Экспериментальные исследования выполнены на 210 белых беспородных крысах-самцах весом 220 - 280 г, которые содержались на стандартном рационе при свободном доступе к пище и воде в условиях вивария. Все эксперименты осуществляли при соблюдении общих требований и положений Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и других научных целей.

Гипотиреоз у животных моделировали путем внутрижелудочного введения через специальный зонд фармакопейного тиреостатика мерказолила в дозе 10 мг/кг в течение 8 недель [6]. При отработке модели гипотиреоза учтены морфологические изменения щитовидной железы и данные показателей ТТГ, Т<sub>4</sub> и Т<sub>3</sub> в динамике моделируемого процесса (2, 4 и 8 недель). На основании указанных показателей выделен гипотиреоз легкой, средней степени и тяжелый гипотиреоз.