

THE VARIETY OF FACTORS THAT INFLUENCE THE BIOMECHANICAL PROPERTIES OF THE LIMB SKIN DURING LENGTHENING

L.A. Grebeniuk, A.V. Popkov, V. A. Shchurov

Russian Ilizarov Scientific Centre for Restorative Traumatology and Orthopaedics Kurgan

SUMMARY

The aim of this work is to analyze the influence of some factors on biomechanical behavior of the human skin in natural growth and in graduated lengthening with application of the Ilizarov fixator.

45 healthy individuals of various age and 104 patients suffering from congenital shortening of one lower limb or osteomyelitic sequelae have been examined. The limb discrepancy was eliminated by mono- and bilocal osteosynthesis with application of the Ilizarov fixator. The amount of lengthening comprised 3 – 14 cm, its relative value achieved 6 – 30%. Distraction started in 5 days following fixator placement.

Biomechanical parameters were determined with the help of the device designed by A.A. Utenkin. The method allows for studying skin deformation properties – shift stiffness (S , kg/mm²) by minimal in time loading but constant in value moment, as well as for calculation of the amount of relative deformation (stretching, x , %). The work reports on the effect of different factors – structural and age ones, conditions of reparative lengthening and processes of regeneration – on the mechanical behavior of the limb skin in shortening of different etiology and gradual traction for equalizing limb length.

There is a number of factors having influence on the skin biomechanics of the human extremity: 1 – structural peculiarities of the collagen bundles and elastic fibres in the papillary and reticular dermis layers (collagenous fibres make up 98% of the connective dermis tissue and provide its high stiffness). The conformation principle of the collagenous and elastic fibrillas and fibres is their spiral character. 2 – the type of the collagen viscosity in the dermis, especially in its deep layers; 3 – age factor; 4 – an amount and etiology of limb shortening in patients with the locomotor system orthopaedic pathology; 5 – the method of limb shape modeling (lengthening and deformity correction) in the conditions of the guided transosseous osteosynthesis (mono- and bilocal osteosynthesis); 6 – skin regeneration (Ilizarov effect) as a consequence of the formogenetic effect appearing in the conditions of tension stress.

KEY WORDS: biomechanical behavior of the human skin, natural growth, graduated lengthening, Ilizarov fixator

INTRODUCTION

Human skin has a number of important functions. It covers the entire human body and defends the underlying tissues from injuries and impacts. Its total surface in an adult person comprises 1.5-2.0 square metres while its volume is 1/6th – 1/7th part from the entire body. The skin structure in humans has a particular difference from that of the animals caused by a phylogenetically conditioned upright human stature, absence of hair integument and social existence (Ye.V. Vinogradova, 1975). The human skin is also characterized by its lower mobility relevant to the underlying tissues and by a larger diameter of collagenous bundles in the transverse section (100-200 mm in a human and 30-40 mm in a pig).

When modelling the limb shape (lengthening and/or thickening) all the components of the segment under lengthening turn to the condition of tension and deformation. As previously stated, a successful surgical lengthening depends upon a stable osteosynthesis, low traumatism of the surgical intervention, a full blood supply, an optimal rate and frequency of distraction, preservation of the limb function. All these conditions have been mostly referred to bone regeneration while the influence of various factors on soft tissues, surrounding the lengthened bone, has been less intensively studied. And while definite success has been achieved in studying morphological parameters of

soft tissues during limb lengthening in experiment on animals, the research of human limb soft tissue structural and functional reconstruction in vivo has been insufficient.

Functional and radioanatomical soft tissue changes during limb lengthening have been studied previously in achondroplastic patients and other orthopaedic pathology [5; 6; 17; 18]. But some problems are still to be solved. It refers to the changes in biomechanical skin properties due to the patient's age. The difference in skin condition during various lengthening techniques has been also little studied.

The aim of this work is to analyze the influence of some factors on biomechanical behavior of the human skin in natural growth and in gradual lengthening with application of the Ilizarov fixator.

MATERIALS AND METHODS

45 healthy individuals of various age groups and 104 patients suffering from congenital shortening of one lower limb or osteomyelitic sequelae have been examined. The limb discrepancy was eliminated by mono- and bilocal osteosynthesis with application of the Ilizarov fixator. The amount of lengthening comprised 3-14 cm, its relative value achieved 6 – 30%. Distraction started 5 days after the fixator placement [3].

Biomechanical parameters were determined with the help of the device designed by A.A. Utenkin [22]. The method allows of studying skin

deformation properties – shift stiffness (S , kg/mm²*degree) by minimal in time loading but constant in value moment, as well as for calculation of the amount of relative deformation (stretching, x , %). The device has a small size (its working part in the shape of a ring is 28*20 mm). The maximal shift tension was 0.00840 MPa, the maximal rotational moment comprised 10.8 mm.

The studied skin area was located on the anteriorlateral surface in the middle tibial third. The patients were positioned horizontally, the knee joint angle counted 180D. The measurements were performed before surgery, during distraction and fixation, as well as 2–12 months after the lengthening completion.

RESULTS AND DISCUSSION

Age dependence of the limb skin deformation properties

The age dynamics of shift stiffness and amounts of relative deformation was followed for the humerus, forearm, femur and tibia in healthy individuals [9]. The femur and tibia showed an exponential dependence between the values of the lower limb skin relative deformation and age:

$$\text{Femur } e = 11.321 * e^{(-0.1783 * T)} \quad r = 0.46 \quad P 0.05;$$

$$\text{Tibia } e = 3.0316 * e^{(-0.0693 * T)} \quad r = 0.51 \quad P 0.05,$$

e – the value of a relative skin deformation or stretching (%), e – a base of a natural logarithm equal to 2.71, T – age in years. The other mechanical parametre is an amount of the skin shift stiffness that is determined according to the regression equation:

$$\text{Femur } S = 0.0083 * T + 0.0192 \quad r = 0.62 \quad P 0.01;$$

$$\text{Tibia } S = 0.0095 * T + 0.0412 \quad r = 0.44 \quad P 0.05.$$

(T is age in years). As it comes out of these relations, the index of relative deformation decreased with age while shift stiffness increased [10].

Morphological research data show that infantile skin is considerably thinner than an adult one [11]. So, in babies the dermis is 1.5–2 times thinner than in adults but the subcutaneous fat cellular tissue differs little from its condition in an adult individual. The reported works [13; 14] mention that collageneous dermis fibres in early childhood consist of friable bundles that grow thicker and denser to the age of 10 – 12, they become much more twisted and interknitted. Dermis continues thickening up to the age of 16 – 30.

Light microscope investigation data testify that the fibrous structures of the skin in 5–9-year old children and adults are similar [15]. The study of dermis elements ultrastructure of a normal infantile skin revealed some peculiar features as compared with adults [1]. It refers to the structure of collagenous fibrillas, the width of their periods is less and comprises 450 – 500 E. A large amount of fibrous material was discovered near collagenous and elastic fibres and testifies that fibrous substances

are actively synthesized during childhood. Therefore, the age dynamics of biomechanical properties of human skin is determined by its various structural features. Mechanical properties of the skin in the limb segments are influenced greatly by the type of collagenous viscosity in the reticular dermis layer. As reported by some scientists, there are not only age but also topographic peculiarities in the skin structure. The location and relations of the collagen fibres have a great influence on the dermis deformation features [14].

On the whole, the viscosity type of the human limb skin is characterized by its layers; collagenous fibres are positioned in parallel layers; rigid or weak relations of the dermis collagenous frame with a subcutaneous cellular tissue or structural relations with fasciae are possible in various areas.

The dependence of collagenous fibres thickness on the depth of their positioning was also revealed. They are the thickest in the dermis reticular layer [24].

The surface of the collageneous bundles transversal section in the skin of young people is considerably less than in old subjects and comprises 0.4 mm² for the limb skin [16; 23; 24]. As reported [23] the skin on the lateral tibial surface has additional bundles oriented almost perpendicularly or tangentially to the skin surface thus providing its greater stiffness and less stretching as compared with the medially located areas.

Our research [9], when shift stiffness absolute values were compared in the individuals of the same age, has revealed that the stiffness of the humerus and femur skin is considerably lower than the corresponding values in the forearm and tibia.

Thus, the regional difference in the skin relative deformation and elasticity is determined by the dermis structure and the type of the mutual interknitting of collageneous and elastic fibres, the epidermis structure and the boundary area between the epidermis and the dermis. The skin structure as well as underlying tissues play a decisive part in the process of skin relaxation [20].

In some diseases (desmogenesis imperfecta) the skin is easily torn which is caused by the insufficient development of the collagenous structures.

As it was reported in the literature the main structural components of the skin that take the mechanical loading are collagenous fibres that are well wound spirally [4]. The conformation principle of the dermis collagen at various structural levels is its spiral character [14]. The polypeptid chains and collagen macromolecules are spiral, fibrillas are spiral too. Spiral orientation was revealed in the architechtonics of other tissues – muscular bundles, tendons, vessels' walls, dura mater and even in the long tubular bones [21].

According to many researchers the appearance of spiral structures, in long bones in particular, is caused by the effect of twisting that is revealed in the period of human phylo- and ontogenesis. According to Ph. Fouques the twisting of the musculus latissimus dorsi and musculus pectoralis major is found in the human embryo at early stages of its development while this phenomenon is not noted in animals [21, p. 130]. Ph. Fouque associates this twisting with the upright human stature. Thus, spiral shape of the architectionics is one of the principles in macrostructure organization; this refers also to the skin. The biological essence of the spiral shape of the skin structural components lies in the formation of the definite mechanical tissue properties, i.e. relative deformation, viscoelasticity and stiffness.

Deformation properties of the skin during limb elongation. The biomechanical skin properties of the shortened tibia in patients with a congenital limb anomaly depend on the amount of shortening. Thus, the index of relative deformation of the shortened limb x (%) in the preoperative period had a nonlinear dependence from the anatomical limb length (L , cm):

$\xi = 0.8225 + 13.352 e^{-0.159 \cdot L}$. Mathematical dependence of the skin shift stiffness S (kg/mm) from the anatomical tibial length L (cm) has been found:

$$S = 0.0013L + 0.0118 \quad r = 0.8225, P < 0.05.$$

In the other conditions the dependence of the deformation on the length of the skin sample was also nonlinear [7].

By the end of the graduated monolocal tibial lengthening a considerable decrease in the index of skin deformation in the operated segment was noted, that was 11 times less in children and 15.8 times less in adult patients ($\xi = 0.05 - 0.6\%$). In 12-14 year old children the decrease in deformation properties of the tibial skin during distraction was less marked, which is probably caused by the growth leap in the puberty period. The possible explanation of the noted difference is a large reserve in the structural adaptation of the tissue, as well as its great regeneration potential.

The analysis of the mechanical properties in the tibial skin during lengthening at one

or two levels (mono- and bilocal distraction osteosynthesis) showed the following features. When the tibia is lengthened to 4-11 cm the biomechanical behavior of the skin by mono- and bilocal osteosynthesis is similar: the shift stiffness grew 4 or 2.69 times correspondingly. The response of other soft tissues (muscles, blood vessels) to graduated lengthening by mono- and bilocal osteosynthesis also differed in achondroplastic patients [6; 17].

The process of tension stress dominates in limb lengthening, when definite distraction efforts are created in the system «fixator – extremity», that causes regular changes in the biomechanical behavior of the limb skin. The skin envelope of the operated segment transfers to a tensile and deforming (but oriented) condition. Once regeneration is completed relaxation develop. Subsequently, structural and functional skin properties corresponding to the new biomechanical conditions start forming in the tissues of the lengthened limb.

In conclusion, there is a number of factors which influence the skin biomechanics of the human extremity: 1 – structural peculiarities of the collagen bundles and elastic fibres in the papillary and reticular dermis layers (collagenous fibres make up 98% of the connective dermis tissue and provide its high stiffness). The conformation principle of the collagenous and elastic fibrillas and fibres is their spiral character; 2 – the type of the collagen viscosity in the dermis, especially in its deep layers; 3 – age factor; 4 – an amount and etiology of limb shortening in patients with the locomotor system orthopaedic pathology; 5 – the method of limb shape modelling (lengthening and deformity correction) in the conditions of the guided transosseous osteosynthesis (mono- and bilocal osteosynthesis); 6 – skin regeneration (Ilizarov effect) as a consequence of the formogenetic effect appearing in the conditions of tension stress.

The analysis of various factors that have influence on the limb skin biomechanical status is both of theoretic and practical value. It regards, first of all, the management of vast infected wounds in open bone fractures and bone loss with the application of the method of gradual tissue stretching [8; 12].

REFERENCES

1. Айвазян А.А., Гетлинг З.М. // Вестник дерматологии и венерологии. 1972. №8. С. 24-29.
2. Барон М.А. // Успехи соврем. биол. 1939. Т. 10. Вып. 3. С. 377-409.
3. Гребенюк Л.А., Попков А.В., Утенькин А.А. и др. Метод Илизарова: теория, эксперимент, клиника: Тез. докл. Всесоюз. конф. с участ. иностр. специал., посвящ. 70-летию Г.А.Илизарова и 40-летию разработан. им метода чрескостного остеосинтеза. Курган, 1991. С. 265-268.
4. Brown I.A. // Br. J. Dermatol. 1973. №. 89. P. 383-393.
5. Дьячкова Г.В., Попков А.В. Адаптац.-компенсаторн. и восстановител. процессы в тканях опорно-двигат. аппарата: Тез. докл. VIII школы по биологии опорно-двигат. аппарата. К., 19-21 июня 1990. С. 172-173.
6. Щуров В.А., Грачева В.И., Мальцев В.Д. и др. // Ортопед., травмат. 1983. № 4. С. 15-18.
7. Fung Y.C. Biomechanics: Its Foundation and Objectives. Englewood Cliffs. N.Y.: Print. Hall, 1972. P.181.

8. Амирасланов Ю.А., Светухин А.М., Саркисов Д.С. и др. // Вестн. РАМН. № 6. С. 41-43.
9. Гребенюк Л.А., Утенькин А.А. Деформационные свойства кожи конечностей человека // Физиол. механизмы адаптации человека и животных: Тез. докл. II съезда физиологов Уральского региона. Свердловск, 1990. С. 136-137.
10. Гребенюк Л.А., Утенькин А.А. // Физиология человека. 1994. Т. 20, № 2. С. 157-162.
11. Калантаевская К.А. Морфология и физиология кожи человека. К.: Здоров'я. 1972.
12. Мартель И.И. Лечение тяжелых открытых переломов костей голени по Илизарову: Автореф. дис... канд. мед. наук. Пермь, 1994. 20 с.
13. Agache P.G., Monneur C., Levegue J.L. et al. // Arch. Dermatol. Res. 1980. Vol. 269, № 3. P. 221-232.
14. Михайлов А.Н., Шименович Б.С. // Механика полимеров. 1977. №. 1. С. 109-115.
15. Обысов А.С. Надежность биологических тканей. М.: Медицина., 1971.
16. Русаков А.В. К физиологии и патологии некоторых тканей внутренней среды. М.: Медгиз.
17. Щуров В.А. Физиологические основы эффекта стимулирующего влияния растяжения тканей на рост и развитие при удлинении конечности по Илизарову. Автореф. дис. ... д-р. мед. наук. - 14.00.17. Пермь, 1993.
18. Шевцов В.И., Гребенюк Л.А. // Физиология человека. 1998. Т. 24, № 2. С. 61-65.
19. Шевцов В.И., Попков А.В. Оперативное удлинение нижних конечностей. М., Медицина. 1998.
20. Мордовцев В.Н., Меликянц И.Г. Чернова Т.А. и др. // Вестн. дерматол. и венерол. 1984. №.11. С. 8-11.
21. Сорокин А.П. Общие закономерности строения опорного аппарата человека. М.: Медицина. 1973.
22. Утенькин Л. Л. // Мед. техника. 1990. № 1. С. 21-23.
23. Виноградова Е.В. Структурные основы прочности и растяжимости кожи человека по данным световой и растровой электронной микроскопии // Биомеханика. Рига, 1975. С. 169-174.
24. Виноградова Е.В., Михайлов И.Н. // Механика композитных материалов. 1979. №.6. С. 1100-1104.
25. Виноградова Е.В., Михайлов И.Н. // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1978. Т. LXXV, №.9. С. 91-97.

ПРО ФАКТОРИ, ЯКІ ВПЛИВАЮТЬ НА БІОМЕХАНІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШКІРИ КІНЦІВОК ПРИ ПОДОВЖЕННІ

Л.А. Гребенюк, А.В. Попков, В.А. Щуров

Російський науковий центр «Відновлювальна травматологія й ортопедія» ім. Г.А. Ілізарова

РЕЗЮМЕ

Мета роботи полягала у вивченні впливу деяких чинників на біомеханічну поведінку шкіри кінцівок у процесі природного зростання і дозованого розтягу за допомогою апарата Ілізарова. Обстежено 45 здорових людей різноманітного віку і 104 пацієнти з природженим укороченням однієї з нижніх кінцівок або з наслідками перенесеного остеомієліту. Подовження здійснювали за методом моно- і білокального остеосинтезу із застосуванням апарата Ілізарова. Термін подовження складав 3-14 см, відносно подовження – 6-30%. Дистракцію здійснювали на 5 день після накладення апарату.

Біомеханічні характеристики визначали за допомогою приладу А.А. Утенькіна, аналізуючи такі деформаційні параметри: зсунуту жорсткість (S , кгс/мм² град.) при постійній величині навантаження, що додається, і величину відносної деформації (α , %). У роботі описується вплив різноманітних чинників на біомеханічну поведінку укорочуваної кінцівки різноманітної етіології – структурних, фактора віку, виду методики подовження у процесі зрівнювання довжини кінцівки.

До таких чинників відносять: 1 – особливості будовлі колагенових пучків і еластичних волокон сосочкового і сітчатого шарів шкіри (колаген складає 98% еднальної тканини дерми і забезпечує її високу жорсткість). Конформаційним принципом будовлі колагенових пучків є їх спіралевидна звитість; 2 – тип колагенової в'язи в дермі, особливо в глибоких шарах; 3 – віковий чинник; 4 – величина і етіологія укорочування у хворих з ортопедичною патологією; 5 – методика оперативного моделювання розмірів і форми кінцівки в умовах чрескостного остеосинтезу (моно – і білокальний остеосинтез); 6 – регенераторні процеси у шкірі сегменту, які подовжують кінцівки, як прояв «ефекту Ілізарова» в умовах напруги розтягу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: біомеханічна поведінка шкіри людини, природне зростання, дозований розтяг, апарат Ілізарова, кінцівка

О ФАКТОРАХ, ВЛИЯЮЩИХ НА БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОЖИ КОНЕЧНОСТИ ПРИ УДЛИНЕНИИ

Л.А. Гребенюк, А.В. Попков, В.А. Щуров

Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. Г.А. Илизарова

РЕЗЮМЕ

Цель работы состояла в изучении влияния некоторых факторов на биомеханическое поведение кожи конечностей в процессе естественного роста и дозированного растяжения с помощью аппарата Илизарова. Обследовано 45 здоровых людей различного возраста и 104 пациента с врожденным укорочением одной из нижних конечностей или с последствиями перенесенного остеомиелита. Удлинение осуществляли по методике моно- и билокального остеосинтеза с применением аппарата

Илизарова. Величина удлинения составляла 3-14 см, относительное удлинение – 6-30%. Дистракцию осуществляли на 5-й день после наложения аппарата.

Биомеханические характеристики определяли с помощью устройства А.А. Утенкина. Анализировали следующие деформационные параметры: сдвиговую жесткость (S , кгс/мм² град.) при постоянной величине прилагаемой нагрузки и величину относительной деформации (x , %). В работе описывается влияние различных факторов на биомеханическое поведение укороченной конечности различной этиологии – структурных, фактора возраста, вида методики удлинения в процессе уравнивания длины конечности.

К таким факторам относятся: 1 – особенности строения коллагеновых пучков и эластических волокон сосочкового и сетчатого слоев кожи (коллаген составляет 98% соединительной ткани дермы и обеспечивает ее высокую жесткость). Конформационным принципом строения коллагеновых пучков является их спиралевидная извитость; 2 – тип коллагеновой вязи в дерме, особенно в глубоких слоях; 3 – возрастной фактор; 4 – величина и этиология укорочения у больных с ортопедической патологией; 5 – методика оперативного моделирования размеров и формы конечности в условиях чрескостного остеосинтеза (моно- и билокальный остеосинтез); 6 – регенераторные процессы в коже удлиняемого сегмента конечности как проявление «эффекта Илизарова» в условиях напряжения растяжения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биомеханическое поведение кожи человека, естественный рост, дозированное растяжение, аппарат Илизарова, конечность

УДК 618.4:534.1

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РОДОВЫХ СХВАТОК

И.В. Лахно

Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина

РЕЗЮМЕ

Описана математическая модель родовых схваток как автоколебаний в рамках системы «матка-плодо-амниотический комплекс».

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сократительная активность матки, синергетика, система «матка – плод-амниотический комплекс», автоколебания

Сократительная деятельность матки представляет собой уникальный феномен, который во многом определяется контрактильной активностью миометрия. Однако в настоящее время хорошо известно, что сила мышечного сокращения не является абсолютным фактором, обеспечивающим раскрытие шейки матки [8; 14]. По данным исследователей, в цепи «схватка-раскрытие» существует промежуточное звено – гемодинамическая система миометрия [6; 17].

Неоспоримым является наличие эволюционно выработанного механизма внутримиометрального депонирования крови, который стал активным инструментом по формированию гидродинамического объема, выполняющего основную работу по деформационной реконструкции шейки матки в родах [13; 14; 17].

В 1988 г. независимые авторы Г.А. Савицкий и С.Л. Воскресенский сформулировали дискретно-волновую теорию родов, согласно которой дискретность обусловлена наличием двух отдельных фаз: схватки и расслабления миометрия. Упругие волны деформации, возникающие благодаря перемещению крови по сосудистому сплетению мышечного слоя матки, обеспечивают раскрытие шейки по типу накачивания воздухом манжетки тонометра. Процесс продвижения плода по родовым путям матери осуществляется путем взаимного перемещения стенок матки и плодного яйца.

При этом поступательное движение плода можно сравнить с перемещением в чреве удава проглоченной им крупной пищи [7; 14].

Фундаментальным следует считать положение об изометрическом характере сокращения беременной матки [13]. Согласно этой концепции роль «расе-макер», вызывающего маточное сокращение, выполняет маточно-плацентарный контур кровообращения, кровь из которого обеспечивает эффект дорастяжения миоцитов и индукцию схватки. То есть силовое депонирование крови в сосудистые лакуны миометрия является основным фактором, определяющим частоту и эффективность родовых схваток [13; 14; 17].

В 1971 г. группа исследователей под руководством I. Scheffs успешно решила задачу построения математической модели маточно-плацентарного кровотока в зависимости от изменения внутриамниотического давления и особенностей внешнего венозного дренажа в сосуды малого таза [18]. В дальнейшем теоретические данные были полностью подтверждены объективными исследованиями [12; 14].

Таким образом,

$$V_p = \int (F_a - F_v) dt; \quad dV_p = (F_a - F_v),$$

где V_p – объем крови в плацентарном контуре; F_a – приток артериальной крови к плаценте; F_v – венозный отток от плаценты.

Предложенная модель впервые позволила признать положение о продолжающемся оттоке из интервиллезного пространства и после прекращения венозного дренажа матки, т. е. подтвердила наличие силового депонирования крови из маточно-плацентарного контура в лакуны мышечного слоя матки. Впоследствии эта модель была на долгие годы забыта и не получила логического продолжения.

Животный мир дает нам поистине необозримое множество высокоупорядоченных и великолепно функционирующих структур. По-видимому, в биологической системе ничто не происходит без кооперации отдельных ее частей на высоком уровне. Синергетические процессы позволяют биологическим системам «трансформировать» энергию, предварительно преобразованную на молекулярном уровне, в ее макроскопические формы. Синергетические процессы проявляются в мышечном сокращении, приводящем ко всевозможным движениям, электрических колебаниях в коре головного мозга, образовании заряда у электрических рыб, распознавании зрительных и речевых образов и т.д.

Существует единый подход в описании любых биологических процессов с точки зрения синергетики или «теории автоволн» [1; 2; 4; 9 – 11; 15; 16].

Из вышеизложенного следует, что родовой акт, по-видимому, является автоколебательным процессом, который определяется автоколебаниями системы «матка – плодно-амниотический комплекс». Автоколебания – это незатухающие колебания, поддерживаемые внешними источниками энергии в нелинейной диссипативной системе, вид и свойства которой определяются самой системой и не зависят от начальных условий [9]. Автоколебательные системы чрезвычайно распространены в природе и технике. К ним относятся оптические квантовые генераторы (лазеры), важнейшие функциональные системы живого организма (системы кровообращения, дыхание, речи), духовые и струнные музыкальные инструменты, переменные звезды (цефеиды), автокаталитические химические реакции [1; 5; 11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Аладьев В.З. // Параллельная обработка информации и параллельные алгоритмы. Таллин: Валгус, 1981. С. 211–277.
2. Андронов А.А. Мандельштам Л.И. // Академик Мандельштам: К 100-летию со дня рождения. М.: Наука, 1979.
3. Андронов А.А., Витт А.А. // Собрание трудов А.А. Андропова. М.: Изд-во АН СССР, 1956. С. 51–64.
4. Андронов А.А., Потрягин Л.С. // ДАН СССР. 1937. Т.14, № 5. С. 247–250.
5. Бабский В.Г., Мышкис А.Д. // Марри Дж. Нелинейные дифференциальные уравнения в биологии. Лекции о моделях. М.: Мир, 1983. С. 383–394.
6. Воскресенский С.Л. // Акушерство и гинекология. 1991. № 5. С. 34–37.
7. Воскресенский С.Л. // Акушерство и гинекология. 1995. № 2. С. 44–48.
8. Воскресенский С.Л., Завтрак М.Т. // Акушерство и гинекология. 1991. № 4. С. 29–32.
9. Горелик Г.С. // Колебания и волны. М.: Изд-во физ.-мат. литературы, 1959.

Представив себе, что в генерации автоколебаний системы «матка – плодно-амниотический комплекс» основную роль играют гемодинамические процессы в фетоплацентарной системе и миометрии, можно построить следующую модель:

$$\frac{d^2 V_p}{dt^2} = \frac{d}{dt}(F_a - V_p); \quad \frac{d^2 V_p}{dt^2} + w_o^2 V_p = 0,$$

где w_o – частота собственных колебаний.

Однако данное уравнение описывает идеальный случай в системе, лишенной всяких потерь. А «всякая идеализация рано или поздно мстит за себя» (цит. по А.А. Андронову, 1956) [3].

Большинство окружающих нас в жизни нелинейных динамических систем в общем случае неконсервативны. Практически в любой системе присутствуют потери (трение, излучение, нагрев и т.д.), и обычно система не является энергетически изолированной: на нее действуют различные внешние силы и поля как статические, так и переменные. Классики теории колебаний и волн неоднократно указывали, что принципиально новым свойством диссипативных систем, в которых колебательная энергия может не только диссипировать из-за потерь, но и пополняться из-за неравновесных неустойчивостей, является генерация автоколебаний [11; 15; 16]. А.А. Андронов более семидесяти лет назад назвал такие системы автоколебательными, впервые придав им четкое математическое содержание, связав автоколебания с предельными циклами Пуанкаре [4].

Таким образом, реальная модель родовых схваток может быть сформулирована следующим образом:

$$\frac{d^2 V_p}{dt^2} + \frac{d}{dt}(F_a - V_p) + w_o^2 V_p = 0.$$

Представленное уравнение практически соответствует математическому описанию генератора Ван-дер-Поля – классическому примеру автоколебаний [3; 9; 19].

Совершенно очевидно, что дальнейшая работа в направлении построения более сложных моделей родового акта позволит глубже понять природу аномалий родовой деятельности, а также усовершенствовать их патогенетическую терапию.

10. Каннингхем В. // Введение в теорию нелинейных систем / Пер. с англ. М.: Госэнергоиздат, 1962.
11. Рабинович М.И., Трубецков Д.И. // Введение в теорию колебаний и волн. М.: Наука, 1984.
12. Савицкий Г.А. // Акушерство и гинекология. 1984. № 7. С. 9-12.
13. Савицкий Г.А., Шелковников С.А. // Акушерство и гинекология. 1986. № 12. С. 12-24.
14. Савицкий Г.А. // Биомеханика раскрытия шейки матки в родах. СПб.: Элби, 1999.
15. Хакен Г. Синергетика: // Иерархия неустойчивостей в самоорганизующихся системах и устройствах / Пер. с англ. М.: Мир, 1985.
16. Хаяси Т. // Нелинейные колебания физических системах / Пер. с англ. М.: Мир, 1968.
17. Laakso M. // Acta Obstet. Gynecol Scand. 1976. Vol. 55, № 2. P. 137-139.
18. Scheffs I., Vasisal D., Li G. et al. // Obstet. and Gynecol. 1971. Vol. 38, № 1. P.15-24.

МАТЕМАТИЧНА МОДЕЛЬ ПОЛОГОВИХ ПЕРЕЙМ

І.В. Лахно

Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна

РЕЗЮМЕ

Описана математична модель пологових перейм, як автоколивань у рамках системи «матка – плодово-амніотичний комплекс».

КЛЮЧОВІ СЛОВА: скоротлива активність матки, синергетика, система «матка-плодо-амніотичний комплекс», автоколивання

MATHEMATICAL MODEL OF THE UTERINE CONTRACTIONS IN LABOR

I.V. Lakhno

Kharkov National V.N. Karazin University

SUMMARY

The article presents a mathematical model of the uterine labor activity as continuous oscillations within the limits of the system of uterus-fetus-amnion.

KEY WORDS: contractive uterine activity, advanced synergetics uterus-fetus-amnion, continuous oscillations

УДК 616.43

УРОВЕНЬ ТРИПТОФАНА И СЕРОТОНИНА В УСЛОВИЯХ СУДОРОЖНОЙ ГОТОВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Е.Г. Максименко, В.Н. Савченко

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

РЕЗЮМЕ

Установлено, что у крыс с высокой аудиогенной судорожной активностью в сравнении с крысами с низким уровнем возбудимости уменьшается уровень серотонина в гипоталамусе, стволе, мозжечке и полушариях головного мозга, а содержание триптофана у крыс уменьшается в мозжечке и гипоталамусе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: серотонин, триптофан, аудиогенная активность

ВВЕДЕНИЕ

Для определения уровня триптофана и серотонина в условиях судорожной готовности головного мозга была проведена серия экспериментов на лабораторных крысах линии Крушинского-Молодкиной и беспородных крысах с различным уровнем судорожной активности. В эксперименте использована модель аудиогенной эпилепсии.

Проведенные исследования показали, что уровень серотонина у животных с высоким уровнем возбудимости, а также крыс линии Крушинского-Молодкиной по сравнению с животными с низким уровнем возбудимости

значительно ниже. В то же время у крыс линии Крушинского-Молодкиной в мозжечке выявлено снижение уровня триптофана.

Сравнительный анализ уровня серотонина и триптофана в различных областях головного мозга в группах исследуемых животных позволяет предположить следующее. Снижение уровня серотонина связано как с уменьшением медиатора, переносимого из ствола в другие области головного мозга, так и со снижением скорости биосинтеза или ускоренным превращением в исследуемых областях головного мозга. Снижение же уровня триптофана можно объяснить уменьшением скорости его нейронального

захвата или превалированием других путей метаболизма.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения взаимосвязи между судорожной готовностью и содержанием в мозге серотонина и триптофана мы воспользовались моделью аудиогенной эпилепсии. Модель является удобной для исследования нейрохимических особенностей головного мозга, так как дает возможность изучить мозг до возникновения судорог и тем самым исключить сомнение, что наблюдаемые изменения в биохимическом статусе являются следствием приступов, а не предшествуют таковым.

Серия экспериментов выполнена на белых лабораторных крысах линии Крушинского-Молодкиной [1] с высокой аудиогенной судорожной готовностью, а также беспородных крысах, предварительно отобранных по уровню судорожной готовности. Отбор животных по уровню судорожной готовности производили в металлической камере размером 80x40x30 см с крышкой из оргстекла. В качестве звукового раздражителя использовали звучание электрического звонка с длительностью звучания 120 с. Громкость на уровне пола камеры равнялась 96 дБ. Реакцию животных оценивали в баллах по следующей шкале: 0 баллов – отсутствие двигательного возбуждения и судорожной реакции; 1 балл – вздрагивания и незначительная беговая реакция; 2 балла – выраженная беговая реакция, заканчивающаяся падением животного на живот; 3 балла – выраженное двигательное возбуждение, заканчивающаяся падением животного на бок и клоническими судорогами; 4 балла – судорожный припадок с тоническим напряжением всей мускулатуры.

Из тестированных животных мы сформировали две группы: 1-я группа – животные с высоким порогом аудиогенных судорог (0 баллов, контроль) и 2-я группа – животные с выраженной эпилептиформной реакцией и, соответственно, высокой аудиогенной судорожной готовностью (3 – 4 балла). Животных использовали для биохимических исследований не ранее чем через две недели после определения судорожной готовности.

БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД

Животных забивали путем декапитации, мозг быстро извлекали и на холоду разделяли на отделы – полушария, гипоталамус, ствол (продолговатый мозг + варолиев мост) и мозжечок. Ткань взвешивали, размельчали и тщательно растирали в 0,4 М HClO₄ в соотношении 1:10. Гомогенаты выдерживали 60 мин при 4°C, затем центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин при температуре 0°C. Надосадочную жидкость переносили в пробирки и доводили до pH 5-6 с помощью 2 N KOH (на холоду) Вторично

центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин при температуре 0°C. Для определения содержания триптофана и серотонина в экстрактах пользовались методом Endo и Ogura [2 – 4]. Разделение проводили на колонке из карбоксиметилцеллюлозы типа CM-52 фирмы Whatman Biochemical (Англия). Колонку (0,6x10 см) уравнивали 0,01 М фосфатным буфером (pH 6,2) и наносили нейтрализованный тканевой экстракт в количестве 1 – 4 мл. Элюцию проводили при комнатной температуре буфером I (0,01 М фосфатный буфер, pH 6,2) и буфером II (0,03 М фосфатный буфер, pH 6,2). Буфер I (фракция 15 мл) элюировал триптофан, буфер II (фракция 15 мл) элюировал серотонин. Триптофаны и серотонины определяли флуориметрически по собственной люминесценции на спектрофлуориметре МПФ-4А Хитачи. Для анализа использовали длину волны $\lambda_1 = 303$ нм (длина волны возбуждения) и $\lambda_2 = 330$ нм (длина волны люминесценции) для серотонина; $\lambda_1 = 290$ нм (длина волны возбуждения) и $\lambda_2 = 345$ нм (длина волны люминесценции) для триптофана.

В качестве стандартов были использованы триптофан фирмы BDH и серотонин-креатинин сульфат фирмы Koch-Light Lab. (Англия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследования уровня серотонина и триптофана у животных с низким (Н) и высоким (В) уровнем возбудимости, а также у крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ) свидетельствуют о том, что у последних по сравнению с животными группы Н содержание серотонина существенно ниже во всех изученных областях мозга – полушариях, гипоталамусе, стволе и мозжечке (табл. 1). Это различие является достоверным ($p < 0,001$) и весьма значительным. Так, в полушариях уровень серотонина снижен на 40-60%, в гипоталамусе – на 50-70%, в стволе – на 60-80%, в мозжечке – на 60-80% (рис. 1 – 4). Следует отметить, что одновременно у крыс линии КМ в мозжечке и гипоталамусе заметно снижены уровень триптофана – на 30-40% и 40-60% соответственно (табл. 1, рис. 1 – 4).

У высоковозбудимых крыс (В), выделенных из общей популяции белых лабораторных крыс и отвечающих выраженной судорожной реакцией на действие аудиогенного раздражителя, также отмечено заметное снижение уровня серотонина в гипоталамусе, стволе и мозжечке. Однако это снижение менее выражено, чем у линейных крыс КМ (на 20-40%, 25-35% и 20-30% соответственно), уровень достоверности также ниже ($p < 0,05$). В то же время в полушариях крыс группы В уровень серотонина несколько повышен (на 40-50%, $p < 0,01$). Содержание триптофана у крыс группы В достоверно ($p < 0,05$) снижено в мозжечке (рис. 4).

Таблица 1

Содержание триптофана и серотонина в различных областях головного мозга крыс

Область мозга	Вещество	Группа животных							
		Н		В			КМ		
		n	нМ/г	n	нМ/г	P (В-Н)	n	нМ/г	P(КМ-Н)
Полушария	Триптофан	8	1.45 ± 0.13	8	1.44 ± 0.14	> 0.05	8	1.20 ± 0.14	> 0.05
	Серотонин	8	1.42 ± 0.11	8	2.10 ± 0.17	< 0.01	8	0.78 ± 0.08	< 0.001
Гипоталамус	Триптофан	8	7.74 ± 0.06	8	6.60 ± 0.56	> 0.05	8	3.73 ± 0.49	< 0.001
	Серотонин	8	11.75 ± 0.91	8	8.00 ± 0.62	< 0.01	8	4.54 ± 0.91	< 0.001
Ствол	Триптофан	8	3.21 ± 0.30	8	3.14 ± 0.39	> 0.05	8	3.98 ± 0.50	> 0.05
	Серотонин	8	9.25 ± 0.85	8	6.52 ± 0.90	< 0.05	8	2.98 ± 0.26	< 0.001
Мозжечок	Триптофан	8	5.16 ± 0.31	8	4.11 ± 0.39	< 0.05	8	3.48 ± 0.47	< 0.01
	Серотонин	8	8.51 ± 0.51	8	6.19 ± 0.51	< 0.01	8	2.50 ± 0.51	< 0.001

n – количество определений

P – достоверность различия между соответствующими группами

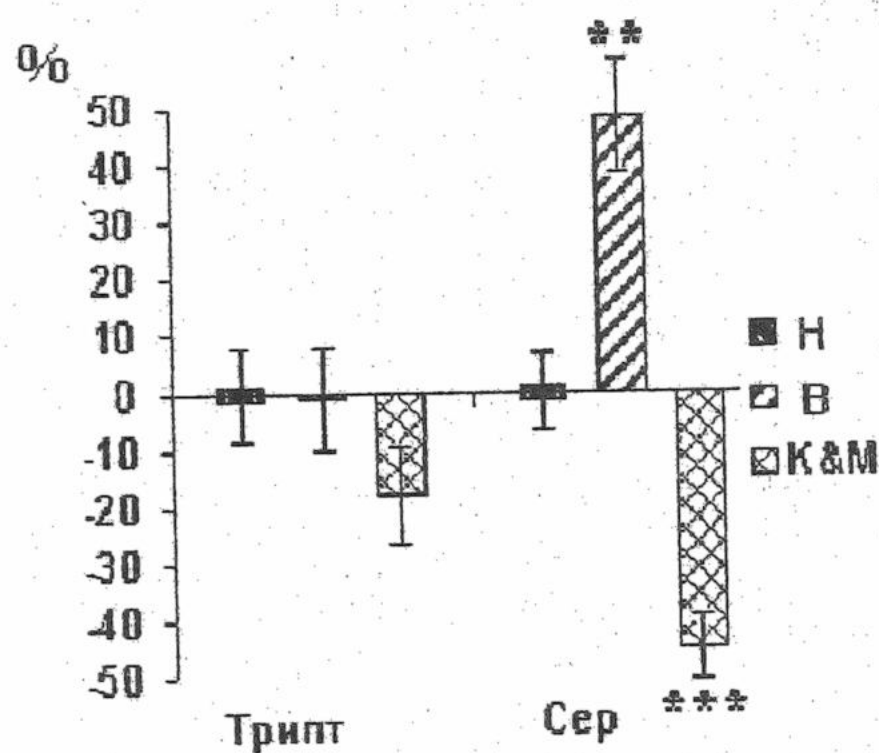


Рис. 1. Сравнительное содержание триптофана (Трипт) и серотонина (Сер) в полушариях крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: ** - P < 0.01, *** - P < 0.001

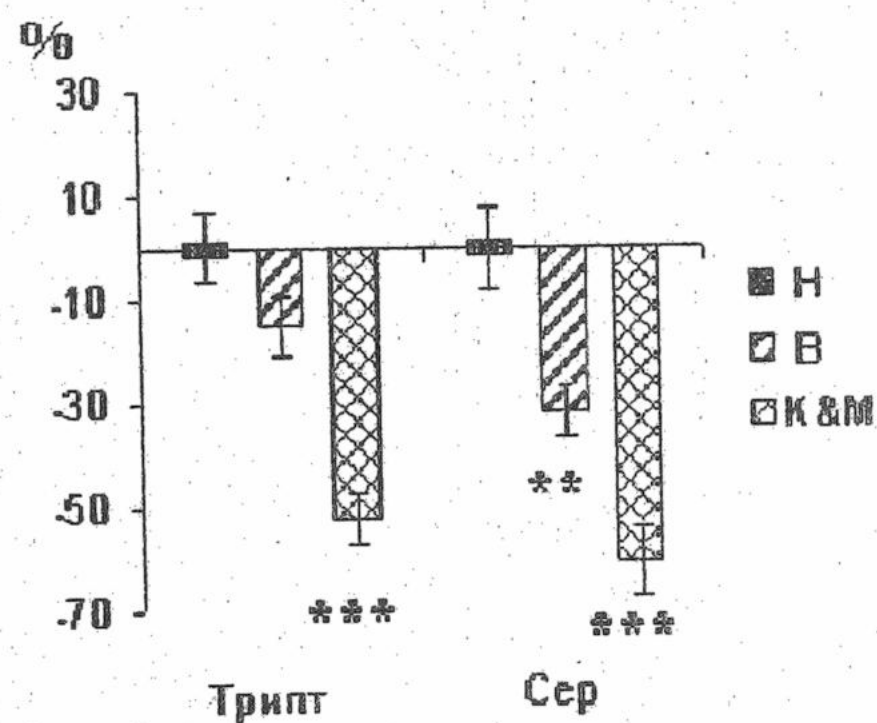


Рис. 2. Относительное содержание триптофана (Трипт) и серотонина (Сер) в гипоталамусе крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: ** - P < 0.01, *** - P < 0.001

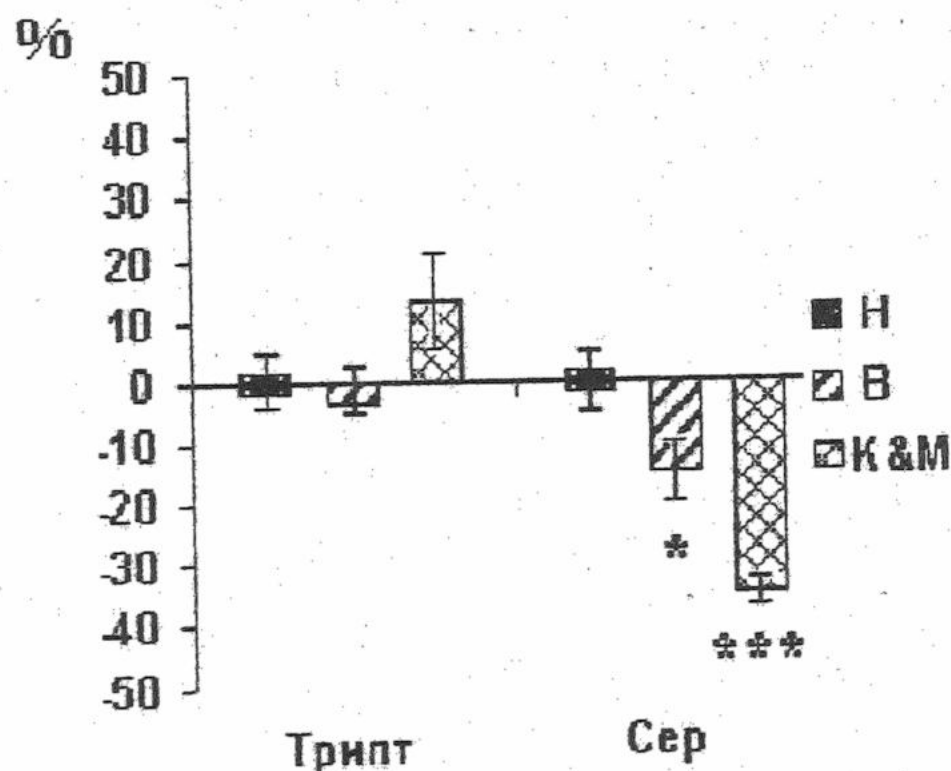


Рис. 3. Относительное содержание триптофана (Трипт) и серотонина (Сер) в стволе мозга крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: * - P < 0.05, *** - P < 0.001

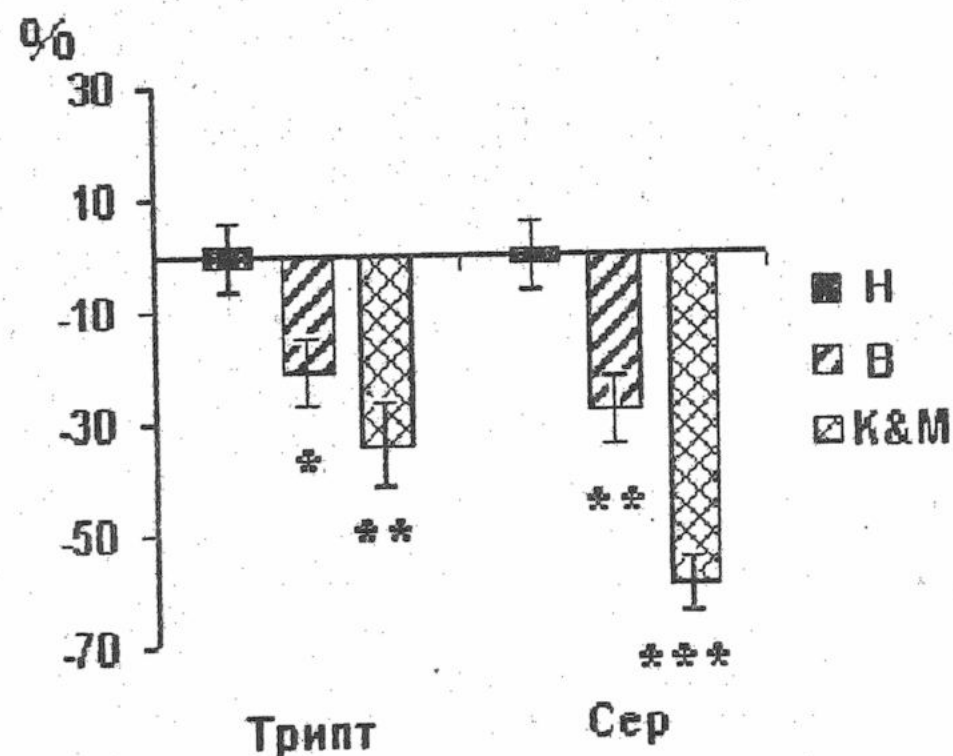


Рис. 4. Относительное содержание триптофана (Трипт) и серотонина (Сер) в мозжечке крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: * - P < 0.05, ** - P < 0.01, *** - P < 0.001

Таким образом, животные с высоким генетически детерминированным уровнем аудиогенной судорожной готовностью (крысы КМ) характеризуются заметным снижением уровня серотонина во всех исследованных областях головного мозга. У

крыс группы В, также обладающих высокой, но не закрепленной генетически (как это имеет место у крыс линии КМ) судорожной готовностью, в гипоталамусе, стволе и мозжечке наблюдаются такие же направленности, хотя и менее выраженные, чем у крыс

Отношение содержания триптофана к серотонину (K_1) у крыс с различным уровнем аудиогенной судорожной готовности

Область головного мозга	Группа животных		
	Н	В	КМ
Hemispheres	1.02	0.69	1.54
Hypothalamus	0.66	0.83	0.83
Trunk	0.35	0.48	1.34
Cerebellum	0.61	0.66	1.39

линии КМ, изменения уровня серотонина. Логично ожидать, что сдвиги со стороны биохимических факторов, причинно связанных с высокой эпилептической готовностью головного мозга, будут более выраженными в группе животных, у которых высокая возбудимость мозга обусловлена генетическими механизмами.

Исходя из гипотезы о роли серотонина как фактора, сдерживающего возникновение и развитие судорожного процесса в головном мозге, можно предположить, что установленное повышение серотонина в полушариях головного мозга крыс группы В носит компенсаторный характер.

С учетом топографических взаимоотношений в распределении содержащих серотонин нейронов и нервных терминалей можно высказать предположение, что обнаруженное нами значительное снижение уровня серотонина в стволе мозга при неизменном содержании триптофана свидетельствует о снижении интенсивности биосинтеза серотонина или увеличении скорости его превраще-

ния в телах нейронов группы В1-В2 [5]. Снижение уровня серотонина в других исследованных нами областях может явиться следствием как уменьшения количества данного медиатора, переносимого с аксональным током из ствола в другие области головного мозга, так и ослаблением его биосинтеза или увеличением скорости превращения непосредственно в исследуемых областях. В пользу предположения о снижении интенсивности биосинтеза серотонина у животных с высокой судорожной готовностью свидетельствуют более высокие величины коэффициента K_1 = триптофан/серотонин у высоко-возбудимых животных, особенно у крыс линии КМ (табл.2). Снижение уровня триптофана в гипоталамусе и мозжечке может быть также связано с уменьшением скорости его нейронального захвата или усилением других (например, кинуренинового) путей метаболизма. Естественно, нельзя исключить и иных возможных механизмов установленных в эксперименте закономерностей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крушинский Л.В. Формирование поведения животных в норме и патологии. М.: Изд-во МГУ. 1960.
2. Endo Y., Ogura Y. // European J. of Pharmacol. 1973. Vol. 21. P. 293-298.
3. Endo Y., Ogura Y. // Japan J. of Pharmacol. 1973. Vol. 23. P. 149-152.
4. Endo Y., Ogura Y. // Japan J. of Pharmacol. 1975. Vol. 25. P. 319-321.
5. Dahlstrom A., Fuxe K. // Acta physiol. Scand., 1985. Vol. 64, Suppl. 247. P. 39-85.

РІВЕНЬ ТРИПТОФАНУ І СЕРОТОНІНУ В УМОВАХ СУДОМНОЇ ГОТОВНОСТІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

О.Г. Максименко, В.М. Савченко

Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

РЕЗЮМЕ

Встановлено, що у щурів з високою аудиогенною судомною активністю у порівнянні з щурами з низьким рівнем збудливості зменшується рівень серотоніну у гіпоталамусі, стволі, мозжочкові і у півкулях головного мозку, а вміст триптофану у щурів знижується у мозочкові і гіпоталамусі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серотонін, триптофан, аудиогенна активність

THE LEVEL OF TRYPTOPHAN AND SEROTONIN IN THE CONVULSIVE READINESS CONDITIONS OF CEREBRUM

E.G. Maksimenko, V.N. Savchenko

Kharkov National V.N. Karazin University

SUMMARY

It was determined that the serotonin level in hypothalamus, brain stem, cerebellum and brain hemispheres lowers in rats with high audiogenic spasmodic activity as compared to rats with low excitability level, and the serotonin content in rats decreases in cerebellum and hypothalamus.

KEY WORDS: serotonin, triptophane, audiogenic activity

УДК 615.017

СУБСТАНЦИЯ Р И БЕТА-ЭНДОРФИНЫ КРОВИ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

А.А. Мойбенко, В.Н. Сокрут,¹ И.Р. Швиренко¹, Н.И. Яблучанский²Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев, Донецкий государственный медицинский университет,¹ Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина²

РЕЗЮМЕ

В эксперименте на 30 собаках с моделью инфаркта миокарда (ИМ) показано, что динамика содержания и баланс субстанции Р (СР) и бета-эндорфинов (БЭ) в крови находятся в соответствии с исходами заживления ИМ. Для неосложненного заживления ИМ характерно преобладание СР в остром периоде, БЭ – в подостром. При осложненном заживлении ИМ преобладание СР является определяющим на протяжении всего эксперимента. Контроль за содержанием СР и БЭ может рассматриваться как один из методов своевременной диагностики и лечения осложненного заживления ИМ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: инфаркт миокарда, стресс-реакция, бета-эндорфины, субстанция Р

ВВЕДЕНИЕ

Исход заживления инфаркта миокарда (ИМ) определяется стресс-реакцией организма, которая модулирует воспаление в зоне некроза [1; 12]. Условием неосложненного заживления ИМ с формированием послеинфарктного рубца является стресс-реакция со сбалансированными регуляторными механизмами (нормостресс). При стрессе с повышенным (гиперстресс) или сниженным (гипостресс) ответом с исходом в разбалансирование механизмов регуляции развивается дезадаптационный синдром, который в результате ИМ осложняется формированием послеинфарктной аневризмы сердца или разрывом его стенки [2; 5]. Важная роль в стрессе и воспалении отводится балансу нейромедиаторов, в частности субстанции Р (СР) и бета-эндорфинам (БЭ) [7; 9]. СР и БЭ модулируют болевые реакции [10] и запускают компенсаторно-приспособительные механизмы [3; 4; 8]. Целью исследования явилось изучение динамики СР и БЭ крови при неосложненном и осложненном заживлении ИМ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты выполнены на 30 взрослых беспородных собаках массой от 6 до 15 кг. Модель ИМ во всех случаях воспроизводили под общим наркозом перевязкой передней межжелудочковой артерии на протяжении в верхней и средней ее третях. Животные были разделены на 3 серии, по 10 собак в каждой. В серии 1 лекарственные препараты, нарушающие стресс-реакцию организма и заживление ИМ, не применялись (модель неосложненного ИМ на фоне нормостресса) и зона инфаркта зажила полноценным послеинфарктным рубцом. В сериях 2 и 3 животным моделировали осложненное заживление ИМ (модель ИМ на фоне гипер- (серия 2) и гипостресса (серия 3)) путем введения с первого дня ИМ на протяжении семи суток пирогенала в дозе 10 мкг/кг/сут (серия 2) [а.с. СССР № 1174966]

и нестероидного противовоспалительного препарата амидопирин в дозе 50 мг/кг/сут (серия 3) [а.с. СССР № 1122306]. Стресс-реакцию на ИМ определяли по уровню кортизола (КЗ) в крови на 1 сутки. В сериях 2 и 3 заживление ИМ осложнилось развитием послеинфарктной аневризмы сердца на 15-е сут опыта. Контролем служили 5 ложнопериоперированных собак (торакотомия и перикардотомия без моделирования ИМ).

В крови животных до операции, в остром (12, 18, 24 ч и 4 сут) и подостром (7, 9 и 15 сут) периоде ИМ изучали содержание нейропептидов: БЭ и СР. Определяли нормированное к исходному уровню отношение БЭ/СР как коэффициент сбалансированности нейропептидов (КСН). Радиоиммунным методом с помощью наборов определяли: КЗ (Институт биоорганической химии АН Белоруси); СР и БЭ (фирма «Incstar», США). Исходы заживления зоны ИМ контролировали изучением сердца на аутопсии на 15-е сутки. Животных из эксперимента выводили в соответствии с существующими инструктивными документами. Результаты подвергали обработке с использованием методов математической статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень КЗ на 1 сут ИМ в серии 1 составил 348 ± 52 нмоль/л, в серии 2 – 514 ± 85 нмоль/л, в серии 3 – 267 ± 36 нмоль/л. Исходом ИМ, как и ожидалось, в серии было формирование послеинфарктного рубца и в сериях 2 – 3 – развитие послеинфарктной аневризмы сердца.

Результаты определения содержания БЭ, СР и КСН при экспериментальном ИМ представлены в таблице. Стресс-реакция при экспериментальном ИМ сопровождалась повышением содержания СР в крови собак всех серий. При неосложненном заживлении ИМ на фоне нормостресса (серия 1) отмечается повышение концентрации СР с максимумом на 24 ч ИМ. В последующем наблюдается

снижение содержания СР с достижением минимума на 15-е сут опыта. При осложненном заживлении ИМ на фоне гипер- (серия 2) и гипостресса (серия 3) в динамике содержания СР определялось два максимума: первый – в остром периоде ИМ (1-е и 4-е сут), второй – в подостром периоде (7-е – 15-е сут).

Изменение содержания БЭ при моделировании экспериментального ИМ характеризовалось повышением их концентрации в крови. Вместе с тем отмечались различия, обусловленные формой стресс-реакции и заживления ИМ. В серии 1 при нормострессе и неосложненном заживлении ИМ динамика БЭ характеризовалась двухфазностью: первый пик концентрации БЭ наблюдался к концу 1-х сут ИМ, второй подъем концентрации БЭ отмечался с 7-ми сут и достигал максимума на 15-е сут ИМ. Изменения концентрации БЭ при осложненном заживлении ИМ в условиях гипер- (серия 2) и гипостресса (серия 3) были монофазными с максимумом, соответственно, на 1-е и 4-е сут заболевания. В дальнейшем в обеих сериях отмечалось снижение содержания БЭ с минимумом на 15-е сут ИМ.

Динамика КСН отражала баланс стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем организма в остром периоде ИМ и согласовалась с формой его заживления в подостром периоде. При неосложненном заживлении ИМ на фоне нормостресса (серия 1) динамика КСН характеризовалась первоначальным умеренным увеличением в остром периоде и последующим значительным снижением в подостром периоде заболевания. Для осложненного заживления ИМ характерным было увеличение КСН в остром и подостром периодах заболевания, причем на фоне гиперстресса (серия 2) это увеличение было более выражено, чем в условиях гипостресса (серия 3).

Полученные результаты отражают важную роль сбалансированности динамики нейропептидов в исходах заживления ИМ. Ишемия миокарда запускает механизмы стресса и воспаления, которые являются ведущим звеном восстановления сердца. При нормострессе наблюдается согласованное изменение содержания СР, БЭ и КСН. Преобладающее повышение содержание СР в сравнении с БЭ

и увеличение КСН в остром периоде способствует активации лейкоцитов крови [11], выполняющих некротизацию и утилизацию некротизированного миокарда. Повышенная концентрация БЭ и снижение КСН в подостром периоде заболевания являются необходимым условием переключения некротических процессов в зоне инфаркта на репаративные.

ИМ на фоне гиперстресса проявляется рассогласованием динамики содержания нейропептидов. Раннее и более высокое содержание СР в сравнении с БЭ и увеличение КСН в остром периоде ИМ приводят к ускоренной и интенсивной инфильтрации зоны инфаркта лейкоцитами с усилением его деструкции [2]. Повышенный КСН на фоне высокого содержания СР и низкого содержания БЭ в подостром периоде ИМ отражает задержку развития репаративных процессов, что сопровождается формированием послеинфарктной аневризмы. Напротив, ослабление стресс-реакции (гипостресс) на фоне недостаточного повышения концентрации СР, сниженного содержания БЭ и высокого КСН в остром периоде ИМ имеет следствием замедление инфильтрации и следующей за ней деструкции некротизированного миокарда лейкоцитами. Повышенный КСН за счет относительного увеличения СР и снижения БЭ в подостром периоде ИМ свидетельствует о задержке переключения восстановительных процессов с некротических на репаративные, что приводит к формированию послеинфарктной аневризмы.

Таким образом, динамика содержания и баланс СР и БЭ в крови находятся в полном соответствии с исходами заживления ИМ. Для неосложненного заживления ИМ характерным является преобладание СР в остром периоде, БЭ – в подостром с их уравниванием в период усиления синтетических процессов. При осложненном заживлении ИМ наблюдается дисбаланс нейропептидов с преобладанием СР на протяжении всего эксперимента.

Контроль и изменение содержания СР и БЭ может рассматриваться как один из методов своевременной диагностики, прогнозирования и контроля лечения осложненного заживления ИМ.

Содержание СР (пг/мл) и БЭ (пмоль/л) в плазме крови собак и их соотношение (КСН) при экспериментальном ИМ (М±т)

Показатели	Исходные значения	Серия	Длительность инфаркта миокарда (часы, сутки)						
			12 ч	18 ч	24 ч	4 сут	7 сут	9 сут	15 сут
СР	128±30	1	175±9	245±12	246±33	161±27	185±27	132±18	103±8
		2	282±43	510±53	337±46	386±32	74±34	214±30	298±38
		3	119±42	161±26	191±28	244±25	156±24	84±14	149±13
БЭ	23.3±2.2	1	25.8±1.8	32.7±1.4	34.9±1.6	28.4±2.7	39.5±2.3	38.9±2.1	45.2±1.8
		2	47.3±5.1	58.2±1.6	71.5±2.7	33.7±3.2	26.2±3.3	22.9±2.1	20.4±2.3
		3	15.1±1.0	20.4±1.3	18.7±1.3	46.0±4.8	40.7±3.4	33.2±3.3	27.9±1.5
КСН	1.0±0.1	1	1.3±0.1	1.4±0.2	1.3±0.2	1.03±0.13	0.9±0.1	0.6±0.1	0.5±0.1
		2	1.2±0.1	1.6±0.1	0.9±0.1	2.1±0.2	2.0±0.3	1.7±0.2	2.8±0.27
		3	1.4±0.2	1.5±0.2	1.9±0.1	1.0±0.1	0.6±0.1	0.5±0.1	1.0±0.1

* P < 0.05 против контрольных значений

ЛІТЕРАТУРА

1. Малая Л.Т., Яблучанский Н.И., Сокрут В.Н. // Физиол. журн. 1990. Т. 36, №2. С. 3-8.
2. Малая Л.Т., Яблучанский Н.И., Власенко М.А. Неосложненные и осложненные формы заживления инфаркта миокарда. К.: Здоров'я, 1992.
3. Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В., Барабаш Н.Л. и др. // Рос. физиол. журнал им. И.М.Сеченова. 1997. Т. 83, № 3. С. 41-45.
4. Поленов А.С., Дворецкий Д.П., Чершевская Г.В. // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 1995. Т. 81, № 6. С. 29-47.
5. Судаков К.В. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1997. Т.123, № 2. С. 124-130.
6. Яблучанский Н.И., Сокрут В.Н. // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 1990. № 6. С. 20-22.
7. Grossman A.B. // Recent. Adv. Base. and Clin. Neuroendocrinol.: Proc. 4th Meet. Eur. Neuroendocr. Assoc., Santiago de Compostela, 28-30 June, 1989.-Amsterdam etc., 1989. P.197-206.
8. Jende Sabine, Schadlich M., Krug Gisela // Anaesthesiol. und Reanim. 1990. Vol.15, № 2. P. 95-99.
9. Landry Y., Bloch J.G Mousli M., Bueb J. L., Bronner C. // Pathol.-biol. 1990. Vol.38, № 1. P.53-56.
10. Otsuka Masanori, Yanagisawa Mitsuhiro // Cell. and Mol. Neurobiol. 1990. Vol.10, № 3. P.293-302.
11. Perianin Axel, Snyderman Ralph, Malfroy Bernard // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1989. Vol. 161, № 2. P. 520-524.
12. Werns S.W., Lucchesi B.R. // Brit. Med. Bull. 1987. Vol. 43, № 2. P. 460-471.

СУБСТАНЦІЯ Р І БЕТА-ЕНДОРФІНИ КРОВІ ПРИ ЗАГОЮВАННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА

О.О. Мойбенко, В.М. Сокрут,¹ І.Р. Швиренко¹, М.І. Яблучанський²Інститут фізіології ім. А.А. Богомольця НАН України, Київ; Донецький державний медичний університет¹, Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна²

РЕЗЮМЕ

В експерименті на 30 собаках з моделлю інфаркту міокарда (ІМ) показано, що динаміка складу і баланс субстанції Р (СР) і бета-ендорфінів (БЕ) у крові знаходяться у тісному зв'язку із загоюванням ІМ. Для неускладненого загоювання ІМ характерна перевага СР у гострому періоді, БЕ – у підгострому. При ускладненому загоюванні ІМ переважність СР є визначальною протягом всього експерименту. Контроль за утриманням СР і БЕ може розглядатися як один з методів своєчасної діагностики та лікування ускладненого загоювання ІМ.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: інфаркт міокарда, стрес-реакція, бета-ендорфіни, субстанція Р

BLOOD LEVELS OF SUBSTANCE P AND BETA-ENDORFINS AND EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION CICATRISATION

A. A. Moybenko, V.N. Sokrut¹, I.R. Shvirenko¹, N.I. Yabluchansky²Bogomoletz institute of Physiology Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Donetsk State Medical University¹, Kharkov National V.N. Karazin University²

SUMMARY

The experiment over 30 dogs with myocardial infarction (MI) model shows that the blood dynamics of maintenance and balance of substance P (SP) and beta-endorphins (BE) are in compliance with MI cicatrization outcomes. For the cicatrization without compliances the CP predominance in the acute period and BE predominance in the sub-acute period is typical. The CP predominance during the whole experiment appears to be determinative for the complicated MI cicatrization. Monitoring of the CP and BE levels can be considered as one of timely methods of diagnosing and healing of the complicated IM cicatrization.

KEY WORDS: myocardial infarction, stress reaction, beta-endorphins, substance P

УДК 615.849

RHEABILITATION RESULTS OF PATIENTS WITH ACCIDENT RADIATION INJURIES

V.A. Moroz, V.P. Starenkiy

Grigoriev's institute of a medical radiology, Kharkov

SUMMARY

The purpose of the work based upon the treatment results of 29 patients with radiation injuries received in accidents are to determine optimum his treatment tactics. Special attention was focused on surgical rehabilitation and mistakes and inaccuracies, made during its carrying out. The calculation of the received doses was carried out of the basis of the calculated simulation method of an accident in consideration of the source's activity, geometry of the exposure and time of contact with it. The observa-

tion of the patient under considerations enables us to assert that in the acute period of the radiation injury (prior to 3 months after the accident) the reconstructive surgical treatment is expedient only in conditions of x-ray overexposure, with only surface injury of tissues, especially when there is their inflammatory response. For better remote results of treatment surgical rehabilitation of the consequences of a radiation trauma, including determination of the coretraction scope and the type of an operation, should be postponed for 6 months, which will enable to do it more precisely.

KEY WORDS: radiation accidents, radiation injuries, surgical treatment

INTRODUCTION

Wide use of sources of ionizing radiation in various spheres of modern human activity being determines immanent level of accidental traumatism including radiation exposure. In the recent years there appeared a tendency to allocate profession groups especially hazardous in terms on accident exposure of hands, eyes, other part of body under industrial conditions (dosimetricians, defectoscopians, orthopedists, X-ray technicians etc.) [1; 2]. And the quality of medical rehabilitation of such traumas, often reducing in disabilities, has according to the data available in the literature, invaluable significance for diagnosing of working capacity [3 – 5].

The purpose of the given work was to determine optimum treatment tactics of accidental radiation injuries basing on the experience of the specialized clinic attached to Grigoriev's Institute of Medical Radiology. Special attention was paid to surgical rehabilitation and analysis of mistakes and inaccuracies made during its carrying out. Besides, we intentionally avoided discussing important but outsizeing the limits of the given research points concerning treatment of the early phase of a radiation trauma.

MATERIALS AND METHODS

For the period between 1975-1999 29 patients with radiation injuries of the second and more severity according to SOMA/EORTC classification, received under conditions of accident exposure, were treated in the clinic [6]. This contingent of patient underwent various operative interventions in the period from several days till 10 years after the radiation trauma. The majority of the patients (23 or 79,3% respectively) were professional workers and the rest 20,7% were so-called «unskilled» contingent, who had received their injuries under conditions of accidental access to sources of ionizing radiation. Besides children made two thirds of the latter group (4 out of 6). And only three patients from the total number received radiation traumas as the result of X-ray radiation (2 X-ray technician and 1 patient during the brachytherapy of skin papillomas when the roentgen apparatus got broken).

The doses of radiation, received by the patients on the skin and time of exposition varied within rather wide scope – from 0,5 till 71 Gy, received in the periods from tens of seconds till 18-hour-contact with a radiation source. Calculation of the levels of the received doses was carried out on the basis of the method

of calculated simulation of an accident in consideration of the source's activity, geometry of exposure and the time of contact with it. They were further specified in compliance with the established limits according to the course of real clinical picture of the radiation injury. Additional doses of skin exposure, caused by its nuclide contamination and their incorporation, were calculated according to V. Shamov's recommendation [7].

The effectiveness of the rehabilitation measures was evaluated in the remote and immediate periods of time after its carrying out according to Karnofsky's index [8].

Statistical handling of the results was done on AT/PC using the package of application programs Mathcad 7.0.

RESULTS AND DISCUSSION

Most frequently in surveyed group of patients there was damage of hands (25 patients), then thigh (5) and thoracic or abdominal wall (by 3 each). In the first case it was explained by high functional loading of a hand, as instruments of work, and in other cases – arrangement of pockets, in which injureds put radiation source. In third of cases (9 patients) damage were combined. Thus the defeat of hands was combined with a trauma of thigh. At one patient the injury were developed in three mentioned localizations.

The generally accepted method of treatment of radiation injuries is the complete excision of non-viable tissues with their substitution for functionally suitable flaps [9; 10]. At the same time this task has (as the literature and our own experience prove) many characteristics peculiarities (impossibility in many cases to use local flaps, forced long-term immobilization of limbs along with skin grafting, psychological stress, etc.). Besides, high functional value of hand performs special requirements to as precise localization of an injury as possible [9; 11].

Knowledge of peculiarities of injuries of different segments of a hand and the data of calculated simulation of an accident are of great helping here. Thus, analyzing the frequency and character of traumas in our observations we discovered high frequency of injury of the most active segments of hand. Besides, these segments were injured the most heavily. For example, the distal phalange of the first finger was on the first place, then followed the distal phalange of the second finger of «leading» hand (left for left-handers). On case of injury from an isotope source (for example, ^{137}Cs) the zone

of injury received rather high local doses of radiation in this area, explained by features of doses distribution from such source (fig. 1). In case of the injury from a source of x-ray radiation, the tendency of injuries distribution was similar, though the level of received doses was significantly less.

It is necessary to note that in overwhelming majority of cases, when the source of radiation trauma was technical, no significant radiation impact on the whole organism was rendered. At the same time, under conditions of dehermetization of radioactive sources the dose of radiation an exterior b-contamination of skin and incorporation of the corresponding radionuclides inside. We observed three cases of such type (50% of «unskilled» contingent of the injured).

The modeling of radiating failure all the same demonstrated some impossibility of precise calculation of doses received by tissue. For purpose of further planning of operative intervention, which can be traced by comparing the data in the fig. 1. Subsequent supervision of patient in time has shown that the doses for finger III were overestimated. Similarly, the finger V of the left hand, which had postradiation hyperemia at that time, after 20 years had no indications of pathology. Thus, consequent observation of the acute period phases of the skin injury makes necessary corrections.

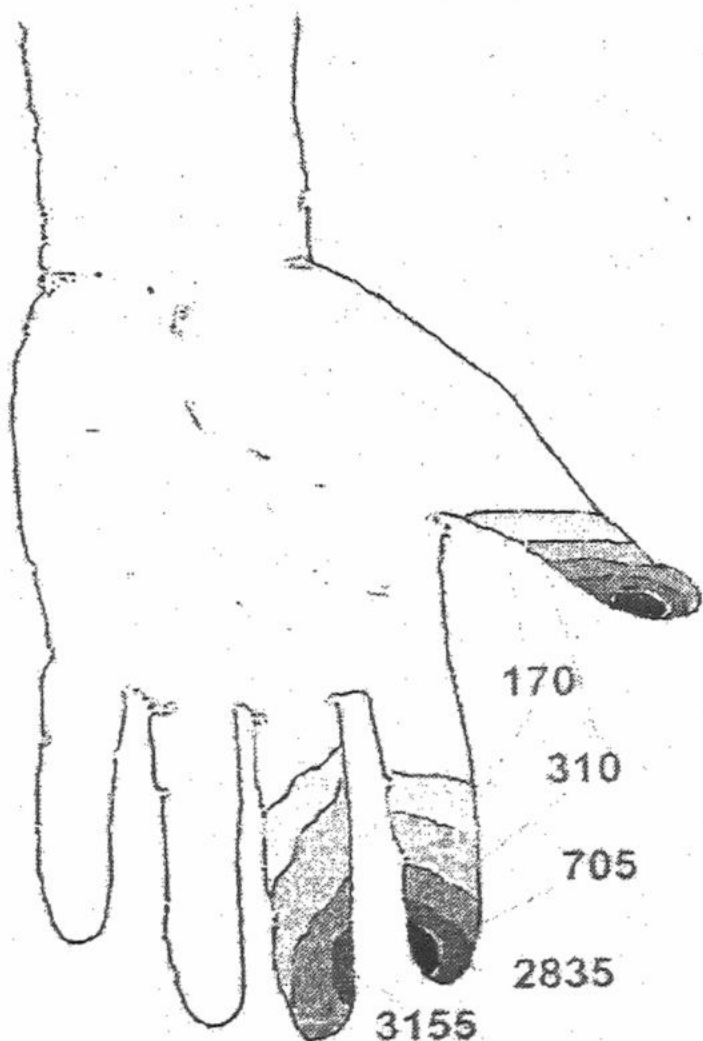


Fig. 1. The circuit of account an accidental doses under simulation method (Gy * 100)

No doubt that for right understanding of the radiation trauma prognosis it is necessary to differentiate between the early (prior to 6 months after the accident) and the late phases of its course, which are quite different in their characteristics of processes of destruction and regeneration of tissues. This has numerous evidences in the literature [6; 12]. The observed

tendency of reduction of the value of the Karnofsky's index, which took place in the remote period of time after the trauma in the same conditions, has, as it appears, character of a natural process, not depending directly on the peculiarities of radiation injury [4; 9].

Going back to above-stated observation (fig. 1) it is necessary to note that absolutely justified active wait-and-see tactics of treatment in the early phase of the radiation trauma, especially in conditions of the accompanying ^{137}Cs . Incorporation these radionuclide and skin contamination with it, was later supplemented with the inaccuracy in applying the conservative therapy (which first seemed to justify itself) for treating the late radiation injury which appeared after 28 months. At this time there obviously were, to our mind, absolute indications to surgical treatment, which no doubt would help to avoid the consequent complications (osteomyelitis, ankylosis) and to save the hand's function.

The expediency of the early surgical treatment (prior to 3 months after the trauma) is justified, on our mind, only in two cases:

a) in case of x-ray overexposure with relatively superficial trauma of tissues, especially when their inflammation reaction is conspicuous and;

b) in case of obviously unfavorable prognosis for wound general subsistence (open combined traumas, threat perforation radiation ulcer in a cavity etc.).

Complications of the operative treatment certainly influence full value results of rehabilitation of a radiation trauma. Planning of the rehabilitation measures, including determination of the best deadlines, extent and character of operative intervention should be carried out with account of the accompanying pathology. In some cases they have special importance.

Addressing to statistic of usual (not radiation) industrial disability, it is necessary to note, that in 38,8% of cases steady disability after an injury of hands is caused by tardy and incorrect treatment [5]. In our study at 8 cases, through with developed complication (wound suppuration, graft rejection etc.) repeated operation was necessary.

Analyzing the characteristics of the hands' function in the observed contingent of the patients, we find it the most expedient not to postpone the decision as to operative treatment for more than 6 months. Patients treated in such a way had the best remote results. Concerning injury of other localizations such importance of exact observance these terms morally it is not required.

In cases of combined radiation trauma mostly the early surgical treatment of the injury manageable according to the principle of the «leading syndrome», but also obviously inexpedient. Its results had in the remote period of time lowest parameters of Karnofsky's index.

So, basing on our own experience and data of the literature we can come to the conclusion, that reconstructive surgical treatment in the acute phase of the radiation trauma (prior to 3 months after the accident) is absolutely justified only in conditions of x-ray overexposure, with relatively superficial trauma of tissues and especially when their prognosis are conspicuous. In this time it is the most expedient to concentrate on the adequate conservative treatment aimed at restoring of trophic of tissues, eliminating of syndromes of local and general intoxication and counteraction to allergic reaction.

In conditions of the accompanying pathology in order to achieve better remote results of treatment it is expedient to postpone plan-

ing of rehabilitation measures, including determination of the extent of coretraction and the type of operative intervention, for 6 months, which will enable to do it more precisely. Emerging of a retarded radiation injury (ulcer, fibrosis) on the injured zone must be an absolute indication to an operation. Only surgical method of treatment makes it possible to provide full value rehabilitation of the patient and to secure him from further complications and malignization in the remote period of observation. In all cases the type of operative intervention should be carefully planned with consideration of the geometry and received doses of radiation, individual peculiarities and accompanying postradiation syndromes.

REFERENCES

1. Goldstone K.E., Wright I.H., Cohen B. // Br. J. Radiol. 1993. Vol. 66. P. 899 – 902.
2. Berger M.E., Hurtado R., Dunlap J. et. al. // Health Phys. 1997. Vol. 72, №3. P. 343-348.
3. Pary J.-J., Denekamp J., Letschert J. et. al. // Radioth. and Oncol. 1995. Vol. 35. P. 11-15.
4. Peters L.J., Withers H.R., Brown B.W. // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1995 Vol. 31, №3. P. 1349-13551.
5. Torii S., Namiki Y., Mori R. // Plastic and Reconstr. Surg. 1987. Vol. 79, № 4. P. 600-608.
6. Pary J.-J., Denekamp J., Letschert J. et.al. // Radioth. and Oncol. 1995. Vol. 35, №1. P. 11-15.
7. Шамо́в В.П. Тканеводозиметрические характеристики основных радиоактивных изотопов. М: Атомиздат. 1972.
8. Bloom J.R. // Cancer. 1991. Vol. 67, №3. P. 855-859.
9. Parry S.W. // Clin. plast. surg. 1989. Vol. 16, №3. P. 577-586.
10. Бардычев М.С., Цыб А.Ф. Местные лучевые повреждения.- М.: Медицина. 1985.
11. Arnstein P.M. Richards A.M. Putney R. // Journal of Hand Surgery British Volume. 1994. Vol. 19, №3. P. 393-396.
12. Fajardo L.F. // Semin. Roentgenol. 1993. Vol. 28, №2. P. 297.

РЕЗУЛЬТАТИ РЕАБІЛІТАЦІЇ ХВОРИХ З АВАРІЙНИМИ РАДІАЦІЙНИМИ УШКОДЖЕННЯМИ

В.А. Мороз, В.П. Старенький

Харківський НДІ медичної радіології ім. С.П. Григор'єва

РЕЗЮМЕ

У роботі оцінено досвід лікування 29 пацієнтів із радіаційними ушкодженнями, отриманими в аварійних умовах. Метою було визначення оптимальної тактики лікування таких хворих на досвіді спеціалізованої клініки ХНДІМР. При цьому особлива увага приділена досвіду хірургічної реабілітації, а також аналізу допущених помилок і неточностей у процесі її проведення. Підрахунок рівнів поглинених доз проводився методами розрахункового моделювання аварійного випадку з урахуванням активності джерела іонізуючої радіації, геометрії опромінення і часу контакту з ним. Аналіз даних дозволив встановити, що в гострому періоді радіаційної травми (до 3 місяців після аварії) проведення реконструктивного хірургічного лікування повністю виправдане тільки за умов рентгенівського опромінення, при відносно поверхневій травмі тканин і, особливо, при значній у цей час запальній їх реакції. У той же час з метою поліпшення віддалених результатів лікування, планування реабілітаційних заходів, включаючи визначення обсягу висічення уражених тканин і типу хірургічного втручання доцільно відкласти на 6 місяців, що дозволить виконати його з більшою точністю.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: радіаційні аварії, променеві ушкодження, хірургічне лікування

РЕЗУЛЬТАТЫ РЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ С АВАРИЙНЫМИ РАДИАЦИОННЫМИ ПОВРЕЖДЕНИЯМИ

В.А. Мороз, В.П. Старенький

Харьковский НИИ медицинской радиологии им. С.П. Григорьева

РЕЗЮМЕ

В работе оценен опыт лечения 29 пациентов с радиационными повреждениями, полученными в аварийных условиях. Целью являлось определение оптимальной тактики лечения таких больных на опыте специализированной клиники ХНИИМР. При этом особое внимание уделено опыту хирургической реабилитации, а также анализу допущенных ошибок и неточностей в процессе ее проведения. Подсчет уровней поглощенных доз проводился методами расчетного моделирования аварийного случая

с учетом активности источника ионизирующей радиации, геометрии облучения и времени контакта с ним. Анализ данных позволил установить, что в остром периоде радиационной травмы (до 3 мес. после аварии) проведение реконструктивного хирургического лечения полностью оправдано только в условиях рентгеновского переоблучения, при относительно поверхностной травме тканей и особенно при выраженной в это время воспалительной их реакции. В то же время с целью улучшения отдаленных результатов лечения, планирование реабилитационных мероприятий, включая определение объема иссечения и типа хирургического вмешательства целесообразно отложить на 6 мес., что позволит выполнить его с большей точностью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: радиационные аварии, лучевые повреждения, хирургическое лечение

УДК 616.39

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СУДОРОЖНОЙ ГОТОВНОСТЬЮ И СОДЕРЖАНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ЖИВОТНЫХ

В.Н. Савченко, Е.Г. Максименко

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

РЕЗЮМЕ

В результате проведенных экспериментов установлено, что у крыс с высокой генетически детерминированной судорожной готовностью, по сравнению с крысами других групп, отмечается снижение уровня норадреналина (НА) в гипоталамусе и стволе мозга, а в полушариях, стволе мозга и мозжечке существенно повышено содержание дофамина (ДА). Статистически достоверно также снижался уровень тирозина в стволе и мозжечке. Это дает основания предполагать, что повышение судорожной готовности корреляционно связано с процессами, оказывающими влияние как на систему катехоламинов, так и серотонина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: серотонин, триптофан, норадреналин, дофамин, фенилкетонурия, судорожная готовность

ВВЕДЕНИЕ

В серии экспериментов, целью которых являлось изучение взаимосвязи между судорожной готовностью и содержанием биологически активных веществ в мозге животных, была использована модель аудиогенной эпилепсии. Эксперименты выполнены на белых лабораторных крысах линии Крушинского-Молодкиной с высокой аудиогенной судорожной готовностью, беспородных крысах, отобранных по уровню судорожной готовности.

Сравнительный анализ полученных в эксперименте данных свидетельствует, что головной мозг высоковозбудимых линейных крыс характеризуется дефицитом СТ (серотонин), НА (норадреналин; 3,4-диоксифенилксиэтиламин) и превалированием ДА (дофамин). Возможно, что повышение судорожной готовности корреляционно связано с процессами, оказывающими влияние на систему КА (катехоламины) и СТ.

В этих условиях возможно преимущественное направление метаболизма фенилаланина в сторону повышенного образования ингибиторов декарбоксилазной активности.

Установленная взаимосвязь между метаболизмом фенилаланина и содержанием биологически активных веществ в головном мозге может объяснить, почему фенилкетонурия часто сопровождается развитием эпилептиформных процессов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения взаимосвязи между судорожной готовностью и содержанием БАВ

(биологически активных веществ) в мозге животных мы воспользовались широко применяемой в экспериментальной практике моделью аудиогенной эпилепсии. Данная модель, в отличие от многих других (фармакологические воздействия, пенициллиновая, кобальтовая, электрошоковая и др. модели эпилепсии), является особенно удобной для исследования нейрохимических особенностей мозга, обуславливающих его высокую судорожную готовность, так как дает возможность изучить мозг до возникновения судорог и тем самым исключить сомнение, что наблюдающиеся изменения в биохимическом статусе являются следствием приступов, а не предшествуют таковым. Кроме того, очень важно, что аудиогенные судорожные припадки имеют много общих признаков с эпилептическими припадками у людей [5].

Данная серия экспериментов выполнена на белых лабораторных крысах линии Крушинского-Молодкиной с высокой аудиогенной судорожной готовностью, а также беспородных крысах, предварительно отобранных по уровню судорожной готовности, согласно методике, описанной в литературе [2; 4; 5].

Отбор животных по уровню судорожной готовности производили в металлической камере размером 80 x 40 x 30 см с крышкой из органического стекла. В качестве звукового раздражителя использовали звучание электрического звонка. Длительность звука была 120 с, громкость на уровне пола камеры

равнялась 96 дБ. Реакцию животных оценивали в баллах по следующей шкале: 0 баллов – отсутствие двигательного возбуждения и судорожной реакции, 1 балл – вздрагивания и незначительная беговая реакция, 2 балла – выраженная беговая реакция, заканчивающаяся падением животного на живот, 3 балла – выраженное двигательное возбуждение, заканчивающееся падением животного на бок и клоническими судорогами, 4 балла – судорожный припадок с тоническим напряжением всей мускулатуры.

Из тестированных животных мы сформировали две группы: 1-я группа – животные с высоким порогом аудиогенных судорог (0 баллов, контроль) и 2-я группа – животные с выраженной эпилептиформной реакцией и, соответственно, высокой аудиогенной судорожной готовностью (3-4 балла). Животных использовали для биохимических исследований не ранее чем через две недели после определения судорожной готовности.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДИКИ

Животных забивали путем декапитации, мозг быстро извлекали и на холоду разделяли на отделы – полушария, гипоталамус, ствол (продолговатый мозг варолиев мост) и мозжечок. Ткань взвешивали, размельчали и тщательно растирали в 0,4 М HClO_4 в соотношении 1:10. Гомогенаты выдерживали 60 мин при 4 °С, затем центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин при температуре 0 °С. Надосадочную жидкость переносили в пробирки и доводили до pH 5-6 с помощью 2 N KOH (на холоду). Вторично центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин и температуре 0 °С. Для определения аминов и некоторых аминокислот в экстрактах мы воспользовались методом Endo и Ogura, применявшим для разделения аминокислот и аминов колонку из карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ). Метод Endo и Ogura позволяет в одной пробе определить тирозин, ДОФА (3,4-диоксифенилаланин), А (адреналин; 3,4-диоксифенилосиметилэтилмин), НА, ДА, тирамин, триптамин и ряд других соединений, обладает высокой чувствительностью и сравнительной простотой.

Разделение проводили на КМЦ типа CM-52 фирмы Whatman Biochemical (Англия). КМЦ-колонку (0,6 x 10 см) уравнивали 0,01 М фосфатным буфером (pH 6,2) и наносили нейтрализованный тканевой экстракт в количестве 1-4 мл. Элюцию проводили при комнатной температуре буфером 1 (0,01 М фосфатный буфер, pH 6,2) и буфером 2 (0,03 М фосфатный буфер, pH 6,2). Буфер 1 (фракция 15 мл) элюировал тирозин, ДОФА; буфер 2 (фракция 15 мл) элюировал А, НА, ДА, тирамин, мет-А и мет-НА, лизин, гистидин и аргенин.

Аминокислоты и некоторые амины определяли флуорометрически по собственной

люминесценции на спектрофлуорометре МПФ-4А Хитачи (щели первичного и вторичного монохроматоров устанавливали на величинах, не превышающих 3 нм). Для анализа использовали следующие длины волн (λ_1 – длина волны возбуждения и λ_2 – длина волны люминесценции): тирозин $\lambda_1=285$ нм, $\lambda_2=315$ нм.

ДОФА, ДА, НА, А окисляли по методу Carlsson и Waldeck [8] в модификации, описанной С. Юденфренд. При этом образуется специфический стабильный в течение 24 ч флуорохром. В данных условиях ДОФА и ДА дают идентичные по спектральным характеристикам ($\lambda_1=330$ нм, $\lambda_2=375$ нм) флуорохромы, однако взаимно не искажают результаты, так как находятся в различных фракциях элюата. А, НА и эпинен (N – метилированный ДА) также не искажают результаты, так как их флуоресценция при данных длинах волн не отличается от контроля (окисленного буфера). А и НА образуют флуорофоры с иными спектральными характеристиками, а именно: для НА $\lambda_1=395$ нм, $\lambda_2=485$ нм, для А $\lambda_1=445$ нм, $\lambda_2=490$ нм.

В качестве стандартов были использованы следующие препараты: тирозин, триптофан и ДОФА фирмы BDH (Англия), ДА-гидрохлорид фирмы Fluka AG (Швейцария), НА-гидрохлорид и А-гидрохлорид производства Харьковского завода эндокринных препаратов.

Кроме того, была проведена адсорбция аминокислот и аминов на КМЦ не только в хроматографических колонках, но и в пробирках. С этой целью в центрифужную пробирку помещали 1,25 г КМЦ, предварительно уравновешенной с 0,01 М фосфатным буфером (pH 6,2). В пробирку вносили 4 мл нейтрализованного тканевого экстракта, тщательно перемешивали; оставляли на 15 минут при комнатной температуре, центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость сливали. Элюцию проводили при комнатной температуре теми же буферными растворами, что и при комнатной температуре теми же буферными растворами, что и при работе с КМЦ-колонкой. Для этого к КМЦ добавляли соответствующий буфер, тщательно перемешивали и оставляли на 15 мин. Пробирки центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость сливали и использовали для последующего флуорометрического анализа.

Контрольные эксперименты показали, что использованный нами метод позволил адсорбировать на КМЦ (как на колонке, так и в пробирках) практически 100% исследуемых веществ, элюция также происходила достаточно полно (определялось 83-90% добавленного вещества).

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Во всех исследованных нами областях мозга и группах животных содержание

ДОФА и А было очень низким и находилось в пределах ошибки метода. В связи с этим в таблице цифровые данные относительно уровня этих соединений не представлены и в дальнейшем не обсуждаются.

Как видно из табл. 1 и рис. 1-4, у крыс с высокой генетически детерминированной судорожной готовностью (линия КМ), по сравнению с крысами группы Н, отмечено

снижение уровня НА в гипоталамусе (на 40-50%, $p < 0,01$) и стволе мозга (на 40-50%, $p < 0,05$). У этих же животных в полушариях, стволе мозга и мозжечке отмечено существенное повышение (в 5-6 раз, $p < 0,01 + 0,001$) уровня ДА. В стволовой части мозга и мозжечке статистически достоверно был снижен также уровень тирозина ($p < 0,01 + 0,02$).

Таблица 1

Содержание тирозина, дофамина и норадрена (нМ/г) в различных участках головного мозга крыс с низкой (Н) и высокой (В) аудиогенной судорожной готовностью, а также крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ)

Область мозга	Substance	Группа животных				
		Н	В		КМ	
		нМ/г	нМ/г	Р (В-Н)	нМ/г	Р (КМ-Н)
Полушария	Тирозин	0.61 ± 0.05	0.62 ± 0.01	> 0.05	0.58 ± 0.07	> 0.05
	Дофамин	0.54 ± 0.04	0.05 ± 0.13	> 0.05	2.74 ± 0.52	< 0.001
	НА	1.75 ± 0.29	2.20 ± 0.35	> 0.05	2.19 ± 0.41	> 0.05
Гипоталамус	Тирозин	2.96 ± 0.25	2.99 ± 0.18	> 0.05	2.41 ± 0.15	> 0.05
	Дофамин	21.90 ± 2.4	12.60 ± 1.6	< 0.01	22.98 ± 3.53	> 0.05
	НА	11.60 ± 1.50	9.2 ± 1.1	> 0.05	6.15 ± 1.12	< 0.01
Ствол	Тирозин	1.63 ± 0.18	1.60 ± 0.17	> 0.05	1.00 ± 0.14	< 0.02
	Дофамин	3.32 ± 0.85	2.51 ± 0.69	> 0.05	20.43 ± 4.76	< 0.01
	НА	8.10 ± 1.12	4.60 ± 0.37	< 0.01	4.61 ± 1.02	< 0.05
Мозжечок	Тирозин	2.06 ± 0.33	2.06 ± 0.37	> 0.05	0.84 ± 0.12	< 0.01
	Дофамин	3.34 ± 0.78	7.40 ± 1.30	< 0.05	18.41 ± 3.07	< 0.01
	НА	4.54 ± 0.58	1.58 ± 0.13	< 0.001	3.72 ± 0.41	> 0.05

n - количество определений (во всех сериях опытов $n=6$)

P - достоверность различия между соответствующими группами

Таблица 2

Отношение содержания тирозина к дофамину (K_2) и дофамина к норадреналину (K_3) у крыс с различным уровнем аудиогенной судорожной готовности

Область мозга	Параметр	Группа животных		
		Н	В	КМ
Полушария	K_2	1.13	1.24	0.21
	K_3	0.31	0.23	1.25
Гипоталамус	K_2	0.13	0.24	0.10
	K_3	1.89	1.37	3.74
Ствол	K_2	0.49	0.64	0.05
	K_3	0.41	0.55	4.43
Мозжечок	K_2	0.43	0.28	0.04
	K_3	0.74	4.68	4.94

У крыс с высокой аудиогенной судорожной готовностью (группа В), по сравнению с крысами группы Н, в стволе и мозжечке значительно (в 1,5-3,0 раза, $p < 0,01 + 0,001$) снижен уровень НА. У этих же животных наблюдалось изменение распределения в мозге ДА – в гипоталамической области его уровень снижен ($p < 0,01$), а в мозжечке повышен ($p < 0,001$).

Об относительном увеличении (по отношению к тирозину) уровня ДА и снижении (по отношению к ДА) содержания НА в мозге животных с высокой судорожной готовностью свидетельствуют и рассчитанные нами из экспериментальных данных коэффициенты K : K_2 = тирозин/дофамин и K_3 = дофамин/норадреналин (табл. 2).

Учитывая данные литературы о наличии противосудорожных свойств у НА, а также наблюдающееся в наших экспериментах

статистически достоверное снижение уровня НА у крыс с высокой судорожной готовностью, можно предполагать, что содержание этого медиатора в мозге является одним из существенных факторов, принимающих участие в формировании уровня судорожной предрасположенности. Представляется интересным и важным выявленное у крыс линии КМ значительное повышение уровня ДА.

Возможно, что увеличение концентрации ДА в мозге также является одним из факторов, способствующих повышению судорожной готовности. Если принять это предположение, тогда снижение содержания ДА в гипоталамусе крыс группы В можно рассматривать как компенсаторное явление.

Обращает на себя внимание, что снижение уровня тирозина в стволе мозга и мозжечке крыс линии КМ сопровождалось значительным повышением уровня ДА.

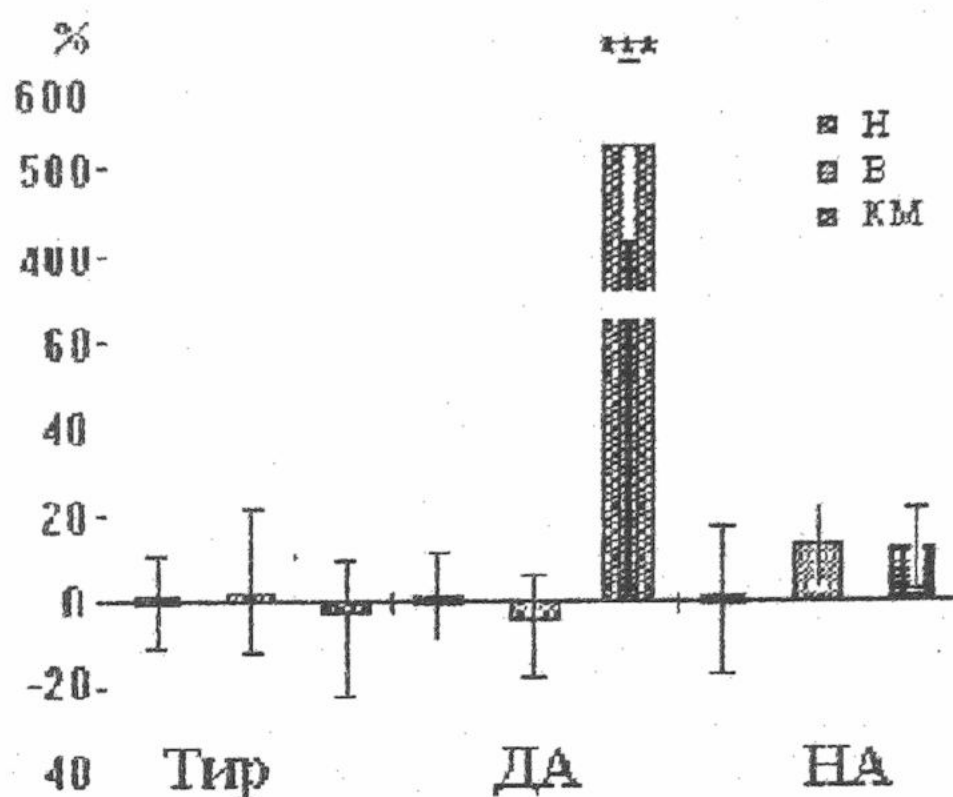


Рис. 1. Относительное содержание тирозина (Тир), ДА и НА в полушариях крыс групп Н, В, и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: ***. $p < 0,001$

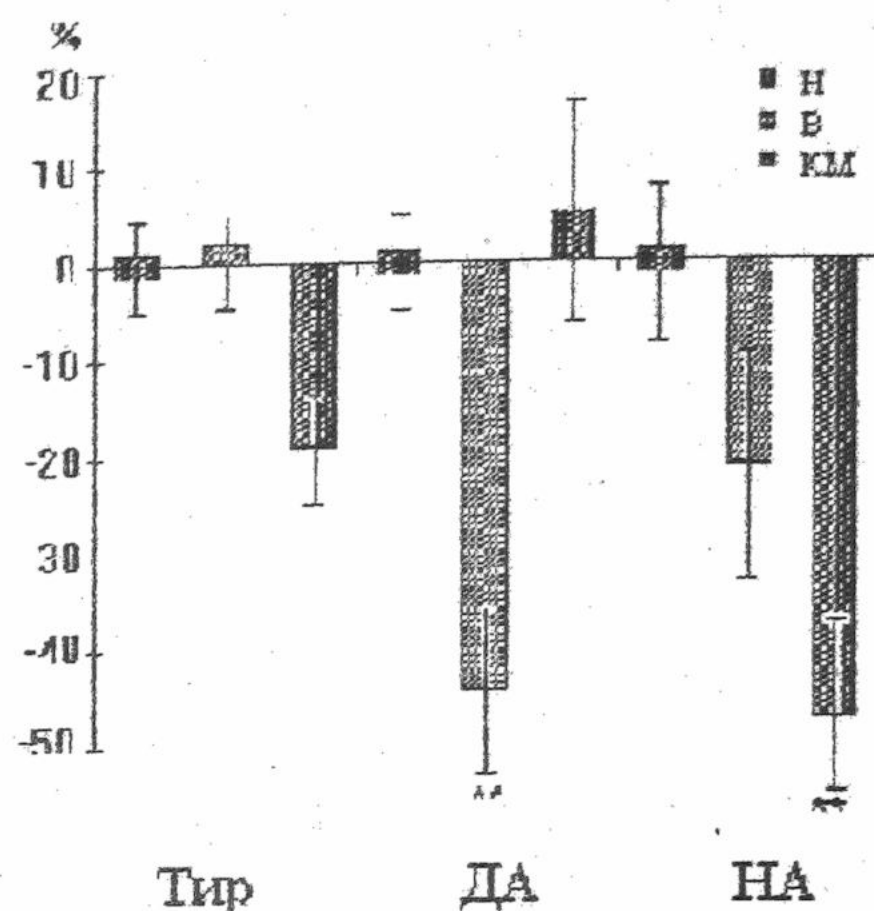


Рис. 2. Относительное содержание тирозина (Тир), ДА и НА в гипоталамусе крыс групп Н, В, и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: ***. $p < 0,001$

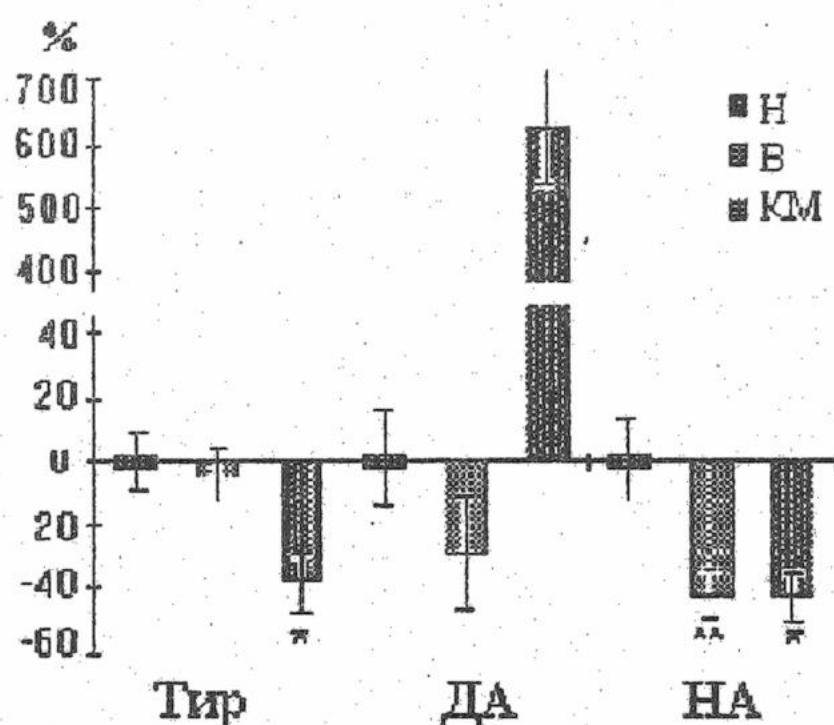


Рис. 3. Относительное содержание тирозина (Тир), ДА и НА в стволе крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: * - $p < 0,05$, ***. $p < 0,001$

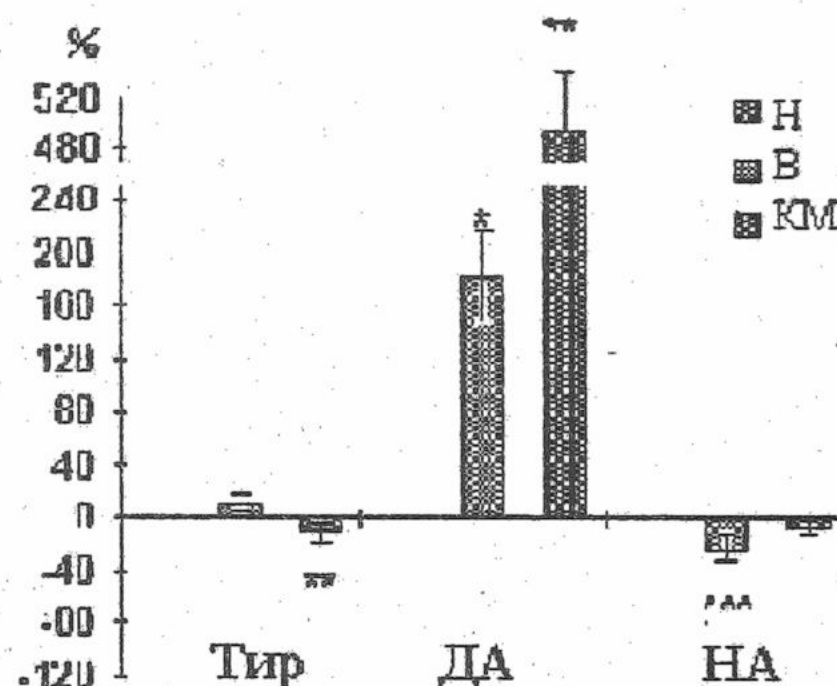


Рис. 4. Относительное содержание тирозина (Тир), ДА и НА в мозжечке крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: * - $p < 0,05$, ***. $p < 0,01$, ***. $p < 0,001$

Повышение уровня ДА при одновременном снижении количества тирозина и НА (как это имело место, например, в стволе крыс линии КМ) или же изменение концентрации одного или двух компонентов (как это имело место в других случаях) может быть связано с изменением активности ферментов биосинтеза и метаболизма КА – усилением активности тирозингидроксилазы и (или) ДОФА – декарбоксилазы, уменьшением активности дофамин-бета-оксидазы, изменением процессов дезаминирования, С-метилирования и др. Важно отметить, что, как и в описанной нами ранее серии экспериментов по определению содержания СТ, у крыс с генетически детерминированной высокой судорожной готовностью (линия КМ), как правило, изменения в содержании КА выражены сильнее, чем у крыс группы В.

На основании вышеуказанного можно констатировать, что мозг высоковозбудимых линейных крыс (группа КМ) характеризуется относительным дефицитом СТ и НА и превалированием ДА (табл. 3, коэффициенты K_3 , K_4 и K_5).

Весьма вероятно, что повышение судорожной готовности корреляционно связано с фактором или процессом, оказывающими влияние как на систему КА, так и СТ. В связи с этим представляется очень важным наблюдение Колемана, который обнаружил у мышей линии более низкий уровень активности фенилаланин-гидроксилазы печени. Можно предполагать, что в этих условиях метаболизм фенилаланина будет направлен в сторону повышенного образования фенил-пирувата, фениллактата и фенилацетата – ингибиторов декарбоксилазной активности [9; 11]. В

свою очередь, подавление активности декарбоксилаз должно привести к уменьшению содержания СТ, НА и ГАМК в мозге и соответствующему снижению судорожного порога. Увеличение в содержании фенилаланина иногда приводит также к нарастанию в мозге содержания фенилэтиламина, фактора, оказывающего влияние на механизмы освобождения везикул и обратного захвата КА. Показано, что при неоднократном введении крысам

внутрибрюшинно 100 мг/кг фенилэтиламина он оказывает неодинаковое влияние на систему БА, снижая через один час уровень НА на 74,4%, ДА – на 25,7%, СТ – на 13,5%, причем влияние на систему ДА оказывается преимущественно через механизмы его освобождения, а на систему НА – через ингибирование его обратного захвата [3].

Таблица 3

Отношение содержания серотонина к дофамину (K_4) и серотонина к норадреналину (K_5) у крыс с различным уровнем аудиогенной судорожной готовности

Область мозга	Параметр	Группа животных		
		Н	В	КМ
Полушария	K_4	2.63	4.2	0.29
	K_5	0.81	0.95	0.36
Гипоталамус	K_4	0.54	0.63	0.20
	K_5	1.01	0.87	0.74
Ствол	K_4	2.79	2.60	0.15
	K_5	1.14	1.42	0.65
Мозжечок	K_4	2.55	0.84	0.14
	K_5	1.87	3.92	0.67

В связи с вышесказанным становится очевидным, что нарушение обмена фенилаланина может привести к существенным изменениям содержания отдельных МА, нарушению их нормальных соотношений и, как результат, к сдвигам в работе синаптического аппарата. Учитывая роль фенилаланина, можно объяснить, почему фенилкетонурия (фенилпировиноградная олигофрения) – заболевание, при котором нарушается процесс гидроксилирования фенилаланина и в организме накапливаются фенилаланин и его метаболиты, часто сопровождается развитием эпилептиформных процессов [1; 6; 10]. При этом у больных фенилкетонурией нарушается обмен не только КА (снижение экскреции НА, ДА, ДОФА, увеличение экскреции ВМК), но и 5-оксииндолов (снижение в крови уровня СТ на фоне повышенной экскреции 5-ОИУК). Отмечается

корреляция между наличием судорожного синдрома у больных и степенью падения уровня СТ в крови [1].

Таким образом, в мозге животных с высокой судорожной готовностью существует качественно отличная нейрохимическая (МА-ергическая) организация, представления о которой, мы в этом уверены, по мере разработки этого научного направления будут значительно усложняться. Можно предполагать, что качественно новое функциональное состояние, характерное для мозга с высокой судорожной готовностью, обусловлено не конкретным влиянием определенного нейрохимического компонента, однозначно сдвигающего возбудимость в ту или иную сторону, а связано с формированием новой сложной архитектуры нейрохимического (в том числе МА-ергического) обеспечения нейродинамики основных нервных процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Булахова Л.А., Ушеренко П.С. // 7 Всесоюзный съезд невропатологов и психиатров. Тез. докладов, 26 – 30 мая 1981. М., 1981. Т. 3. С. 80-82.
2. Елкин В.Н. Генетика эпилепсии. Л.: Медицина, 1971.
3. Жариков А.Д. Эндогенная регуляция – фенилэтиламином функции катехоламинергических нейронов в центральной нервной системе // Катехоламинергические нейроны. М.: Наука, 1989. С. 184 – 201.
4. Захария Е.А. Предрасположенность организма к эпилептическим припадкам. К.: Здоров'я, 1974.
5. Крушинский Л.В. Формирование поведения животных в норме и патологии. М.: Изд-во МГУ. 1960.
6. Кузнецова Л.М. К вопросу о частоте судорожных расстройств в семьях,отягощенных фенилкетонурией // Эпилепсия (клиника, патогенез, лечение): Материалы конф. Ред. Семенов С.Ф. Тр. Московского НИИ психиатрии. МЗ РСФСР. 1972. Т. 64. С. 231 – 232.
7. Осинская В.О. // Биохимия, 1957. Т. 22, № 3. С. 537 – 545.
8. Carlson A., Waldes K.B.. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине / Цитировано по Юденфренд С. М.: Мир. 1965. С. 481.
9. Davison L.N., Sandler M. // Nature, 1958. Vol. 181. P. 186 – 187.
10. Foia A., Rosenberg C., Gibbs F.A. // EEG and Clin. Neurophysiol. 1995. Vol. 7. P. 567-572.
11. Parvim J., Hsia Y. – Y.D. // Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. Vol. 118. P.1046.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ СУДОМНОЮ ГОТОВНІСТЮ І ВМІСТОМ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ТВАРИН

В.М. Савченко, О.Г. Максименко

Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

РЕЗЮМЕ

Внаслідок проведених експериментів встановлено, що у щурів з високою генетично детермінованою судомною готовністю, в порівнянні з щурами інших груп, відмічено зниження рівня норадреналіну (НА) у гіпоталамусі і стволі мозку, а у півкулях, стволі мозку і мозочкові суттєво підвищений вміст дофаміну (ДА). Статистично вірогідно також знижався рівень тирозину у стволі і мозочкові. Це дає підстави припустити, що підвищення судомної готовності кореляційно пов'язане з процесами, що впливають як на систему катехоламінів, так і серотоніну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серотонін, триптофан, норадреналін, дофамін, фенілкетонурія, судомна готовність

INTERRELATION BETWEEN CONVULSIVE READINESS AND THE CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE CEREBRUM OF ANIMALS

V.N. Savchenko, E.G. Maksimenko

Kharkov National V.N. Karazin University

SUMMARY

As a result of the conducted experiments it was determined that the noradrenaline (NA) level in the hypothalamus and brain stem decreased in rats with high genetically determined spasmodic readiness as compared to the rats of other groups, and in hemispheres, brain stem and cerebellum the dophamine (DA) content rose significantly. The decrease of tyrosine level in the brain stem and cerebellum was statistically proved. It gives grounds to suppose that increase in spasmodic readiness is correlated with processes influencing both catecholamine complexes and serotonin.

KEY WORDS: serotonin, triptophane, noradrenoline, dophamine, phenylketonury, spasmodic readiness

УДК 575.224.46

ОЦЕНКА МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Н.Г. Стрижельчик

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

РЕЗЮМЕ

Исследовали потенциальную мутагенную активность новых вспомогательных фармацевтических веществ (эмульгаторов, загустителей таблеток) — натрий-карбоксиметилкрахмала и натрий-карбоксиметилцеллюлозы на млекопитающих в опытах *in vivo*. Установлено, что при внутрижелудочном введении изучаемые вещества не индуцируют хромосомные aberrации в клетках костного мозга и доминантные летальные мутации в половых клетках самцов мышей. Полученные результаты обсуждаются в отношении возможности применения изучаемых веществ в фармацевтической промышленности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мутагенность, вспомогательные фармацевтические вещества, хромосомные aberrации, доминантные летальные мутации

ВВЕДЕНИЕ

За последние десятилетия исследования в области химического мутагенеза получили большое развитие. Это связано, с одной стороны, с внедрением огромного количества различных химических веществ во все сферы жизнедеятельности человека, требующих генетического контроля, с другой стороны, научными достижениями, связанными с созданием и использованием новых тест-систем, позволяющих провести более полную оценку как самих мутагенов, так и их метаболитов [1; 2].

Особое место в жизнедеятельности человека занимают такие широко распространенные вещества, как лекарственные препараты, число которых постоянно увеличивается. Мутагенность многих из них установлена на разных генетических объектах [3; 4]. В широком ассортименте лекарственных средств значительное место занимают вспомогательные фармацевтические вещества. Тенденция к увеличению их количества связана с тем, что вспомогательные фармацевтические вещества влияют не только на физико-химические свойства, а и на терапевтический эффект лекарств. В то же время

мутагенность (канцерогенность) лекарственных препаратов может зависеть от разновидности и качества используемых вспомогательных веществ. В связи с этим одним из основных требований, предъявляемых к таким соединениям, является безопасность для человека в применяемых дозах.

Целью данной работы являлось изучение потенциальной мутагенной активности новых вспомогательных фармацевтических веществ — натрий-карбоксиметил-крахмала и натрий-карбоксиметилцеллюлозы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на мышах. Вспомогательные фармацевтические вещества натрий-карбоксиметилкрахмал и натрий-карбоксиметилцеллюлоза вводились внутрижелудочно однократно в дозе 60 мг/кг. Для оценки цитогенетического эффекта веществ использовали метод учета aberrаций хромосом в клетках костного мозга. В этой серии опытов исследуемые вещества вводились самцам мышей линии C57Bl/6. Экспозиция препаратов составляла 6, 24 и 48 ч. За два часа до забоя животных внутрибрюшинно вводили колхицин (0,025% рр по 0,01 мл на 1 г массы). Фиксацию и приготовление препаратов хромосом осуществляли по стандартной методике [5; 6].

Для оценки эффекта в половых клетках использовали метод учета доминантных летальных мутаций. Препараты вводились самцам мышей-гибридов первого поколения F₁ CBA x C57Bl/6. Сразу после прекращения введения препаратов самцы подсаживались к интактным виргинным самкам в соотношении 1:3. Смену самок проводили ежене-

дельно в течение 3-х недель. Отсаженных самок анализировали на 15-17-й день беременности. Учитывали следующие показатели: число беременных самок, процент фертильности, число мертвых и живых эмбрионов (ЖЭ, МЭ), доимплантационную и постимплантационную гибель эмбрионов. Основным показателем частоты доминантных летальных мутаций (ДЛМ) служил уровень постимплантационных потерь.

Для оценки статистической значимости сравниваемых значений в опытных и контрольных вариантах использовали критерий хи-квадрат [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты влияния натрий-карбоксиметилкрахмала и натрий-карбоксиметилцеллюлозы на клетки костного мозга мышей представлены в табл. 1 и 2. Изучение 600 метафаз контрольной группы позволило выявить в сумме $1,3 \pm 0,34\%$ аномальных клеток. Типы aberrаций были представлены одиночными фрагментами (0,8%). Ахроматические пробелы в число aberrаций не входили, а учитывались отдельно (0,5%).

Цитогенетический анализ влияния натрий-карбоксиметилкрахмала на клетки костного мозга мышей показал, что процент аномальных клеток при изучении 1800 метафаз составил: экспозиция 6 ч — $1,3 \pm 0,36\%$, экспозиция 24 и 48 ч — $1,4 \pm 0,22\%$. Типы aberrаций были представлены одиночными фрагментами. Наблюдались ахроматические пробелы. Парные фрагменты и aberrации обменного типа не выявлены. Статистический анализ результатов не показал достоверных различий между частотой возникновения

Таблица 1

Частота и типы aberrаций хромосом, индуцированных в клетках костного мозга мышей новым студнеобразующим веществом натрий-карбоксиметилкрахмалом

Варианты опытов	Доза препарата, мг/кг	Экспозиция препарата в час	Проанализировано метафаз	Количество метафаз с aberrациями, % $\pm m$	Типы aberrаций			Пробелы, %	Значение	
					Одиночные фрагменты	Обменные	Парные фрагменты		Хи-квадрат	P
Опыт	60	6	600	$0,5 \pm 0,22$	0,5	0	0	0,8	0,52	> 0,05
	60	24	600	$0,8 \pm 0,15$	0,8	0	0	0,6	0,0	> 0,05
	60	48	600	$0,6 \pm 0,20$	0,6	0	0	0,8	0,11	> 0,05
Контроль	—	—	600	$0,8 \pm 0,18$	0,8	0	0	0,5	—	—

Таблица 2

Частота и типы aberrаций хромосом, индуцированных в клетках костного мозга мышей новым студнеобразующим веществом натрий-карбоксиметилцеллюлозой

Варианты опытов	Доза препарата, мг/кг	Экспозиция препарата в час	Проанализировано метафаз	Количество метафаз с aberrациями, % $\pm m$	Типы aberrаций			Пробелы, %	Значение	
					Одиночные фрагменты	Обменные	Парные фрагменты		Хи-квадрат	P
Опыт	60	6	600	$0,6 \pm 0,20$	0,6	0	0	1,0	0,11	> 0,05
	60	24	600	$1,0 \pm 0,25$	1,0	0	0	0,8	0,09	> 0,05
	60	48	600	$0,8 \pm 0,15$	0,8	0	0	0,6	0,00	> 0,05
Контроль	—	—	600	$0,8 \pm 0,18$	0,8	0	0	0,5	—	—

аберрантных метафаз в контрольных и опытных вариантах при всех сроках экспозиции натрий-карбоксиметил-крахмала ($P > 0,05$).

Аналогичные данные получены при оценке воздействия натрий-карбоксиметил-целлюлозы. Цитогенетический анализ 1800 метафаз позволил установить, что при экспозиции 6 ч процент аномальных клеток был равен $1,6 \pm 0,20\%$, 24 ч — $1,8 \pm 0,42\%$ и 48 ч — $1,4 \pm 0,22\%$. Типы aberrаций, как и в контрольных вариантах, были представлены одиночными фрагментами, отмечены

ахроматические пробелы (см. табл. 2). Сравнение полученных результатов с контрольными значениями не выявило статистически значимых различий между частотой возникновения aberrантных метафаз при всех экспозициях препарата ($P > 0,05$).

В табл. 3 и 4 отражены результаты экспериментальных исследований влияния натрий-карбоксиметилкрахмала и натрий-карбоксиметилцеллюлозы на половые клетки самцов мышей. В этой серии исследований было проанализировано более 400 самок мышей и 2600 эмбрионов.

Таблица 3

Показатели доминантных летальных мутаций у самцов мышей при воздействии натрий-карбоксиметилкрахмала

Стадии сперматогенеза	Варианты опытов	Фертильность, %	На 1 беременную самку		Постимплантационная смертность
			ЖЭ	МЭ	
Зрелые спермии	Контроль	82.2	8.72	0.45	0.0500
	Опыт	84.4	8.42	0.47	0.0532
Поздние сперматиды	Контроль	80.0	7.52	0.38	0.0491
	Опыт	82.2	6.67	0.35	0.0500
Ранние сперматиды	Контроль	84.4	7.81	0.42	0.0511
	Опыт	86.6	7.07	0.35	0.0482

Таблица 4

Показатели доминантных летальных мутаций у самцов мышей при воздействии натрий-карбоксиметилцеллюлозы

Стадии сперматогенеза	Варианты опытов	Фертильность, %	На 1 беременную самку		Постимплантационная смертность
			ЖЭ	МЭ	
Зрелые спермии	Контроль	82.2	8.72	0.45	0.500
	Опыт	77.7	7.88	0.42	0.052
Поздние сперматиды	Контроль	80.0	7.52	0.38	0.0491
	Опыт	75.5	6.85	0.32	0.0450
Ранние сперматиды	Контроль	84.4	7.81	0.42	0.0511
	Опыт	80.0	7.16	0.33	0.0444

В контрольных вариантах частота доминантных летальных мутаций составляла: на 1-й неделе скрещивания — $5,0 \pm 0,62\%$, на 2-й — $4,9 \pm 0,98\%$, на 3-й — $5,1 \pm 0,49\%$.

При воздействии натрий-карбоксиметилкрахмала процент беременных самок на разных сроках скрещивания достоверно не отличался от контроля. Не отмечено снижения числа живых эмбрионов и увеличения числа мертвых эмбрионов на одну беременную самку. Частота доминантных летальных мутаций на 1-й неделе скрещивания составила $5,3 \pm 0,61\%$, на 2-й неделе — $5,0 \pm 0,62\%$, на 3-й неделе — $4,8 \pm 0,45\%$ (см. табл. 3). Статистический анализ результатов не показал достоверных различий между частотой возникновения доминантных летальных мутаций в контрольных и опытных вариантах ($P > 0,05$).

Аналогичные результаты были получены при воздействии натрий-карбоксиметилцеллюлозы. Не отмечено снижения процента фертильности и уменьшения числа живых эмбрионов, а также увеличения числа мертвых эмбрионов на одну беременную самку по отношению к контролю. Частота доми-

нантных летальных мутаций равнялась: на 1-й неделе скрещивания — $5,2 \pm 0,64\%$, на 2-й неделе — $4,5 \pm 0,44\%$, на 3-й неделе — $4,4 \pm 0,23\%$ (см. табл. 4). Достоверные различия между контрольными и опытными вариантами не установлены ($P > 0,05$).

Представленные в работе результаты и проведенные ранее исследования [8–10] свидетельствуют о том, что новые вспомогательные вещества натрий-карбоксиметилкрахмал и натрий-карбоксиметилцеллюлоза не являются мутагенами — не вызывают индукции генных мутаций и хромосомных aberrаций у разных генетических объектов.

Так, в тесте Эймса-Salmonella/микросомы изучаемые вещества не были мутагенны для *Salmonella typhimurium* штаммов TA 98 и TA 100 — в дозах 0,1–1000,0 мкг/мл не вызывали достоверного повышения генных мутаций как в условиях без метаболической активации, так и с метаболической активацией фракцией S-9 печени крыс [8].

В исследованиях на *Drosophila melanogaster* натрий-карбоксиметилкрахмал и натрий-карбоксиметилцеллюлоза не вызывали повышения частоты доминантных леталь-

ных мутаций в зрелых сперматозоидах при заправке взрослых самцов [9; 10].

В представленных в настоящей работе исследованиях изучаемые вещества не были мутагенны для соматических и половых клеток млекопитающих — не индуцировали аббераций хромосом в клетках костного мозга и доминантных летальных мутаций в половых клетках самцов мышей на постмейотических стадиях сперматогенеза. Следовательно, новые вспомогательные фармацевтические вещества не проявляли активности на трех генетических объектах

в системах *in vitro* и *in vivo* (микроорганизмы, насекомые, млекопитающие).

Следует отметить, что согласно рекомендациям ВОЗ и принципам оценки фармацевтических средств в исследованиях на млекопитающих изучаемые соединения тестируются в дозе, в 100 раз превышающей суточную для человека [5].

Таким образом, изучаемые вещества — натрий-карбоксиметилкрахмал и натрий-карбоксиметилцеллюлоза в качестве вспомогательных фармацевтических веществ не представляют мутагенной опасности [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Рапопорт И.А. // Проблемы химического мутагенеза. М.: Медицина, 1970. С. 249-266.
2. Худолей В.В. Выявление мутагенности химических канцерогенов и первичная профилактика рака, теоретические и практические аспекты // Первичная профилактика рака /Под ред. Н.Н. Блохина). М.: Медицина, 1986. С. 41-47.
3. Журков В.С. // Генетика, 1975. № 11. С. 146-149.
4. Рапопорт И.А., Филиппова Л.М., Журков В.С. // Генетика, 1971. Т. VII, № 7. С. 8-12.
5. Бочков Н.П., Шрам Р.Н., Кулешов Н.П., и др. // Генетика, 1975. Т. XI, № 10. С. 156-172.
6. Методические рекомендации по оценке мутагенных свойств фармакологических средств. М.: Медицина. 1994.
7. Гублер Е.В., Генкин А.А. М.: Медицина, 1971. С. 21-25, 53-56.
8. Стрижельчик Н.Г., Кульшин В.Е. Цитология и генетика, 1994. № 2. С. 91-93.
9. Стрижельчик Н.Г. // Вестн. проблем современной медицины, УАННП. Х., 1995. №12. С. 99-101.
10. Новик И.И., Стрижельчик Н.Г. // Вестн. проблем современной медицины, УАННП. Х., 1995. № 12. С. 105-107.

ОЦІНКА МУТАГЕННОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ДОПОМІЖНИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ РЕЧОВИН НА ТВАРИНАХ

Н.Г. Стрижельчик

Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

РЕЗЮМЕ

Вивчали потенційну мутагенну активність нових допоміжних фармацевтичних речовин (емульгаторів, загустювачів таблеток) — натрій-карбоксиметилкрахмалу та натрій-карбоксиметилцелюлози на тваринах у досліді *in vivo*. При внутрішньошлунковому введенні досліджувані речовини не викликають хромосомні аберації у клітинах кісткового мозку та доміантні мутації в статевих клітинах самців мишей. Одержані результати обговорюються у відношенні можливості застосування досліджуваних речовин у фармацевтичній промисловості.

КЛЮЧЕВІ СЛОВА: мутагенність, допоміжні фармацевтичні речовини, хромосомні аберації, доміантні летальні мутації

THE MUTAGENIC TESTS OF NEW AUXILARY FARMACEUTICAL SUBSTANCIES FOR MAMMALIANS

N.G. Strygelchik

Kharkov National V.N. Karazin University

SUMMARY

The potential mutagenic effects of new auxilary farmaceutical substancies (emulgators) was investigated. Under per os injection the substancies not induced the chromosomal aberrations in the narrow cells and dominant lethal mutations in male gametes of mouse. The results are discussed in connection to using at investigated substancies in pharmacology.

KEY WORDS: mutagenic, auxilary farmaceutical substancies, chromosomal aberrations, dominant lethal mutations

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ КИШЕЧНОЙ ВОРСИНКИ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПЕРИТОНИТЕ И КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ

Т.И. Тамм, А.Я. Бардюк, Т.П. Говоруха, Н.В. Репин

Харьковская медицинская академия последипломного образования,
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков.

РЕЗЮМЕ

Проведено сравнительное исследование ультраструктуры клеток эпителия кишечной ворсинки тонкой кишки после экспериментального перитонита и кишечной непроходимости. Показано, что ультраструктурные перестройки клеток эпителия кишечной ворсинки начинаются после 6 ч воспалительного процесса. Деструктивные изменения клеток при кишечной непроходимости имеют более выраженный характер, чем при перитоните.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ультраструктура, перитонит, кишечная непроходимость

ВВЕДЕНИЕ

В большинстве работ, посвященных перитониту и кишечной непроходимости, отражены вопросы нарушений обменных процессов, микроциркуляции, нейроэндокринной регуляции [1 – 3]. Однако данные, характеризующие морфологические изменения основных структурных компонентов клеток, изложены в литературе фрагментарно [4 – 6]. Изучение ультраструктуры клеток тонкой кишки дает возможность не только проследить направленность этих изменений, но и на их основе выявить закономерности развития патологии пищеварительного тракта.

Нами проведено сравнительное исследование ультраструктурных изменений клеток эпителия кишечной ворсинки тонкой кишки в условиях экспериментального перитонита и кишечной непроходимости.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на половозрелых беспородных крысах-самцах массой 210–230 г, содержащихся на стандартном рационе.

Кишечная непроходимость создавалась путем перевязки лигатурой тонкой кишки на расстоянии 5 см от илеоцекального угла. Перитонит вызывался путем надреза стенки слепой кишки с выходом каловой взвеси в брюшную полость. Рана передней брюшной стенки послойно зашивалась. Операции проводились под анестезией диэтиловым эфиром в условиях асептики и антисептики.

Через 6, 12, 24, 36 и 48 ч животных забивали декапитацией. Извлекали часть тонкой кишки, прилежащую к поврежденному участку, кусочки которой брали для электронно-микроскопического исследования. Во всех опытных группах декапитация животных и взятие фрагментов тонкой кишки были однотипными.

Фиксация исследуемых кусочков ткани проводилась по стандартной методике [7]. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме УМТП-7 (г. Сумы), контрастировали насыщенным водным раствором ура-

нилацетата и раствором свинца по Рейнольдсу [7]. Ультраструктуру тонкой кишки исследовали с помощью электронного микроскопа ПЭМ-125К (г. Сумы) при ускоряющем напряжении 75 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные литературы и собственные исследования показывают, что в исходном состоянии кишечная ворсинка выстлана однослойным призматическим эпителием, основным клеточным компонентом которого является энтероцит. Ядра этих клеток овальной формы, с узким перинуклеарным пространством. Цитоплазма представлена немногочисленными митохондриями, узкими цистернами эндоплазматического ретикулума и внутреннего сетчатого аппарата, лизосомами, мультивезикулярными тельцами (рис.1). Среди энтероцитов расположены одиночные бокаловидные клетки. Изредка обнаруживаются эндокриноциты, характеризующиеся узкой апикальной частью и широким основанием, заполненным плотными гранулами, и клетки Панета с хорошо развитой эндоплазматической сетью, внутренним сетчатым аппаратом и крупными зимогеновыми гранулами.

После 6-часовой экспериментальной кишечной непроходимости ультраструктура энтероцитов в основном соответствовала исходному состоянию. Однако уже для данного срока эксперимента обращали на себя внимание изменения эндоплазматического ретикулума, проявлявшиеся в расширении и набухании его мембран. Нарушались упорядоченность расположения рибосом на мембранах эндоплазматической сети, терялась связь между отдельными рибосомами и поверхностью мембран. Это свидетельствует о нарушении одного из важнейших параметров клеточного обмена – процессов синтеза. Внутренний сетчатый аппарат также претерпевает некоторые перестройки, четко реагируя на изменения функциональной активности клетки. В ней начинают преобладать вакуолярные и цистеральные элементы.



Рис. 1. Ультраструктура фрагмента цитоплазмы энтероцита в исходном состоянии $\times 43,2$ тыс.

После экспериментального перитонита деструктивных изменений ядра и цитоплазматических органелл энтероцитов, бокаловидных и энтероэндокринных клеток обнаружить не удалось. Только единичные клетки имели расширенную эндоплазматическую сеть и набухшие митохондрии с укороченными кристами.

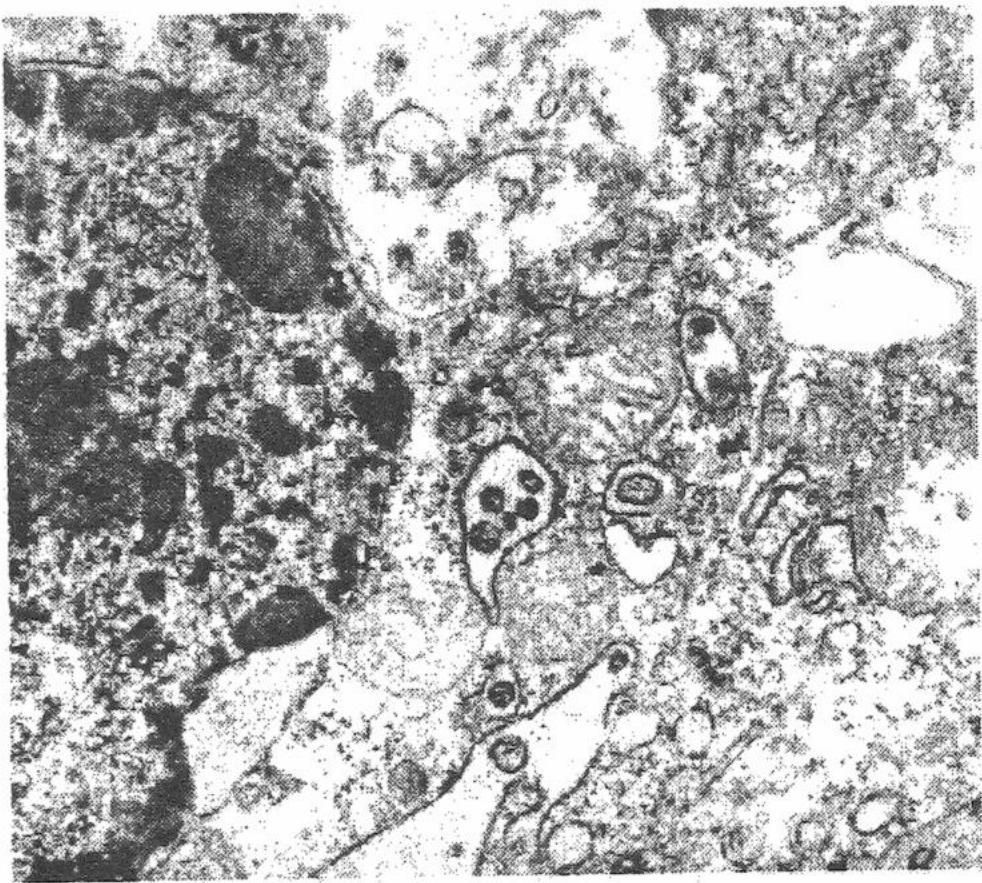


Рис. 2. Ультраструктура ядра и цитоплазмы энтероцита после 12 ч экспериментальной кишечной непроходимости $\times 27,2$ тыс.

Через 12 ч экспериментальной кишечной непроходимости ультраструктура клеток в большей степени отражала изменения основных клеточных элементов, по сравнению с 6 ч (рис. 2). Ядра энтероцитов приобретают извитую форму, а контуры их становятся неровными, благодаря появлению выпячиваний. Гранулярные компоненты хроматина уплотнялись и смещались к внутренней ядерной мембране. Цистерны эндоплазматической сети расширены. Митохондрии сохраняют полиморфное строение. Форма их преимущественно округлая, матрикс резко просветлен. Пластинчатый комплекс представлен вакуолярными цистернами. Локализация его

практически не менялась. Лизосомы не имеют электронно-плотного материала, характерного для неповрежденных клеток. В бокаловидных клетках выявляются митохондрии с просветленным матриксом и деструкцией крист.

При 12-часовом экспериментальном перитоните в клетках эпителиальной кишечной ворсинки структурные изменения имели менее выраженный характер, по сравнению с кишечной непроходимостью. Хотя и в этом случае ультраструктурная характеристика клеток также существенно менялась. В этот период мы наблюдаем в клетках набухшие митохондрии с просветленным матриксом. Набухание распространялось и на эндоплазматическую сеть, и на пластинчатый комплекс (рис. 3).

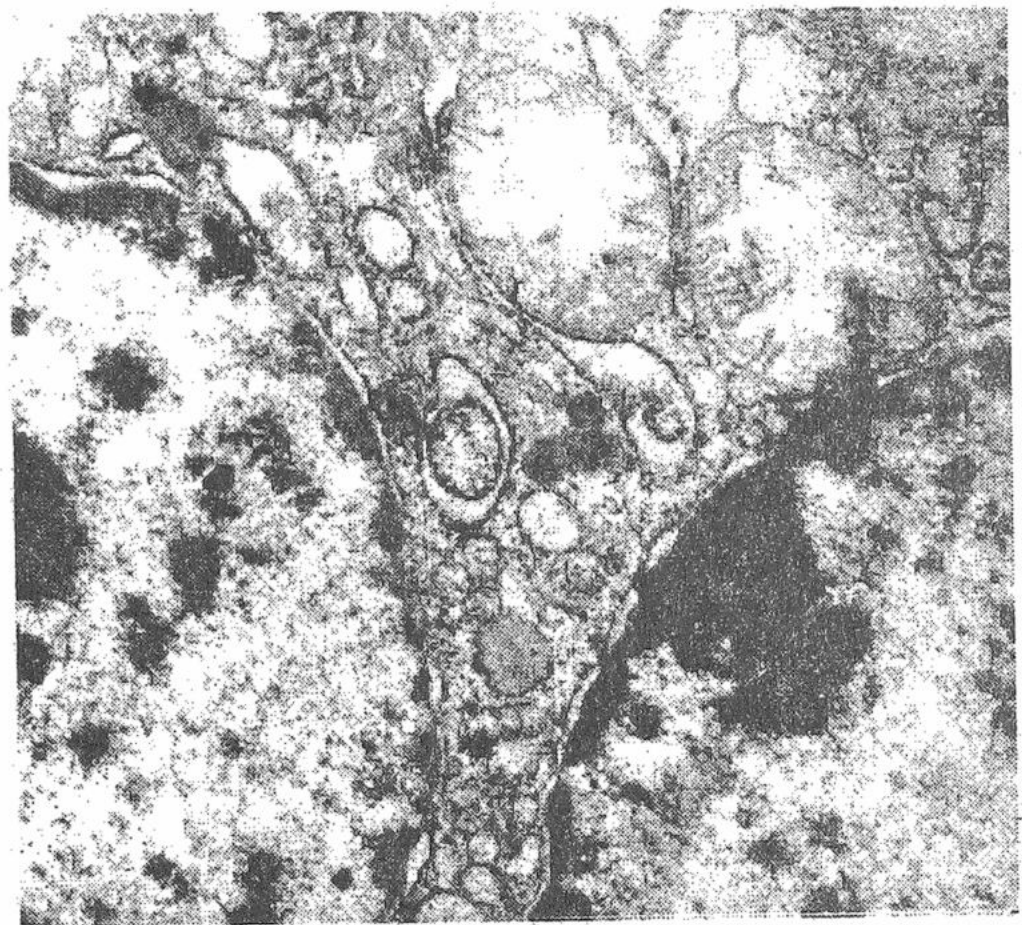


Рис. 3. Ультраструктура ядра и цитоплазмы энтероцита при 12-часовом экспериментальном перитоните $\times 19,2$ тыс.

Еще большим нарушениям подвергались клетки после 24-часовой кишечной непроходимости и перитонита. Ультраструктурные изменения захватывают все мембранные элементы клеток. Контуры ядер энтероцитов приобретают извитую форму благодаря появлению выпячиваний. Гранулярные компоненты хроматина уплотнялись и смещались к внутренней ядерной мембране. Канальцы и цистерны эндоплазматической сети расширены. Матрикс митохондрий значительно просветлен и заполнен хлопьевидным содержимым (рис. 4).

Дальнейшее развитие воспалительного процесса (36 и 48 ч) 2-х экспериментальных моделей – кишечной непроходимости и перитонита, сопровождается нарастанием дистрофических изменений клеток кишечного эпителия ворсинки. Однако никаких новых изменений со стороны ядер, цитоплазматических органелл и структур клеточной поверхности нам обнаружить не удалось. Следует отметить, что изменения эти стереотипны и носят неспецифический характер. Они заключаются в изменении, соотношения между эу- и гетерохроматином, его компакти-

заци, расширении перинуклеарного пространства, набухании митохондрий, уменьшении складчатости их внутренней мембраны, вероятно, за счет деструкции митохондриальных крист. Расширяются и набухают цистерны эндоплазматической сети, нарушается упорядоченность расположения рибосом. Внутренний сетчатый аппарат имеет вид вакуолей. Однако, при экспериментальной кишечной непроходимости ультраструктурная реорганизация клеток кишечного эпителия более выражена и протекает интенсивнее с увеличением длительности развития воспалительного процесса. Наиболее ярко это проявляется в деструкции энергопродуцирующих и биосинтетических аппаратов.

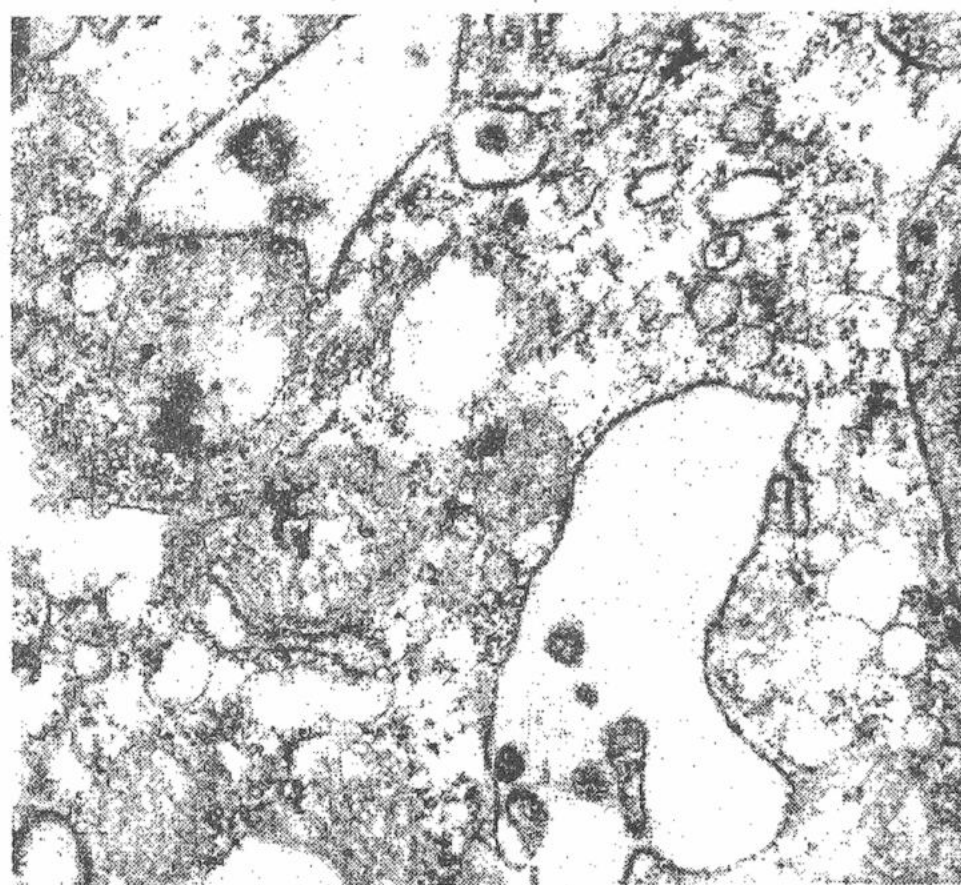


Рис. 4. Ультраструктура фрагмента цитоплазмы энтероцита после 24-часовой экспериментальной кишечной непроходимости $\times 43,6$ тыс.

Следует отметить, что поскольку воспалительный процесс растянут во времени, то в течение этого срока в клетках наряду с деструктивными процессами могут активизироваться компенсаторно-приспособительные механизмы, направленные на сохранение клеточного гомеостаза. Поэтому часть наблюдаемых изменений в ультраструктуре клеток может рассматриваться не только как начало деструктивных процессов в клетке, но и как адаптивная реакция биологической системы к меняющимся условиям внешней среды. Особенно это выражено на ранних сроках экспериментального воздействия.

Таким образом, сопоставление структурных изменений в клетках эпителия кишечной ворсинки после экспериментального перитонита и кишечной непроходимости свидетельствует о том, что динамика деструктивных изменений отражает степень выраженности воспалительного процесса и его длительность. Деструктивные изменения клеток при кишечной непроходимости имеют более выраженный характер, чем при перитоните.

ВЫВОДЫ:

1. Ультраструктурные перестройки клеток эпителия кишечной ворсинки начинаются после 6 ч воспалительного процесса.

2. Чувствительность клеток эпителия кишечной ворсинки к воспалительному процессу, вызванному кишечной непроходимостью, более выражена по сравнению с перитонитом для одинаковых экспериментальных сроков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гастроэнтерология /Под общ. ред. В.С. Чадвина, С.Ф. Филлипса. М.: Медицина, 1988. Ч. 2.
2. Зайцев В.Т., Шальков Ю.Л., Бойко В.В. и др. Кишечная непроходимость. Х., 1993.
3. Чекушкин Н.В. // Науч. тр. Рязан. мед. ин-та, 1980. Т. 69. С. 44-48.
4. Зуфаров К.А., Юлдашев А.Ю. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1981. Т. 91, № 6. С. 759-762.
5. Лысиков Ю.А., Морозов И.А. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1990. Т. 110, № 11. С. 550-554.
6. Пестерева Н.А., Карякин А.М., Кучер В.В. // Тр. Ленингр. сан.-гигиен. мед. ин-та. 1981. Т. 139. С. 65-71.
7. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. М.: Мир, 1975. С. 33-108.

ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ УЛЬТРАСТРУКТУРИ КЛІТИН ЕПІТЕЛІЮ КИШКОВОЇ ВОРСИНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ПЕРИТОНІТУ І КИШКОВОЇ НЕПРОХІДНОСТІ

Т.І. Тамм, О.Я. Бардюк, Т.П. Говоруха, М.В. Репін

Харківська медична академія післядипломної освіти,

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

РЕЗЮМЕ

Проведено порівняльні дослідження ультраструктури клітин епітелію кишкової ворсинки тонкої кишки після експериментального перитоніту і кишкової непрохідності. Показано, що ультраструктурні перебудови клітин епітелію кишкової ворсинки починаються після 6 годин запального процесу. Деструктивні зміни клітин при кишкової непрохідності мають більш виражений характер, ніж при перитоніті.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ультраструктура, перитоніт, кишкова непрохідність

COMPARATIVE STUDY OF THE SMALLER INTESTINE VILLUS EPITHELIUM UNDER EXPERIMENTAL PERITONITIS AND INTESTINAL OBSTRUCTION

T.I. Tamm, A.Y. Barduk, T.P. Govorucha, N.V. Repin

Medical academy for postgraduated education, Kharkov, Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine

SUMMARY

A comparative study of the smaller intestine villus epithelium ultrastructure under experimental peritonitis and intestinal obstruction was carried-out. It was shown that ultrastructural rearrangements of the smaller intestine epithelium start after 6 hours of an inflammatory process. Destructive changes in cells under intestinal obstruction were more pronounced than under peritonitis.

KEY WORDS: ultrastructure, peritonitis, intestinal obstruction

УДК 616.61 – 007.256 : 616.617] – 018 – 076.3

MORPHOMETRICAL CHANGES OF DUPLEX KIDNEYS IN CHILDREN IN DIFFERENT DEGREE OF URODYNAMICS INFRINGEMENT AND WITHOUT URODYNAMICS INFRINGEMENT

G.I. Taran

Dniepropetrovsk State Medical Academy

SUMMARY

Morphometrical comparison of duplex kidney and ureter structural elements in children was done taking in account the gravity of the pathological process and methods of treatment. Morphological objects giving the possibility to prognose the method of surgical treatment and it's outcome depending on the quality and quantity of changes of the duplex kidney structure were determined. The principal difference of quantitative changes of structural elements of a duplex kidney without the violation of urodynamics in moderate violation of the outflow of urine and also in a steadfast loss of the function because of the violation of urodynamics of a grave degree was confirmed.

KEY WORDS: pediatric urology, anomaly of development, duplex kidney, diagnostics, treatment, histology, morphometry

INTRODUCTION

In all the diversity and growing of informativity of investigative methods of the studying of duplex kidneys in children until to – day remains unjustified low the attention paid by pediatric surgeons and urologists to such informative and simple for adoption, investigative methods of studying the viability of duplex kidney tissues, as morphometrical methods [1; 4; 5]. This is also confirmed by rather rare scientific works on the theme of morphometrical investigation of duplex kidneys [2; 3; 6].

The aim of our work is to answer to the question: which morphological tissue elements of duplex kidneys on a microscope level can be used to determine the question of the removal of the affected duplex kidney or of doing plastic reconstruction of urinary tracts.

MATERIALS AND METHODS

Children at the age of from 0 to 15 years which had duplex upper urinary tracts and which had surgical correction of the urinary system were studied. Functional deficiency of the kidneys was revealed by excretory urography and in laborious diagnostics cases by iso-

tope scintigraphy. This examination was done in 15 cases (material was taken from 5 cases where the kidney was not liable to surgical correction because of the absence of urodynamics infringement and in 5 cases of every type of operative treatment).

All the children were divided into three groups corresponding to the methods of treatment:

— the 1 group consisted of children in which the kidney poles were to have biopsy done and did not have any evidence of urodynamics infringement and were not operated;

— the 2 group of children in which the kidney poles were to have biopsy done, had urodynamics infringement and needed plastic – reconstructive methods of operative treatment done in order to better the function (operation of pyelopyelo or pyeloureteroanastomosis);

— the 3 studied group consisted of children with mainly severe urodynamics infringement when as a result of the full loss of the function the removal of the sick organ was done (heminephrurerectomy).

The histological material was ablated intraoperatively from different sections of the kidney, calyces and ureters. The average size of ablated tissues pieces was from 2 to 10 mm.

In the pathological laboratory of C C L preparations were made. The tissues were fixed in 10% neutral formalin, were passed through alcohol and embedded into parafin. From parafin blocks sections 5 mkm thick were prepared which were then stained with hematoxilin and eosine and by Slinchenko.

Morphometry was done by the cytohistostereometrical method of G.G. Autandilov with the help of a standard net for the eyepiece with 100 dots and not less than 10 applications in every case [1]. The per cent of cell elements in each section and the average devergence for every studied tissue element were counted. The results were compared between groups 1, 2 and 3. The authenticity value of received results was done by the Student criterion.

Table 1
Structural elements of the kidney parenchyma which underwent morphometry

C	Large (arteries) vessels
D	Small (arterioles) vessels
E	Inflammatory cells
F	Dystrophic nuclei of renal tubule epithelium
G	Invariable nuclei of renal tubule epithelium
H	Connective tissue cells
I	General quantity of cell elements
J	Small renal corpuscles
K	Large renal corpuscles
L	Base substance
M	Edema
N	Necrosis

The results were entered in MS Excels tables of an Office 98 Professional Relies packet. Statistics were done with the help of statistics program of Statistica for Windows Relies 5,1.

RESULT AND DISCUSSION

The summary table 3 of received results had such an appearance.

Analysis of shown in the table data revealed in tissues of the kidneys and ureters an authenticity reduction of the per cent of vessels in the 3 group in comparison with the 1 and also the 2 group. Thus, a sharp lowering, about 2 times, of the per cent content of blood vessels of a duplex kidney can be the index of the viability absence of these tissues and can be a factor to doing heminephrurerectomy.

Among inflammatory cells the tendency of a rising of their quantity in dependence with the severity of the status of the kidney looking at the method of operative treatment is very noticeable. If in kidney tissues the rising has an authenticity character and the most of cells come on group 3 where the functional viability is low, the kidney was ablated. In ureter tissues such a tendency is not confirmed.

A significant lowering of the quantity of invariable renal tubule epithelium, invariable

For the kidney the standard scheme had the visual calculation of large and small renal corpuscles, large and small blood vessels, invariable and dystrophic nuclei of the renal tubule epithelium, connective tissue cells, the average sum of all cells, per cent of the base substance, edema and necrosis (table 1).

The scheme for ureter tissues had the calculation of large and small blood vessels, inflammatory cells, invariable and dystrophic nuclei of muscle tissue, invariable and dystrophic nuclei of the transitional epithelium, connective tissue cells, the average sum of all cells, per cent of the base substance, edema and necrosis (table 2).

The sum of cystic tubules was not counted because of the imperfect selection by the eye.

Table 2
Structural elements of the ureter tissue which underwent morphometry

O	Large (arteries) vessels
P	Small (arterioles) vessels
Q	Inflammatory cells
R	Dystrophic nuclei of muscle cells
S	Invariable nuclei of muscle cells
T	Dystrophic nuclei of transitional epithelium
U	Invariable nuclei of transitional epithelium
V	Connective tissue cells
W	General quantity of cell elements
X	Hemorrhages
Y	Base substance
Z	Edema
AA	Necrosis

nuclei of muscle cells and invariable nuclei of the transitional epithelium of the ureters can testify their diagnostic value in context with the revealing of the degree of functional viability of duplex kidney tissues.

The per cent quantity of connective tissue, as we think, is the most important index of structural changes in duplex urinary tracts. An authentic rising of the quantity of connective tissue of the kidney parenchyma connects with the intensification of the gravity of the pathological process, it sharply rises when functional possibilities of the kidney lower in group 3. The volume of connective tissue in the ureters in group 3 also have a difference, in their volumes, in group 1 and group 2.

Investigation of the general per cent quantity of cell elements in kidney tissues showed a correlation of group 3 with group 1 and group 2. The calculation of the general quantity of cells in the ureters revealed variations in the results in different groups without legible connections with the degree of pathological state.

Renal corpuscles, which were divided visually to large and small in size, when compared, showed resembling quantitative tendencies. Small renal corpuscles in group 1 had an authentic bigger per cent than in group 2 and in group 2 a lot bigger than in group 3. The quan-

Table 3

Indexes of the morphometry of kidney and ureter tissues in children ill with duplex kidney in dependence from the gravity of the infringement of urodynamics and vitality method of treatment

Object of morphometry	Group 1	Group 2	t	Group 3	t	Groups 2&3	t
C	7.4 ± 1.517	7.8 ± 2.72336	- 0.3158	4.8 ± 1.08233***	4.22187	***	4.061
D	3.8 ± 1.304	5.6 ± 0.19024**	- 3.0438	2.9333 ± 1.4376	1.19115	***	6.345
E	1.8 ± 2.049	4.6 ± 2.95804*	- 2.0082	15.9333 ± 3.77***	-7.90566	***	-10.58
F	10.8 ± 2.775	11.28 ± 3.18224	- 0.3133	11.0667 ± 3.39	-0.15822		0.2
G	18 ± 3.162	14.4 ± 3.75278*	2	4.3333 ± 1.7593***	12.3	***	9.73
H	10.4 ± 3.647	9.56 ± 3.58329	0.4773	23.3333 ± 6.81036***	- 4.00893	***	- 8.401
I	52.2 ± 6.76	53.24 ± 5.13387	- 0.3934	62.4 ± 3.2906***	- 4.58267	***	- 6.174
J	9.4 ± 2.702	4.6 ± 2.1602***	4.3631	0.3333 ± 0.48795***	13.05976	***	7.499
K	10 ± 1.225	8 ± 3.3541	1.3003	3.5333 ± 2.85023***	4.8554	***	4.304
L	18.6 ± 4.93	16 ± 3.58236	1.3951	10.2 ± 1.2072***	6.36396	***	6.041
M	7.6 ± 1.517	12.24 ± 2.48797***	- 3.9902	11.8 ± 2.17781***	- 3.96863		0.566
N	2.2 ± 1.924	5.92 ± 3.90427**	- 2.0595	11.1333 ± 3.90726***	- 4.85502	***	- 4.087
O	10.6 ± 2.074	7.52 ± 5.33948	1.2561	4.3333 ± 2.22539***	5.53473	*	2.191
P	3.6 ± 0.548	2.08 ± 2.11975	1.5723	1 ± 0.84515***	6.38287		1.878
Q	2 ± 1.414	5.16 ± 3.65923	1.8807	2.6667 ± 1.91485	- 0.71107	*	2.438
R	3.4 ± 1.14	7.56 ± 4.6105*	-1.9793	8.9333 ± 3.39046**	- 3.52704		- 1.001
S	12.6 ± 1.342	7.08 ± 3.31562***	3.6216	5.7333 ± 3.41147***	4.32517		1.23
T	3 ± 1.581	4.92 ± 3.53459	-1.1782	9 ± 2.64575***	- 4.74342	***	- 3.861
U	11.6 ± 1.817	6.92 ± 4.55448*	2.2361	8 ± 2.9277*	2.56273		- 0.82
V	27.6 ± 1.14	28.92 ± 3.47515	-0.8301	33.4 ± 4.61055*	-2.73843	**	- 3.489
W	74.4 ± 2.074	70.16 ± 4.08942*	2.2385	73.0667 ± 3.86313	0.72846	*	- 2.221
X	1 ± 1	1.32 ± 2.968	-0.2355	1.0667 ± 1.38701	-0.09848		0.31
Y	19.2 ± 1.643	19.36 ± 3.402	-0.1017	15.8667 ± 2.35635**	2.91056	**	3.497
Z	3.6 ± 1.817	5.4 ± 2.199	-1.7105	5.8667 ± 2.41622	-1.91131		- 0.626
AA	1.8 ± 1.483	3.7 ± 1.2***	-3.215	4.1333 ± 1.3557**	-3.26219		- 0.927

* - the level of the significance sing by the Student criterion ≤ 0.05

** - the level of the significance sing by the Student criterion ≤ 0.01

*** - the level of the significance sing by the Student criterion ≤ 0.001

tity of large renal corpuscles also lowered correspondingly to the gravity of the affect by the pathological process and had the minimum significance in group 3. Thus, a lowering of the quantity of renal corpuscles can be used as one of the indexes of the gravity of the affection by the pathological process but we think that this index can be objectively used only when using the age aspects, using the change of the correlation of renal corpuscles in dependence to the age of the child.

The quantity of base substance in the parenchyma of the kidney and ureter tissues progressively lowers from group 1 to group 3, and correlates with high authenticity in group 3. This can be used as an informative factor in revealing the functional inability of a duplex kidney or as an index of the gravity of it's affection.

The per cent quantity of necrosis raised with the rising of the gravity of tissue affection and differed authentically between groups 1, 2 and 3 in kidney and ureter tissues.

Edema of kidney tissues was expressed noticeably and authentically raised with the

lowering of the functional ability of the kidney. At the same time correlation of edema indexes in ureter tissues was defaulted and because of this could not be used as an indices of the gravity of metabolic disturbance.

When comparing the quantity of hemorrhages between investigated groups correlation was not revealed.

CONCLUSION

In order to solve the question of the method of operative treatment of the duplex kidney complexly can be used such morphologic indexes:

a) a lowering of the blood vessel quantity in tissues of the duplex kidney;

б) the simultaneous rising of the general quantity of connective tissues in the kidney and ureter tissues when there is a lowering of the quantity of base substance;

в) a rising of the per cent quantity of dystrophic nuclei of renal tubule epithelium, the dystrophic nuclei of muscle cells and the dystrophic nuclei of the transitional epithelium of the ureter.

REFERENCES

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство. М.: Медицина, 1990.
2. Бобкова В.П. // Урология и нефрология. 1985. № 1. С. 25 – 28.
3. Куш Н.А., Вечерко В.Н., Шнырев А.Н. // Урология и нефрология. 1987. № 2. С. 3-6.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. вузов. 4 -е изд., перераб. и доп. М.: Высш. шк., 1990.
5. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ, 1970.
6. Lee B.R., Partin A.W., Epstein J.I. et al. // Journ. of Urology. 1992. Vol. 148, № 5. P.1482-1486.
7. Tan P.H., Chiang G.S., Tay A.H. // Annals of the Academy of Medicine, Singapore. 1994. Vol. 23. P. 838 – 843.

МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ В ПОДВОЄНИХ НИРКАХ У ДІТЕЙ З РІЗНИМ СТУПЕНЕМ ПОРУШЕННЯ УРОДИНАМІКИ ТА БЕЗ НЬОГО

Г.І. Таран

Дніпропетровська державна медична академія

РЕЗЮМЕ

Проведено морфометричне зіставлення структурних елементів подвоєної нирки та сечоводів у дітей з урахуванням важкості ураження патологічним процесом та методу лікування. Означені морфометричні об'єкти, що дають можливість прогнозувати метод оперативного лікування та його вихід залежно від якісних та кількісних змін структури подвоєної нирки. Підтверджено принципову різницю кількісних показників структурних елементів подвоєної нирки за відсутності порушення уродинаміки, при помірному порушенні відтоку сечі, а також при стійкій втраті функції внаслідок порушення уродинаміки тяжкого ступеня.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: дитяча урологія, аномалія розвитку, подвоєна нирка, діагностика, лікування, гістологія, морфометрія

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В УДВОЕННЫХ ПОЧКАХ У ДЕТЕЙ ПРИ НАРУШЕНИИ УРОДИНАМИКИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ И БЕЗ НЕГО

Г.И. Таран

Днепропетровская государственная медицинская академия

РЕЗЮМЕ

Проведено морфометрическое сопоставление структурных элементов удвоенной почки и мочеточника у детей с учетом тяжести поражения патологическим процессом и метода лечения. Определены морфометрические объекты, дающие возможность прогнозировать метод оперативного лечения и его исход в зависимости от качественных и количественных изменений структуры удвоенной почки. Подтверждено принципиальное отличие количественных показателей структурных элементов удвоенной почки в отсутствие нарушения уродинамии, при умеренном нарушении оттока мочи, а также при стойкой потере функции вследствие нарушения уродинамии тяжелой степени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: детская урология, аномалия развития, удвоенная почка, диагностика, лечение, гистология, морфометрия

УДК 616:579.61

THE ANALYSIS OF VIABILITY EVALUATION METHOD FOR MICROORGANISM CELLULAR FORMS AFTER CRYOPRESERVATION

I.P. Vysekantsev,^{1,2} N.G. Kadnikova,¹ V.F. Martsenyuk¹

Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine,¹ Kharkov; Kharkov National V.N. Karazin University²

SUMMARY

The review of existing evaluation methods of viability of microorganisms is presented. The feasibility to apply these methods for the estimation of viability of microorganisms after cryopreservation was analysed.

KEY WORDS: microorganism, cryopreservation, viability evaluation method

To develop immune biological preparations, methods of diagnostics of the infectious diseases, infections of alive microorganisms in the environment, conducting of epidemiological studies and providing the works of microbio-

logical productions, the collections of different microorganisms [17] are used. Cryopreservation is one of the most reliable and widely applied ways of a long-term storage of microorganisms [4; 13]. When creating the efficient