

Волкогон // Вісник СУМДУ. Серія Медицина. – 2007. – № 2. – С. 12-21.

8. Фисталь Э. Я. Осложнения ожоговых ран / Э. Я. Фисталь // Комбустиология. – 2003. – №14. – С. 31-36.

9. Фисталь Э. Я. Неотложная хирургическая помощь обожженным на этапах медицинской эвакуации / Э. Я. Фисталь, Г. Е. Самойленко, В. В. Солошенко [и др.] // Укр. журн. екстремальной медицины ім. Г.О. Можасва. - 2004. – Т. 5, № 4. – С. 21-24.

10. Cohen J. The detection and interpretation of endotoxemia / J. Cohen // Intens. CareMed. – 2000. – Vol. 26 (suppl. 1). – P. 51-56.

#### Реферати

#### ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В РЕСПИРАТОРНЫХ ОТДЕЛАХ ЛЕГКИХ КРЫС В ОТДАЛЕННЫЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ В УСЛОВИЯХ ЕЕ КОРРЕКЦИИ КОЛЛОИДНО-ГИПЕРОСМОЛЯРНЫМ ИНФУЗИОННЫМ РАСТВОРОМ HAES-LX-5%

Макарова О. И., Чайковский Ю. Б.

В статье определены особенности ультраструктурных изменений в респираторном отделе легких крыс в отдаленный период после термической травмы в условиях ее коррекции коллоидно-гиперосмолярным инфузионным раствором HAES-LX-5%. Выявлено, что через 14 суток после ожоговой травмы у крыс, которым в течение первых 7 дней вводили раствор HAES-LX-5%, уровень деструктивных и дистрофических изменений в ткани легких, а также интерстициальный и альвеолярный отек аэрогематического барьера, повреждения респираторного эпителия и эндотелия являются значительно менее выраженными, чем в условиях отсутствия такой коррекции. Через 21 день после термической травмы кожи в респираторном эпителии и эндотелии, наблюдаются признаки репаративной регенерации клеток и отмечается гипертрофия и гиперплазия фибробластов, гипертрофия эластических и коллагеновых волокон в альвеолярных септах. Через 30 суток после ожоговой травмы кожи в отдельных участках аэрогематического барьера определяются признаки регенерации респираторного эпителия, чередующиеся с неповрежденными участками.

**Ключевые слова:** легкие крыс, термическая травма, ультраструктурные изменения, HAES-LX-5%.

Статья надійшла 16.09.2014 р.

#### FEATURES OF ULTRASTRUCTURAL LONGTERM CHANGES IN THE PULMONARY RESPIRATORY TRACT OF RATS FOLLOWING THE THERMAL INJURY WHEN CORRECTED BY COLLOIDAL HYPEROSMOLAR INFUSION SOLUTION HAES-LX-5%

Makarova O. I., Chaikovskiy Yu. B.

In the research was to investigate the longterm features of ultrastructural pulmonary changes in the rats after thermal injury and its correction by colloid hyperosmolar solution infusion HAES-LX-5%. The level of destructive and degenerative changes in the pulmonary tissues, as well as interstitial and alveolar edema, damage of respiratory epithelium and endothelium, secretion disorders of surfactant were much less pronounced in rats which were infused with solution HAES-LX-5% during the first 7 days after burn injury, than in rats after burn injury treated with 0.9% solution of NaCl for the same period of observation. Signs of reparative regeneration of cells and marked hypertrophy and hyperplasia of fibroblasts, increased number of elastic and collagen fibers in the alveolar septa were observed in the respiratory epithelium and endothelium of the fourth group of rats after 21 days of thermal injury to the skin. Signs of respiratory epithelial regeneration, alternating with the undamaged areas in the basal plate, hyperplasia and hypertrophy of collagen fibers were observed in rats, which were infused with solution HAES-LX-5% 30 days after burn injury to the skin.

**Key words:** rats' lungs, thermal injury, ultrastructural changes, HAES-LX-5%.

Рецензент Волков К.С.

УДК 591.481.1-001:57.012.4

С. А. Михальський, Д. В. Савицька, В. В. Білошицький, Т. Ю. Квітницька-Рижкова  
ДУ "Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України", ДУ "Інститут  
нейрохірургії ім. А. П. Ромоданова НАМН України", м. Київ

#### МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В СЕНСОМОТОРНІЙ КОРИ ТА ГІПОКАМПІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПІСЛЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ І ГЕННОТЕРАПЕВТИЧНОЇ КОРЕКЦІЇ

На моделі тяжкої черепно-мозкової травми (ЧМТ) у дорослих і старих щурів лінії Вістар показано істотні зміни структури сенсомоторної кори та гіпокампу головного мозку, що виражається у значному зменшенні числа нейронів, зростанні долі вакуолізованих та гіперхромних нервових клітин та різкому збільшенні кількості нейроглії. Генна терапія шляхом ліпосомальної трансфекції тканини головного мозку плазмідним вектором, що несе ген апоЕ3, суттєво зменшувала реактивний гліоз та кількість мікрогліоцитів як в корі, так і в гіпокампі, позитивно впливала на кількість нейронів, запобігаючи їх втратам у дорослих і, особливо, у старих щурів.

**Ключові слова:** черепно-мозкова травма, генна терапія, кора, гіпокамп, структурні зміни, морфометрія, вікові особливості.

Робота являється фрагментом НДР «Изучение возрастных структурных особенностей и механизмов клеточной гибели в разных органах при экспериментальной кардиомиопатии и ее коррекции», держ.реєстраційний № 0112U000524.

Черепно-мозкова травма (ЧМТ) є однією з основних причин інвалідності та смертності в усьому світі [4]. Не зважаючи на серйозні наслідки посттравматичних порушень для суспільної охорони здоров'я, ще й досі бракує перевірених способів їхнього лікування та корекції. Важливим кроком має стати розробка фармакологічних препаратів для стабілізації та покращення

посттравматичних станів з наступним відновленням когнітивних та поведінкових функцій [1, 2, 4, 5].

**Метою** роботи було дослідження морфологічних змін сенсомоторної кори та CA1-зони гіпокампа мозку щурів різного віку після експериментальної ЧМТ та генної терапії (ГТ) плазмідом, що несла ген апоЕ3, у комплексі з катіонними ліпосомами.

**Матеріал та методи досліджень.** Дослідження проведено на 15 дорослих (6-8 міс) та 12 старих (24 міс) щурах-самцях лінії Wistar (розведення віварію Інституту нейрохірургії), яких забивали через 10 діб після завдання ЧМТ та/або введення плазмідом. Тварини були розподілені на 6 груп: Контроль – інтактні дорослі (5 щурів) та старі (4 щура); ЧМТ – дорослі (5 щурів) та старі (4 щура) з експериментальною ЧМТ; ЧМТ + Пл – дорослі (5 щурів) та старі (4 щура) з експериментальною ЧМТ, яким вводили плазмідний вектор (за допомогою встановленої у лівий боковий шлуночок мозку канюлі, з'єднаної із імплантованою під шкіру спини осмотичною помпою ALZET, що забезпечувала інфузію катіонних ліпосом із плазмідним вектором, який ніс ген апоЕ3, протягом 25 год зі швидкістю 8 мкл/год (8 мкг плазмідом/год)).

Систему, що складалась із канюлі, катетера й осмотичної помпи, складали у відповідності до інструкції виробника (DURECT Corp., США).

Канюлю встановлювали стереотаксично у боковий шлуночок. Попадання кінчика канюлі в просвіт лівого бічного шлуночка на необхідну глибину в 4,8 мм забезпечувалось довжиною канюлі (5мм). Канюлю фіксували до поверхні черепа стоматологічним цементом. Осмотичну помпу поміщали в підшкірний карман на спині. На рану шкіри накладали шви атравматичною ниткою. Тварину виймали із стереотаксичного апарату й повертали до клітки.

Моделювання експериментальної ЧМТ і всі подальші хірургічні маніпуляції, пов'язані зі встановленням канюлі та введенням відповідних розчинів, виконували під загальним наркозом (каліпсол, із розрахунку 0,7 мг/кг маси тіла, в/м).

Для відтворення в щурів тяжкої дифузної ЧМТ використовували «модель ударного прискорення» [3]. Під загальною анестезією виконували поздовжній розріз шкіри голови завдовжки 2 см по середній лінії з оголенням брегми і лямбди та фіксували "шолом" (кругла сталевая пластина діаметром 1 см). Тяжка ЧМТ завдавалась щурам у результаті вільного падіння вантажу вагою 450 г з висоти 1,5 м. Дана модель ЧМТ характеризується, в основному, розвитком дифузних пошкоджень мозку, а також локальним ушкодженням кори, яка прилягає до зони черепа, що травмується, і загибеллю клітин у такому чутливому до травми відділі мозку як гіпокамп [2, 3]. В якості лікувального препарату використовували комплекс катіонних ліпосом DOTAP Methosulfate (Sigma, США) і 25 мкг плазмідного вектора pCMV•SPORT6 (Invitrogen, США), що містив ген апоЕ3 людини під контролем цитомегаловірусного промотору.

Тварин умертвляли шляхом внутрішньочеревної ін'єкції розчину тіопентал-натрію (200 мг/кг). Мозок вилучали з порожнини черепа, макроскопічно оцінювали стан м'яких оболонок, рельєфу, наявності крововиливів та локалізацію видимих осередків забою. Ефективність трансфекції була підтверджена за наявністю АпоЕ3-мРНК у мозочку і довгастому мозку за допомогою RT-PCR-дослідження.

Для морфологічного дослідження мозок фіксували протягом 20 год у 4% розчині параформальдегіду на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4). Зразки промивали у тому ж буфері. Частина зразків (права частина мозку від хіазми до середнього мозку) зневоднювали та заливали в парафін (парафінова суміш "Парапласт"®) за стандартною методикою. З одержаних блоків на рівні сенсомоторної кори та гіпокампу на ротаційному мікротомі "Microm" HM 325 (Carl Zeiss, Німеччина) виготовляли фронтальні серійні зрізи товщиною 6 мкм і монтували на предметні скельця, покриті полі-L-лізином. Частина зрізів забарвлювали за Нісслем (тіоніном із добавкою крезилвіолету) і використовували для оцінки цитоархітекtonіки кори та гіпокампу та аналізу їх структурних змін. Іншу частину серійних зрізів використовували для імуногістохімічного дослідження апоптозу за TUNEL-методом (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling).

Імуногістохімічне дослідження апоптозу. Для оцінки фрагментації ядерної ДНК, що характеризує кінцеву стадію апоптозу клітини, застосовували метод TUNEL із використанням набору реагентів "ApopTag® Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit" ("Chemicon", США) згідно рекомендацій виробника. Метод ґрунтується на визначенні вільних 3'-ОН-кінцевих груп ДНК шляхом їх хімічного мічення модифікованими (зв'язаними з діоксигеніном) нуклеотидами за допомогою ензиму термінальної дезоксирибонуклеотидилтрансферази (TdT) з наступним утворенням імунокомплексів з вторинними антидіоксигеніновими антитілами, кон'югованими з пероксидазою. Візуалізація апоптотичних (TUNEL-позитивних) ядер відбувалася після взаємодії

пероксидази вторинних антитіл з діамінобензидином у присутності пероксиду водню з утворенням нерозчинного коричневого продукту реакції. Для візуалізації ядер клітин, що не перебували в апоптотичному стані, проводили фарбування зрізів метиленовим зеленим.

Морфометрія проводилась на мікрофотографіях кори головного мозку щурів різного віку, отриманих на світловому мікроскопі Olympus BX51 із використанням об'єктиву  $\times 40$  та окуляра  $\times 10$ . Здійснювали підрахунок кількості нейронів та гліоцитів на тестову площу –  $(322 \times 241)$  мкм<sup>2</sup>. Підрахунок кількості нормальних та апоптотичних ядер на тестову площу здійснювали на  $(20 + 2)$  полях зору з використанням програми ImageJ.

Аналіз даних проводився як у програмі STATISTICA 6.0 за допомогою тесту на нормальність Шапіро-Уїлка і подальшої статистичної обробки, так і за допомогою порівняння різних груп тварин із використанням F-тесту та t-тесту Стьюдента в програмі Microsoft Excel. Оцінювали нормальність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів, середні значення за кожною ознакою, що вивчалися, стандартні похибки середнього та достовірність різниці між експериментальними групами.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Після експериментальної ЧМТ на світлооптичному рівні спостерігали значні структурні зміни як у сенсомоторній корі, так і в гіпокампі. Цитоморфологічні модифікації сенсомоторної кори проявлялись у зміні форми клітин, появі значної кількості вакуолізованих і гіперхромних клітин, утворенні зон "випадіння" нейронів (рис. 1). Схожі посттравматичні зміни у розподілі нейронів (за виділеними нами типами) спостерігались і в гіпокампі (рис. 2). У корі кількість вакуолізованих нейронів зростала у 4,3 рази у старих та в 1,4 раз у дорослих щурів; кількість гіперхромних клітин кори збільшувалась у 3,7 раз та 1,8 раз у відповідних вікових групах. У той же час у гіпокампі кількість вакуолізованих нервових клітин зростала в 2,9 раз у старих та в 2,3 раз у дорослих тварин, а кількість гіперхромних клітин майже не змінювалась (у старих) та зростала в 1,9 раз (у дорослих щурів).

У старих тварин групи Контроль спостерігалось характерне для старіння зниження кількості нейронів, яке становило близько 23%. Кількість нейронів у сенсомоторній корі дорослих щурів при ЧМТ істотно зменшувалась – приблизно на 30% (з  $125,15 \pm 5,76$  у групі Контроль до  $87,70 \pm 6,11$  у групі ЧМТ). У старшій віковій групі цей показник зменшувався приблизно на 13% (з  $96,35 \pm 5,12$  до  $83,85 \pm 5,00$ ) (рис. 3).

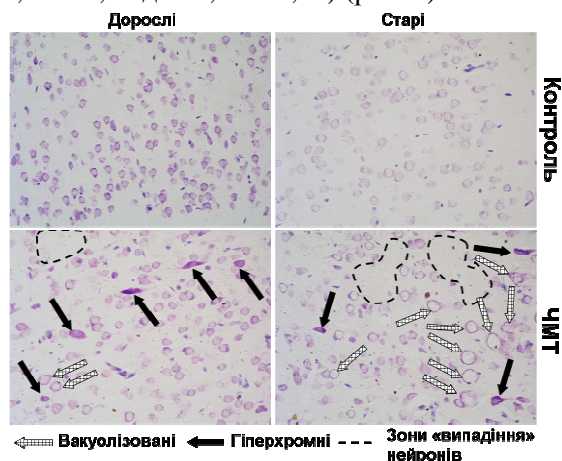


Рис. 1. Мікрофотографії зрізів сенсомоторної кори мозку піддослідних щурів після ЧМТ (забарвлення за Ніслем,  $\times 400$ ).

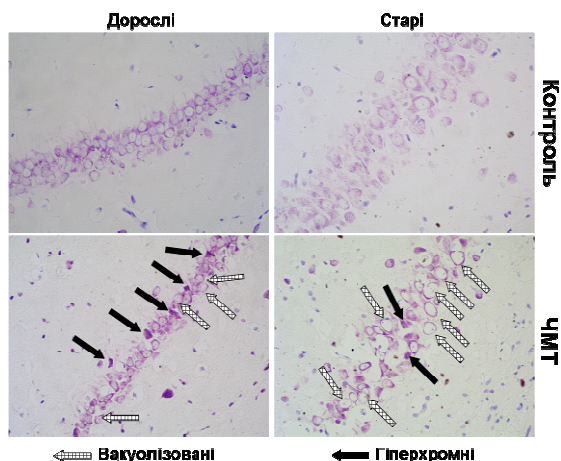


Рис. 2. Мікрофотографії зрізів СА1 зони гіпокампу піддослідних щурів після ЧМТ (забарвлення за Ніслем,  $\times 400$ ).

У старих щурів кількість нервових клітин при ЧМТ змінюється не так суттєво, як у дорослих, проте якісний склад нейронів зазнає більш значного зсуву у бік вакуолізованих і гіперхромних клітин, порівняно з дорослими щурами. Отже, значне зниження кількості нервових клітин на одиницю площі відбувається під час старіння і посилюється при ЧМТ.

Вікового зменшення кількості нейронів у СА1-зоні гіпокампа (Контроль) не спостерігалось, на відміну від кори, хоча і зростала доля деструктивних форм. При ЧМТ у дорослих щурів кількість нейронів на мм довжини СА1-зони зменшувалась на 18-22% (з  $170,59 \pm 7,14$  до  $136,29 \pm 9,06/\text{мм}$ ) при ЧМТ. У старих посттравматичне зниження було більш суттєве — на 31-32% (з  $168,70 \pm 14,72$  до  $115,54 \pm 8,79$ ) (див. рис. 3, справа).

Суттєві посттравматичні зміни спостерігались також у глії мозку. У корі дорослих при ЧМТ кількість гліоцитів на тестову площу зростала приблизно на 15% (з  $45,95 \pm 2,52$  у контролі до

52,80 ± 3,42 при ЧМТ), а у старих – на 43% (з 46,35 ± 2,70 до 66,15 ± 2,86) (рис. 4). Таким чином, при ЧМТ кількість гліоцитів збільшується і у старих щурів в 3 рази більше, ніж у дорослих.

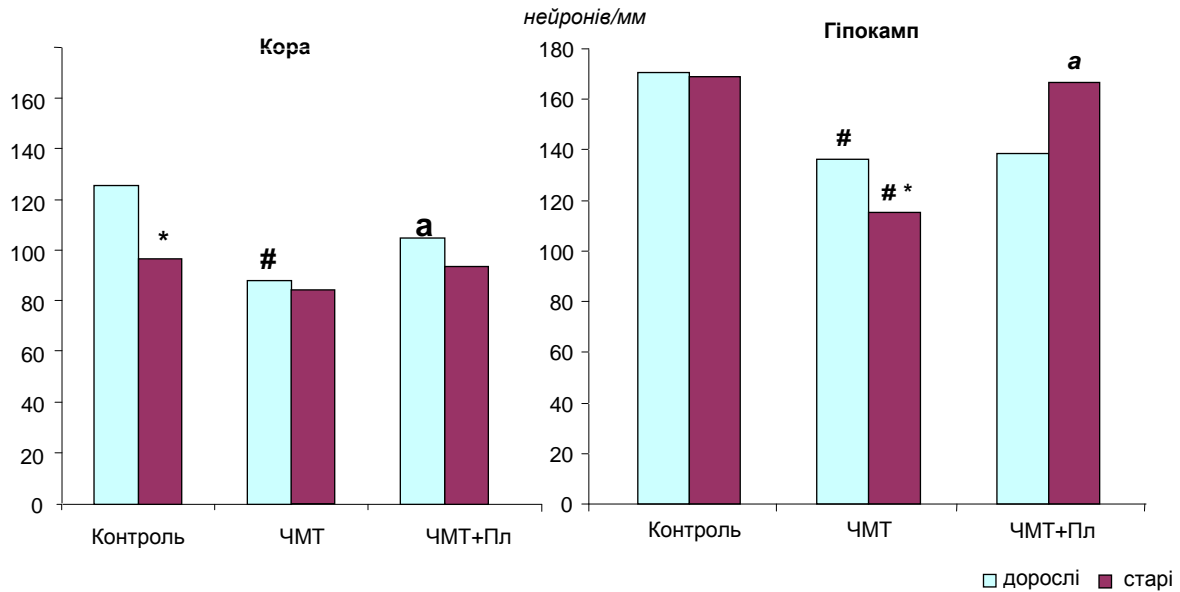


Рис. 3. Вплив ЧМТ і генної терапії на кількість нейронів у корі та гіпокампі щурів різних вікових груп. Тут і на наступних рисунках позначено вірогідні відмінності: \* –  $p < 0,05$  порівняно з дорослими відповідної групи, # –  $p < 0,05$  порівняно з відповідною групою контролю, а –  $p < 0,05$  порівняно з відповідною групою ЧМТ. Для кори по осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу, для гіпокампа – кількість клітин на мм довжини СА1-зони (аналогічні позначки на рис.4 і 5).

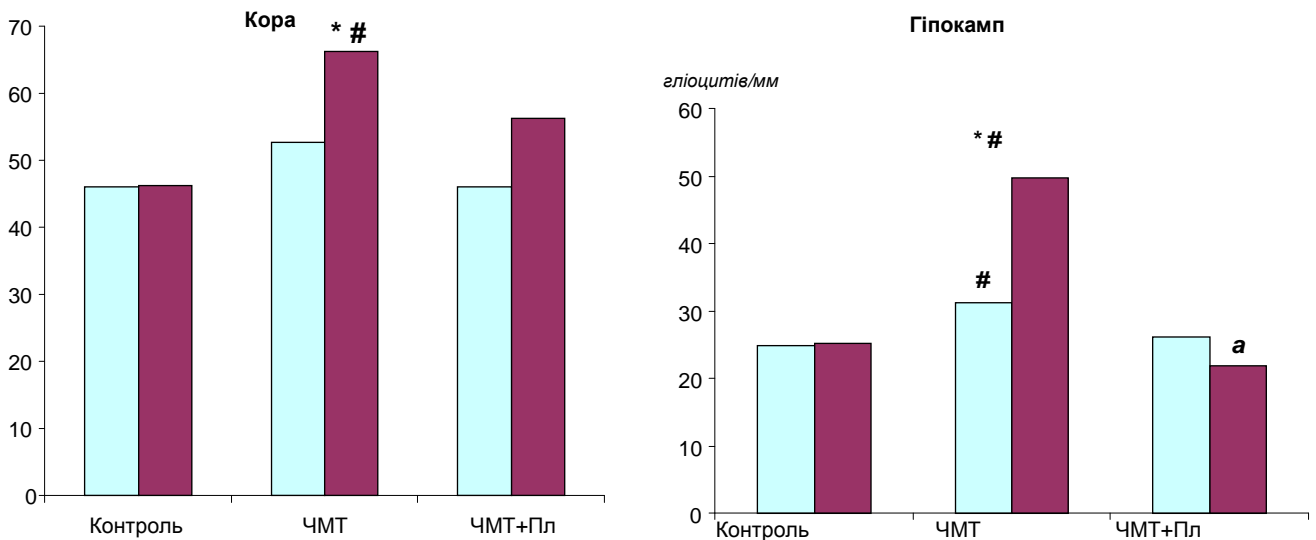


Рис. 4. Вплив ЧМТ і генної терапії на кількість гліоцитів у корі та гіпокампі щурів різних вікових груп.

У гіпокампі щурів спостерігали подібні зміни. При ЧМТ кількість гліоцитів гіпокама у дорослих щурів зростає в середньому на 25% (з 24,89 ± 3,82 до 31,13 ± 4,26). У старих кількість гліоцитів при ЧМТ збільшується майже у 2 рази (з 25,32 ± 4,43 до 49,74 ± 1,89) (див.рис. 4).

У сенсомоторній корі при старінні спостерігалось 3,3-разове підвищення кількості активованої мікроглії, що стало основою відсотково меншого, але більшого за абсолютними значеннями посттравматичного мікрогліозу у старих. Кількість мікрогліоцитів різко зростала після травми: у дорослих збільшувалась у 5,7 рази (з 0,65 ± 0,18 до 3,70 ± 0,37 клітин на тестову площу) та у 3,7 рази (з 2,15 ± 0,32 до 8 ± 0,63 клітин) у старих щурів (рис. 5).

У гіпокампі багаторазове підвищення кількості активованої мікроглії при старінні було більшим, ніж у корі. Після ЧМТ кількість мікрогліальних клітин у гіпокампі дорослих щурів зростає в середньому у 7,5 раз (з 0,29 ± 0,29 у контролі до 2,20 ± 0,86 при ЧМТ). У старих тварин, на фоні вікового зростання, кількість мікрогліоцитів збільшується при ЧМТ приблизно на 24% (з 12,89 ± 2,15 до 16,03 ± 2,19) (див.рис. 5, справа).

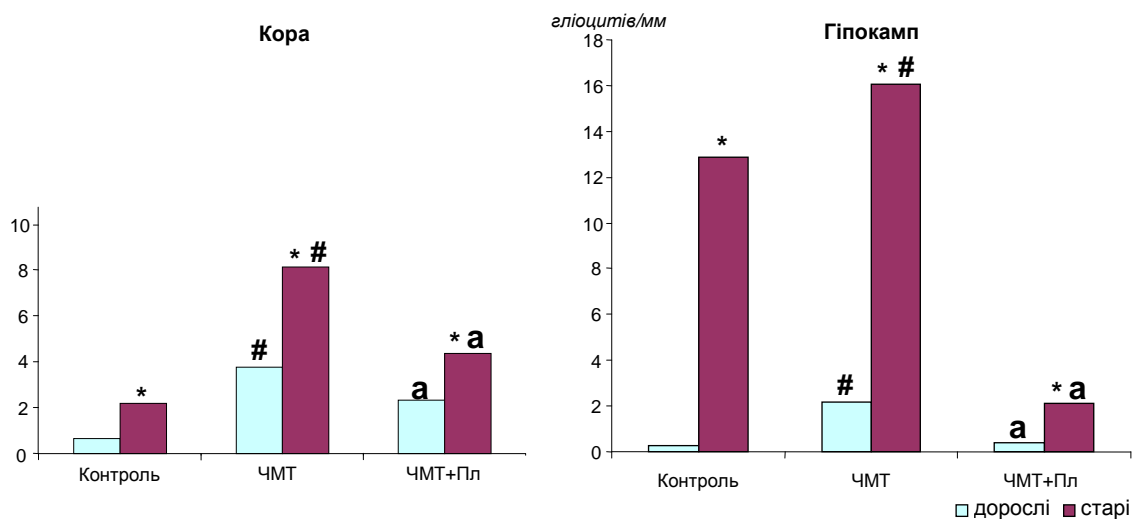


Рис. 5. Вплив ЧМТ і генної терапії на кількість мікрогліоцитів у корі та гіпокампі щурів різних вікових груп.

Лікування плазмідом мало позитивний ефект на кількість нейронів, запобігаючи їх надмірній втраті внаслідок ЧМТ. Аналіз даних показав, що у дорослих тварин втрата нейронів у сенсомоторній корі зменшується на 16 % — (кількість нейронів на одиницю площі складала  $87,70 \pm 6,11$  при ЧМТ та  $104,45 \pm 4,18$  в групі ЧМТ+Пл) (див.рис.3). Позитивний вплив ГТ у старих щурів був менш виражений – після ГТ втрати нейронів зменшувались на 11 %, наближаючись до контрольних показників.

Лікування плазмідом мало відновлювальну дію і на гіпокамп. У гіпокампі дорослих тварин зміни кількості нейронів були не значні, проте у старшій віковій групі ГТ достовірно зменшила нейронні втрати в середньому на 31% ( $115,54 \pm 8,79$  нейронів/мм при ЧМТ і  $166,87 \pm 13,93$  – у групі ЧМТ+Пл), наблизивши кількість нейронів до контрольних показників (див.рис.3, справа).

Позитивна дія ГТ також позначилась на нормалізації кількості гліальних клітин – спостерігалася чітка тенденція до зменшення реактивного гліозу в корі. Кількість гліоцитів у корі дорослих тварин зменшувалась на 12,8 % (з  $52,80 \pm 3,42$  при ЧМТ до  $46,05 \pm 3,08$  гліоцитів на тестову площу у групі ЧМТ+Пл), спадаючи до значень контрольної групи. У старих цей показник знижувався в середньому на 15% (з  $66,15 \pm 2,86$  при ЧМТ до  $56,20 \pm 4,18$  в групі ЧМТ+Пл) і наближався до значення, що лише на 13% перевищувало норму (див. рис.4).

У гіпокампі дорослих щурів після ГТ реактивний гліоз зменшився на 16 % (з  $31,13 \pm 4,26$  при ЧМТ до  $26,25 \pm 4,38$  гліоцитів/мм у групі ЧМТ+Пл). У старшій віковій групі кількість гліоцитів змінюється більш суттєво – у 2,3 рази (з  $49,74 \pm 1,89$  при ЧМТ до  $21,80 \pm 2,59$  гліоцитів/мм у групі ЧМТ+Пл) (рис.4).

ГТ також здатна суттєво зменшувати кількість мікрогліальних клітин як в корі, так і в гіпокампі. У сенсомоторній корі дорослих їх кількість зменшувалась в 1,6 рази (з  $3,70 \pm 0,37$  при ЧМТ до  $2,30 \pm 0,31$  у групі ЧМТ+Пл) та в 1,9 раз у старих щурів (з  $8,00 \pm 0,63$  при ЧМТ до  $4,30 \pm 0,53$  у групі ЧМТ+Пл) (див. рис. 5). У гіпокампі кількість мікрогліальних клітин зменшувалась після ГТ значно суттєвіше: у дорослих у 5,6 рази (з  $2,20 \pm 0,86$  при ЧМТ до  $0,39 \pm 0,39$  у групі ЧМТ+Пл) та у 7,6 рази (з  $16,03 \pm 2,19$  при ЧМТ до  $2,12 \pm 1,51$  у групі ЧМТ+Пл) у старих щурів (див.рис. 5).

У контролі кількість апоптотичних клітин у сенсомоторній корі була незначною. У дорослих тварин сумарна кількість апоптотичних клітин на усій досліджуваній площі зору виявилась більшою, ніж у старих, проте спостерігалось значне зменшення кількості нейронів кори у групі Контроль при старінні (як показано вище). Також спостерігалась висока варіативність кількості апоптотичних клітин у всіх експериментальних групах.

У гіпокампі контрольних старих щурів, на відміну від кори, рівень апоптозу був значно вищим, ніж у дорослих. Після ЧМТ у гіпокампі кількість клітин, що перебували у стані апоптозу була незначною – не більше 4,4 % від загальної кількості клітин. Частіше зустрічалися поодинокі апоптотичні клітини (в більшості випадків нейрони), рідше пари, ще рідше – скупчення по кілька нейронів і гліоцитів. Лише в деяких випадках (старі тварини з групи ЧМТ+Пл) виявлялися тяжі нейронів, що знаходились у стані апоптозу та некрозу (рис. 6). При застосуванні генної терапії у гіпокампі спостерігалась позитивна динаміка процесу клітинної загибелі, особливо у дорослих тварин. Під впливом плазмиди у дорослих тварин кількість апоптотичних клітин зменшується в

1,20 рази у порівнянні з групою ЧМТ, в той час у старих тварин подібне зниження складає 1,09 рази. Можна припустити, що у старих щурів ефект ГТ був нижчим через вікові морфо-функціональні зміни в нервовій тканині.

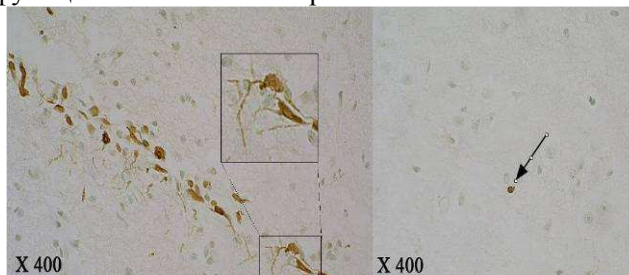


Рис. 6. Апоптотичні клітини у гіпокампі мозку старих щурів при ЧМТ (TUNEL-метод).

Таким чином, нами був досліджений комплексний вплив АпоЕ3 з катіонними ліпосомами на структуру кори та гіпокампа. Отримані результати показали позитивний вплив на нейрони та глію як у дорослих, так і старих групах тварин. ГТ сприяла суттєвому зменшенню гліозу як в корі, так і в гіпокампі дорослих та старих тварин, запобігала "випадінню" нейронів та сприяла зменшенню патологічно модифікованих клітин.

Була помітна чітка тенденція до зниження нейронних втрат після лікування плазмідомою як у дорослих так і у старих щурів, що свідчить про значний корегувальний ефект ГТ. Хоча кора і гіпокамп значною мірою страждають при ЧМТ, проте гіпокамп подекуди виявляється стійкішим у дорослих, а кора – у старих.

### Висновки

1. Світлооптичне дослідження кори мозку щурів різних вікових груп засвідчило наявність значних порушень її цитоархітектоніки після ЧМТ. Спостерігається поява великої кількості вакуолізованих і гіперхромних нейронів. Морфометричний аналіз показав різницю у кількості нейронів, гліальних та мікрогліальних клітин при ЧМТ у дорослих і старих групах. Кількість нейронів при ЧМТ суттєво знижується як в корі, так і в гіпокампі, помітна різниця між дорослими і старими групами, що, ймовірно, пов'язано з віковими деструктивно-дистрофічними змінами нервової тканини і посиленням посттравматичних факторів віковими. Після травми спостерігається тенденція до збільшення кількості гліальних клітин, що особливо прослідковується в гіпокампі та (дещо в меншій мірі) у корі старих щурів.

2. Генна терапія шляхом ліпосомальної трансфекції тканини головного мозку плазмідним вектором, що несе ген апоЕ3, мала суттєвий позитивний вплив на кількість нейронів і нейроглії кори, корегуючи її у рази та/або наближаючи до контрольних значень.

*Перспективи подальших досліджень.* ГТ є перспективним методом лікування ЧМТ, що потребує подальшого дослідження та вдосконалення.

### Список літератури

1. Михальський С. А. Апоптоз клітин мозку щурів різного віку при черепно-мозковій травмі і генній терапії / С. А. Михальський, Т. Ю. Квітницька-Рижова, В. В. Білошицький [та ін.] // Пробл. старения и долголетия. – 2011. – Т. 20, N 4. – С. 371 – 380.
2. Педаченко С. Г. Возможности генной терапии повреждений головного мозга и функционального дефицита при черепно-мозговой травме у щурів різного віку / С. Г. Педаченко, В. В. Білошицький, С. А. Михальський [та ін.] // Журнал НАМН України. – 2012. – Т. 18, N 2. – С. 171 – 185.
3. Marmarou A. I. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics / A. I. Marmarou, M.A. Foda, W. van den Brink [et al.] // J Neurosurg. – 1994. – Vol.80, N2. – P. 291-300.
4. Moretti L. Cognitive decline in older adults with a history of traumatic brain injury / L. Moretti, I. Cristofori, S. M. Weaver // Lancet Neurol. – 2012. – Vol. 11. – P. 1103 – 1112.
5. Narayan R. K. Clinical trials in head injury / R. K. Narayan, M. Michel, B. Ansell [et al.] // Experimental & Translational Stroke Medicine. – 2002. – Vol. 19, N 5. – P. 503-557.

### Реферати

#### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЕ И ГИПОКАМПЕ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Михальский С. А., Савицкая Д. В., Белошицкий В. В., Квитницкая-Рыжова Т. Ю.

На модели тяжелой черепно-мозговой травмы (ЧМТ) у взрослых и старых крыс линии Вистар показано существенные изменения структуры сенсомоторной коры и гиппокампа головного мозга, выражающееся в значительном уменьшении числа нейронов, росте доли вакуолизированных и гиперхромных нервных клеток и резком увеличении количества нейроглии. Генная терапия путем липосомальной трансфекции ткани

#### MORPHOLOGICAL CHANGES OF SENSORIMOTOR CORTEX AND HIPPOCAMPUS IN RATS OF DIFFERENT AGE AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY

Mikhalsky S. A., Savitska D. V., Biloshytsky V. V., Kvitnitskaya-Ryzhova T. Yu.

In the model of severe traumatic brain injury (TBI) in adult and old Wistar rats we have demonstrated significant changes in the structure of sensorimotor cortex and hippocampus, resulting in a significant decrease in the number of neurons, growth of vacuolated hyperchromic nerve cells fraction and the sharp increase in the number of glia. Gene therapy by means of cationic

головного мозгу плазмидним вектором, несущим ген апоЕ3, существенно уменьшала реактивный глиоз и количество микроглиоцитов как в коре, так и в гиппокампе, положительно влияла на количество нейронов, предотвращая их потерю у взрослых и, особенно, у старых крыс.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, генная терапия, кора, гиппокамп, структурные изменения, морфометрия, возрастные особенности.

liposome-mediated APOE3 transfer significantly decreased reactive gliosis and number of microglial cells both in the cortex and in the hippocampus, and had a positive effect on the number of neurons, preventing their loss in adult and especially in old rats.

**Key words:** traumatic brain injury, gene therapy, cortex, hippocampus, structural changes, morphometry, age characteristics.

Стаття надійшла 3.10.2014 р.

Рецензент Масловский С.Ю.

УДК:616-001.17-06:616.24-008.818-018-085.324:599.731.1-035.51]-076.4-092.9

**З. М. Небесна, К. С. Волков, А. О. Котик**  
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України", м. Тернопіль

### УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ КОМПОНЕНТІВ АЕРОГЕМАТИЧНОГО БАР'ЄРУ РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ ТА ЗАСТОСУВАННІ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ

В експерименті на білих щурах проведено вивчення субмікроскопічного стану компонентів аерогематичного бар'єру респіраторного відділу легень в стадіях ранньої та пізньої токсемії, септикотоксемії після термічної травми в умовах проведення ранньої некретомії та застосування подрібненого субстрату ліофілізованої ксеношкіри. Встановлено, що використання даного препарату запобігає розвитку деструктивних змін в структурах аерогематичного бар'єру в ранній термін дослідження та позитивно впливає на перебіг регенераторних процесів і їх нормалізацію в пізні терміни дослідження.

**Ключові слова:** аерогематичний бар'єр, ультраструктурні зміни, термічна травма, ліофілізована ксеношкіра.

*Робота є фрагментом НДР "Ремодельовання кровоносних русел внутрішніх органів та тканин при різних патологічних станах в експерименті", номер державної реєстрації 0111U008026.*

Незважаючи на значні успіхи, досягнуті за останні роки в комбустіології, проблема опіків продовжує залишатись однією із найбільш актуальних в теоретичній і практичній медицині [3, 4]. Глибокі опіки, поряд з втратою шкіри, викликають значні структурно-метаболічні порушення всіх органів та систем опеченого організму, в тому числі і легень [2, 7, 8]. В патогенезі деструктивних змін ключову роль відіграє екзо- і ендогенна інтоксикація організму, джерелом якої є опікова рана. Одним із нових і ефективних чинників для тимчасового закриття опікової рани є подрібнений субстрат ліофілізованої ксеношкіри [5, 6]. Нанесення його на очищену від змертвілих тканин рану попереджає прогресуючу інтоксикацію з вогнища ураження і розвиток інфекції в ранах, зменшує прояви опікової хвороби і сприяє відновленню шкірного покриву в коротший термін, що, в свою чергу, позитивно впливає на морфофункціональний стан органів опеченого організму. Тому, важливим є встановлення ультраструктурного стану компонентів респіраторного відділу легень в динаміці перебігу опікової хвороби та застосуванні ліофілізованої ксеношкіри.

**Метою** роботи було встановлення ультраструктурної реорганізації компонентів аерогематичного бар'єру альвеол респіраторного відділу легень тварин в динаміці після термічного ураження та застосуванні подрібненого субстрату ліофілізованої ксеношкіри.

**Матеріал та методи дослідження.** Досліди проведені на 20 статевозрілих білих щурах - самцях. Опік III ступеня наносили під ефірним наркозом мідними пластинами нагрітими у кип'яченій воді до температури 97-1000С. Розміри ділянки ураження склали 18-20 % епільованої поверхні тіла щурів. Тварин декапітували на 7, 14 та 21 доби, що відповідає стадіям ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби. Для електронномікроскопічних досліджень забирали маленькі шматочки респіраторного відділу легень, фіксували у 2,5-3% розчині глутаральдегіду, постфіксували в 1 % розчині тетраоксиду осмію на фосфатному буфері рН 7,2-7,4, зневоднювали в спиртах і пропіленоксиді та заливали в суміш епоксидних смол із аралдитом. Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ- 125К [1].

Ранню некретомію уражених ділянок шкіри проводили через добу після нанесення опіку. Рану, яка утворилась, покривали подрібненим субстратом ліофілізованих ксенодермотрансплантатів. Подрібнений субстрат ліофілізованих ксенотрансплантатів з шкіри свині