

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:Shatorna V. F.: 0000-0002-5853-9864 ^{ABCD}Kosse V. A.: 0000-0002-4620-7563 ^{BCE}Titov G. I.: 0000-0002-5460-0728 ^{BCF}Slesarenko O. G.: 0000-0003-0476-7551 ^{BCE}Topka E. G.: 0000-0003-1177-3597 ^{BDE}Lyulko I. V.: 0000-0001-6719-5779 ^{BDE}Alekseenko Z. K.: 0000-0001-5601-8232 ^{BCF}**Конфлікт інтересів:**

Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Шаторна Віра Федорівна

Дніпровський державний медичний університет

Адреса: Україна, 49044, м. Дніпро, вул. Володимира Вернадського 9

Тел.: +38(056)7664848

E-mail: verashatornaya67@gmail.com

A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Білаш С. М.

Стаття надійшла 16.02.2021 року

Стаття прийнята до друку 18.08.2021 року

DOI 10.29254/2077-4214-2021-3-161-287-290

УДК 616.132.1/2-003.93-091.8-02:6.16-001.32]-092.9

Юрик Я. І.

ЕНДОТЕЛІАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СИНДРОМУ ТРИВАЛОГО СТИСНЕННЯ

Тернопільський національний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль, Україна)

iyuryk@ukr.net

При синдромі тривалого стиснення ендотеліоцити першими реагують на міоглобін, лізосомальні та мітохондральні ферменти, гістамін, серотонін, продукти анаеробного гліколізу, вільні радикали, які у великих концентраціях попадають в кров'яне русло. Метою роботи було з'ясувати ступінь морфофункціонального ремоделювання ендотеліоцитів у посткомпресійному періоді СТС. Дослідження проведено на 40 білих лабораторних щурах. Експериментальну групу склали 32 тварини, які було поділено на чотири підгрупи по 8 особин у кожній, яких виводили з експерименту через 24 години, 3, 7 та 14 діб після моделювання СТС. Контрольну групу становили 8 інтактних щурів. СТС моделювали шляхом стискання м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки за умов знеболення у спеціально сконструйованому нами пристрої, сила компресії становила 7 кг/см² протягом 6 годин. Визначення кількості циркулюючих в крові десквамованих ендотеліоцитів (ДЕЦ) проводили за методом J. Hladovec (1978) в модифікації В. В. Сівак (2007). Гістологічні препарати забарвлювали гематоксиліном та еозинном. Результати показали, що у посткомпресійному періоді експериментального синдрому тривалого стиснення у піддослідних тварин розвивається ендотеліальна дисфункція, яка досягає свого максимуму через три доби, що проявляється збільшенням кількості десквамованих ендотеліоцитів у 2,13 рази відносно щурів інтактної групи. При морфологічному дослідженні виявлено ділянки

оголення інтими судин за рахунок злущення ендотеліоцитів, які набували різних розмірів та змінювали форму, зустрічалися клітини з набряком цитоплазми, явищами каріопікнозу та каріолізісу.

Ключові слова: синдром тривалого стиснення, десквамовані ендотеліоцити, щурі.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження проводили в рамках планової теми «Особливості структурної реорганізації кровоносних русел внутрішніх органів за умов впливу екзо- і ендогенних негативних чинників у експерименті», № державної реєстрації 0118U000360.

Вступ. Дисфункція ендотелію має місце при низці захворювань серцево-судинної системи [1, 2], церебральній патології [3], гестозах вагітних [4], що доведено низкою клінічних та експериментальних досліджень. Останніми роками увага науковців прикута до змін ендотелію при гострих станах, больовому шоці, стресі [5]. Ендотелій кровоносних судин першим реагує на різноманітні зрушення в судинному руслі, які виникають у відповідь на стрес, травматичний шок та ендотоксикоз за умов синдрому тривалого стиснення (СТС). Стрес є одним із вагомих патогенним чинників, що має ушкоджуючий вплив на ендотелій серця та судин [6, 7]. Довготривалість та інтенсивність больового синдрому за умов синдрому тривалого стиснення та ендогенна інтоксикація зумовлюють ураження тканин міокарда та ендотеліоцитів,

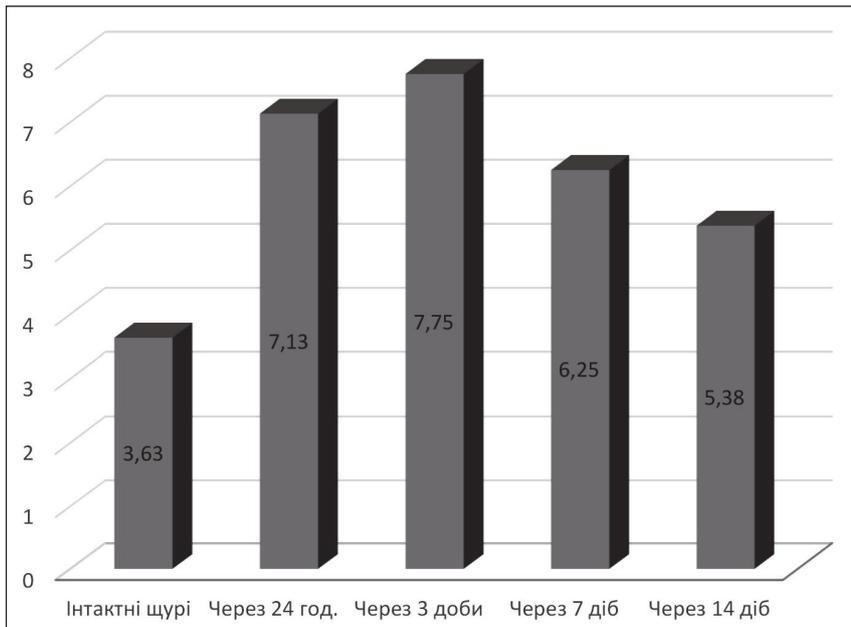


Рисунок 1 – Рівень десквамованих ендотеліоцитів в крові експериментальних тварин.

але літературні дані про ендотеліальну дисфункцію у посткомпресійному періоді є обмеженими.

Мета дослідження. З'ясувати ступінь морфофункціонального ремоделювання ендотеліоцитів у посткомпресійному періоді СТС.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 40 білих лабораторних щурах масою 240–270 грам. Експериментальну групу склали 32 тварини, які було поділено на чотири підгрупи по 8 особин у кожній, яких виводили з експерименту через 24 години, 3, 7 та 14 дів після моделювання СТС. Контрольну групу становили 8 інтактних щурів з аналогічною масою тіла. СТС моделювали шляхом стискання м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки протягом 6 годин за умов знеболення шляхом внутрішньо-очеревинного введення кетаміну гідрохлориду (100 мг/кг маси тіла) у спеціально сконструйованому нами пристрої, сила компресії становила 7 кг/см², площа стискаючої поверхні – 5 см² без ушкодження магістральних судин та кісток [8]. Виведення піддослідних тварин з експерименту здійснювали шляхом декапітації після внутрішньоочеревинного введення тіопенталу натрію у дозі 50 мг/кг через 1, 3, 7 та 14 дів дослідження, які відповідали періодам розвитку синдрому тривалого стиснення: від 1 до 3 дів – ранній період; від 3 до 7 дів – проміжний період; від 7 до 21 дів – пізній (відновний період) [9]. Визначення кількості циркулюючих в крові десквамованих ендотеліоцитів (ДЕЦ) проводили за методом J. Hladovec (1978) в модифікації В. В. Сівак та ін. [10]. Забирали до 4-5 мл крові у пробірку з 3,8% розчином лимоннокислого натрію, центрифугували 10 хвилин для отримання тромбоцитарної плазми, яку осаджували 0,18% розчином адреналіну. Після цього проводили механічне струшування 10 хвилин та повторне центрифугування 15 хвилин наслідком якого було осадження десквамованих ендотеліоцитів. Після забору надосадової плазми до осаду додавали фізіологічний розчин натрію хлориду у кількості 0,1 мл, перемішували та суспензією, що утворилася заповнювали камеру Горяєва. Підрахунок десквамованих

ендотеліальних клітин проводили у двох сітках камери Горяєва за допомогою фазово-контрастної мікроскопії. Для кількісного визначення ДЕЦ використовували формулу $ДЕЦ = n \times 10^4 / л$, де n – кількість десквамованих ендотеліоцитів.

Для виготовлення гістологічних препаратів забирали шматочки міокарда, які після фіксації у 10% розчині нейтрального формаліну зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та заливали у парафінові блоки. Отримані на санному мікроскопі зрізи після депарафінізації фарбували гематоксиліном та еозином. У роботі використовували мікроскопи Люмам Р-8 та SEOSCAN. Для фотодокументування гістологічних препаратів використовували відеокамери VISION Color CCD Camera і програми InterVideo WinDVR.

Утримання щурів та всі експерименти виконані відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [11].

Отримані результати дослідження проаналізовані статистично у програмному пакеті "Statsoft Statistica".

Результати дослідження та їх обговорення. У посткомпресійному періоді експериментального СТС при проведенні підрахунку десквамованих ендотеліоцитів у піддослідних тварин ми спостерігали значне зростання їх числа. Ці показники достовірно зростали у кожній експериментальній групі. Кількість десквамованих ендотеліоцитів (ДЕЦ) у інтактних щурів становила $(3,63 \pm 0,40) \times 10^4 / л$. Через 24 години після виведення тварин із шестигодинного експериментального синдрому тривалого стиснення кількість десквамованих ендотеліоцитів зросла в 2 рази та становила $(7,13 \pm 0,25) \times 10^4 / л$ ($p < 0,01$). Через три доби кількість ДЕЦ становила $(7,75 \pm 0,52) \times 10^4 / л$, що було більше у 2,13 рази у порівнянні з інтактними тваринами. Через сім дів кількість ДЕЦ у периферійній крові дещо зменшилася та становила $(6,25 \pm 0,48) \times 10^4 / л$, що було більше у 1,7 рази при $p < 0,05$. При продовженні експерименту через 14 дів після моделювання СТС зберігалася тенденція до зменшення кількості ДЕЦ. Їхня кількість становила $(5,38 \pm 0,40) \times 10^4 / л$, що було більше у 1,5 рази ($p < 0,05$) порівняно з інтактними тваринами (рис. 1).

При морфологічному дослідженні виявлено, що крім активації процесів злушення ендотеліоцитів за умов стресу, травматичного шоку, генералізованої токсемії, що мають місце за умов шестигодинного експериментального СТС, останні набували різних розмірів та змінювали форму, зустрічалися клітини з набряком цитоплазми, явищами каріопікнозу та каріолілізу. В окремих ділянках спостерігали хвиле-

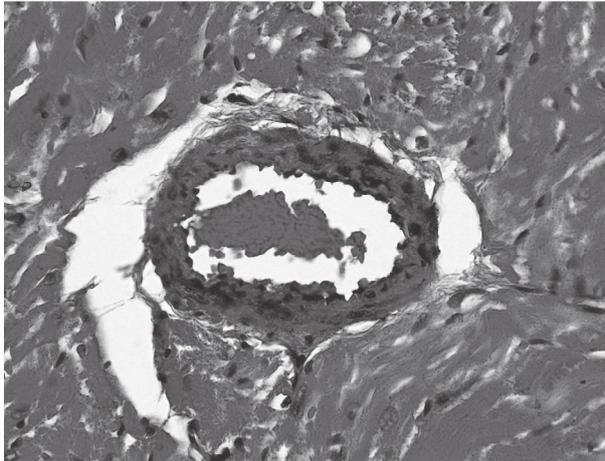


Рисунок 2 – Поліморфність та злучення ендотеліоцитів, оголення інтими артерії. Хвилоподібна ендотеліальна вистилка. Гістологічний зріз міокарда щура з вінцевою артерією. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 36.: x40.

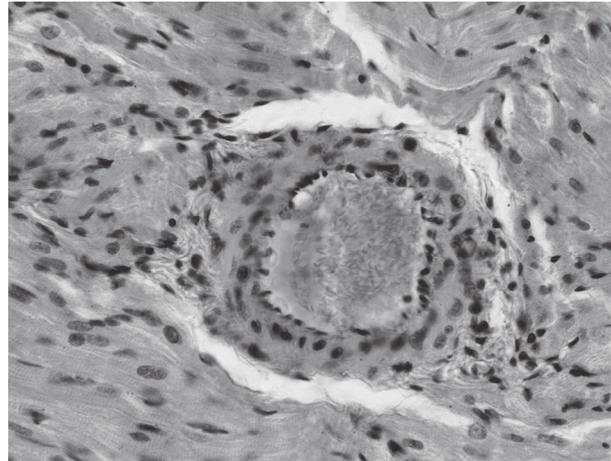


Рисунок 3 – Набухання та злучення ендотеліоцитів, оголення інтими артерії. Перивазальний набряк. Сладж еритроцитів у просвіті артерії міокарда. Набухання, нерівномірне розташування ендотеліоцитів, пролабування в просвіт. Гістологічний зріз міокарда щура з вінцевою артерією. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 36.: x40.

подібність ендотеліальної вистилки за рахунок значного набухання ендотеліоцитів (рис. 2).

Треба зазначити, що такі зміни спостерігалися вже через 24 години після моделювання СТС. Через три доби після проведення експерименту ураження ендотеліоцитів були максимальними. Спостерігалися значні ділянки оголення інтими, нерівномірне розташування ендотеліальних клітин на поверхні інтими, ділянки скупчення останніх поєднувалися з місцями оголення внутрішньої оболонки артерії, пролабування ендотеліоцитів в судинний простір та появу сладжів еритроцитів, що є передумовою виникнення тромозів артеріального русла (рис. 3). Подібні морфологічні ознаки ендотеліального ураження відзначали і у венах.

Висновки.

1. Результати дослідження кількості десквамованих ендотеліоцитів за умов шестигодинного мо-

делювання експериментального СТС свідчать про наявність ендотеліальної дисфункції в посткомпресійному періоді.

2. Морфологічний симптом осередкового «оголення» інтими судин досягає свого максимуму через три доби після припинення експериментального стиснення кінцівки і проявляється суттєвим збільшенням рівня циркулюючих десквамованих ендотеліоцитів у крові експериментальних тварин.

Перспективи подальших досліджень.

Морфологічне підтвердження синдрому ендотеліальної дисфункції повинно ґрунтуватися не тільки на основі кількості десквамованих клітин, а також на ступені їх структурного ремоделювання. Отже, важливим буде проведення електронномікроскопічного дослідження ендотеліоцитів.

Література

- Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol.* 2017;956:511-540. DOI: 10.1007/5584_2016_90.
- Oikonomou E, Siasos G, Tsigkou V, Bletsas E, Panoili ME, Oikonomou IN, et al. Coronary artery disease and endothelial dysfunction: Novel diagnostic and therapeutic approaches. *Curr Med Chem.* 2020;27(7):1052-1080. DOI: 10.2174/0929867326666190830103219.
- Chuiiko N. Rol endoteliiu u morfohenezi zmin sudyn holovnoho mozku pry metabolichnomu syndromi, uskladnenomu insultom. *Ukrainskyi naukovo-medychnyi molodizhnyi zhurnal [Internet].* 2014 [tsytovano 2021 Veres 03];2(81):83-87. Dostupno: <http://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/304>. [in Ukrainian].
- Khmil SV, Franchuk UY, Korda IV. Retrospektyvnyi analiz perebihu vahitnosti ta polohiv u zhinok iz piznim hestozom na tli metabolichnoho syndromu. *Visnyk naukovykh doslidzhen.* 2019;4:94-97. DOI: 10.11603/2415-8798.2018.4.9816. [in Ukrainian].
- Luchko IM, Huranych TV, Popadynets OH, Dubkovetska II, Voronych VO. Strukturni zminy endoteliiu endokarda livoho shluchochka shchuriv u pisliastresovomu periodi. *Art of medicine.* 2017;4(4):19-23. [in Ukrainian].
- Baraboi VA, Reznikov OH. Fizioloheia, biokhimiia i psykholoheia stresu. Kyiv: Interservis; 2013. 313 s. [in Ukrainian].
- Ihrunova KM. Mekhanizmy rozvytku poshkodzhen sertsia pry stressi ta yikh korektsiia. *Vynnytsia: Merkiuri-Podillia;* 2014. 239 s. [in Ukrainian].
- Yuryk Yal, Kryvyi PD, Bodnar Yala, Yuryk II, Petrechko IR, Sharyk MV, vynakhidnyky; Ternopilskyi natsionalnyi medychnyi universytet imeni I. Ia. Horbachevskoho MOZ Ukrainy, patentovlasnyk. Prystrii rehulovanoi kompresii dlia eksperymentalnoho modeliuвання syndrome tryvaloho stysnennia i travmatychno shoku. Patent Ukainy № 146513. 2021 Liut 25. [in Ukrainian].
- Nechaev EA, Revskoy AK, Savitskiy GG. Sindrom dlitel'nogo sdavleniya: rukovodstvo dlya vrachev. Moskva: Meditsina; 1993. 208 s. [in Russian].
- Sivak VV, Tymofieva NV, DynnykOB, Myshanych OM, MostovyiSle, vynakhidnyky; Sivak VV, Tymofieva NV, Dynnyk OB, Myshanych OM, Mostovyi Sle, patentovlasnyky. Sposib vyznachennia vilnotsyrkuluiuchykh endotelialnykh klityn v krovii. Patent Ukainy № 25012. 2007 Lup 25. [in Ukrainian].
- Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 52 p.

ЕНДОТЕЛІАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СИНДРОМУ ТРИВАЛОГО СТИСНЕННЯ

Юрик Я. І.

Резюме. При синдромі тривалого стиснення ендотеліоцити першими реагують на міоглобін, лізосомальні та мітохондральні ферменти, гістамін, серотонін, продукти анаеробного гліколізу, вільні радикали, які у великих концентраціях попадають в кров'яне русло. *Метою роботи* було з'ясувати ступінь морфофункціо-

нального ремоделювання ендотеліоцитів у посткомпресійному періоді СТС. *Об'єкт і методи дослідження.* Дослідження проведено на 40 білих лабораторних щурах. Експериментальну групу склали 32 тварини, які було поділено на чотири підгрупи по 8 особин у кожній, яких виводили з експерименту через 24 години, 3, 7 та 14 діб після моделювання СТС. Контрольну групу становили 8 інтактних щурів. СТС моделювали шляхом стискання м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки за умов знеболення у спеціально сконструйованому нами пристрої, сила компресії становила 7 кг/см² протягом 6 годин. Визначення кількості циркулюючих в крові десквамованих ендотеліоцитів (ДЕЦ) проводили за методом J. Hladovec (1978) в модифікації В. В. Сівак (2007). Гістологічні препарати забарвлювали гематоксином та еозином. *Результати.* Кількість десквамованих ендотеліоцитів (ДЕЦ) у інтактних щурів становила $(3,63 \pm 0,40) \times 10^4$ /л. Через 24 години після експерименту кількість десквамованих ендотеліоцитів зросла в 2 рази та становила $(7,13 \pm 0,25) \times 10^4$ /л ($p < 0,01$). Через три доби кількість ДЕЦ становила $(7,75 \pm 0,52) \times 10^4$ /л, що було більше у 2,13 рази у порівнянні з інтактними тваринами. Через сім діб кількість ДЕЦ становила $(6,25 \pm 0,48) \times 10^4$ /л, що було більше у 1,7 рази при $p < 0,05$. Через 14 діб після моделювання СТС кількість ДЕЦ становила $(5,38 \pm 0,40) \times 10^4$ /л, що було більше у 1,5 рази ($p < 0,05$) порівняно з інтактними тваринами. При морфологічному дослідженні виявлено ділянки оголення інтими судин за рахунок злущення ендотеліоцитів, які набували різних розмірів та змінювали форму, зустрічалися клітини з набряком цитоплазми, явищами каріопікнозу та каріолізису.

Ключові слова: синдром тривалого стиснення, десквамовані ендотеліоцити, щури.

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN RATS UNDER EXPERIMENTAL CRUSH SYNDROME

Yuryk Ya. I.

Abstract. At crush syndrome, endothelial cells are the first to respond to myoglobin, lysosomal and mitochondrial enzymes, histamine, serotonin, anaerobic glycolysis products, and free radicals, which enter the blood stream in high concentrations. The *aim of the study* was to determine the degree of morphofunctional remodeling of endothelial cells in the postcompression period of crush syndrome. *Object and methods of research.* The study was performed on 40 white laboratory rats. The experimental group consisted of 32 animals, which were divided into four subgroups of 8 individuals each, which were removed from the experiment 24 hours, 3, 7 and 14 days after simulation of crush syndrome. The control group consisted of 8 intact rats. Crush syndrome was simulated by compressing the soft tissues of the right pelvic limb under anesthesia in a specially designed device, the compression force was 7 kg/cm² for 6 hours. Determination of the number of circulating in the blood desquamated endothelial cells (DEC) was performed by the method of J. Hladovec (1978) in the modification of V.V. Sivak (2007). Histological preparation were done with hematoxylin and eosin. *Results.* The number of desquamated endothelial cells (DEC) in intact rats was $(3,63 \pm 0,40) \times 10^4$ /l, 24 hours after the experiment, the number of desquamated endothelial cells doubled and was $(7,13 \pm 0,25) \times 10^4$ /l ($p < 0,01$). Three days later, the amount of DEC was $(7,75 \pm 0,52) \times 10^4$ /l, which was 2, 13 times more in compared to intact animals. After seven days, the number of DEC population $(6,25 \pm 0,48) \times 10^4$ /l, which was 1,7 times higher at $p < 0,05$. 14 days after crush syndrome simulation, the number of DEC of the population $(5,38 \pm 0,40) \times 10^4$ /l, which was 15 times ($p < 0,05$) compared to intact animals. Morphological examination reveals areas of denudation of intimate vessels, which are aimed at the release of endothelial cells, which load different sizes and change shape, there are cells with swelling cytoplasm, phenomena karyopyknosis and karyolysis.

Key words: crush syndrome, desquamated endotheliocytes, rats.

ORCID автора та його внесок до статті:

Yuryk Ya. I.: 0000-0001-7690-9307 ^{ABCD}

Адреса для кореспонденції

Юрик Ярослав Ігорович

Тернопільський національний медичний університет

Адреса: Україна, 46001, м. Тернопіль, вул. Руська, 12

Тел.: +380968510988

E-mail: iyuryk@ukr.net

A – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Білаш С. М.

Стаття надійшла 16.06.2021 року

Стаття прийнята до друку 01.08.2021 року