

тим коразоловим кіндлінгом. На моделі віддаленого в часі коразолового кіндлінгу (3 тиж. перерви введення епілептогену з моменту відтворення кіндлінгу) протисудомна дія, а саме зменшення тяжкості судом, спостерігалася при застосуванні похідного ПАБФ дозою 0,5 мг/кг.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабушкина А. В. Актуальные вопросы неврологии, психиатрии и наркологии (по материалам научного симпозиума и пленума Научно-практического общества неврологов, пси-

хиатров и наркологов Украины) / А. В. Бабушкина // Український медичний часопис. — 2009. — № 6. — С. 20-21.

2. Моделирование и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома / Л. С. Годлевский, Е. В. Коболев, В. Ф. Мустяца, Г. А. Дроздова. — Одесса : ОКФ, 2010. — 352 с.

3. Шандра А. А. Киндлинг и эпилептическая активность / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. И. Брусенцов. — Одесса : Астропринт, 1999. — 270 с.

4. Differences between the tolerance characteristics of two anticonvulsant benzodiazepines in the amygdaloid-kindled rat / K. Amano, S. Katsuragi,

J. Takamatsu [et al.] // Life Sci. — 2001. — Vol. 69, N 9. — P. 1049-1055.

5. Musto A. E. Different phases of afterdischarge during rapid kindling procedure in mice / A. E. Musto, M. S. Samii, J. F. Hayes // Epilepsy Res. — 2009. — Vol. 85, N 2-3. — P. 199-205.

6. Тотрова М. Ю. Структура и биокинетика производных пептидамидобензофенона и их активных метаболитов : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. хим. наук : спец. 02.00.10 / М. Ю. Тотрова. — Одесса, 1989. — 19 с.

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / за ред. чл.-кор. АМНУ О. В. Стефанова. — К. : Авіценна, 2001. — 528 с.

УДК 615.454.1:616.14-02:547.995.12

В. А. Рибак, В. М. Кузнєцова

ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ГІСТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ДІЇ МАЗІ «ТРОФЕПАРИН» ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТРОМБОФЛЕБІТІ

Національний фармацевтичний університет, Харків

Проблема гарних ніг є не тільки косметичною, але й медичною. За даними медиків, близько 80 % жінок страждають на захворювання вен нижніх кінцівок, найчастіше — на варикозне розширення та тромбофлебіт. Чоловіки хворіють на них у п'ятеро рідше. За образним висловлюванням J. van der Stricht, варикозна хвороба стала «платою людства за можливість прямоходіння» [1].

Тромбофлебіт як ускладнення варикозної хвороби розвивається не відразу — через п'ять років у 10–15 % випадків, через 10 років — у 50 % [1–3]. Підступність варикозної хвороби полягає в тому, що дуже довго вона залишається лише косметичним дефектом і не завдає людині особливих незручностей. Поява відчуття тяжкості та втоми в ногах, невеликих розширених вен на гомілці (судинних «зірочок» і «сіточок») — це перший сигнал про неблагополуччя. Коли з'являються набряки, шкіра темніє і стає «лако-

вою», забої та порізи на ногах довго не заживають — це вже другий, тривожніший сигнал: організм вичерпав можливості справитися з хворобою самостійно, і терміново потрібна допомога фахівця. Небезпечна варикозна хвороба і своїми ускладненнями. Трофічні виразки виникають через поганий відтік крові, і зонайменша травма провокує їх розповзання по всій гомілці. У варикозно розширених венах часто утворюються тромби, які у разі їх відриву від стінки судини з потоком крові потрапляють у легеневу артерію. Виникає тромбоемболія. Це вже загроза не тільки здоров'ю — життю. От чому з варикозом необхідно боротися на будь-якій стадії, не чекаючи ускладнень [3; 4].

Для досягнення успіху в лікуванні потрібно впливати на основні механізми розвитку хвороби: укріплювати стінку судини, покращувати властивості реологій крові та стан внутрішньої стінки судин. Безумовно,

ефект лікування залежить від стадії хвороби, на якій воно розпочато. Лікувально-реабілітаційна програма поєднує фізіотерапевтичне лікування і медикаментозну корекцію [4].

М'які лікарські форми (мазі: гепаринова, гепароїд, венітан (мазь і гель), венал крем, венозний гель доктора Тайса; гелі: репарил, гінкор, аесцин, долобене, венорутон, троксерутин, троксевазин) займають важливе місце в лікуванні та профілактиці варикозної хвороби, тромбофлебіту, вони користуються великою популярністю у лікарів і пацієнтів [4; 5].

За даними літератури, найпопулярнішими засобами в лікуванні варикозної хвороби, гострого тромбофлебіту є місцеві лікарські засоби з гепарином [3; 4]. Так, на кафедрі промислової фармації Національного фармацевтичного університету було створено нову комбіновану мазь «Трофепарин», до складу якої увійшли: гепарин — 0,07 г (10 000 ОД), метилура-



цил — 10,0 г (10 %) на гідрофільній поліетиленоксидній основі (ПЕО-400 та ПЕО-1500 у співвідношенні 8 : 2) [6].

Метою нашої роботи було гістологічне та гістохімічне дослідження профілактичної дії мазі «Трофепарин» при експериментальному тромбофлебіті.

Матеріали та методи дослідження

Тромбофлебіт спричинювали за модифікованою методикою Розенова [7]. Така модель дозволяє отримати порушення кровообігу внаслідок стазу і запалення венозної стінки, що характерно для більшості тромботичних станів у людини [8].

Тромбофлебіт відтворювали у 50 наркотизованих барбамілом щурів обох статей масою 200–220 г. Запальну реакцію, завдяки якій експериментальний венозний тромбоз переходить у тромбофлебіт, моделювали введенням у хвостову вену щурів 0,2 мл 0,5%-го розчину Люголя.

З метою дослідження профілактичної дії мазі «Трофепарин» вивчали динаміку гістоморфологічних і головних гістохімічних компонентів венозної стінки хвоста щурів без лікування і в умовах терапії різними дослідними зразками мазей відразу після моделювання тромбофлебіту. Препаратами порівняння були обрані гепаринова і метилурацилова мазі на вазелін-ланоліновій основі виробництва ЗАТ «ФФ «Дарниця»», Україна.

Усіх тварин розподілили на п'ять груп (по 10 тварин у кожній): перша група — інтактна; друга — контрольна (лікування тромбофлебіту не проводилося); третя — на шкіру хвоста в ділянці введення розчину Люголя наносили мазь з гепарином, четверта — мазь з метилурацилом, а п'ята — мазь «Трофепарин». На поверхню шкіри, що підлягала профілактиці внаслідок тромбофлебіту, наносили смужку мазі (з гепарином, з метилурацилом, «Трофепарином») довжиною 3 см (1 г) з туби діаметром 5 мм двічі на день. У різні терміни експе-

рименту (1-ша, 3-тя, 5-та, 8-ма, 12 і 15-та доба) тварин декапітували, виділяли уражені венозні судини (в проводку брали частину хвоста і робили тотальний препарат з декальцинацією хребців), фіксували в 10%-му нейтральному розчині формаліну, ущільнювали в спирті в наростаючій концентрації, заливали парафіном.

Для гістоморфологічного дослідження препарати забарвлювали гематоксилін-еозином і за Ван-Гізоном з еластиком. Гістохімічні дослідження проводили на виявлення фібріну — забарвлювали препарати за Малорі, а також на виявлення кислих і нейтральних мукополісахаридів — ставили ШІК-реакцію з додатковим забарвленням альціановим синім (далі ШІК + А).

Результати дослідження та їх обговорення

Стінки вен утворені трьома добре визначеними оболонками: внутрішньою — інтимою, середньою — м'язовою і зовнішньою — адвентицією (рис. 1).

Інтима являє собою суцільний шар ендотеліальних клітин, які лежать на базальній ШІК-позитивній мембрані та мають округлі або плоскі ядра і вузький підендотеліальний шар, який складається з тонковолокнистої пухкої сполучної тканини. При забарвленні за Ван-Гізоном з еластиком визначаються тонка еластична мембрана між інтимою та м'язовою оболонкою і короткі еластичні волокна в усіх оболонках. М'язова оболонка — це невелика кількість гладких міоцитів (2–3 шари) серед поодиноких колагенових і еластичних волокон. Адвентиційна оболонка об'ємна, являє собою тонкі пучки колагенових волокон, орієнтованих у різних напрямках, і велику кількість клітин, в основному фібробластичного ряду, і поодинокі лімфоцити, і плазмоцити. При забарвленні ШІК з альціановим синім відмічається фуксинофілія в усіх шарах стінки вени. У просвіті вен іноді визначається невелика кількість вільно розташованих еритроцитів.

Уже через добу після введення в вену розчину Люголя в стінці хвостової вени відмічаються патологічні зміни у вигляді ушкодження ендотелію та просочування білками плазми всіх оболонок. В оболонках зменшується кількість клітинних елементів, а в судині спостерігається повнокров'я і випадіння фібріну.

Через три доби стінка ушкоджених вен потовщується за рахунок набряку тканин усіх оболонок, особливо підендотеліального шару, в якому зникають усі клітини і волокна внаслідок фібриноїдного некрозу. У судині та в навколишніх тканинах з'являються нейтрофіли і макрофаги. Зруйнований ендотелій призводить до формування тромбу, можливо, вздовж периметра вени. В оболонках вен зменшується кількість ШІК-позитивних речовин (рис. 2).

Через сім діб у стінках вен серед клітин інфільтрату переважають нейтрофіли й ушко-

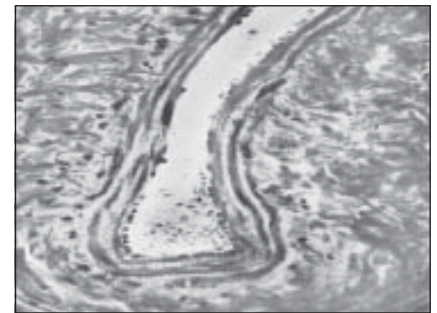


Рис. 1. Хвостова вена інтактних тварин. Забарвлення за Малорі. $\times 250$

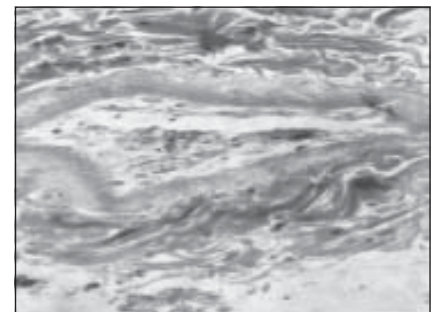


Рис. 2. Третя доба розвитку тромбофлебіту. Потовщення стінки вени за рахунок просочування білками плазми. Фрагментація пучків колагенових волокон. Наявність тромбу. Забарвлення за Малорі. $\times 250$



джені ядра інших клітин. У порожнині вени тромби зі зруйнованих еритроцитів, ядер запальних клітин і фібринових мас. Усе це свідчить про запальний аутоліз тромбу. У місці прикріплення тромбу спостерігається запальний інфільтрат і некроз стінки вени. Навколишні тканини інфільтровані нейтрофілами, зруйнованими еритроцитами і ядрами клітин. Колагенові волокна виглядають щільними гомогенними масами, вони втратили свою структуру і просочені білками плазми. У навколишніх тканинах спостерігається набряк і запальний інфільтрат.

У цей термін розвитку тромбофлебіту тридобове застосування мазі з гепарином призводить до розпушення тромбу, просочування інтими ексудатом, а в адвентиції колагенові волокна й основна речовина утворюють гомогенну масу. Відмічається зменшення кількості клітинних елементів у всіх оболонках, з'являються нейтрофіли та макрофаги.

В усіх випадках не відмічалось набряку стінки вен. Усі шари залишалися тонкими, за винятком застосування мазі з гепарином, при якому відмічалось потовщення підендотеліального шару за рахунок діapedезу еритроцитів. Еритроцитарна інфільтрація стінок і навколишніх тканин при застосуванні мазі з гепарином утримувалась до кінця експерименту. Утворення тромбів не відмічалось, але в усі терміни спостерігалися повнокровність судин і явища аглютинації еритроцитів і примикання їх до ушкоджених стінок у пізні терміни експерименту (рис. 3).

У стінках вени до п'ятнадцятої доби утримувались явища дисплазії тканин, і з дванадцятої доби приєднувалася запальна інфільтрація — в основному лімфоцитами і нейтрофілами.

При застосуванні мазі з метилурацилом на третю добу спостерігалось утворення тромбів і різне зменшення ШІК-

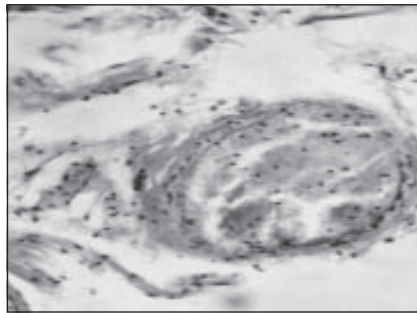


Рис. 3. П'ятнадцята доба розвитку тромбофлебіту і паралельного застосування мазі з гепарином. Аглютинація еритроцитів у порожнині вени, просочування їх у всі оболонки. Запальні клітини і порушення еластичного компонента. Забарвлення за Ван-Гізеном. $\times 160$

зитивних речовин в оболонках вен (рис. 4).

На п'яту добу відмічалася значна запальна реакція, але до десятої доби наставала організація тромбів, і в стінці йшли активні репаративні процеси. На п'ятнадцяту добу залишався постзапальний склероз стінки.

При застосуванні мазі «Трофепарин» утворення тромбів не спостерігалось. Не було еритроцитарної інфільтрації оболонок ушкоджених судин. На третю добу спостерігалися відновлення ендотеліального шару та поява м'язових клітин (рис. 5).

Уже через добу спостерігалась повнокровність судин у навколишніх тканинах, яка визначалась і на дванадцяту добу. Протягом дослідного періоду в оболонках вени визначалися ШІК-позитивні речовини (рис. 6), а ознак деполімеризації мукополісахаридів із нагромадженням ГАГ не спостерігалось. Через п'ятнадцять діб стінки вени були з добре означеними, але потоншеними оболонками без явищ склерозу та деструкції.

Висновки

Моделювання експериментального тромбофлебіту за методикою Розенова виявилось успішним — у всіх випадках спостерігався тромбоз вен і розвиток запального процесу в стінці вен хвоста щурів.

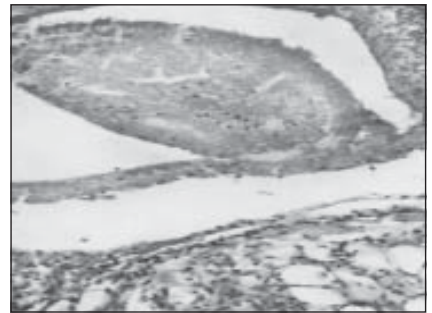


Рис. 4. Третя доба розвитку тромбофлебіту і паралельного застосування мазі з метилурацилом. Зменшення ШІК-позитивних речовин у стінці вени, нагромадження ГАГ у паравенозних тканинах. Формування пристінного тромбу. Забарвлення ШІК + А. $\times 160$

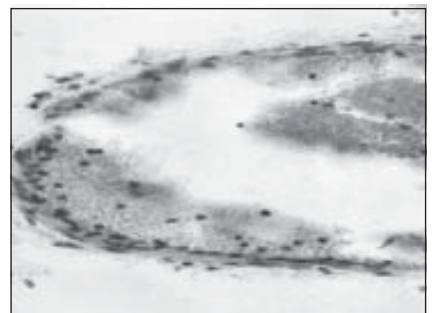


Рис. 5. Третя доба розвитку тромбофлебіту і паралельного застосування мазі «Трофепарин». Відновлення ендотеліального шару і поява м'язових клітин у стінці ураженої вени. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 250$

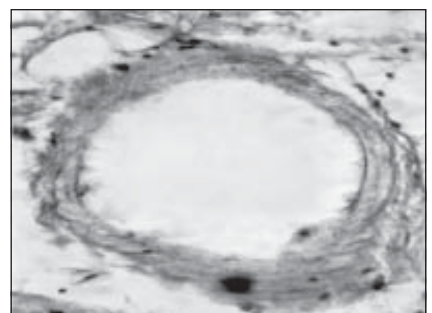


Рис. 6. Десята доба розвитку тромбофлебіту і паралельного застосування мазі «Трофепарин». Потовщена, слабо ШІК-позитивна внутрішня оболонка вени і тонка з невеликою кількістю ГАГ зовнішня оболонка. Майже відсутні клітинні елементи стінки. Забарвлення альціановим синім. $\times 250$



При профілактичному, місцевому лікуванні експериментального тромбофлебіту у щурів мазь із гепарином проявила антикоагулянтну дію, але затримувала процеси регенерації, а мазь із метилурацилом швидко зменшувала запалення та формувала тромби, але затримувала відновлення ушкоджених оболонок. Виражений профілактично-лікувальний ефект проявила мазь «Трофепарин»: зменшувала запальні явища в стінці вени та запобігала тромбоутворенню, за цими показниками переважала над препаратами порівняння (мазю з гепарином і мазю з метилурацилом).

ЛІТЕРАТУРА

1. Григорян Р. А. Варикозная болезнь / Р. А. Григорян, В. Ю. Богачев, И. А. Золотухин // Флебология ; под ред. акад. В. С. Савельева. — М. : Медицина, 2001. — С. 438-447.
2. Рибак В. А. Сучасні уявлення про запальні процеси вен та принципи їх фармакологічної корекції / В. А. Рибак, В. М. Кузнєцова // Одеський медичний журнал. — 2008. — Т. 106, № 2. — С. 59-63.
3. Богачев В. Ю. Патогенез и клинические проявления хронической венозной недостаточности нижних конечностей / В. Ю. Богачев, И. А. Золотухин // Флебология ; под ред. акад. В. С. Савельева. — М. : Медицина, 2001. — С. 409-415.
4. Кириенко А. И. Лечебные средства / А. И. Кириенко, В. Ю. Богачев, С. Г. Леонтьев // Флебология ; под ред. акад. В. С. Савельева. — М. : Медицина, 2001. — С. 129-163.

5. Перцев И. М. Ассортимент мазей на фармацевтическом рынке Украины / И. М. Перцев, С. А. Гуторов, Е. Л. Халева // Провизор. — 2002. — № 2. — С. 14-16.

6. Гриценко В. І. Розробка технології і термогравіметричний аналіз діючих компонентів мазі «Трофепарин» / В. І. Гриценко, В. І. Чуєшов, О. А. Рубан // Вісник фармації. — 2003. — Т. 34, № 2. — С. 53-56.

7. Малоштан Л. Н. Специфическое действие антикоагулянтного препарата «Апивен» на модели периферического тромбообразования / Л. Н. Малоштан, Е. В. Должикова // Лекарства — человеку. — 2001. — Т. XVI, № 1-2. — С. 348-351.

8. Яковлева Л. В. Гістологічні дослідження впливу венотропіну на перебіг експериментального тромбофлебіту / Л. В. Яковлева, Н. А. Цубанова, Ю. Б. Лар'яновська // Вісник фармації. — 2005. — Т. 42, № 2. — С. 57-61.

УДК 616-089.843:611.36+611.013+611.4+57.083

Р. В. Салютін

ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ГЕМОПОЕТИЧНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ФЕТАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ ЗА РІЗНИХ УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ

Національний інститут хірургії та трансплантології
ім. О. О. Шалімова АМН України,
Координаційний центр трансплантації
органів, тканин і клітин МОЗ України, Київ

Вступ

Клітинна терапія, що проводиться з використанням як аутологічного, так і аlogenного матеріалу, є одним із найпріоритетніших напрямків розвитку сучасної медицини [1-2].

Клінічна трансплантація стовбурових клітин (особливо кісткового мозку) все ширше застосовується для відновлення тканин після видалення ракових утворень, заміщення кісткових і хрящових дефектів, відновлення шкірного покриву після опіків, функціонального відновлення ушкоджених тканин серця і мозку, спричинених інфарктами, інсультами і дегене-

ративними захворюваннями, а також для лікування критичної ішемії нижніх кінцівок, відновлення функцій печінки і стимуляції кровотворення [3-5].

Однак застосування клітин аутологічного походження має і свої недоліки — зменшення популяції стовбурових клітин відносно віку, нагромадження дефектних генів, болючість при отриманні матеріалу, необхідного для виділення клітинної популяції, — тому звертає на себе увагу дослідників унікальне і неповною мірою досліджене джерело плюрипотентних стовбурових клітин — фетальна печінка.

Враховуючи значний клінічний потенціал гемопоетичних

стовбурових клітин і визначення перспективності їх використання в комплексному лікуванні хворих із хронічною ішемією кінцівок, нами було проведено експеримент, мета якого полягала у дослідженні, за допомогою імуногістохімічних методів, процесів, що відбуваються в м'язовій тканині після трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин фетальної печінки (ГСКФП) залежно від різних умов їх трансплантації.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальна частина роботи була виконана на базі відділу експериментальної хі-

