

**ESCHERİCHİA COLI (E.coli) ENDOTOKSEMİYASI ZAMANI ÖDEM MAYESİNİN
TƏSİRİNDƏN OTURAQ SİNİRİ QIŞALARINDA BAŞ VERƏN DƏYİŞİKLİKLƏRİN
ULTRASTRUKTUR ƏLAMƏTLƏRİ**

Xülasə

Tədqiqat işi E.coli endotoksemiya zamanı əmələ gələn ödem mayesinin oturaq siniri qışalarına ilkin təsiri əlamətləri və bu zaman qışalarası baş verə biləcək morfofunksional dəyişikliklərin ultrastruktur səviyyədə öyrənilməsi qarşıya məqsəd qoyulmuşdur. Kəskin endotoksemiya modeli yaradılması məqsədilə E. coli endotoksini (Serotip 0111: B 4 qrup; İn vivo Gen, San Diego, USA, № 78H4086) 1 mq/kg olmaqla 0,5 ml fizioloji məhlulda həll edilərək ağ siçovulların quyruq venasına vurulmuşdur. Hazırlanmış 70-100 nm qalınlıqlı gümüşü və qızılı ultranazik kəsiklər elektron mikroskopunda tədqiq edilmişdir. Müəyyən edildi ki, birmənalı olaraq bütün hallarda endotoksemiya zamanı endonevral ödem mayesi əmələ gəlir. Ödem mayesinin təsiri ilkin olaraq mexaniki xarakterli olmaqla ilkin olaraq əsas bəyir funksiyasının malik olan perinevriumu zədələyir ki, nəticədə toksiki maddələr asanlıqla daxilə keçərək digər iki qışasında zədələnməsinə səbəb olur.

Açar sözlər: *endotoksin, endotoksemiya, oturaq siniri, ödem mayesi*

**Escherichia Coli (E.coli) endotoxemia ultrastructure cover of changes in the sitting nervous
Under the effect of edemic liquid**

Summary

The aim of the study was to study at the ultrastructural level the initial effects of edematous fluid on E. coli endotoxemia and its possible morpho functional changes. In order to create a model of acute endotoxemia, E. coli endotoxin (Serotype 0111: B 4 group; Invivo Gen, San Diego, USA, № 78H4086) was dissolved in 1 mg / kg in 0.5 ml of saline and injected into the tail veins of white rats. The prepared 70-100 nm thick silver and gold ultrathin sections were examined under an electron microscope. In all cases, the formation of endothelial edema fluid during endotoxemia was clearly identified. The effects of edema fluid are mainly mechanical and damage the perineurium, which primarily has a primary barrier function, causing toxic substances to easily penetrate and damage the other two membranes.

Key words: *endotoxin, endotoxemia, sciatica, edema*

Giriş

Bakterial endotoksinin geniş yayılmış növü olan E.coli endotoksini qram-mənfi bakteriyaların hüceyrə zərinin xarici səthində olan lipopolisaxaridlərdir (LPS). Son dövürlərdə molekulyar biologiyanın inkişafı nəticəsində məlum olmuşdur ki, hətta müəyyən qram müsbət bakteriyalarda da endotoksina rast gəlinə bilər. İnsanlarda bu bakteriyala əsasən yoğun bağırsaqlarda kolonizasiya olunurlar [3, 6]

E.coli endotoksininin periferik qan plazmasındakı konsentrasiyası 1,0 EU/ ml-ə çatır. LPS-lər fizioloji halda immunitətdə, xüsusilə də borulu üzvlərin immunitetində (mukozal immunitet) iştirak edən hüceyrələrin (dendritik, T- və B- limfositlər) qarşılıqlı əlaqəsində, embrional qanyaranmada, tənəffüs sisteminin inkişafında, xüsusilə ağ ciyər alveollarının formalaşmasında mühüm rol oynayırlar [14]. Endotoksinlərin orqanizmə mürəkkəb təsir yolları vardır. Hətta ana bətnindəki dölə daxil olan kiçik dozada endotoksin immun sistemin möhkəmlənməsinə, sonralar isə makroorqanizmin adaptasiyasına xidmət etdiyi halda, onun qana daxil olan miqdarının artması nəticəsində artıq “endotoksin aqressiyası” daha doğrusu onun patoloji təsiri yaranır. Nəticədə antiendotoksin immunitetin zəifləməsi və bəzən itməsi səbəbindən sepsis, septik şok, eklamsiya və hətta kəskin respirator infeksiyalar qeyri-infeksiyon hepatit, ateroskleroz, miokard infarktı və s. kimi xəstəliklərin baş verməsində əsas rol oynayırlar [7, 13]. Ədəbiyyat məlumatına görə hətta inkişaf etmiş ölkələrdə belə kəskin endotoksemiya zamanı ölüm halları hələdə 60-80 faizi keçir [2]. Odur ki, demək olar

ki, bütün dünyada onun dərindən öyrənilməsinə olan maraq getdikcə daha da artmaqdadır. Bu məqsədlə ayrıca Beynəlxalq Endotoksin Cəmiyyəti yaradılmış və “Journal of Endotoxin Research” jurnalı nəşrə başlamışdır.

Məlumdur ki, bütün hallarda endotoksemiya zamanı ödem mayesi formalaşır. Uzun illər endotoksemiya nəticəsində ödem mayesinin yaranmasının əsas səbəbi kimi tosqun hüceyrələrin deqranulyasiyası zamanı ayrılmış bir sıra sitokinlərin (şiş nekroz faktoru, interleykinlər, tromboksan A2, prostoglandinlər və s.) təsiri hesab edilirdi. Artıq son illərdə müəyyən edilmişdir ki, bu prosesdə mononuklear faqositlər də əsas rol oynayırlar.

Həmçinin son illərdə periferik sinirlərdə də baş verən patoloji proseslərin nəticəsində müxtəlif növ xəstəliklərin dinamik artması, bu proseslərində patogenezinin öyrənilməsinə böyük maraq oyatmışdır [11,15]. Məlum olmuşdur ki, periferik sinirlərin ənənəvi olaraq qəbul edilmiş hər üç qışasında [10], müxtəlif endogen və ekzogen faktorların təsirindən onların struktur elementlərində, xüsusilə birləşdirici toxuma qışaları və damar sistemində ciddi funksional pozğunluqlar baş verir. Bu zədələnmələr zamanı meydana çıxan patologiyalar əsasən üç əsas qrupa bölünürlər: neyronopatiya, aksonopatiya və demielinizasiya [9,16]. Endotoksemiya zamanı periferik sinirlərin mikrodamarlarının keçiriciliyinin pozulması kifayət qədər öyrənilsə də [8, 17] lakin, baş verən patologiyalar zamanı hər üç qışa arasında qarşılıqlı olaraq hansı morfofunksional dəyişikliklərin baş verməsinin ultrastruktur səviyyədə müqaisəli şəkildə tədqiqinə az rast gəlinir [5].

Məqsəd. E. coli endotoksininin təsirindən baş verən kəskin endotoksemiya zamanı əmələ gəlmiş ödem mayesinin təsirlə oturaq siniri qışalarının struktur elementlərində baş verən morfofunksional dəyişikliklərin ilkin əlamətlərinin ultrastruktur səviyyədə müqaisəli olaraq müəyyən etməkdir.

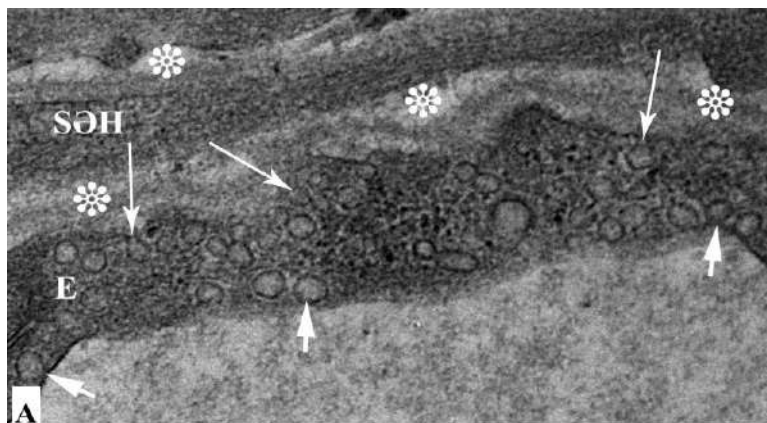
Material və metodlar. Tədqiqatın obyektı çəkisi 200-260 qram olan, 15 baş yetkin ağ siçovul və onlardan əldə edilmiş oturaq sinirinin hissələridir. Tədqiqat zamanı makro-mikroskopik təşrih, işıq və elektron-mikroskopik, morfometrik və statistik metodlardan istifadə edilmişdir.

Kəskin eksperimental endotoksemiya modeli yaradılması məqsədilə təmizlənmiş E. coli endotoksini (Serotip 0111: B 4 qrup; İn vivo Gen, San Diego, USA, № 78H4086) 1 mq/kq olmaqla 0,5 ml fizioloji məhlulda həll edilərək ağ siçovulların quyruq venasına yeridilmişdir (n=10). Nəzarət qrupuna daxil edilmiş 5 baş ağ siçovulun quyruq venasına isə yalnız 0,5 ml fizioloji məhlul vurulmuş və 2 saatdan sonra eksperimental heyvanlarla tələb olunan davranış qaydalarına əməl edilməklə bloklar hazırlanmışdır. Həmin bloklardan LKB III və Reichert ultramikrotomlarında yarımnazik və ultranazik kəsiklər hazırlanmışdır. İstər metilen abısı, istərsə də F.[D'Amico](#) [4]. üsulu ilə rənglənmiş yarımnazik kəsiklər Almaniyanın “Leitz” firmasının istehsalı olan “Lati Met” mikroskopunun köməkliyi ilə tədqiq edilmişdir. Lazımı hissələrin mikrofototəşkilləri müxtəlif böyüdücülər altında ABŞ istehsalı olan rəqəmsal “Pixera” fotokamerasının vasitəsilə çəkilmişdir.

Elektron mikroskopunda tədqiq edilmək üçün alınmış 70-100 nm qalınlıqlı gümüşü və qızılı ultranazik kəsiklər hazırlandıqdan sonra 75-80 kv gərginlik altında Yaponiya istehsalı olan Hitachi- HU-12A, JeoL-1100 və JeoL-1200 CX elektron mikroskoplarında tədqiq edilmişdir.

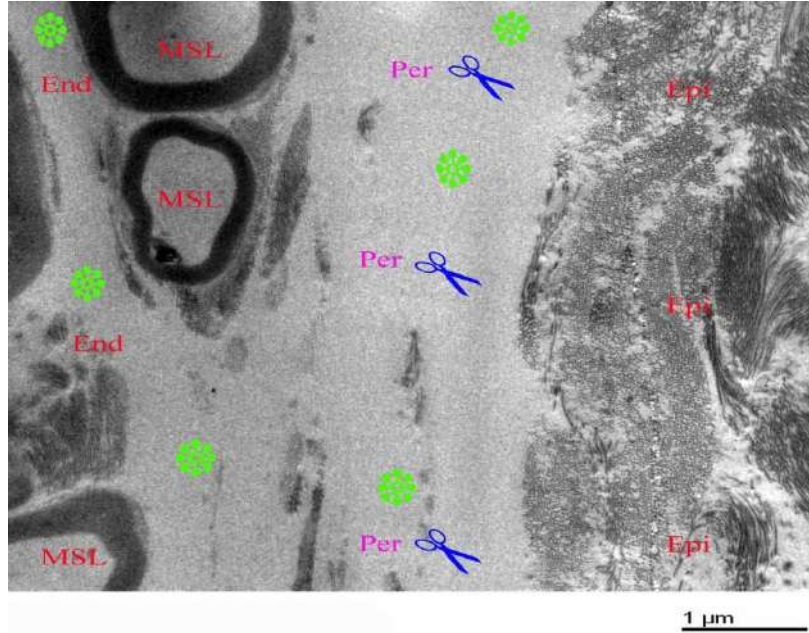
Alınmış məlumatlar əsasında biometrik variasion-statistik metoddan istifadə edilərək, variasiya sıraları tərtib edilmişdir (n=10).

Əldə edilmiş məlumatlar. Müəyyən edildiki ki, birmənalı olaraq bütün hallarda E.coli endotoksinini vena daxilinə yeridildikdən 2 saat sonra aparılmış elektron-mikroskopik müayinə zamanı endonevral ödem yaranması müşahidə edilir.



Şək. 1. Kəskin endotoksemiya zamanı ödem mayesinin elektron-mikroskopik görünüşü (ulduzla göstərilmişdir). TEM. Böyütmə: a) miqyas – 10 nm.

Müəyyən edildi ki, kəskin endotoksemiya zamanı hər üç qışa arasında patoloji hallar törədən ilkin səbəb hüceyrə və toxmalararası toplanmış endonevral ödem mayesidir. Sonrakı müşahidələr göstərir ki, ödem mayesinin təsirindən qışalar arasında baş verən ilkin təsir əsasən mexaniki xarakter daşıyır. Nəticəsində ilkin olaraq əsas baryer funksiyasının malik olan perinevrium qışası zədələnməyə məruz qalır ki, bununlada baryer funksiyası pozulur və bu səbəbdən də toksiki maddələr asanlıqla daxilə keçərək digər iki qışasında zədələnməsinə səbəb olurlar.

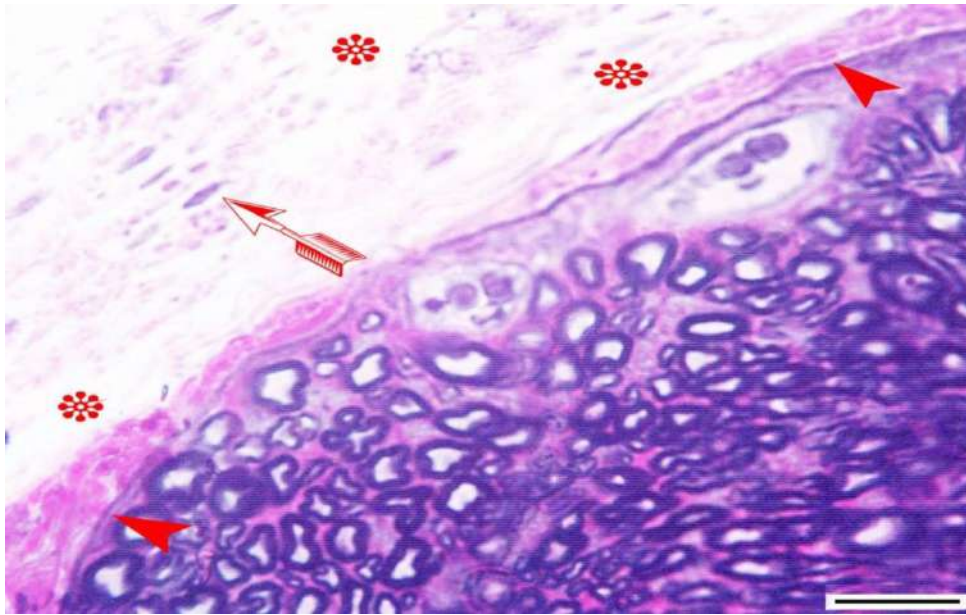


Şək. a2. Perinevrium qışasının tamlığının pozulması nəticəsində epi və endonevriumda baş verən dəyişikliklərin elektron-mikroskopik şəhili. TEM. Böyütmə: miqyas -1 mkm.

Endonevrial sahədə yerləşən sinir liflərinin müxtəlif dərəcəli deformasiyaları ilə yanaşı ödem mayesinin təzyiqi altında epinevr qışasının tərkibində yerləşən kollogen liflərinin xeyli hissəsinin qeyri-müəyyən istiqamətdə yerləşmələri baş verir. Perinevrial qışanın yerində görünən nazik III tip kollogen lifin dəstələrinin aşkar edilməsi sonuncuların endonevrial qışaya məxsus olmasına dəlalət edir. Perinevral hüceyrələrin qatları arasında və endonevral sahədə yerləşən liflərin demək olarki hamısı kiçik diametrli (25-30 nm) III tip kollogendən təşkil olduğu halda, mezenximal mənşəyə malik olan epinevral qışanın tərkibində hüceyrəarası maddədə yerləşən fibrilyar strukturların tam əksəriyyəti iri diametrli (40-45 nm) I tip kollogen liflərdən ibarət olduğu müşahidə olunur [1;12].

Kəskin endotoksemiya zamanı ödem mayesinin təzyiqi nəticəsində ilk olaraq diqqəti cəlb edən əlamətlərdən biridə epinevr qışasında bütün epinevri boyu yerləşən strukturların mexaniki olaraq aralanması və bunun nəticəsində epinevriumun ümumi sahəsinin artmasıdır. Həmçinin epinevr qışanın tərkibində iştirak edən hüceyrələr arasında fibrositlər üstünlük təşkil etdiyi halda, onun tərkibində yerləşən tosqun hüceyrələrin isə ancaq hissəvi olaraq deqranulasiyaya uğraması müəyyən edildi. Digər nəzər diqqəti cəlb edən vacib məsələ ödem mayesinin təzyiqi nəticəsində mioendotel əlaqəsi yerləşdiyi hissədən bir qədər yuxarıda hüceyrə zarının tamlığının pozulmasıdır.

Tədqiqat nəticəsində müəyyən edildi ki, bəzən perinevral qışa elementlərinin tamlığı pozulmasada, epinevr qışasının sinir dəstələri arasında yerləşən hissələrdə kollegen lifləri toplantıları arasında olan sahələr genişləndiyi halda, epinevr qışasının sinir dəstəsini əhatə edən dərin hissələrində interstisial mayenin cəryanında iştirak edən yarıqşəkilli sahələrin ölçülərində nəzərə çarpacaq dəyişikliklər görsənir. Bunun əksinə yəni perinevr qışasının tamlığı pozulduqda isə, endonevrial sahədən xaric olan ödem mayesinin təzyiqi ilə epinevr qışasının dərin hissəsində yerləşən kollogen liflər toplantıları arasında sonuncuların ölçülərindən böyük ölçülü genişlənmiş sahələrin əmələ gəlməsi hətta işıq mikroskopu ilə də aydın görsənir. Şəkil-3, (ulduzla göstərilmişdir).



Şək. 3. Kəskin endotoksemiya zamanı perinevrium qışasının tamlığının pozulduğu halda epinevr qışasının dərin hissəsində baş verən dəyişikliklərin işıq mikroskopik şəkli.

Şəkil 3-də görüldüyü kimi perinevr qışasının pozulduğu sahə mikroskopik ölçülərə malik olduğu halda, epinevr qışasının kollogen lifli dəstələrinin zədə yerindən uzaqda kifayət qədər geniş ölçüdədirlər (bəzəkli oxla göstərilib).

Həmin nəhiyədən hazırlanmış ultranazik kəsiklərin TEM müayinəsi isə göstərir ki, fibrositlər və onların çıxıntıları ətraf birləşdirici toxma elementlərindən aralanaraq sanki ödem mayesində üzürlər. Perinevrial və endonevrial sahələrinin həcmindəki fərq epinevriumla müqayisədə nəzərə çarpacaq dərəcədə olmasa da ancaq struktur dəyişikliklər daha qabarıq nəzərə çarpır.

Nəticə

Müəyyən edildi ki, E.coli endotoksininin təsiri ilə baş verən kəskin endotoksemiya zamanı birmənalı olaraq bütün hallarda yaranan ödem mayesinin əsasən mexaniki xarakterli olan təsirlə ilkin olaraq oturaq sinirinin ən çox bəyər funksiyasına malik olan perinevrial qışasının tamlığının zədələnməsi baş verir ki, bu səbəbdən də toksiki maddələrin asanlıqla sinir daxilinə keçməsi nəticəsində digər iki qışanın da sinir liflərinin normal fəaliyyəti üçün vacib olan endonevrial mühitində də patoloji dəyişikliklərin baş verməsi labüddür.

Ədəbiyyat

1. Alfano J., Collmer A. Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defense. *Annu Rev. Phytopathol.*, 2004, v. 42, p.385-414
2. Annane D., Aegerter P., Jars- Guincestre M. et.al. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *Am. J.Respir. Crit. Care Med.*, 2003, v.168, p.165-172
3. Белский В.В., Московцева А.И. Колонизация escherichia coli кишечника и частота выявления плазмидных факторов множественной лекарственной устойчивости и колицигенности у детей на протяжении первого года жизни. *Педиатрия*, 2007, т. 86, № 1, с.25-28
4. D'Amico F. A polychromatic staining method for epoxy embedded tissue: a new combination of methylene blue and basic fuchsine for light microscopy. *Biotech. Histochem.*, 2005, v.80, № 5-6, p. 207-210
5. Eckersley L. Role of the Schwann cell in diabetic neuropathy *International Review of Neurobiology*, 2002, v.50, p.293-321
6. Grad Y., Lipsitch M., Feldgarden M., et al. Genomic epidemiology of the Escherichia coli O104:H4 outbreaks in Europe, 2011 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; v.109, № 8, p.3065-3070
7. Gasimov E., Eyyubova G., Aliarbekova A. et al. Endotoxin of E. coli as an initiator factor of neuroinflammation *Perorts National Academy of Sciences of Azerbaijan*, 2011, v. LXVII, № 4, p. 107-116.
8. Georgakis E., Soames R. Arterial supply to the sciatic nerve in the gluteal region *Clin Anat.*, 2008, v.21, № 1, p. 62-65
9. Жулев Н.М. Невропатии. Санкт-Петербург: СПбМАПО, 2005, 416 с.

10. Key A., Retzius G. Studien in der Anatomie des Nervensystems und des Bindegewebes. Stockholm: Samson and Wallin, 1876, v.2, p. 102-112.
11. Гасымов Э.К. Ультраструктурные особенности строения клеточных и неклеточных элементов эндоневрия у человека. Сборник научных статей международной конференции, посвященной к 100-летию со дня рождения проф. К.А.Балакишиева. Баку, 2006, с.236-240.
12. Ohta M., Okajima S., Hirakawa H. et al. Expression of tight and gap junctional proteins in the perineurial window model of the rat sciatic nerv. *Int. J. Neurosci*, 2005, v.115, № 10, p.1469-1481.
13. Russell J. Management of sepsis. *N. Engl. J. Med.*, 2006, v.355, № 16, p.699-713.
14. Sawai A., Ito Y., Mizuno M. et al. Peritoneal macrophage infiltration is correlated with baseline peritoneal solute transport rate in peritoneal dialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant*, 2011, v.26, № 7, p.2322-2332.
15. Sano Y., Kanda T. Isolation and properties of endothelial cells forming the blood-nerve barrier. *Methods in molecular biology* (Clifton, No J.), 2011, v.686, p. 417-425.
16. Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve*, 1990, v.13, № 9, p.771-784.
17. Ugrenovic S., Jovanovic I., Vasovic L., Stefanovic B. Extraneural arterial blood vessels of human fetal sciatic nerve. *Cells Tissues Organs*, 2007, v.186, № 2, p. 147-153.