

УДК 616.33/.34-091:616.5-001.17:612.08
№ держреєстрації 0119U101618
Інв. №

Міністерство охорони здоров'я України
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
(НМУ)
01601, м. Київ-601, бульвар Т.Шевченка, 13
тел. (044) 234-60-63

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з наукової роботи та інновацій
НМУ імені О.О. Богомольця
д.мед.н., професор
_____ С.В.Земсков
“ ____ ” _____ 2021 р.

ЗВІТ

ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

«Морфологічні особливості та зміни органів травної системи при
експериментальній опіковій травмі шкіри»

ВИЯВИТИ ХАРАКТЕР І КРИТИЧНІ СТРОКИ РОЗВИТКУ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН
ОРГАНІВ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ В ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ І ВИВЧИТИ
ЇХ ВІДДАЛЕНІ НАСЛІДКИ.

(остаточний)

Керівник НДР
Завідувач кафедри описової та клінічної анатомії,
професор

І.В. Дзевульська

Нормоконтролер

Л.Ф.Воловик

2021

Рукопис закінчено 22жовтня 2021 р

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник НДР д. мед. н., професор	"06" жовтня 2021 р.	І.В. Дзевульська (вступ; передмова)
Відповідальний виконавець Доцент (к.мед.н):	"8" жовтня 2021 р.	Т.В. Лахтадир (реферат; передмова)
Професор, д.мед.н.	"15" жовтня 2021 р.	О.І. Ковальчук (підрозділ)
Старший викладач	"18" жовтня 2021 р.	І.О. Тимошенко (підрозділ, висновок)
Доцент, к.мед.н.	"20" жовтня 2021 р.	М.А. Безштанько (підрозділ; перелік джерел посилання.)

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 21 с., 12джерел.

УРАЖЕННЯ ШКІРИ, ЕТІОТРОПНА ТЕРАПІЯ, ОПІКОВИЙ ЕКСПЕРИМЕНТ,
МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ОРГАНІВ, ЩУРИ-САМЦІ, СВІТЛОВА ТА
ЕЛЕКТРОННА МІКРОСКОПІЯ.

Об'єкт дослідження – відмінності деструктивних, компенсаторно-пристосувальних та регенеративних зрушень в бП білих щурів-самців після ОТ в залежності від часу після опіку та здійсненої фармакотерапії різними інфузійними розчинами; структурні прояви альтераційних, компенсаторно-пристосувальних та регенеративних процесів у КРН щурів після ЕОТ шкіри у залежності від застосованої фармакотерапії різними інфузійними розчинами.

Мета роботи– змодельовати вплив експериментальної опікової травми шкіри на структурну перебудову функціонально різних органів у тварин, що дозволить оптимізувати ефективну етіотропну та патогенетичну терапію у хворих з опіковою травмою шкіри.

Методи дослідження – макроскопічний метод – для візуального визначення стану бП щурів з ОТ та без ОТ (яким була здійснена внутрішньовенна інфузія) та інтактних щурів; гістологічні методи – для встановлення мікроструктурних змін бП піддослідних щурів; електронно-мікроскопічний метод – для з'ясування ультраструктурних ознак деструктивних і реактивних змін клітин бП піддослідних щурів; статистичний метод – для визначення змін середньої площі поперечних перерізів кровоносних капілярів бП піддослідних щурів.

Встановлено: структурні відмінності пошкодження та компенсаторно-пристосувальні зміни в щурів у різні терміни після експериментального опіку шкіри II–III ступеня за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину хлориду натрію та комплексних гіперосмолярних розчинів. Встановлено, що загальним проявом структурних зрушень в щурів з ОТ є некроз і апоптоз функціонально різних клітин, які відбуваються на тлі виразних змін гемо- та лімфомікроциркуляторного русла. Доведено, що позитивні (компенсаторно-пристосувальні) ефекти впливу внутрішньовенної інфузії гіперосмолярних розчинів на структуру піддослідних опечених тварин включають: гальмування некрозу як лімфоцитів звичайної будови, так і апоптозних Л (та їхніх апоптозних тілець), унормування апоптозного кліренсу, забезпечення структурної збереженості (та підвищення структурної опірності) фолікуло-асоційованих епітеліоцитів, дендритних клітин (ДК) та макрофагоцитів (М), що уможливорює нормальний перебіг антигенпредставляючої та фагоцитарної функції. Встановлено, що проявом ініціації мембранопластичного ефекту дії рЛ є його просякнення через ушкоджену стінку кровоносних капілярів і венул бП щурів з ОТ візуалізоване при електронномікроскопічному дослідженні.

Мембранопластичний ефект дії рЛ проявляється у «виключенні» з системи гемомікроциркуляції низки кровоносних капілярів, що обумовлено утворенням щільних колоподібних мембранних структур, які діють як зашморг, сприяючи закриттю судинного просвіту. Інфузія рЛ сприяє збереженню звичайної будови навколівузликових лімфатичних капілярів. Відмінністю навколівузликових лімфатичних капілярів у опечених щурів, яким була здійснена інфузія рЛ, є те, що вони, переважно, переповнені Л звичайної будови, клітинами у стані мітозу, ДК, апоптозними клітинами і апоптозними тільцями (феномен «переповнення»). Інфузія опеченим щурам розчину рГ не супроводжується феноменом «переповнення», що є ще однією позитивною перевагою його дії.

ЗМІСТ

Скорочення та умовні позначення.....	6
Передмова.....	7
Вступ.....	8
1 Загальна характеристика мети, завдання, об'єктів, предметів та методів дослідження.....	12
1.1 Мета та завдання дослідження.....	12
1.2 Об'єкти, предмет та методи даного дослідження	13
1.3 Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.....	17
1.4 Наукова новизна та практична цінність одержаних результатів.....	18
Висновки.....	20
Перелік джерел посилання.....	21

СКОРОЧЕННЯ ТА УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

бП – скупчені лімфоїдні вузлики клубової кишки (бляшки Пейєра)

ДК – дендритні клітини

ІР – 0,9% розчин хлориду натрію (ізотонічний розчин)

Л – лімфоцити

М – макрофагоцити

НМУ – Національний медичний університет

ОТ – експериментальна опікова травма шкіри

рГ – розчин гекотону

рЛ – розчин лактопротеїну з сорбітолом

HR (HazardRatio) – показник відносного ризику

ВІ (95% ВІ) – 95% вірогідний інтервал

ЕОТ – експериментальна опікова травма

ІР – ізотонічний розчин натрію хлориду

ЛС – розчин Лактопротеїну з сорбітолом

РГ – розчин Гекотону

КРН – кіркова речовина нирок щурів

ПЕРЕДМОВА

В сучасних умовах зростання енергооснащеності виробництва та побуту, широкого використання вогнєнебезпечних речовин та газів значно збільшилась частота опіків, що стало глобальною проблемою. Глибокі поширені опіки характеризуються не лише пошкодженням покривних тканин, а й викликають тривалі поліорганні зміни в організмі опечених, які об'єднуються нозологічним поняттям «опікова хвороба». Численні аспекти перебігу опікової хвороби у теперішній час підлягають інтенсивному вивченню на різноманітних експериментальних моделях, які дозволили виявити особливості реакції імуннокомпетентних органів у опечених і привернути увагу до змін структури та функції скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки (бляшок Пейєра), які забезпечують «intestinal mucosal immunity», «oral tolerance» та є «the immune sensors of the intestine».

Варто зауважити, що на сьогодні в комбустіології для лікування важкоопечених широко застосовують внутрішньовенну інфузію різноманітних інфузійних розчинів. Однак, до початку нашого дослідження, вплив інфузійної терапії на стан «інтестинального мукозального імунітету» та на структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки (бП) за умов важких опіків шкіри не був предметом спеціальних досліджень.

Усе вищесказане дозволяє зробити висновок, що встановлення структурних відмінностей перебігу пристосувально-компенсаторних і регенеративних процесів в бП, зважаючи на їхню роль в підтримці імунного гомеостазу, в різні терміни після термічної опікової травми шкіри за умов застосування 0,9% розчину хлориду натрію (ІР) та комбінованих гіперосмолярних розчинів – лактопротеїну з сорбітолом (рЛ) і гекотону (рГ) є актуальним для теоретичної та практичної медицини.

ВСТУП

Термічні ураження шкіри залишаються одними з найпоширеніших видів травматичних ушкоджень. Частота опіків збільшується у вигляді побутової й виробничої травм, за умов розповсюдження легкозаймистих вибухонебезпечних речовин, електрифікації життя і роботи людей. Використання термічних видів зброї також є причиною суттєвого зростання опікових уражень. За даним Всесвітньої організації охорони здоров'я питома вага опіків складає 5,6% до 10% і займає третє місце в структурі загального травматизму; в освіті щорічно реєструється 265 тис. випадків смерті від опіків.

Складнощі в терапії опікового ураження шкіри зумовлені різноманітністю патологічних змін, що відбуваються в організмі і призводять до важких відтерміюваних ускладнень, а часто і до летального наслідку [1].

Тяжка термічна травма викликає структурні та метаболічні порушення не тільки безпосередньо шкірного покриву, але й усіх органів та систем обпеченого, що є проявом складного симптомокомплексу – опікової хвороби.

В організмі людини й тварин на тлі опіку розвивається стрес-реакція, що керується за допомогою складних саморегулюючих динамічних систем.

Попередження і усунення шкідливого впливу наслідків опікової травми на організм неможливе без з'ясування структурних механізмів дії ушкоджуючих факторів.

У теперішній час ефективне лікування опікової травми передбачає компенсацію об'єму втраченої рідини, підтримку об'єму циркулюючої крові, нормалізацію кислотно-лужної рівноваги, відновлення рівня електролітів, збільшення перфузії органів і тканин, що в основному забезпечує інфузійна терапія колоїдними розчинами. З'ясовано, що об'єм інфузії корелює з тяжкістю стану хворого, а достовірне зниження рівня тканинної гіпоксії спостерігається лише після відновлення об'єму циркулюючої крові [1, 2]. Зважаючи на це,

результати лікування опікової хвороби у постраждалих з тяжким опіковим шоком значною мірою залежить від характеру інціальної протишокової інфузійної терапії [1].

Саме тому, актуальним завданням є розробка ефективних і доступних вітчизняних інфузійних розчинів для корекції наслідків опікової травми шкіри з мінімальними побічними ефектами.

Таким чином, на сьогодні накопичений великий масив клінічних та експериментальних даних, які розкривають найбільш типові зміни в багатьох внутрішніх органах після термічної травми шкіри, проте нез'ясованими є гістологічні, ультраструктурні, морфометричні, ДНК-цитометричні зміни внутрішніх органів щурів за умов опіку шкіри середнього ступеня важкості та не встановленою є динаміка їх корекції після застосування інфузійних комплексних колоїдно-гіперосмолярних розчинів[2, 3].

Опікова травма є важливою медичною проблемою, значущість якої пов'язана з частотою і важкістю ураження, довготривалістю лікування, різноманітністю і тяжкістю ускладнень, високою смертністю.

Значною частотою виникнення опікової травми спостерігається у побуті, постійним зростанням частки опікового ураження в загальній структурі травматизму, високим відсотком летальності та інвалідності, тривалим та дорого вартісним лікуванням пацієнтів, що утримали ураження опіками. За даними ВООЗ опіки займають третє місце за частотою серед усіх травм, а деяких країнах – друге, поступаючись лише транспортним травмам. Щорічно у всьому світі від опіків гине близько 60 тисяч осіб[2].

Згідно статистичних даних на 2004 рік, в Україні кількість зареєстрованих випадків отримання опіків складала 54 115 серед дорослого населення і 10 156 – серед дітей. По м. Києву було зареєстровано 2583 випадки ураження дорослих опіками, з яких летальність становила 8,02%. Серед дітей зареєстровано 807 випадків, при цьому летальність наступила у 0,17%.

Більшість пацієнтів з опіками (82%) - особи працездатного віку. Інвалідизація постраждалих в залежності від характеру ушкоджень настає в 2,3-49% випадків. Зі збільшенням тяжкості отриманої травми закономірно зростає число ускладнень опікової хвороби. Розширення і поглиблення знань, що стосується патогенетичних механізмів опікової хвороби, поява нових медичних технологій у діагностиці та лікуванні сприятимуть зниженню летальності та інвалідизації серед обпечених важкого ступеня тяжкості.

Незважаючи на значні досягнення у вивченні патогенезу опікової травми, залишаються невирішеними питання. Зокрема, питання, що стосуються особливостей перебігу ранового процесу у шкірі, що визначають терміни ремоделювання шкірного покриву в ділянці ураження [1,3].

Високі показники летальності хворих у гострому періоді опікової хвороби, особливо у дітей та осіб похилого віку, недостатність знань патогенезу опікового шоку та гострої опікової токсемії підтримують постійну увагу до даної проблеми. Глибокі поширені опіки характеризуються не лише пошкодженням покривних тканин, а й викликають різноманітні і тривалі морфологічні й функціональні зміни всіх органів і систем організму, які об'єднуються нозологічним поняттям "опікова хвороба".

Переважає більшість опіків відповідає III ступеню (62%), дещо менше II ступеню (35%), а за медичною допомогою при опіках I ступеню звертаються лише 2,3% постраждалих. За частотою локалізації опіків ураження грудей, спини і нижніх кінцівок складають по 18-20%, опіки верхніх кінцівок, голови і ший відповідно по 9%, ураження геніталій не перевищують 2% [3].

Зрозуміло, що опіки викликають значні зміни організму, насамперед, шкіри. Пошкодження шкірного покриву вважається головним патогенетичним механізмом, який зумовлює розвиток опікової хвороби та впливають на показники летальності при опіковому шоку. Основною причиною є глибокі опіки III-IV ступеню, що реєструються у 20-50% дітей і підлітків, а серед дорослих – у 5-10% випадків. Істотний вплив на перебіг захворювання має вік

потерпілих: у хворих похилого віку і у дітей через анатомо-фізіологічні особливості організму перебіг опікової хвороби значно тяжчий і видужання відбувається повільніше, ніж у дорослих хворих. Так, у літніх осіб тяжкий опіковий шок може сформуватись при площі опіку до 16% поверхні тіла. На цей показник суттєво впливає септицемія (у 51,3% постраждалих), ниркова недостатність (у 35,5%) і поліорганна недостатність (у 10,2%). В стані коморбідності летальність зростає в 5 разів, навіть після застосування трансфузійної терапії. Окремі автори наголошують, що при розвитку ниркової недостатності частота летальності зростає майже в 8 разів. В зв'язку із цим велике значення має своєчасне надання першої медичної і першої лікарської допомоги. Тому проблема глибоких термічних опіків посідає одне із найбільш актуальних питань сучасної травматології та комбустіології.

Опікова хвороба більшістю авторів розглядається як стійкий імунодефіцитний стан, пов'язаний з багаторівневими порушеннями імунної регуляції в організмі хворого [4], на тлі впливу термічного фактора. Вплив високих температур веде до локального пошкодження шкірних покривів та місцевого імунітету, що ускладнюється інтоксикацією організму продуктами розпаду з вогнища ушкодження. На сьогоднішній день доведені порушення Т-клітинної ланки імунітету, за рахунок абсолютного зниження CD4+ клітин [2]. Дисбаланс у системі цитокінів, гіперпродукція медіаторів запалення та пов'язані з цим порушення в системах вродженого і набутого імунітету визнаються важливими патогенетичними факторами розвитку опікової хвороби та її ускладнень [4, 5].

Стадія септикотоксемії продовжується до того часу, поки не будуть ліквідовані гранульовані рани. Якщо протягом 1-2 місяців не вдається відновити цілісність шкірних покривів, то у постраждалих з обширними опіками виникає опікове виснаження. Втрата ваги досягає 10-25%, що ще більше ускладнює перебіг захворювання. Основними патогенетичними чинниками в період реконвалесценції є дистрофічні процеси у внутрішніх органах, переважання процесів гальмування в ЦНС і анаболізму [6, 7].

1 ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТИ, ЗАВДАННЯ, ОБ'ЄКТІВ, ПРЕДМЕТІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

1. 1 Мета та завдання дослідження

Мета дослідження: встановити структурні відмінності пошкодження та компенсаторно-приспосувальні зміни у бП білих щурів-самців у різні терміни після експериментальної термічної опікової травми шкіри (ОТ) за умов застосування внутрішньовенної інфузії ІР та комбінованих гіперосмолярних розчинів (рЛ та рГ); є встановлення структурних особливостей пошкодження та компенсаторно-приспосувальних змін у КРН щурів в пізні терміни після ЕОТ шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії ізотонічного розчину натрію хлориду та комплексних гіперосмолярних розчинів (ЛС і РГ).

Завдання дослідження:

1. Встановити особливості структурних змін бП щурів через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після ОТ II–III ступеня за умов застосування упродовж перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії ІР;
2. Визначити особливості структурних змін бП білих щурів-самців через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після ОТ II–III ступеня за умов застосування упродовж перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії рЛ;
3. З'ясувати особливості структурних змін бП щурів через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після ОТ II–III ступеня за умов застосування упродовж перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії рГ.
4. Оцінити та порівняти структурні прояви компенсаторно-приспосувальних змін в бП щурів після ОТ за умов внутрішньовенного введення різних інфузійних розчинів (ІР, рЛ та рГ).
5. Визначити особливості структурних змін у КРН щурів через 14, 21, 30 діб після ЕОТ шкіри II – III ступеня за умов застосування протягом перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії ізотонічного розчину натрію хлориду.

6. Встановити особливості структурних змін у КРН щурів через 14, 21, 30 діб після ЕОТ шкіри II – III ступеня за умов застосування протягом перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії ЛС.
7. З'ясувати особливості структурних змін у КРН щурів через 14, 21, 30 діб після ЕОТ шкіри II – III ступеня за умов застосування протягом перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії РГ.
8. Оцінити та порівняти структурні прояви компенсаторно-приспосувальних змін у КРН щурів після ЕОТ шкіри II – III ступеня за умов внутрішньовенного введення різних інфузійних розчинів (ізотонічного розчину натрію хлориду, ЛС, РГ) з метою виявлення ефективності їхнього коригуючого впливу.

1.4 Об'єкти, предмет та методи даного дослідження.

Об'єкт дослідження – відмінності деструктивних, компенсаторно-приспосувальних та регенеративних зрушень в бП білих щурів-самців після ОТ в залежності від часу після опіку та здійсненої фармакотерапії різними інфузійними розчинами; - структурні прояви альтераційних, компенсаторно-приспосувальних та регенеративних процесів у КРН щурів після ЕОТ шкіри у залежності від застосованої фармакотерапії різними інфузійними розчинами.

Предмет дослідження – показники гістологічних та ультраструктурних змін бП білих щурів-самців через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після ОТ за умов застосування внутрішньовенної інфузії ІР та комплексних гіперосмолярних розчинів (рЛ і рГ). Визначити особливості структурних змін у КРН щурів через 14, 21, 30 діб після ЕОТ шкіри II – III ступеня за умов застосування протягом перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії ізотонічного розчину натрію хлориду; показники гістологічних та ультраструктурних змін КРН щурів через 14, 21, 30 діб після ЕОТ шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії ізотонічного розчину натрію хлориду та гіперосмолярних розчинів ЛС і РГ.

Методи дослідження: макроскопічний метод – для візуального визначення стану бП щурів з ОТ та без ОТ (яким була здійснена внутрішньовенна інфузія)

та інтактних щурів; гістологічні методи – для встановлення мікроструктурних змін бП піддослідних щурів; електронномікроскопічний метод – для з'ясування ультраструктурних ознак деструктивних і реактивних змін клітин бП піддослідних щурів; статистичний метод – для визначення змін середньої площі поперечних перерізів кровоносних капілярів бП піддослідних щурів.

Порівняльний аналіз структурних змін бП білих щурів при ОТ за умов інфузії ІР та гіперосмолярних розчинів рЛ та рГ був виконаний відповідно до угод «Про наукове співробітництво між Вінницьким НМУ ім. М.І. Пирогова і ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» (м. Львів) а також НМУ ім. О.О. Богомольця та Вінницьким НМУ ім. М.І. Пирогова, на 126 білих щурах-самцях масою 160 – 200 г віком 6 місяців. Експеримент з нанесенням ОТ, виконанням інфузії розчинів та рештою пов'язаних з цим процедур дослідження піддослідних тварин здійснювали на базі проблемної науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку НДЦ Вінницького НМУ ім. М.І. Пирогова, яка має сертифікат ДФЦ МОЗ України (посвідчення №003/10 від 11.01.2010 р.) та лабораторії кафедри фармакології Вінницького НМУ ім. М.І. Пирогова, має сертифікат ДФЦ МОЗ України (посвідчення №000679 від 11.01.2008 р.). Передбачені експериментом маніпуляції з тваринами здійснювали відповідно до вимог «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених І національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), з дотриманням усіх рекомендацій «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей», Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів. За висновком комісії з біоетики НМУ ім. О.О. Богомольця виконане дослідження проведене з дотриманням існуючих етичних норм та стандартів щодо досліджень з використанням лабораторних тварин (протокол №67 від 28.11.2012 р. та протокол №110 від 10.04.2018 р.).

Вплив на структуру бП щурів з ОТ внутрішньовенної інфузії нового гіперосмолярного препарату рГ, який зареєстрований в Україні в 2013р. (посвідчення NUA/13224/01/01), та порівнювали його з ефектами дії препарату рЛ виробництва Київського ЗАТ «Біофарма». Піддослідні тварини були розділені на 7 груп (по 18 тварин у кожній групі): I – інтактні тварини; II, III, IV – щури без ОТ, яким проводили окрему інфузію IP, рГ та рЛ, у кожному випадку у дозі 10 мл/кг; V, VI, VII – тварини з ОТ, яким за аналогічною схемою та у такому ж дозовому режимі здійснювали окреме введення досліджуваних інфузійних розчинів [7,9,10]. Проведені в рамках комплексної НДР попередні дослідження показали певну динаміку летальності піддослідних тварин. У піддослідних тварин з ОТ, яким вводили IP, відзначене суттєве збільшення показника летальності від 5% через 1 добу до 11% у проміжку часу від 4 до 7 доби з наступним зменшенням показника летальності до 3% у проміжку від 22 до 30 доби після ОТ. Загальний показник летальності в групі піддослідних щурів, яким після ОТ здійснювали інфузію IP склав 43,5%. Окрема лікувальна курсова терапія щурів з ОТ розчином рГ та рЛ позитивно впливала на загальний стан та життєдіяльність тварин упродовж усього експерименту.

У проведеному дослідженні ОТ викликали у відповідності до поширеної серед дослідників базовій моделі F.C. Regas, H.P. Ehrlich (1992), яка була дещо змінена і оптимізована I. Gunasetal. (1997) [8]. Для оцінки результативності ОТ та її відповідності поставленим у дослідженні завданням у рамках загальної частини комплексної НДР з'ясували рівень ендогенної інтоксикації у щурів з ОТ. Ступінь інтоксикації визначали за показниками молекул середньої маси та лейкоцитарним індексом інтоксикації, який вираховували за формулою Я. Кальф-Каліфа. Встановлено, що такі показники ендогенної інтоксикації як рівень молекул середньої маси та лейкоцитарний індекс інтоксикації є статистично значуще нижчим у щурів без ОТ, ніж у щурів з ОТ впродовж усього періоду спостережень ($p < 0,05$ – $0,001$) та є статистично значуще вищим ($p < 0,05$) у щурів з ОТ, яким вводили IP, у порівнянні з тваринами, яким вводили розчин рЛ або рГ [8, 9].

Інфузію розчинів проводили упродовж 5 хвилин у каудальну порожнисту вену після її катетеризації в асептичних умовах через стегнову вену. Першу інфузію виконували через 1 годину після нанесення ОТ, наступні введення виконували 1 раз на добу протягом перших 7 діб експерименту. Гоління тварин, нанесення ОТ та катетеризацію магістральних судин здійснювали в умовах прополового наркозу (60 мг/кг в/о). Забір матеріалу від щурів проводили за умов глибокого тіопентального внутрішньоочеревинного наркозу через 1, 3, 7, 14, 21 та через 30 діб після нанесення ОТ. Для гістологічного дослідження невеликі шматочки бП фіксували в 10% розчині нейтрального формальдегіду. Після фіксації матеріал промивали, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, проводили через хлороформ та заливали у парапласт. Зрізи тканин товщиною 7–8 мкм готували на ротаційному мікротомі, розміщували на склі, забарвлювали гематоксиліном-еозином і заливали в канадський бальзам. Гістологічне дослідження бП виконували на мікроскопі OlympusBX51. Для електронномікроскопічного дослідження шматочки бП розрізали на невеликі блоки та фіксували в розчині глютарового альдегіду з дофіксацією у розчині чотирьохокису осмію. Після стандартної проводки матеріал заливали в суміш аралдиту з епоксидними смолами. Наступні етапи щодо електронномікроскопічного дослідження були виконані на базі лабораторії електронної мікроскопії Інституту проблем патології НМУ ім. О.О. Богомольця. Напівтонкі та ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція). Напівтонкі зрізи забарвлювали толуїдиновим синім та метиленовим синім-азур II. Ультратонкі зрізи контрастували на мідних опорних сіточках уранілацетатом і цитратом свинцю за Рейнольдсом. Фотографування під час проведення електронномікроскопічного дослідження здійснювали на електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

Для інтегральної об'єктивної оцінки перебігу компенсаторних, пристосувальних процесів в бП опечених щурів здійснене морфометричне дослідження змін середньої площі їхніх поперечних перерізів. Зображення з гістологічних препаратів забарвлених гематоксилін-еозином на монітор

комп'ютера виводили з мікроскопу MICROmedSEOSCAN та за допомогою відеокамери VisionCCDCamera. Морфометричні дослідження проведені за допомогою програм ВидеоТест-5.0, КАРА ImageBase та MicrosoftExcel на персональному комп'ютері.

Статистична обробка отриманих кількісних даних проведена з використанням статистичного пакету IBM SPSSv. 22.0. forWindows. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної (M), похибки середньої арифметичної (m) і стандартне відхилення (σ). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі (оцінку виду розподілу перевіряли за критерієм χ^2 – Пірсона) за t-критерієм Стюдента (при порівнянні більше двох груп використовували поправку Бонферроні), а в інших випадках – за допомогою U-критерія Мана-Уїтні. Для порівняння якісних ознак використано критерій χ^2 . Для аналізу ефективності різних видів фармакотерапії використовувався метод побудови кривих виживання (Каплана-Мейєра), порівняння яких проводилося за логранговим критерієм (табл.1).

Таблиця 1 - Корируючий вплив фармакотерапії ізотонічним розчином натрію хлориду, ЛСта РГ на летальність щурів з ЕОТ шкіри

Умови досліджу	Летальність тварин (n- %)					
	Термін спостереження (доба)					
	1	2-3	4-7	8-14	15-21	22-30
ЕОТ+ізотонічний розчин NaCl (n=200)	n=10 (5%)	n=21 (10,5%)	n=22 (11 %)	n=17 (8,5%) *	n=11 (5,5%)	n=6 (3%)
ЕОТ+РГ (n=120)	n=2 (1,7%)	n=4 (3,3%) *	n=5 (4,2%) *	n=4 (3,3%) #	n=2 (1,7%)	n=1 (0,8%)
ЕОТ+ ЛС (n=120)	n=1 (0,8 %)*	n=4 (3,3%) *	n=3, (2,5%) *	n=3 (2,5%) *	n=1 (0,8%) *	n=3 (1,7%)

Примітки:

1. *—достовірна різниця відносно контролю (ЕОТ + ізотонічний розчин натрію хлориду);
2. # —тенденція різниці відносно контролю (ЕОТ + ізотонічний розчин натрію хлориду).

1.3 Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дослідження є складовою НДР кафедри описової та клінічної анатомії Національного медичного університету (НМУ) ім. О.О. Богомольця «Морфологічні зміни функціонально різних органів в умовах експериментальної опікової травми» (номер державної реєстрації 0115U000010), а також виконане у межах спільної НДР (запланованої у відповідності до угоди про наукову співпрацю між НМУ ім. О.О. Богомольця та Вінницьким НМУ ім. М.І. Пирогова) «Експериментальне обґрунтування ефективності комплексних інфузійних препаратів на моделі опікової хвороби у тварин», що є фрагментом планової науково-дослідної роботи «Створити нові комплексні колоїдні кровозамінники поліфункціональної дії та розчини для ресуспендування еритроцитів (лабораторно-експериментальне обґрунтування їх застосування в трансфузіології)» (КПКВ6561040, номер державної реєстрації 0107U001132).

1.4 Наукова новизна одержаних результатів.

Уперше встановлені структурні відмінності пошкодження та компенсаторно-пристосувальні зміни в бП щурів у різні терміни після експериментального опіку шкіри II–III ступеня за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину хлориду натрію та комплексних гіперосмолярних розчинів (рЛ та рГ). Встановлено, що загальним проявом структурних зрушень в бП щурів з ОТ є некроз і апоптоз функціонально різних клітин, які відбуваються на тлі виразних змін гемо- та лімфомікроциркуляторного русла. Доведено, що позитивні (компенсаторно-пристосувальні) ефекти впливу внутрішньовенної інфузії гіперосмолярних розчинів (рЛ і рГ) на структуру бП піддослідних опечених

тварин включають: гальмування некрозу як лімфоцитів звичайної будови (Л), так і апоптозних Л (та їхніх апоптозних тілець), унормування апоптозного кліренсу, забезпечення структурної збереженості (та підвищення структурної опірності) фолікуло-асоційованих епітеліоцитів, дендритних клітин (ДК) та макрофагоцитів (М), що уможлиблює нормальний перебіг антигенпредставляючої та фагоцитарної функції. Встановлено, що проявом ініціації мембранопластичного ефекту дії рЛ є його просякнення через ушкоджену стінку кровоносних капілярів і венул бП щурів з ОТ візуалізоване при електронномікроскопічному дослідженні. Мембранопластичний ефект дії рЛ проявляється у «виключенні» з системи гемомікроциркуляції низки кровоносних капілярів, що обумовлено утворенням щільних колоподібних мембранних структур, які діють як зашморг, сприяючи закриттю судинного просвіту. Інфузія рЛ сприяє збереженню звичайної будови навколівузликових лімфатичних капілярів. Відмінністю навколівузликових лімфатичних капілярів у опечених щурів, яким була здійснена інфузія рЛ, є те, що вони, переважно, переповнені Л звичайної будови, клітинами у стані мітозу, ДК, апоптозними клітинами і апоптозними тільцями (феномен «переповнення»). Інфузія опеченим щурам розчину рГ не супроводжується феноменом «переповнення», що є ще однією позитивною перевагою його дії (табл..2,3,4)

Таблиця 2 - Морфометричні показники компонентів органів травної системи опечених тварин в різні терміни спостереження за умов введенняізотонічного розчину натрію хлориду ($M \pm m$)

Групи тварин		Показник		
		S1, мкм ²	S2, мкм ²	S3, мкм ²
Інтактна		5895±153	4687±124	1208±32
Опик: через 14 діб	Гіпертро-фовані	8453±203***	6452±157***	2001±65***
	Атрофовані	4687±128***	3548±117***	1139±32-
Опик: через 21добу	Гіпертро-фовані	8054±207***	6272±142***	1782±54***
	Атрофовані	4373±116***	3264±115***	1109±36*
Опик: через 30 діб	Гіпертрофовані	7747±208***	5936±153***	1811±69***
	Атрофовані	4168±105***	3179±94***	989±28***

Примітки:

S1– середня площа органу; S2 – середня площа органу; S3 – середня площа органу;

* – величини, які статистично достовірно відрізняються від показників інтактної групи тварин:

(* – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$).

Таблиця 3 - Морфометричні показники компонентів органів травної системи опечених щурів у різні терміни дослідження після ЕОТ, за умов введення ЛС (М ±m)

Групи тварин		Показник		
		S1, мкм ²	S2, мкм ²	S3, мкм ²
Інтактна		5895±153	4687±124	1208±32
Опik: через 14 діб	Гіпертро-ф овані	7014±210***;## #	5692±180***;##	1322±35*;###
	Атрофовані	4613±152***;-	3612±92***;-	1001±28***##
Опik: через 21доб у	Гіпертро-ф овані	7152±217***;##	5387±116***;## #	1765±52***;-
	Атрофовані	4340±154***;-	3210±113***;-	1130±23;-
Опik: через 30 діб	Гіпертро-ф овані	6421±192*;###	5217±142**;##	1204±31-;###
	Атрофовані	4671±159***;##	3508±126***;#	1163±37-;##

Примітки:

S1– середня площа органу; S2 – середня площа органу; S3 – середня площа органу;

* – величини, які статистично достовірно відрізняються від показників інтактної групи тварин:

(* – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$);

Таблиця 4 - Морфометричні показники компонентів органів травної системи опечених щурів у різні терміни досліду після ЕОТ за умов введення РГ (M ±m)

Групи тварин		Показник		
		S1, мкм ²	S2, мкм ²	S3, мкм ²
Інтактна		5895±153	4687±124	1208±32
Опik: через 14 діб	Гіпертро-ф овані	7175±224***;## #	5864±173***;#	1311±41-;###
	Атрофовані	4729±119***;-	3717±95***;-	1012±36***#
Опik: через 21добу	Гіпертро-ф овані	7234±211***;##	5705±166***;#	1529±43***; ###
	Атрофовані	4425±107***;-	3457±87***;-	968±29***;# #
Опik: через 30 діб	Гіпертро-ф овані	6560±189*;###	5342±149**;##	1218±35-;###
	Атрофовані	4787±118***;## #	3590±85***;##	1197±31-;###

Примітки:

S1– середня площа органу; S2 – середня площа органу; S3 – середня площа органу;

* – величини, які статистично достовірно відрізняються від показників інтактної групи тварин: (* – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$);

– величини, які статистично достовірно відрізняються від показників групи тварин з термічною травмою, яким вводили ізотонічний розчин натрію хлориду: (# – $p<0,05$; ## – $p<0,01$; ### – $p<0,001$).

Практичне значення одержаних результатів. Уперше встановлені (залежні від застосованих інфузійних розчинів) фазні зміни гемо- та лімфомікроциркуляторного русла бП опечених щурів, судини якого забезпечують можливість виконання необхідної для реалізації імунної функції рециркуляції та трансмуральної міграції імунокомпетентних клітин. Визначено,

що опік шкіри індукує некроз та / або апоптоз Л, а також клітин фолікуло-асоційованого епітелію та антигенпредставляючих клітин БП. Компенсація відзначених проявів альтерації обумовлена не тільки захистом клітин від тих ушкоджень, які призводять до клітинної смерті, або посиленням проліферації неушкоджених клітин, але й із залученням додаткових механізмів, які мають змінити умови і швидкість рециркуляції імунокомпетентних клітин. Уперше одержані результати свідчать про інтегральну реакцію імунної системи на опік, яка може бути оптимізована і стабілізована за умов своєчасної і адекватної інфузійної терапії із застосуванням комбінованих гіперосмолярних розчинів (рЛ та / або рГ).

Основні положення дослідження впроваджені у навчальний процес на кафедрах: нормальної анатомії людини Львівського НМУ ім. Данила Галицького (протокол №8 від 19.02.2018); анатомії людини Одеського НМУ (протокол №10 від 15.02.2018); анатомії людини та гістології медичного факультету Ужгородського національного університету (протокол №8 від 15.02.2018); анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет» (протокол №14 від 05.03.2018); топографічної анатомії та оперативної хірургії Вінницького НМУ ім. М.І. Пирогова (протокол №2 від 13.02.2018); патологічної анатомії ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет» (протокол №11 від 13.03.2018); гістології Вінницького НМУ ім. М.І. Пирогова (протокол №7 від 15.02.2018); анатомії людини Вінницького НМУ ім. М.І. Пирогова (протокол №10 від 07.02.2018); анатомії людини ім. М.Г. Туркевича ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет» (протокол № 43 від 05.02.2018).

ВИСНОВКИ

1. Загальним проявом структурних зрушень в скупчених лімфоїдних вузликах клубової кишки щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри є некроз і апоптоз функціонально різних клітин, які відбуваються на тлі виразних змін судин гемо- та лімфомікроциркуляторного русла. Особливу роль

у цьому процесі відіграє динаміка клітинної загибелі лімфоцитів – основної імунокомпетентної клітини скупчених лімфоїдних вузликів. За умов норми, шляхом апоптозу асинхронно гинуть лише окремі лімфоцити; він характеризується усіма класичними структурними ознаками, не поєднується з некрозом, завершується ефективним фагоцитозом апоптозних тілець та клітин. За умов опіку, відбувається не просто порушення експансії апоптозу, а некротичні зміни первинно апоптозно змінених лімфоцитів та їхніх апоптозних тілець.

2. Позитивні (компенсаторно-приспосувальні за сутністю) ефекти впливу внутрішньовенної інфузії лактопротеїну з сорбітолом та гекотону на структуру скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки піддослідних опечених тварин включають: 1 – гальмування некрозу як лімфоцитів звичайної будови, так і апоптозних лімфоцитів (та їхніх апоптозних тілець); 2 – унормування апоптозного кліренсу; 3 – забезпечення структурної збереженості (та підвищення структурної опірності) дендритних клітин та макрофагоцитів, що уможливорює нормальний перебіг антигенпредставляючої та фагоцитарної функції. Відмічені зміни лімфоцитів є проявом їхньої стресорної відповіді на опік, яка полягає: у початковій адекватній апоптозній елімінації ушкоджених лімфоцитів, в подальшому порушенні енергетичного забезпечення програми регенеративної проліферації, а за гірших умов (зриву адаптаційної відповіді) – у хаотичному і асинхронному некротичному руйнуванні апоптозно змінених і апоптозно незмінених клітин.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ.

1. Комбустіологія: / Фісталь Е.Я., Козинець Г.П., Самойленко Г.Є. [та ін.] – Київ: Інтерлінк” 2004. – 316 с.
2. Клименко М. О. Опікова хвороба (патогенез і лікування) / М. О. Клименко, Л. Г. Нетюхайло. – Полтава, 2009. – 118 с.

3. Коваленко О.М. Питання інфузійної терапії опікового шоку / О. М. Коваленко // Хірургія України. - 2014. - № 2. - С. 13-19.
4. Гунас И. В. Роль эндогенной интоксикации в морфогенезе изменений во внутренних органах при инфузионной терапии ожоговой болезни / И. В. Гунас, В. Г. Черкасов, А. И. Ковальчук [и др.] // Biomedical and biosocial antropology. – 2015. – № 24. – С. 30–36.
5. Благодаров В.М. Порівняльна характеристика ефектів впливу інфузійних розчинів лактопротейну – С та НАЕС – LX – 5% та структуру тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів / В.М. Благодаров, Е.В. Черкасов //Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. – 2011. – №4. – С. 8–17.
6. Боярська Г. М. Дослідження імунологічної реактивності організму при опіковій травмі / Г. М. Боярська, О. І. Осадча, Г. П. Козинець // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 68–74.
7. Видерко Р. В. Структурні механізми цитопротекції в гіпофізі та наднирковій залозі при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузійної терапії / Р. В. Видерко, О. І. Ковальчук, В. Г. Черкасов [та ін.] // Український науково-медичний молодіжний журнал. Матеріали VI (68) науково-практичного конгресу студентів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини» (15–17 жовтня 2014 р., м. Київ). – 2014. – Спец. вип. № 4 (83). – С. 137–138.
8. Gunas I.V. Indicators cell cycle and DNA fragmentation of spleen cells in early terms after thermal burns of skin at the brackground of introduction 0.9% NaCl solution / Gunas I.V. Guminskiya yu.I., Ocheretna N.P.,Lysenko D.A.,KovalchukO.I.,DzevulskaI.V., Cherkasov E.V. / / Світпроблембіологіїімедицини– 2018, № 1(63) . – С. 104– 109.
9. Гунас И. В. Динаміка різних типів клітинної смерті в тимусі, наднирникових залозах, аденогіпофізі та зміни рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів при експериментальній опіковій хворобі за умов інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів / І. В. Гунас, Е. В. Черкасов, І. В. Дзевульська, О.

- І. Ковальчук // Український науково–медичний український журнал. – 2012. – № 4. – С. 10–14.
10. Дзевульська І.В. Морфологические аспекты цитопротекции в органах нейроиммуноэндокринной системы при инфузионной терапии ожоговой болезни / Дзевульська І.В.Б Ковальчук О.І., Черкасов В.Г., Черкасов Е.В. // Світ проблем біології і медицини – 2015, Вип.4 , том 2 (125) . – С. 310 – 316.
11. Ковальчук О.І. Динаміка ультраструктурних змін капілярного русла аденогіпофіза за умов експериментальної опікової хвороби. // Український науково–медичний молодіжний журнал. – 2013. – №2(73). – С. 8–11.
12. Ковальчук О. І. Особливості показників клітинного циклу в аденогіпофізі в пізні терміни після опікової травми шкіри у щурів за умов окремої інфузії у перші 7 діб 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX-5% Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2016. – № 1 (93). – С. 24–31.