

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**Тимошенко Ірина Олексіївна**

УДК 616.342-018.25-091:616-001.17:616.379-008.64:57.084.1

**ДИСЕРТАЦІЯ**

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ  
ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ПРИ ОПІКОВІЙ ТРАВМІ ШКІРИ ЩУРІВ  
ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

за спеціальністю 222 «Медицина»  
з галузі знань 22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ І.О. Тимошенко

Науковий керівник: Черкасов Віктор Гаврилович, заслужений діяч науки і  
техніки України, доктор медичних наук, професор

Київ – 2021

## АНОТАЦІЯ

*Тимошенко І.О.* Морфологічні особливості змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки при опіковій травмі шкіри щурів за умов цукрового діабету (експериментальне дослідження).

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» з галузі знань 22 «Охорона здоров'я». – Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2021.

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2021.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання щодо встановлення структурних змін стінки дванадцятипалої кишки щурів з опіковою травмою шкіри в основі яких лежать глибокі структурні трансформації її слизової оболонки, які поглиблюються за умов асоціації опікової травми з цукровим діабетом.

Дисертаційне дослідження здійснене відповідно до планів наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри описової та клінічної анатомії «Морфологічні особливості та зміни органів травної системи при експериментальній опіковій травмі шкіри» (номер державної реєстрації 0119U101618).

Експеримент проведено на 84 білих безпородних лабораторних щурах-самцях з масою тіла 160-180 г. 21 інтактний щур без ознак соматичної патології; перша група – 21 щур з експериментально змодельованою опіковою травмою шкіри; друга група – 21 щур без опікової травми шкіри з експериментально змодельованим цукровим діабетом; третя група – 21 щур з експериментально змодельованими опіковою травмою шкіри та цукровим діабетом.

Опікову травму шкіри викликали у відповідності до базової моделі F. C. Regas, H.P. Ehrlich, в модифікації I. Gunas et al., глибину опіків оцінювали за класифікацією, відповідно до якої 1 % опіку I ступеня прирівнюється до 1 одиниці індексу тяжкості пошкодження; 1 % опіку II ступеня – до 2 одиниць; 1 % опіку III ступеня – до 3 одиниць; 1 % опіку IV ступеня – до 4 одиниць.

Модель експериментального цукрового діабету відтворювали шляхом введення щурам стрептозотоцину внутрішньоочередово одноразово в дозі 50 мг/кг, попередньо розчинивши його в 0,1М цитратному буферному розчині (рН-4,5). Контролем розвитку гіперглікемії в експериментальних групах був рівень глюкози в крові –  $24,24 \pm 0,79$  ммоль/л. В групі контролю  $8,03 \pm 0,4$  ммоль/л.

Для морфологічних досліджень було забрано дванадцятипалу кишку щурів, фрагменти якого досліджувались методами світлової та електронної мікроскопії.

Встановлено, що в основі пошкоджень епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки після термічної травми шкіри лежать глибокі деструктивні зміни (переважно некротичного характеру), які через 21 добу (в стадії септикотоксимії), як правило, мають незворотній характер і розвиваються на фоні значної інтоксикації організму. Перебіг структурних змін слизової оболонки щурів першої експериментальної групи за розвитком у часі є стадійним. В основі пошкоджень епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки лежать деструктивні зміни, які у фінальній фазі закінчуються клітинною загибеллю, переважно, шляхом апоптозу.

Уперше встановлено, що структурні зміни епітеліоцитів призводять до порушення структурної цілісності інтестинального епітеліального бар'єра і у тварин другої експериментальної групи ушкоджений епітелій слизової оболонки дванадцятипалої кишки критично послаблює адекватність своєї функції інтерфейсу між слизовою оболонкою і середовищем інтестинального просвіту. Структурні зміни слизової оболонки щурів другої експериментальної групи за розгортанням проявів компенсації та декомпенсації загалом

відповідають характеру компенсаторно-приспосувальних процесів, встановлених при дослідженні щурів першої експериментальної групи. Ультраструктурні дані щодо асоціації автофагосом з розгалуженими каналцями гранулярної ендоплазматичної сітки відповідає концепції стресу ендоплазматичної сітки (ER-стресу).

Динаміка морфологічних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи упродовж різних термінів після опіків (7 діб – стадія шоку і ранньої токсимії; 14 діб – стадія пізньої токсимії; 21 доба – стадія септикотоксимії) відрізняється від такої у тварин першої експериментальної групи. Часові проміжки та характер адаптивних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки в значній мірі пролонговані і погіршені. Суттєві ураження слизової оболонки призводять до порушення процесів функціонування травної системи, пристінкового травлення та всмоктування, а також імунологічного захисту, що впливає на стан організму обпечених тварин і, в значній мірі, визначає розвиток опікової хвороби, а також перебіг цукрового діабету. Ці структурні перетворення супроводжуються появою в цитоплазмі епітеліоцитів та в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки мікробних тіл, що є ознакою мікробної інфільтрації та загальних порушень інтестинальної мікробіоти. Ушкодженням також є проникність бар'єр слизової оболонки дванадцятипалої кишки за умов асоціації експериментальної опікової травми шкіри з стрептозоциніндукованим цукровим діабетом. Виявлені структурні перетворення келихоподібних клітин, які продукують інтестинальний слиз, що утворює шар на поверхні інтестинальної слизової оболонки.

Вперше на електронномікроскопічному рівні встановлено, що келихоподібні клітини характеризуються добре розвиненим комплексом Гольджі та гранулярною ендоплазматичною сіткою, розташованими по периферії клітини та навколоядерній зоні. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки безпосередньо контактують з мембранами комплексу Гольджі. Більшість ламелярних структур комплексу Гольджі розтягнуті

секретом і утворюють пухирці, які поступово втрачають зв'язок з ламелярними структурами і формують окремі гранули, оточені мембраною. У напрямку до апікального кінця келихоподібних клітин секреторні гранули збільшуються у розмірі, і їх вміст втрачає характерну високу електронну щільність і стає прозорим. Відбувається поетапна зміна типів виділення секрету келихоподібних клітин: з мерокринового типу до апокринового типу, а надалі – до голокринового типу. Саме це призводить до структурних ознак змін слизового інтестинального шару. Таким чином, проникність слизового бар'єру кишки є зміненою і ці зміни можна трактувати як такі, що сприяють мікробній інвазії. Виявлені за умов здійсненого експерименту структурні зміни епітеліоцитів є свідченням порушення структурної цілісності інтестинального епітеліального бар'єра.

В слизовій оболонці дванадцятипалої кишки після опікової травми шкіри асоційованої з цукровим діабетом відбувається погіршення проявів адаптивної реакції і пролонгація деструктивних процесів, що супроводжуються порушенням міжклітинних взаємодій в цитоархітектонічнозмінених та деформованих ворсинках і криптах.

Статистично значущі зміни таких параметрів як товщина ворсинок, ширина крипт, мітотичний індекс стопчастих епітеліоцитів та товщина підслизової основи стінки дванадцятипалої кишки підтверджують прогресивний перебіг характерних для діабетичної ентеропатії змін поглиблення яких поступово збільшується на 7, 14 та 21 добу експерименту.

Таким чином, одержані дані підтверджують прогресивний перебіг змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки характерних для діабетичної ентеропатії, поглиблення яких поступово збільшується на 7, 14 та 21 добу експерименту.

**Ключові слова:** стінка дванадцятипалої кишки, опікова травма шкіри, цукровий діабет, гістологічні зміни, електронномікроскопічні зміни, морфометричний аналіз.



## ANNOTATION

Tymoshenko I.O. Morphological features of changes in the mucous membrane of the duodenum in burn injuries of the skin of rats under conditions of diabetes mellitus (experimental study).

Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 222 «Medicine» in the field of knowledge 22 «Health». – Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2021.

Bogomolets National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation presents a theoretical generalization and a new solution to the current scientific problem of establishing structural changes in the duodenal wall of rats with skin burn trauma based on deep structural transformations of its mucous membrane, which deepen in the association of burn injury with diabetes.

Name of research work and state registration number «Morphological features and changes of the digestive system in experimental burn skin trauma» №0119U101618.

The experiment was performed on 84 white outbred laboratory male rats weighing 160-180 g. 21 intact rats without signs of somatic pathology; the first experimental group – 21 rats with experimentally simulated skin burn injury; the second experimental group – 21 rats without skin burns with experimentally modeled diabetes mellitus; third experimental group – 21 rats with experimentally simulated skin burn injury and diabetes.

Burning skin injury was caused according to the base model of F. C. Regas, H.P. Ehrlich, in a modification of I. Gunas et al. The depth of burns was estimated according to the classification according to which 1% of burns of the I degree is equal to 1 unit of an index of severity of damage; 1% of burns of the II degree - to 2 units; 1% of burns of the III degree – to 3 units; 1% of IV degree burns – up to 4 units.

The model of experimental diabetes mellitus was reproduced by administering streptozotocin to rats intraperitoneally once at a dose of 50 mg / kg, pre-dissolved in 0.1M citrate buffer solution (pH-4.5). The control of the development of hyperglycemia in the experimental groups was the level of glucose in the blood –  $24.24 \pm 0.79$  mmol / l. In the control group  $8.03 \pm 0.4$  mmol / l.

The part of the duodenum was taken for morphological examinations, fragments of which were examined by light and electron microscopy.

It was found that the basis of damage to the epitheliocytes of the duodenum after thermal trauma of the skin are deep destructive changes (mostly necrotic), which after 21 days (in the stage of septicotoxemia) are usually irreversible and develop against the background of significant intoxication. The course of structural changes in the mucous membrane of rats of the first experimental group in terms of development over time is staged. Damage to the epitheliocytes of the duodenal mucosa and cells is based on destructive changes, which in the final phase end in cell death, mainly by apoptosis.

For the first time, it was found that structural changes in epitheliocytes lead to a violation of the structural integrity of the intestinal epithelial barrier and, thus, in animals of the second experimental group damaged duodenal epithelium critically weakens the adequacy of its interface between the mucosa and the environment. Structural changes in the mucous membrane of rats of the second experimental group in the development of manifestations of compensation and decompensation generally correspond to the nature of the compensatory-adaptive processes established in the study of rats of the first experimental group. Ultrastructural data on the association of autophagosomes with branched tubules of the granular endoplasmic reticulum correspond to the concept of endoplasmic reticulum (ER) stress.

In the duodenal mucosa of rats of the third experimental group, the dynamics of morphological changes during different periods after burns (7 days – stage of shock and early toxemia; 14 days – stage of late toxemia; 21 days – stage of septicotoxemia) differs from that of animals of the first experimental group. The time intervals and the nature of the adaptive changes of the duodenal mucosa are



significantly prolonged and worsened. Significant lesions of the mucous membrane lead to disruption of the digestive system, parietal digestion and absorption, as well as immunological protection, which affects the condition of the body and, to a large extent, determines the development of burns and diabetes. These structural transformations are accompanied by the appearance of microbial bodies in the cytoplasm of epitheliocytes and in the loose connective tissue of the duodenal mucosa, which is a sign of microbial infiltration and general changes in the intestinal microbiota. The mucous barrier permeability of the duodenal mucosa is also impaired in the association of experimental skin burn injury with streptozocin-induced diabetes mellitus. Structural transformations of goblet cells that produce intestinal mucus, which forms a layer on the surface of the intestinal mucosa.

For the first time at the electron microscopic level, it was found that goblet cells are characterized by a well-developed Golgi complex and granular endoplasmic reticulum located on the periphery of the cell and the nuclear nucleus. The tubules of the granular endoplasmic reticulum are in direct contact with the membranes of the Golgi apparatus. Most lamellar structures of the Golgi apparatus are stretched by secretion and form bubbles, which gradually lose contact with the lamellar structures and form individual granules surrounded by a membrane. Towards the apical end of goblet cells, secretory granules increase in size, and their contents lose their characteristic high electron density and become transparent. There is a gradual change in the types of secretion of goblet cells: from mericrin type to apocrine type, and then – to the holocrine type. This leads to structural signs of changes in the intestinal mucosa. Thus, the mucosal barrier of intestinal permeability is altered and these changes can be interpreted as contributing to microbial invasion.

The structural changes of epitheliocytes detected under the conditions of the experiment are evidence of violation of the structural integrity of the intestinal epithelial barrier. In the mucous membrane of the duodenum in burn injury of the skin associated with diabetes there is a deterioration of the manifestations of the adaptive response and prolongation of destructive processes, accompanied by

disruption of intercellular interactions in cytoarchitecturally altered and deformed villi and crypts.

Thus, the obtained data confirm the progressive course of changes in the duodenal mucosa characteristic of diabetic enteropathy, the deepening of which gradually increases after 7, 14 and 21 days of the experiment. Statistically significant changes in parameters such as villi thickness, crypt width, mitotic index of columnar epitheliocytes and submucosal thickness of the duodenal wall confirm the progressive course of diabetic enteropathy-related changes in deepening due to which gradually increases and increases.

**Key words:** duodenal wall, skin burn injury, diabetes mellitus, histological changes, electron microscopic changes, morphometric analysis.

### **Список публікацій здобувача за темою дисертації:**

#### **Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Tymoshenko, I.O., Cherkasov, E.V., Shepitko, K.V. (2020). Morphometric assessment of structural changes in the duodenal wall of rats caused by skin burn injury under conditions of experimental diabetes. *World of Medicine and Biology*, 3(73), 215-219. doi: 10.26724/2079-8334-2020-3-73-215-219.
2. Tymoshenko, I.O. (2019). Structural changes of the intestinal epithelial barrier of the duodenum of rats in burn injury of skin under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Reports of Morphology*, 25(2), 28-35. [https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(2\)-03](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(2)-03).
3. Тимошенко, І. (2019). Структурні особливості слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів при опіковій травмі шкіри за умов експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, (1(109)), 35-47. [https://doi.org/10.32345/USMYJ.1\(109\).2019.35-47](https://doi.org/10.32345/USMYJ.1(109).2019.35-47).
4. Cherkasov, V., & Tymoshenko, I. (2019). Structural changes of duodenal mucosa enterocytes of rats in burn skin injury under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Reports of Morphology*, 25(1), 55-61. [https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(1\)-08](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(1)-08).
5. Tymoshenko, I.A., Sokurenko L.M., Yanchyshyn A.Ya., Pastuhova V.A. (2020). Comparative characteristics of the manifestations of damage and reparative processes in the mucous membrane of the duodenum of rats under the conditions of skin burns and skin burns associated with diabetes. *Reports of Morphology*. 26 (2), 39-44.

#### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

1. Тимошенко, І.О. (2019, Листопад). Дисконкомплексація ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів з опіком шкіри за умов

розвитку експериментального стрептозоточиніндукованого цукрового діабету. Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я», м. Полтава, 52.

2. Тимошенко, І.О. (2019, Жовтень). Структурні прояви стресу ендоплазматичної сітки та автофагії в ентероцитах слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів з опіком шкіри за умов розвитку експериментального стрептозоточиніндукованого цукрового діабету. Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень», м. Тернопіль, 174-176.

3. Тимошенко, І.О. (2019, Жовтень). Динаміка змін структурної організації слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів з опіком та без опіку шкіри за умов розвитку експериментального стрептозоточиніндукованого діабету. Матеріали третьої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», м. Дніпро, 135-137.

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ**

ATG5 – autophagy related protein 5 (білок, пов'язаний з автофагією 5)

Beclin 1 – білок клітинної системи автофагії, продукт гена людини BECN1

BIP – intraluminal chaperone binding protein

CHOP – enhancer-binding protein homologous protein

DR<sub>3</sub>-DQ<sub>2</sub> або DR<sub>4</sub>-DQ<sub>8</sub>-гаплотип – людський лейкоцитарний антиген

ERAD- ER – endoplasmic-reticulum-associated protein degradation  
(ендоплазматично-ретикулум-асоційована деградація білка)

ER-стрес – Endoplasmic Reticulum Stress

DR-BB1 – лінійні щури резистентні до діабету

GLP-1 – Glucagon-like peptide-1 (гормон глюкагоноподібний пептид-1)

GULT 2 – ГЛЮТ-2 – глюкозний транспортер тип 2-білок-переносник глюкози.

HAES-LX 5% – комплексний колоїдно-гіперосмолярний інфузійний препарат

KRV – специфічний пептид

LADA – latent autoimmune diabetes in adults (латентний аутоімунний діабет у дорослих)

M – похибки середньої арифметичної

MODY – maturity onset diabetes of the young (цукровий діабет дорослого типу у молодих) – діабет типу Mason

mTOR – mammalian target of rapamycin

NCCD – номенклатурний комітет з клітинної смерті

PTPN2 – білок (Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 2)

RE1 – inositol-requiring enzyme

t – критерій Стюдента

U – критерій Манна-Уїтні.

UBASH<sub>3</sub>A (Ubiquitin associated and SH3 domain containing A) – білок, який кодується однойменним геном

XBP1 – X-box binding protein 1 splicing

YY (PYY) – кишковий пептид

Σ – стандартне відхилення

АДФ – аденозиндифосфат

АМФ – аденозинмонофосфат

АТФ – аденозинтрифосфат

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

M – значення середньої арифметичної

НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид

ЦД – цукровий діабет

## **ЗМІСТ**

<b>ВСТУП</b>	<b>15</b>
<b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b>	
<b>1.1. Сучасні уявлення про механізм розвитку кишкової дисфункції при термічних опіках</b>	<b>18</b>
<b>1.2. Сучасні уявлення про зміни шлунково-кишкового тракту при цукровому діабеті, про механізми розвитку діабетичної ентеропатії, та моделі експериментального відтворення цукрового діабету</b>	<b>26</b>
<b>РОЗДІЛ 2. ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА Й ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>	<b>39</b>
<b>РОЗДІЛ 3. ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ШКІРИ</b>	<b>43</b>
<b>РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ</b>	<b>78</b>
<b>РОЗДІЛ 5. ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ШКІРИ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ</b>	<b>108</b>
<b>РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ</b>	<b>147</b>
<b>ВИСНОВКИ</b>	<b>176</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	<b>178</b>

## ВСТУП

**Актуальність теми.** У теперішній час, зважаючи на прискорення темпів урбанізації та зростання промислового використання теплової енергії, важкий термічний опіковий травматизм, наслідком якого є опікова хвороба, стає однією з найважливіших проблем практичної медицини [1]. Термічний опік є одним з найпоширеніших травматичних ушкоджень у світі; на земній кулі щорічно опіки отримують близько п'ятдесяти мільйонів людей.

Глобальним медико-соціальним викликом двадцять першого століття визнано також цукровий діабет. Цукровий діабет це не тільки криза здоров'я, але й світова суспільна катастрофа, яка потребує міжнародних зусиль щодо профілактики, лікування та попередження наслідків цукрового діабету [2]. За оцінками Міжнародної федерації діабету у теперішній час у всьому світі хворіє 425 мільйонів людей (з них дві третини дорослих з цукровим діабетом знаходяться в працездатному віці від 20 до 64 років), а до 2045 року істотних позитивних зрушень щодо цієї проблеми не очікують, замість того прогнозують подальше різке зростання захворюваності на цукровий діабет [3]. Швидкий ріст захворюваності суттєво випереджає прогнози експертів (кожні шість секунд діагностують два нових випадки цукрового діабету й один летальний випадок від його ускладнень), тому вирішення питань, пов'язаних із цим недугом є одним із першочергових завдань національних систем охорони здоров'я [4-7]. За статистичними даними [8] близько двох відсотків усього населення України страждає на цукровий діабет. Треба зауважити, що на думку фахівців [7] реальна кількість осіб в Україні є значно більшою і сягає 2-2,5 мільйона пацієнтів на цукровий діабет (якщо врахувати, що на кожен зареєстрований випадок достовірного та вчасного діагнозу припадає два-три випадки недіагностованого захворювання).

Багато в чому зазначена вище надзвичайна ситуація є наслідком відсутності надійного теоретичного підґрунтя у вирішенні конкретних клінічних проблем щодо перебігу опікової хвороби, цукрового діабету та їхніх



ускладнень. Зокрема, структурно-функціональні механізми розвитку обох зазначених захворювань та їхніх ускладнень залишається остаточно не з'ясованими, а про їхню актуальність свідчить широке розповсюдження експериментальних досліджень з використанням різноманітних методів моделювання термічних опіків [9, 10] та цукрового діабету [11, 12].

Дослідженнями останніх років доведено провідну роль кишкової дисфункції у розвитку ускладнень цукрового діабету [13-17] та опікової хвороби [18-20]. Однак до цього часу вивчення структурних та функціональних змін слизової оболонки відділів тонкої кишки при термічній опіковій травмі шкіри за умов її асоціації з цукровим діабетом не було предметом спеціальних досліджень.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційне дослідження здійснене відповідно до планів наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри описової та клінічної анатомії «Морфологічні особливості та зміни органів травної системи при експериментальній опіковій травмі шкіри» (номер державної реєстрації 0119U101618).

**Мета дослідження** – встановлення закономірностей структурних змін в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки після опікової травми шкіри щурів за умов експериментального цукрового діабету.

Завдання дослідження:

1. Визначити особливості структурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів після експериментальної опікової травми шкіри.
2. Встановити особливості структурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів при експериментальному цукровому діабеті.
3. З'ясувати особливості структурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів після опікової травми шкіри за умов стрептозотоциніндукованого цукрового діабету.

4. Оцінити та порівняти структурні прояви альтераційних, компенсаторно-приспосувальних та регенеративних процесів у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів за умов: опікової травми шкіри; цукрового діабету; опікової травми шкіри асоційованою з цукровим діабетом.

*Об'єкт дослідження* – структурні прояви альтераційних, компенсаторно-приспосувальних та регенаративних процесів у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів після експериментальної опікової травми шкіри, за умов розвитку стрептозотоциніндукованого цукрового діабету, а також за умов опікової травми шкіри асоційованої з стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом.

*Предмет дослідження* – показники гістологічних та ультраструктурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів за умов опікової травми шкіри, за умов стрептозотоциніндукованого цукрового діабету та за умов асоціації опікової травми шкіри з стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом.

*Методи дослідження:* гістологічні – для дослідження мікроскопічних змін структур слизової оболонки дванадцятипалої кишки; електронно-мікроскопічний – для визначення ультрамікроскопічних проявів реактивних змін у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки; морфометричний – для інтегральної об'єктивної оцінки перебігу компенсаторних, приспосувальних та деструктивних процесів в стінці дванадцятипалої кишки щурів за умов здійсненого експерименту; статистичного аналізу – для забезпечення передбачених описовою статистикою процедур визначення статистичної значущості розбіжностей між групами порівняння.

# РОЗДІЛ 1

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Сучасні уявлення про механізм розвитку кишкової дисфункції при термічних опіках

Встановлено, що опікова травма шкіри (за умов, коли її площа є більше десяти-п'ятнадцяти відсотків поверхні тіла у дорослих) зумовлює розвиток опікової хвороби, складовими і чинниками якої є: генералізована катаболічна реакція в осередку травми та в усіх внутрішніх органах, системна запальна і апоптозна відповіді, ендогенна інтоксикація та поліорганна недостатність, що доведено експериментальними [21-26] та клінічними [27-31] дослідженнями. Опікова хвороба [31] має характерну етапність перебігу: опіковий шок (перша-друга-третя доба); опікова септикотоксемія (до повного відновлення шкірного покриву); реконвалесценція (з відновленням шкірного покриву до відновлення функцій органів і систем).

Опікова хвороба є захворюванням, яке супроводжується появою складного симптомокомплексу клінічних, морфологічних, біохімічних, обмінних та інших розладів в органах і системах [28, 29]. Ініціюючим чинником цих розладів є токсини та різноманітні біологічно активні речовини, джерелом яких є продукти руйнування власних тканин безпосередньо в ділянках опіку (гістотоксична теорія патогенезу опікової хвороби). Зазначені продукти розпаду з місця опіку потрапляють у кровоток; відбувається аутоінтоксикація, виникає циркуляторно-токсична гіпоксія органів і тканин, які первинно не підлягали термічній альтерації. Ці вторинно ураженні органи і тканини опечених стають ще одним множинним джерелом токсинів і біологічно активних речовин, що сприяє поглибленню і поширенню ендогенної інтоксикації [27].

У розвитку опікової ендогенної інтоксикації суттєву роль відіграють різноманітні речовини: протеолітичні ферменти; білки середньої молекулярної маси, які є продуктами протеолітичного розщеплення пептидів плазми крові та

тканин; токсини мікробного походження; цитокіни; простагландини, медіатори імунних реакцій. Результатом стрімкого розвитку ендогенної інтоксикації стає поява інших типових для опікової хвороби розладів – синдрому гіперметаболізму, системної запальної та апоптозної відповідей, синдрому поліорганної недостатності [13, 30].

Для циркуляторно-токсичної гіпоксії притаманними є дві взаємопов'язані складові прояву дії на клітини органів після опікової травми шкіри: 1) біоенергетична гіпоксія, яка пов'язана з порушеннями функцій органел біоенергетичного апарату клітин; 2) метаболічна гіпоксія, яка пов'язана з обмеженням можливості ефективного кисневого постачання клітин. Наслідком неупорядкованого коливання парціального тиску кисню в мітохондріях стає неповне окиснення цитохромоксидази, що призводить до гальмування потоків електронів та протонів дихального ланцюга та різкого падіння рівня АТФ з одночасним збільшенням рівня АДФ та АМФ. Це призводить до появи характерних метаболічних наслідків опікового ендотоксикозу: посилення анаеробного гліколізу; зниження вмісту глікогену; розвитку метаболічного ацидозу [30]. Зменшення кількості АТФ в клітинах та пов'язане з цим викривлення енергозалежного транспорту іонів призводить до втрати упорядкованості вхідних та вихідних потоків трансмембранного транспорту з неминучим порушенням взаємодій клітин між собою та з позаклітинним матриксом, результатом чого є незворотна деструкція та загибель клітин.

Провідне значення у пошкодженні мембран і у дезорганізації міжклітинних взаємодій після опікової травми [18] має каскадна активація вільнорадикального окиснювання та пов'язаного з ним перекисного окиснення ліпідів, продукти яких руйнують високомолекулярні сполуки, порушуючи структурні механізми життєзабезпечення клітин. Стрімка катаболічна реакція у вигляді розпаду складних органічних сполук та деструкції клітин, стимулює відповідну анаболічну реакцію, спрямовану на клітинну регенерацію, що у сукупності проявляється розвитком гіперметаболізму.

Синдрому гіперметаболізму при опіковій хворобі належить суттєва роль у перебігу поліорганної недостатності, яка поступово, але неухильно охоплює усі внутрішні органи і послідовно (для кожного органу) проходить три стадії розвитку у вигляді: органної дисфункції; органної недостатності, органної неспроможності [27].

Clark Y.A., Coopersmith C. M. [32] вважають, що тонка кишка є «двигуном» прогресії синдрому поліорганної недостатності. У контексті цього критичне порушення гомеостазу шлунково-кишкового тракту є кульмінацією поліорганної дисфункції. У якості пускового механізму активації синдрому поліорганної недостатності може виступати деструкція ентероцитів, яка супроводжується цитокіновим подразненням, дисрегуляцією міжклітинної взаємодії, транслокацією кишкової флори. Таким чином, інтестинальний епітеліальний бар'єр, мукозальна імунна функція та ендogenous кишкові бактерії відіграють визначальну роль у розвитку поліорганної недостатності, а комплекс взаємопов'язаних перехресних каскадних порушень між цими трьома складовими механізму гомеостазу в травній системі підсилюється, що і призводить до критичного дисбіозу [33]. Разом з тим, складні механізми перебігу даного процесу, зокрема на фоні цукрового діабету потребують подальшого вивчення.

Термічна опікова травма викликає структурно-функціональні зміни в тонкій кишці, характер і глибина яких певним чином корелюють зі стадією опікової хвороби [34, 35]. У цьому випадку динаміка перебудови структури може бути розцінена як віддзеркалення функціонального стану кожного відділу шлунково-кишкового тракту [36, 37].

Для стадії опікового шоку більше типовими є зміни в судинах гемомікроциркуляторного русла та структурних компонентах нейроендокринної системи тонкої кишки [36, 38].

За цих умов, відмічено [36] значне повнокрів'я слизових оболонок і поява множинних дрібнокрапкових крововиливів на верхівках складок. Мають місце розширення і переповнення кров'ю кровоносних судин та набряк слизової

оболонки, підслизової і субсерозного прошарку. У товщі слизової оболонки з'являються крововиливи, локуси некрозу.

Епітелій більшості відділів тонкої і товстої кишок поза зоною крововиливів залишається майже незмінним. В ендокриноцитах кишкових ворсинок і крипт відбуваються зміни компенсаторно-приспосувального характеру. В розширених міжепітеліальних просторах зростає кількість міжепітеліальних лімфоцитів [36].

В стадії токсемії зареєстровані морфологічні зміни дезадаптивного характеру в усіх шарах тонкої кишки (повнокрів'я кровоносних судин, набряк, лімфоцитарна інфільтрація, діapedез еритроцитів, розрив стінки окремих кровоносних мікросудин, деструкція імунокомпетентних клітин в лімфоїдних вузликах (дистрофія плазмоцитів і лімфобластів, Т- і В-лімфоцитів на тлі порушення проліферації В-лімфоцитів) та зміни в нервово-м'язових компонентах органу (дезінтеграція нейроцитів, руйнація дендритних клітин, некроз міоцитів). В епітеліоцитах відбувається деформаційні зміни цитоплазми, ядра, мікрворсинок, щіткової облямівки, розширення каналців ендоплазматичної сітки з їхньою вакуолізацією [36].

В стадії септикотоксемії за умов важкого опіку відбувається зрив компенсаторно-приспосувальних процесів і виразні розвиток дистрофічних і некробіотичних проявів. У всіх структурних компонентах стінки кишки відмічено тотальне пошкодження структури епітеліоцитів кишкових ворсинок, нейроцитів і міоцитів, гідропічна дистрофія з переходом в колікваційний некроз стовпчастих ентероцитів, що призводить до порушення імунного мукозального захисту, процесів пристінкового травлення, всмоктування, гальмування перистальтики та затримки евакуації кишкового вмісту [37].

Набувають подальшого розвитку і поширення атрофічні зміни всіх відділів тонкої і товстої кишок. Макроскопічно слизова оболонка кишки виглядає блідою (інколи з помітним сірим відтінком), витонченою, із нерівномірними згладженими складками. Запальні зміни тонкої і товстої кишок на одних ділянках супроводжуються набуханням лімфоїдних вузликів, що відбувається за рахунок проліферації лімфоїдних клітин, на інших – їх деструкцію і появою

виразки. Запальний процес має хвилеподібний характер; він затухає в одній ділянці кишки і знову спалахує в іншій [38].

Матківська Р.М. у своїх дослідженнях [39-41] структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів показала, що загальним проявом структурних зрушень у скупчених лімфоїдних вузликах клубової кишки є некроз і апоптоз функціонально різних клітин, які асоційовані з вираженими змінами судин мікроциркуляторного русла. Визначальна роль у цьому процесі належить динаміці клітинної загибелі лімфоцитів – основних імунокомпетентних клітин скупчених лімфоїдних вузликів. Компенсаторно-приспосувальні ефекти впливу внутрішньовенної інфузії гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом та гекотону) на структуру скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів з експериментальним опіком шкіри полягають у: 1 – гальмування некрозу лімфоцитів; 2 – унормування апоптозного кліренсу; 3 – забезпечення структурної збереженості (та підвищення структурного опору) дендритних клітин та макрофагоцитів, які забезпечують нормальний перебіг антиген-представляючої та фагоцитарної функцій. Встановлені зміни лімфоцитів є свідченням їхньої стресорної відповіді на опік, яка полягає у початковій адекватній елімінації пошкоджених лімфоцитів, а в подальшому (за умов погіршення енергетичного забезпечення регенеративної проліферації) у хаотичному, асинхронному некротичному руйнуванні апоптозно змінених і апоптозно незмінених клітин.

Питання щодо особливостей проліферації, міграції та апоптозу клітин епітелію шлунково-кишкового тракту за умов опікової травми має доволі тривалу історію вивчення при наявності дещо обмеженої кількості відповідних досліджень. В ранні терміни після опікової травми встановлено [42] вплив рівня протизапальних цитокінів на посилення апоптозу та сповільнення проліферації ентероцитів. Доведений позитивний наслідок впливу інгібіторів протизапальних цитокінів на гальмування апоптозу ентероцитів, що забезпечує їхнє збереження та покращує бар'єрні властивості слизової оболонки.

Wolf S.E. et al. [43] підтвердили, що опік шкіри збільшує апоптоз в епітелії кишечника мишей («cutaneous burn increases apoptosis in the gut epithelium of mice»). Було встановлено, що наявні в сироватці прозапальні цитокіни викликають виразну супресію синтезу ДНК та порушення клітинного циклу, наслідком чого є апоптоз ентероцитів. Було висловлене припущення, що тривалість змін показників клітинного циклу ентероцитів і неможливість їхнього своєчасного відновлення послідовно призводять до характерних для опікової хвороби наслідків у вигляді зменшення поглинання поживних речовин через слизову оболонку, підвищення проникності епітеліального бар'єру та розвитку опікового сепсису.

Після впровадження методу проточної ДНК-цитометрії точка зору щодо причин і наслідків змін клітинного циклу ентероцитів після опікової травми змінилася [44-46]. Зокрема, було показано, що проліферація та апоптоз ентероцитів у опечених не є гармонійно узгодженими, а перебувають у стані дисбалансу. Зміни клітинного циклу ентероцитів є доволі складними та не мають прямої корелятивної залежності від розвитку запальної реакції або від дії бактеріальної мікрофлори, як вважали раніше [46, 47]. До цього часу питання щодо апоптозу та проліферації ентероцитів після опікової травми продовжують залишатися предметом дискусії [48, 49]. Звертають на себе увагу дані [50] про довготривалий і хвильовий ефект впливу ендотоксемії на клітинний цикл ентероцитів після опікового ураження. Дослідники [50] вказують на залежність рівня апоптозу ентероцитів від вторинної ендотоксимії: підвищення рівня апоптозу відбувається через дванадцять годин після опіку, а через 72 години після опіку зафіксовано зниження рівня апоптозу.

Дослідження морфологічних змін в клубовій кишці у пізні терміни після експериментального термічного опіку шкіри щурів та їхньої корекції інфузійними розчинами [51-53] показали, що через чотирнадцять діб після опіку за умов внутрішньовенної інфузії щурам протягом семи діб ізотонічного розчину натрія хлориду методом проточної ДНК-цитометрії зафіксовані зниження показників S-фази і блоку проліферації ( $p < 0,05$ ), ніж в групі щурів без опіку;



через двадцять одну добу після опіку практично відновлюється рівень показника S-фази, а інтервал SUB-G0G1 – перевищує значення ( $p < 0,05$ ) отримані в групі без опіку шкіри; через тридцять днів після опіку показники фази G2+M ( $p < 0,05$ ) та індексу проліферації підвищені, а блоку проліферації і фази G0G1 – знижені ( $p < 0,05$ ), що вказує на збереження дисбалансу в клітинному циклі клітин слизової оболонки клубової кишки.

Інфузія гіперсмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX 5%) після опіку шкіри позитивно впливає [52, 53] на показники клітинного циклу клітин слизової оболонки клубової кишки: через чотирнадцять і двадцять одну добу після опіку показники S-фази і індексу проліферації збільшені ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з аналогічними при опіку шкіри і застосуванні ізотичного розчину натрія хлориду; через 21 добу показник інтервалу SUB-G0G1 в обох групах нижчий ( $p < 0,05$ ) від аналогічних показників в групі, де застосували інфузію ізотонічного розчину хлориду натрію після опіку. Через тридцять днів при використанні інфузії HAES-LX 5% всі показники клітинного циклу не мають достовірних тенденцій або відмінностей порівняно з показниками в груп щурів без опіку, а при інфузії лактопротеїну з сорбітолом – показники фази G0G1 та блоку проліферації залишаються нижчими (відповідно  $p = 0,076$  і  $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками у щурів без опіку шкіри.

Варто відмітити на прискіпливу увагу багатьох дослідників щодо проникності кишкової стінки та бар'єрної функції кишкового епітелію в нормі та патології. На початку 1990-х років клінічне спостереження [54] показало, що інтестинальна проникність значно збільшилась відразу після травми у пацієнтів, потерпілих від помірних та тяжких опікових пошкоджень. Майже в той же час, експериментальним дослідженням на морських свинках було засвідчено, що інтестинальна проникність значно збільшується відразу після термічного опіку шкіри площею 30 % від загальної площі поверхні тіла [55].

За сучасними уявленнями [56, 57] кишковий епітелій утворює критичний інтерфейс між слизовою оболонкою кишки і просвітом кишки, забезпечуючи необхідний для підтримки гомеостазу бар'єр проти розташованих у просвіті

кишки токсинів, патогенних мікроорганізмів і антигенних молекул. Дослідники виявили, що значна за площею ураження опікова травма індукує дисфункцію інтестинального епітеліального бар'єра як у пацієнтів, так і у експериментальних тварин, що призводить до підвищеної інтестинальної проникності, бактеріальної транслокації, синдрому системної запальної відповіді, гіперкатаболізму, сепсису, синдрому поліорганної дисфункції [58-62]. Однак, як свідчать у своєму недавньому дослідженні Huang Y. et al. [63], більшість механізмів дисфункції інтестинального епітеліального бар'єру, індукованих опіками, залишаються нез'ясованими.

Дослідження гістологічних змін слизової оболонки дистального відділу клубової кишки мишей з експериментальною опіковою травмою шкіри розміром 30 % загальної поверхні тіла (за умовами експерименту спина та бічні поверхні тіла кожної миші були поголені; потім тильну поверхню занурювали у воду температурою 90 °C на 10 секунд) показало [63], що вже через одну годину після опіку кишкові ворсинки були дезорганізовані, що супроводжувалось інфільтрацією клітин запалення у власній пластинці. Через дві години після опіку виявлено набряк кишкових ворсинок; через шість та через дванадцять годин після опіку відмічено: відшарування епітеліальних клітин, оголення lamina propria, некроз, інфільтрація клітинами запалення. Вже через дванадцять чотири години після опіку кишкові ворсинки дещо інфільтровані клітинами запалення, але за іншими морфологічними набувають стану таких у інтактних мишей.

Вивчення параметрів парацелюлярної проникності інтестинального епітеліального бар'єру (здійснене у межах описаного вище дослідження) показало їхню узгодженість у відповідних за часом визначення гістологічними змінами слизової оболонки. Варто відмітити, що наведені вище дані щодо швидкоплинності післяопікових гістологічних змін слизової оболонки клубової кишки мишей є дещо парадоксальними у порівнянні з даними [51-53] про довготривалі післяопікові (через 14, 21 та 31 добу після опіку) гістологічні зміни слизової оболонки клубової кишки щурів (навіть за умов попередньої інфузії тваринам дезінтоксикаційних розчинів), хоча застосовані експериментальні

моделі опіку шкіри є майже аналогічними, а важкість опікової травми є співставленою.

На закінчення відзначимо, що все наведене вище дозволяє зробити висновок про важливу роль кишкової дисфункції (основу якої складають реактивні, компенсаторно-приспосувальні та деструктивні зміни клітин стінки травної системи) в розвитку типової для опікової хвороби поліорганної недостатності [64-66]. Однак для переважної кількості проаналізованих наукових робіт характерним є надлишкове узагальнення, коли одержані дані трактують, наприклад, як післяопікові зміни в «тонкій кишці», «шлунково-кишковому такті», «кишечнику» або (у англійських роботах) в «gut». У зв'язку з вищесказаним доцільно зауважити, що більшість дослідників (судячи з тексту статей) вивчали лише один конкретний орган травної системи. Найбільше ґрунтовно і послідовно вивчені структурні зміни клубової кишки щура після опікової травми шкіри за умов застосування інфузійних розчинів: окремо – загальні структурні зміни слизової оболонки [51-53]; окремо – структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів [39-41]. Аналогічних підходів у вивченні структурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки при термічній опіковій травмі в доступних нам джерелах інформації не виявлено, що стосується проблеми перебігу кишкової дисфункції у опечених з цукровим діабетом, то вона до цього часу не була предметом окремого дослідження.

## **1.2. Сучасні уявлення про зміни шлунково-кишкового тракту при цукровому діабеті, про механізми розвитку діабетичної ентеропатії, та моделі експериментального відтворення цукрового діабету**

Діабетичне ураження травного шляху (складовою яких є діабетична ентеропатія) набуло поширення у зв'язку із збільшенням кількості осіб з цукровим діабетом як першого типу, та і другого типу [67-72]. Переважно більшість дослідників вважають, що ці ускладнення перебігу цукрового діабету та їхні симптоми обумовлені аномальною гастроінтестинальною моторикою, яка

є наслідком діабетичної автономної нейропатії [73-77]. До поширених скарг пацієнтів у цьому випадку можна віднести діарею, закріп і нетримання калу [67, 68, 78]. Наслідки змін гастроінтестинальної моторики є різноманітними, але клінічно значущими. Зокрема, уповільнення перистальтики та погіршення пасажу харчової грудки в шлунково-кишковому тракті погіршує не тільки процеси травлення, але й сприяє формуванню екстремальних значень постпрандіальної гіперглікемії. У нормі у здорових людей прискорення евакуації їжі є захисним механізмом, який запобігає появі значних і тривалих змін рівня глюкози крові. Тому діабетична гастроентеропатія є несприятливим фоном, що погіршує процеси вуглеводного обміну. Визначено, що патофізіологічні механізми зазначених гастроентерологічних патологічних проявів є складними, багатоланцюговими, залежать від численних чинників і до цього часу є недостатньо вивченим [74, 75].

Визнано провідну роль оксидативного стресу, який пов'язаний з утворенням продуктів посиленого глікозилювання (білкових молекул, які зв'язані ковалентними поперечними зшивками) і активацією поліолового шляху в розвитку діабетичної автономної нейропатії [79, 80]. Експериментальні та клінічні дані свідчать про те, що С-пептид («connecting peptide») є пов'язаним з механізмом дисфункції нервів при цукровому діабеті, а його введення шляхом підшкірних ін'єкцій сприяє поліпшенню перебігу нейропатії [81]. Дослідження на людях і на тваринах показали, що активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази теж відіграє важливу роль у розвитку діабетичної автономної нейропатії, що реалізується різними шляхами [82, 83]. З'ясовано, що шунтування глюкози через поліоловий шлях змінює нервову збудливість внаслідок утворення сорбітолу [84, 85]. Крім того, виникають структурні зміни нервів опосередковані потовщенням базальної мембрани їхніх кровоносних капілярів, втратою перицитарного покриття кровоносних капілярів і ендотеліальною гіперплазією, що призводить до змін капілярного кровотоку, порушує обмін киснем і глюкозою [86].

У теперішній час відомо, що цукровий діабет індукує гістоморфологічне та біомеханічне ремоделювання тонкої і товстої кишок у пацієнтів із цукровим

діабетом першого типу [87] та у тварин з експериментальним цукровим діабетом [88, 89, 90, 91]. Гістоморфологічні зміни охоплюють різні тканинні компоненти кишкової стінки, включаючи епітелій, міоцити, нейроцити, клітини Кахаля і позаклітинний матрикс. Зазначені структурні зрушення супроводжуються іншими змінами в кишковій стінці: зниженням синтезу білка [92], підвищенням експресії моносахаридних транспортерів і вазоактивного кишкового поліпептиду [93, 94], збільшенням експресії речовини P [95] і синтетази оксиду азоту в нейроцитах [96].

Клінічні та експериментальні дослідження показали, що цукровий діабет, зазвичай, індукує зміни проліферації клітин різних шарів стінки тонкої та товстої кишок [97-104], що призводить до збільшення товщини кишкової стінки [101-103].

Наслідком гістоморфологічного ремоделювання і механофізіологічних змін тонкої і товстої кишок при діабетичній ентеропатії є порушення кишкової моторики [105-110], що впливає на кількісний склад і функції мікробіоти кишки [111-115]. До теперішнього часу стає все більше обгрунтованою точка зору про те, що зміни кишкової мікробіоти впливають на розвиток цукрового діабету першого та другого типів, а також на механізми ожиріння [116, 117]. Зміни кишкової мікробіоти при цукровому діабеті можуть мати інші ще невивчені наслідки, зважаючи на те, що кишкова мікробіота відіграє важливу роль у нормальному функціонуванні шлунково-кишкового тракту і підтримці здоров'я господаря [118]. Склад кишкової мікробіоти залежить від багатьох факторів, таких як дієта, стан хвороби, характер дії застосованих медикаментів, а також генетика господаря. У теперішній час кишкова мікробіота асоціюється з імунними функціями, імуннозалежними захворюваннями, енергетичним гомеостазом [118].

Станом на сьогодні встановлено, що, зокрема, тонка і товста кишки людини містять дуже різноманітну і найскладнішу за механізмами взаємодії мікробіоту з сильним впливом на гомеостаз та імуностаз господаря, що є важливим для збереження стану його здоров'я [119-124]. Кишкова мікробіота складається з

динамічного багатовидового співтовариства, що живе в певній ніші у взаємній синергії з організмом господаря [121, 122]. Крім бактерій, кишкова мікробіота включає гриби, археї і найпростіші [124, 125], до яких належить віруси, що є більше численними, ніж мікроби, і приносять у організм господаря більшу кількість генів ніж притаманна клітинам організму [126]. Шлунково-кишковий тракт містить у сукупності щонайменше  $10^{14}$  мікроорганізмів, що нараховують 2000 видів, які належать до 12 різних типів [124]. Нещодавно [127] був укладений генний каталог представників кишкової мікробіоти людини, у якому зазначено, що вивчена мікробіота має у 150-500 разів більше генів, ніж ДНК людини. Останні дані свідчать, що мікробна колонізація починається ще до народження людини і супроводжується упорядкованим повздожним і поперечним розміщенням мікроорганізмів в інтестинальному просвіті за відношенням до кишкової стінки [128-131].

Вивчення впливів змін інтестинального вмісту і кишкової мікробіоти на розвиток цукрового діабету ще знаходиться на стадії накопичення фактологічного матеріалу. Добре дослідженими є зазначені впливи на розвиток ювенільної форми цукрового діабету першого типу, для якого характерним є хронічний перебіг, високий рівень захворюваності та передчасної смертності [132-141]. Основним чинником у патогенезі ювенільної форми цукрового діабету першого типу є генетично обумовлені порушення імунітету, що призводять до аутоімунного руйнування бета-клітин підшлункової залози. Високо сприятливі молоді особи (близько 95 % пацієнтів з установленим діагнозом цієї хвороби) мають або людський лейкоцитарний антиген DR<sub>3</sub>- DQ<sub>2</sub> або DR<sub>4</sub>-DQ<sub>8</sub> гаплотипи, або мають мутацію UBASH<sub>3A</sub>, також відому як STS<sub>2</sub>, розташовану на хромосомі 21, що пов'язана з іншими аутоімунними хворобами, зокрема целіакією [132, 133]. Вірусні інфекції (епідемічний паротит, ентеровірус, вірус Коксакії В<sub>4</sub> і краснуха), токсичні хімікати, вплив цитотоксинів або коров'ячого молока в дитинстві також можуть стимулювати утворення антитіл проти антигенно схожих молекул бета-клітин. Патогенез ювенільної форми цукрового діабету першого типу пов'язують [134, 135] із зменшенням різноманітності кишкової

мікробіоти на тлі збільшення кількості окремих груп кишкових бактерій. Були створені гіпотези причинно-наслідкових зв'язків між кишковою мікробіотою і патогенезом ювенільної форми цукрового діабету першого типу: 1) «Hygiene Hypothesis» («гіпотеза гігієни»); 2) «Leak Gut Hypothesis» («гіпотеза кишкового протікання»); 3) «Old Friends Hypothesis» («гіпотеза старих друзів»); 4) «Perfect Storm Hypothesis» («гіпотеза досконалого шторму»). Відповідно до «Leak Gut Hypothesis» підвищена проникність кишкового епітелію виникає через втрату його жорсткої бар'єрної функції [136]. За цих обставин, макромолекул (отримані з їжею) та мікробні антигени проходять через інтестинальний епітеліальний бар'єр і, циркулюючи в крові, ініціюють через імунну систему аутоімунне руйнування бета-клітин підшлункової залози [136]. «Hygiene Hypothesis» та «Old Friends Hypothesis» підкреслюють провідне патогенетичне значення зменшення кількості або втрати комменсальних кишкових мікробів, що викликає дисрегуляцію імунітету і порушує гомеостаз в організмі господаря [137]. «Perfect Storm Hypothesis» об'єднує усі три зазначені гіпотези, наголошуючи, що поєднання (за умов певних генетичних особливостей організму людини) підвищення проникності інтестинального бар'єру, змін кишкового вмісту і кишкової мікробіоти, призводять до викривлення імунної реакції, що завершується [136] ініціацією ювенільної форми цукрового діабету першого типу.

В сучасних наукових дослідженнях найбільше розповсюдженою є стрептозотоцинова модель експериментального цукрового діабету [6, 7, 16, 142-144]. Стрептозотоцин – це антибіотик (2-дезоксид-2-метилнітрозаміно-карбоніл-аміно-О-глюкопіраноза), який виділений при ферментації культури *Streptomyces aerotogenes*. До його фармакологічних властивостей відноситься вибіркова руйнація здібність до вибіркового токсичного руйнування бета-клітин острівців Лангерганса, що індукує розвиток гіперглікемії, характерної для цукрового діабету.

Стрептозотоцин в хімічному сенсі представляє собою N-ацетилглюкозамін, що має у положенні ацетату залишок нітрососечовини.

Вважають, що саме фрагмент нітрососечовини обумовлює токсичний ефект препарату, а 2-дезоксиглюкоза забезпечує вибірковість дії стрептозотоцину на бета-клітини підшлункової залози [145]. Саме наявність в структурі молекули стрептозотоцину глюкозної складової (у вигляді 2-дезоксиглюкози) надає можливість проникнення препарату в бета-клітину за допомогою глюкозного транспортера GLUT 2 [146]. Найбільше поширеною серед дослідників є точка зору про те, що стрептозотин і його метаболіти є алкілюючими агентами, які здійснюють метилювання залишків гуаніну та аденіну в молекулі ДНК бета-клітин [147, 148]. Доведено що нітрозний залишок стрептозотоцину здатен неферментативно вивільнювати оксид азоту, який може перетворюватися в пероксинітрит і стимулювати процес вільнорадикального окиснення. Специфічна дія оксиду азоту на бета-клітини проявляється також в активації гуанілатциклази, наслідком чого є підвищенням рівня cGMP, гальмування мітохондріальної аконітази та порушення аеробного окиснення глюкози, що призводить до пригнічення глюкозостимульованої секреції і синтезу інсуліну. Падіння активності аконітази, призводить до виснаження внутрішньоклітинних запасів НАДН і АТФ, що і є безпосереднім чинником загибелі бета-клітин.

Визнано [145, 150], що за особливостями гормонально-метаболических зрушень стрептозотиніндукований діабет подібний до цукрового діабету першого типу у людини, хоча за умов застосування цієї експериментальної моделі абсолютна інсулінова недостатність є наслідком безпосереднього токсичного ураження бета-клітин і відбувається без участі аутоімунних механізмів їхньої деструкції, що є характерною особливістю цукрового діабету першого типу у людини.

Упродовж тривалого часу більшість дослідників для відтворення цукрового діабету у тварин, подібного до цукрового діабету першого типу у людини (інсулінозалежної форми), застосували стрептозотинову модель. Зокрема, групою дослідників були вивчені структурні зміни різних органів щура за умов експериментального цукрового діабету, викликаного одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину з розрахунку 7 мг на 100 г



маси тіла [151-192]. У межах експериментального дослідження [193] було показано, що на різних етапах перебігу стрептозотоциніндукованого діабету у щурів упродовж 10 тижнів експерименту відбувається виразне підвищення базальної глікемії на тлі незначних рівнів ендogenous інсуліну. Відмічено наявність глікемічної декомпенсації та дисбалансу вуглеводного обміну, які спричиняли значну втрату маси тіла. Розвиток експериментального цукрового діабету супроводжувався виразними метаболічними зсувами у вигляді гіперглікемії, дисліпідемії та оксидативного стресу. Ці зміни є свідченням формування глюко- та ліпотоксичності – провідних складових розвитку діабетичних ускладнень.

Онисько Р.М. та співавторство [187, 188] дослідили динаміку ультраструктурних змін стінки тонкої кишки та ланок її гемомікроциркуляторного русла у різні терміни перебігу експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету у щурів. Встановлено, що на другому тижні перебігу стрептозотоциніндукованого цукрового діабету з'являються ознаки помірно виражених розладів гемодинаміки у ланках гемомікроциркуляторного русла слизової оболонки, підслизової та м'язової оболонки усіх відділів тонкої кишки. Частина стовпчастих ентероцитів та келихоподібних клітин була в стані функціональної напруги, що проявлялося явищем гіперплазії гранулярної ендоплазматичної сітки та мітохондрій, збільшенням кількості полісом і рибосом. Виявлено, що на четвертому тижні перебігу стрептозотоциніндукованого цукрового діабету просвіти кровоносних капілярів є нерівномірними, люмінальна поверхня ендотеліоцитів кровоносних капілярів утворює вип'ячування та мікрворсинки, що, на думку дослідників [188], є свідченням недостатньої оксигенації. На шостому тижні перебігу стрептозотоциніндукованого цукрового діабету зареєстроване прогресування явища застіного повнокрів'я у ланках гемомікроциркуляторного русла. Просвіти артеріол є значно звуженими, в них виявляються пристінкові тромби. В просвіті кровоносних капілярів відбувається складж еритроцитів, а діаметри просвітів збільшуються на 12-14 %. На восьмому тижні перебігу дослідженого

експериментального цукрового діабету переважають деструктивні зміни у ланках гемомікроциркуляторного русла та покривному епітелії ворсинок. Відбуваються порушення структури ендотеліоцитів і базальної мембрани. В ендотеліоцитах спостерігається дезорганізація внутрішньоклітинних мембранних структур, з'являються поодинокі автофаголізосоми. Базальна мембрана, що розташована між перицитами та ендотеліоцитами, є нечіткою, потовщеною, нерівномірною.

В резюме більшості сучасних оглядових статей щодо експериментальних моделей цукрового діабету відмічають [6, 7, 16, 142, 143, 144, 194], що, нажаль, не дивлячись на наявний широкий спектр можливих шляхів індукції діабету, жодна з моделей не може повною мірою забезпечити відтворення сутності захворювання та імітувати всі особливості цукрового діабету людини. Більшість дослідників (попри існування певних вагань) дотримується поміркованої думки про зручність використання стрептозотоцину, який викликає діабет у більшості біологічних видів лабораторних тварин [195]. Визнано [194, 195], що для щурів оптимальна діабетогенна доза стрептозотоцину при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні на стерильному цитратному буфері 0,1м (рН 4,5-4,8) дорівнює 50-70 мг/кг. Є дані [195], що збільшення дози уведення стрептозотоцину викликає зменшення ефекту дії інсуліну на утилізацію глюкози та синтез глікогену, а тканинна чутливість до інсуліну прогресивного знижується із подовженням терміну перебігу діабету (до 60 діб), що призводить до появи пізніх ускладнень, до розвитку критичних декомпенсацій і, врешті, до загибелі тварин (у 30-50% випадків).

Після уведення стрептозотоцину у відповідь на зміни концентрації інсулін в плазмі крові відбуваються трьохфазні зміни рівня глікемії [194, 195]. На відміну від алоксанового діабету при стрептозотоциновому діабету не розвивається початкова швидкоплинна гіпоглікемічна фаза (стрептозоточин не пригнічує глюкоченазу). Перша фаза (фаза гіперглікемії) є результатом токсичного впливу стрептозотоцину на бета-клітини, що призводить до порушення біосинтезу проінсуліну та інсуліну. Перша фаза розпочинається через

одну годину після уведення стрептозотоцину (піку збільшення рівень глюкози в крові досягає через дві години) і продовжується до чотирьох годин.

Наступна, друга фаза (фаза гіпоглікемії) є результатом бурхливого вивільнення інсуліну із ушкоджених бета-клітин. Друга фаза настає через чотири-вісім годин після уведення стрептозотоцину і триває упродовж декількох годин (до однієї доби). Третя фаза коливань рівня глікемії є фінальною, характеризується стійкою гіперглікемією і розвитком перманентного стрептозотоцинового діабету. Морфологічний аналіз стану підшлункової залози у цей час свідчить про остаточну дегрануляцію і втрату цілісності бета-клітин. Вторинну (за часом виникнення) гіперглікемію при стрептозотоциніндукованому діабеті розглядають [16, 194, 195], як результат абсолютної інсулінової недостатності. Вважають [194], що повний розвиток характерної клінічної картини цукрового діабету відбувається у середньому через три доби (за деякими авторами через сім днів) після внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину лабораторним тваринам.

Широке застосування відтворення цукрового діабету шляхом уведення стрептозотоцину лабораторним тваринам (головним чином – гризунам) обумовлене пошуками оптимізації підбору біологічноактивних сполук протидіабетичної дії, коли *in vivo* здійснюється перший етап їхнього вивчення, який передує клінічним випробуванням. Головним завданням дослідників, за зазначених обставин, є створення можливості у межах розробленої методики експерименту змоделювати різні стани вуглеводного обміну, які відповідають певним клінічним типам цукрового діабету у людини, або індукувати порушення толерантності до вуглеводів, яке прирівнюють до прихованого чи латентного цукрового діабету [195].

В експериментальних дослідженнях було встановлено, що чутливість тварин до діабетогенної дії стрептозотоцину [16, 194, 195] суттєво залежить не тільки від видової їхньої належності (та генетичної лінії), але й від статі, віку, характеру їхнього харчування і, головне, від дози цитотоксину і способу його введення (внутрішньовенного або внутрішньоочеревинного). Розглядаючи

переваги і недоліки стрептозотоцинованої моделі цукрового діабету, автори останніх (за часом публікацій) наукових оглядів, присвячених проблемам і перспективам моделювання цукрового діабету [11, 12, 16, 194, 195], відмічають, що навіть при наявності відтворених клінічних ознак цукрового діабету (гіперглікемії, появи глюкози у сечі, поліурії, полідипсії, істотного зниження маси тіла) достатньо важко вирішити питання про залежність цих ознак від певної (відтвореної чи невідтвореної) ланки загального ланцюга патогенезу захворювання, а також оцінити внесок кожної ланки патогенезу у розвиток діабетичних ускладнень.

В останні роки деталізація фактології щодо розвитку стрептозотиніндукованого діабету [16, 195] призвела до того, що цю модель почали застосовувати для відтворення цукрового діабету другого (інсулін-незалежного) типу, але за умов залучення додаткових можливостей її модифікації.

Однією з таких можливостей є попереднє (перед уведенням цитотоксичного стрептозотину) уведення нікотинаміду [195-199], який здійснює певний цитопротекторний вплив на бета-клітини підшлункової залози. За цих обставин відбувається розвиток помірної гіперглікемії і фіксується зменшення інсуліну на 40 %. Саме така помірна та стабільна гіперглікемія, яка супроводжується відповідними клінічними проявами, наявністю глюкози в сечі, без ацидозу – більше повно відповідає розвитку цукрового діабету другого типу. За моделлю Islam S., Chei H. [198] експериментальний цукровий діабет другого типу у щурів викликає одноразове внутрішньоочеревинне введення стрептозотину (у дозі 65 мг/кг) поєднане з превентивним (за 15 хвилин) внутрішньоочеревинним уведенням нікотинаміду (у дозі 230 мг/кг). Дослідники у межах експерименту здійснювали кількісне визначення глюкози в крові та кетонів у сечі на третю, сьому, двадцять першу та двадцять восьму добу після уведення стрептозотину [198]. З'ясовано, що рівень глюкози підвищується через п'ять-сім діб і до кінця третього-четвертого тижня дорівнює 17-20 ммоль/л (при нормативному показнику у 4-8 ммоль/л). У подальшому

відмічене підвищення рівня глюкози у крові, високі показники рівня якої зберігаються щонайменше упродовж трьох місяців.

Більша кількість нюансів притаманна іншим, останнім за часом апробації, стрептозотоциновим моделям цукрового діабету другого типу з використанням нікотинаміду. Зокрема, Bayrasheva V. K. et al. [199] запропонували нову модель цукрового діабету другого типу та діабетичної нефропатії у щурів, яку відтворювали шляхом одноразових внутрішньоочеревенних уведень послідовно з інтервалом у 15 хвилин розчину нікотинаміду (230 мг/кг) та розчину стрептозотоцину (65 мг/кг). Попередньо щурам була здійснена правобічна нефректомія з призначенням у подальшому впродовж п'яти тижнів високожирового харчування. За цих умов моделювання цукрового діабету другого типу у щурів надлишково збільшується маса тіла, розвивається помірна гіперглікемія, інсулінорезистентність, дисліпедемія. На тридцять добу експерименту з'являються ознаки діабетичної нефропатії, підтвержені лабораторними дослідженнями сечі.

Добре обгрунтованого є експериментальна модель цукрового діабету другого типу з використанням довготривалих ефектів дії стрептозотоцину, підтвердженням розвитку якого було встановлення глюкозотолерантності та інсулінорезистентності у піддослідних щурів [200]. Дослідники відтворювали цукровий діабет другого типу шляхом одноразового внутрішньоочеревинного уведення новонародженим (віком одна – дві доби) щурят стрептозотоцину (у дозі 80 мг/кг). Через 180 діб у сироватці крові щурів досліджували показники вуглеводного та ліпідного обмінів. Про стан інсулінорезистентності у групі щурів з моделлю цукрового діабету другого типу свідчить зниження швидкості засвоєння глюкози периферійними клітинами майже у півтори рази у порівнянні з нормою. Порушеною є також толерантність до глюкози (аналіз кривих глюкозотолерантного тесту свідчить, що рівень глікемії через дві години після уведення глюкози у щурів, яким свого часу був уведений стрептозотоцин) залишився вищим за 13 ммоль/л. У щурів з індукованим цукровим діабетом відмічене підвищення відносно норми концентрації в крові тригліцеридів у 1,7

рази, холестеролу в 2,4 рази, а вільних жирних кислот у 3 рази. Засвідчене зростання активності: основних печінкових трансаміназ (аланінаманотрансферази у 2,4 рази; аспартатамінотрансферази у 1,4 рази); лужної фосфатази (у 1,2 рази); альфа-амілази (у 1,4 рази).

Проведений вище аналіз існуючих стрептозотоцинових моделей відтворення цукрового діабету дозволяє погодитися з розповсюдженою точкою зору про те, що моделювання такого складного за розвитком і мультифакторного захворювання як цукровий діабет є до кінця далеко не вирішеною проблемою. Наявність великої кількості різних за складністю виконання моделей свідчить, що, оскільки в умовах експерименту важко беззаперечно визначити тип отриманого діабету, дослідники розробляють і впроваджують нові моделі, які у свою чергу, стають об'єктом наукової критики.

Виходячи із зазначених вище міркувань, ми обрали найпростіший варіант класичної стрептозотоцинової моделі цукрового діабету, який базується на одноразовому внутрішньоочеревинному уведенні стрептозотоцину щурам у дозі 50 мг/кг. Експеримент з опіком шкіри і відтворенням характерної для цукрового діабету гіперглікемії був виконаний нами спільно з іншими науковцями, які вивчали основи взаємодії клітин сполучної тканини шкіри щурів в умовах опікової травми та гіперглікемії [201, 202]. Така кооперація дозволила спільно обрати часові проміжки вивчення об'єктів дослідження і у подальшому порівняти у науковому аналізі дані одержані кожним виконавцем власної наукової теми дослідження.

Як свідчить здійснений нами огляд наукової літератури більшість досліджень індукованих цукровим діабетом порушень з боку травної системи присвячена вивченню особливостей моторно-евакуаційної функції (головним чином – з точки зору аналізу адаптивних та дезадаптивних перебудов механофізіологічних механізмів). Між тим, загальновизнаною є концепція про те, що деструктивні процеси різного генезу в слизовій оболонці шлунково-кишкового тракту не тільки викликають зміни її бар'єрної функції, але й здійснюють критичні впливи на перебіг в організмі вуглеводного, білкового і

ліпідного обмінів [203, 204, 205, 206, 207]. Тому вивчення полікаудальної реакції [205] слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, як складової загального синдрому дезадаптації при цукровому діабеті (особливо при поєднанні діабету з іншими патологічними станами) залишається актуальним [207].

Слід зауважити, що аналіз наукової літератури вказує на те, що вивчення структурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки після опікової травми шкіри асоційованої з цукровим діабетом не було до цього часу предметом спеціальних досліджень.

## РОЗДІЛ 2

### ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА Й ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження здійснене на 84 лабораторних білих статевозрілих щурах-самцях масою 180-210 г. 21 інтактний щур без ознак соматичної патології, до першої експериментальної групи увійшли 21 щур з експериментально змодельованою опіковою травмою шкіри, до другої експериментальної групи були залучені – 21 щур без опікової травми шкіри з експериментально змодельованим цукровим діабетом, третю експериментальну групу склали – 21 щур з експериментально змодельованими опіковою травмою шкіри та цукровим діабетом (табл. 1). Нумерація експериментальних груп відзеркалює не очікувану ступінь тяжкості ушкодження слизової оболонки дванадцятипалої кишки, а часову послідовність дослідження матеріалу різних експериментальних груп.

*Таблиця 1*

#### Розподіл експериментальних груп тварин

Група	Характеристика	Кількість щурів		
		7 доба	14 доба	21 доба
	Інтактні щури	7	7	7
I група	Щурі після опікової травми шкіри	7	7	7
II група	Щурі без опікової травми шкіри з цукровим діабетом	7	7	7
III група	Щурі після опікової травми шкіри та цукровим діабетом	7	7	7

Усі процедури з лабораторними тваринами були проведені у відповідності до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986); Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986 р.); Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження»; Загальних етичних



принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Модель експериментального цукрового діабету [201, 202] відтворювали шляхом введення щурам стрептозотоцину внутрішньоочередово одноразово в дозі 50 мг/кг, попередньо розчинивши його в 0,1М цитратному буферному розчині (рН-4,5). Контролем розвитку гіперглікемії в експериментальних групах був рівень глюкози в крові –  $24,24 \pm 0,79$  ммоль/л. В групі контролю  $8,03 \pm 0,4$  ммоль/л.

Виходячи із зазначених вище міркувань, ми обрали найпростіший варіант класичної стрептозотоцинової моделі цукрового діабету, який базується на одноразовому внутрішньоочередовому введенні стрептозотоцину щурам у дозі 50 мг/кг. Експеримент з опіком шкіри і відтворенням характерної для цукрового діабету гіперглікемії був виконаний нами спільно з іншими науковцями, які вивчали основи взаємодії клітин сполучної тканини шкіри щурів в умовах опікової травми та гіперглікемії [201, 202]. Така кооперація дозволила спільно обрати часові проміжки вивчення об'єктів дослідження і у подальшому порівняти у науковому аналізі дані одержані кожним виконавцем власної наукової теми дослідження.

Для досягнення поставлених завдань і мети наукової роботи нами виконано моделювання експериментальної опікової травми з подальшим дослідженням стану слизової оболонки дванадцятипалої кишки.

Перед моделюванням опікової травми шкіри щурам спочатку голили тримером і бритвою під пропофоловим наркозом бічні поверхні тулуба. Термічну травму здійснювали з експозицією 10 с за допомогою чотирьох мідних пластинок, що встановлювались у кількості двох з кожного боку поголених поверхонь тіла тварин. Площа окремої пластинки складала  $13,86 \text{ см}^2$ , а нагрівання її проводилось у воді протягом 6 хв. до температури  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ . При даних умовах загальна площа опіку у щурів складала 21-23 %, що є достатнім для формування опіку II-III ступеня (відповідно Па-Пб ступеня згідно наказу МОЗ України № 838 від 30.09.2013 р.); глибину опіків оцінювали за

класифікацією, відповідно до якої 1 % опіку I ступеня прирівнюється до 1 одиниці індексу тяжкості пошкодження; 1 % опіку II ступеня – до 2 одиниць; 1 % опіку III ступеня – до 3 одиниць; 1 % опіку IV ступеня – до 4 одиниць [90].

Для морфологічних досліджень було забрано відділ дванадцятипалої кишки, фрагменти якого досліджували методами світлової та електронної мікроскопії.

В якості фіксатора препаратів для світлової мікроскопії використовували 10 % розчин нейтрального формаліну. Далі досліджуваний матеріал промивали в проточній воді та проводили дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації (80 %, 90 % та 96 %). Заливка здійснювалась в парапласт [41]. З отриманих блоків виготовляли напівтонкі зрізи (4-6 мкм) на ротаційному мікротомі, розміщували їх на предметних скельцях. Фарбували зрізи гематоксилін-еозином за стандартною методикою. Кінцевим етапом приготування гістологічних матеріалів було заключення їх у канадський бальзам. Для інтегральної об'єктивної оцінки перебігу компенсаторних, пристосувальних та деструктивних процесів в стінці дванадцятипалої кишки щурів за умов здійсненого експерименту було проведене, морфометричне дослідження, яке виконувалося використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Зображення з гістологічних препаратів на монітор комп'ютера виводили з мікроскопу MICROmed SEO SCAN та за допомогою відеокамери Vision CCD Camera. Морфометричні дослідження проведені за допомогою програм ВидеоТест-5.0, КААРА Image Base та Microsoft Excel на персональному комп'ютері. Дослідження проводили у визначені терміни досліду в препаратах забарвлених гематоксиліном і еозином. Оцінювали: товщину слизової оболонки, висоту ворсинок, товщину ворсинок, глибину крипт, ширину крипт, товщину м'язової пластинки слизової оболонки, товщину підслизової основи, товщину м'язової оболонки, товщину серозної оболонки, висоту епітеліоцитів в середній частині ворсинок, мітотичний індекс стовпчастих епітеліоцитів.

Для електронно-мікроскопічного дослідження відбирали шматочки

стілки дванадцятипалої кишки та подрібнювали до 1 мм в діаметрі. Даний процес здійснювався в 1 % розчині осмію (1 мл осмію та 1 мл фосфатного буферу). Шматочки фіксували в 2,5 % розчині глютарового альдегіду (1 мл глютару та 9 мл фосфатного буферу). Після чого промивали матеріал фосфатним буфером (рН 7,4). Подальшу фіксацію проводили 1 % розчином тетраоксиду осмію. Зневоднювали в серії спиртових розчинів зростаючої концентрації (70 %, 90 %, абсолютному). Контрастування здійснювали 2 % ураніл ацетатом, заключали в суміш аралдиту з епоксидними смолами. З приготованих блоків виготовляли напівтонкі зрізи та фарбували метиленовим синім. На ультратомі LKB-3 (Швеція) отримували ультратонкі зрізи та контрастували їх уранілацетатом і цитратом свинцю на мідних опорних сіточках (за методом Рейнольдса). Негативи даних отримували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К. Основними критеріями оцінки пошкодження ентероцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки стали результати дослідження гістологічних та ультраструктурних даних в динаміці на 7, 14 та 21 добу після опіку шкіри. Виведення тварин для забору матеріалу у вказані терміни шляхом їх декапітації здійснювали за умов внутрішньовенного пропофолового наркозу, виходячи із розрахунку 60 мг/кг маси тварини.

Для всіх морфометричних показників розраховували значення середньої арифметичної ( $M$ ), похибки середньої арифметичної ( $m$ ) і стандартне відхилення ( $\Sigma$ ). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі (оцінка виду розподілу за Пірсоном) за  $t$ -критерієм Стюдента (при порівнянні більше двох груп використовували поправку Бонферонні), а в інших випадках – за допомогою  $U$ -критерію Манна-Уїтні. Достовірними вважається відмінності при  $p < 0,05$ .

### РОЗДІЛ 3

## ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ШКІРИ

Здійснене нами гістологічне та електронномікроскопічне дослідження (а також результати морфометрії) структур стінки дванадцятипалої кишки щурів за умов норми (інтактні тварин) та стінки дванадцятипалої кишки щурів з експериментальним опіком шкіри (перша група тварин) дозволили прийти до висновку, що у всіх досліджених випадках (через сім діб після опіку, через чотирнадцять діб після опіку, через двадцять одну добу після опіку) у тварин першої експериментальної групи суттєвих відхилень в структурі серозної та м'язової оболонки дванадцятипалої кишки у порівнянні з нормою не виявлено. Замість того виявлені відповідні структурні зміни слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів першої експериментальної групи, опис яких ми наводимо нижче.

Проведене морфометричне дослідження підтвердило описано вище якісну картину змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів за умов здійсненого експерименту. Так при збереженні структурної впорядкованості м'язової і серозної оболонки підтвердженої відносною сталістю товщини м'язової та серозної оболонки відмічені кількісні ознаки перебудови слизової оболонки виразом чого є статистично достовірні зміни товщини ворсинок, товщини підслизової основи, висоти епітеліоцитів в середній частині ворсинок та мітотичного індексу стовпчастого епітеліоциту (Табл. 2). Ці показники статистично достовірно відрізняється від показників інтактних тварин [208-212].

Морфометричні параметри структурних компонентів дванадцятипалої кишки інтактних тварин та тварин першої експериментальної групи у різні терміни спостереження [208]

Параметр ( $M \pm m$ )	Інтактні тварини	Тварини першої експериментальної групи		
		7 доба	14 доба	21 доба
Товщина слизової оболонки, мкм	762,51 ± 2,35	775,63 ± 5,49	783,76 ± 3,46	769,77 ± 8,89
Висота ворсинок, мкм	581,58 ± 14,23	593,06 ± 16,86	598,09 ± 14,87	587,51 ± 18,03
Товщина ворсинок, мкм	69,30 ± 1,97	75,27 ± 1,98*	78,08 ± 1,40***	77,09 ± 2,26*
Глибина крипт, мкм	171,26 ± 7,40	169,26 ± 3,14	168,36 ± 4,38	169,03 ± 3,52
Ширина крипт, мкм	38,87 ± 1,78	40,11 ± 0,87	40,87 ± 1,03	39,92 ± 1,15
Товщина м'язової пластинки слизової оболонки, мкм	15,05 ± 0,20	15,12 ± 0,17	15,17 ± 0,26	15,11 ± 0,28
Товщина підслизової основи, мкм	185,45 ± 6,08	201,80 ± 7,80	215,64 ± 8,36**	210,38 ± 10,36*
Товщина м'язової оболонки, мкм	82,61 ± 2,57	81,62 ± 1,14	83,26 ± 1,38	83,11 ± 1,34
Товщина серозної оболонки, мкм	7,36 ± 0,12	7,49 ± 0,15	7,42 ± 0,17	7,39 ± 0,16
Висота епітеліоцитів в середній частині ворсинок, мкм	17,21 ± 0,21	18,11 ± 0,46	18,01 ± 0,22*	17,97 ± 0,23*
Мітотичний індекс стовпчастих епітеліоцитів, %	3,367 ± 0,147	2,667 ± 0,111***	2,800 ± 0,111**	2,867 ± 0,171*

Примітки: Зірочкою позначено величини, які статистично достовірно відрізняються від показників інтактних тварин (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

В слизовій оболонці дванадцятипалої кишки тварин першої експериментальної групи через 7 днів після опіку виявлялись дистрофічні зміни в більшості епітеліоцитів при збереженні форми нерівномірно набряклих та інфільтрованих лімфоцитами (а також лейкоцитами) ворсинок; відбувалось також помірна лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація в зоні кишкових крипт (Рис. 3.1, Рис.3.2).

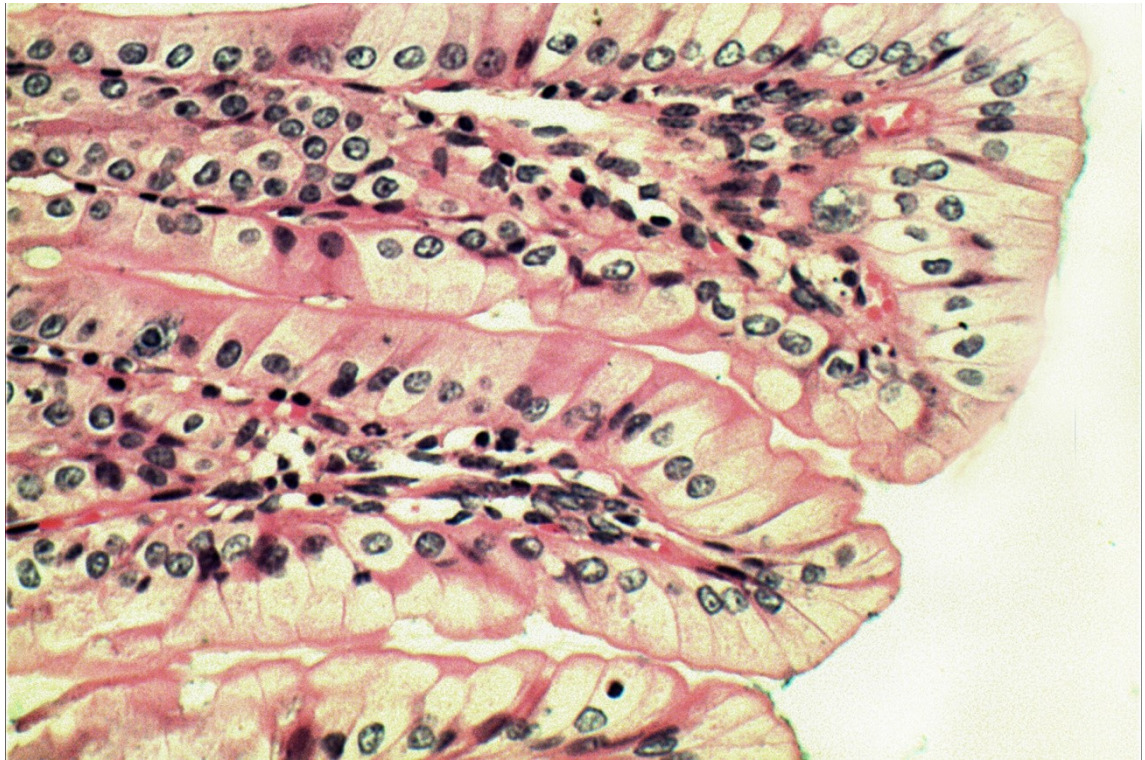


Рис. 3.1. Помірна лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 днів після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200.

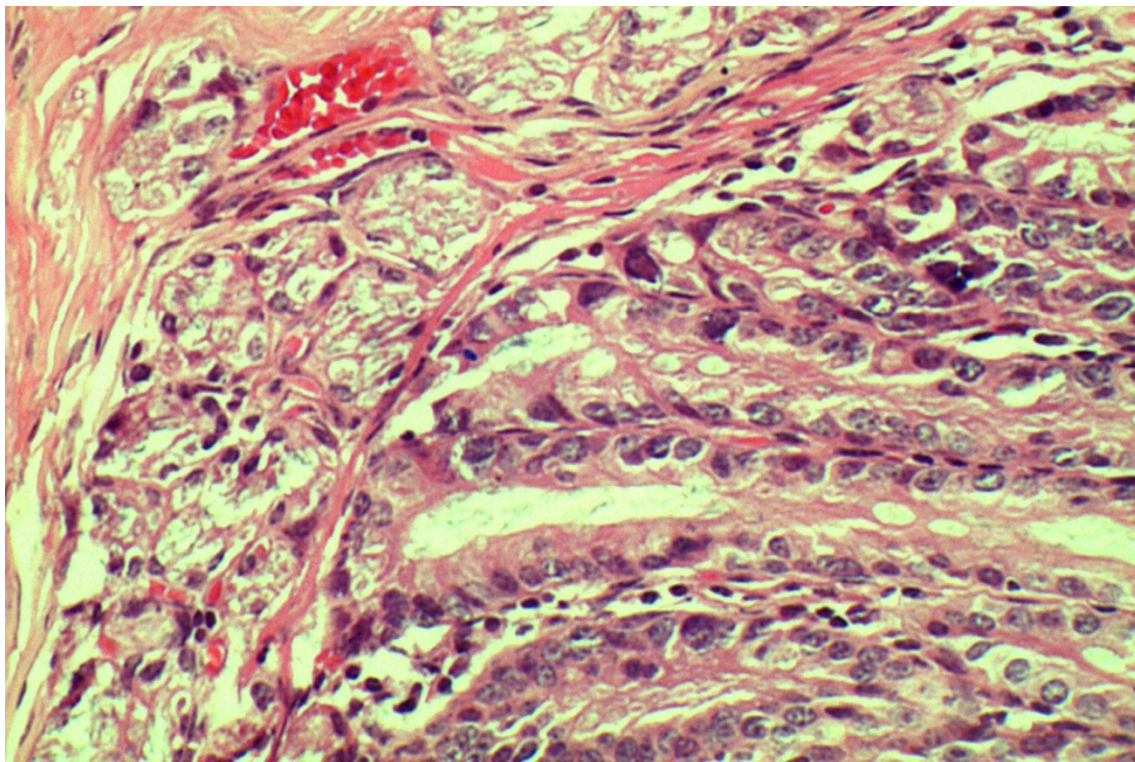


Рис. 3.2. Помірна лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація в зоні кишкових крипт дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200.

В пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки зареєстровано поява лейкоцитів (цитоплазма яких переповнена гранулами), макрофагів (в цитоплазмі яких локалізовані численні продукти фагоцитозу), лімфоцитів (Рис. 3.3).

Зазначені клітини, зазвичай, розташовані біля кровоносних капілярів (Рис. 3.3). Ці кровоносні капіляри мають типову будову кровоносних капілярів вісцерального типу, стінка яких включає моношар ендотеліоцитів та суцільну щільну базальну мембрану, в дублікатурі якої розташовані поодинокі перицити. В периферійній зоні ендотеліоцита локалізовані діафрагмовані фенестри (пори, які затягнуті діафрагмою). Фенестри, звичайно розташовані у найбільше стоншених ділянках цитоплазми ендотеліоцитів. Люменальний контур ендотелію цих кровоносних капілярів має доволі примхливу конфігурацію за рахунок утворення цитоплазматичних випинів та відростків. Розповсюдженим

явищем, є ділянка відшарування фенестрованого ендотелію від збереженої суцільної базальної мембрани кровоносного капіляра (Рис. 3.4).

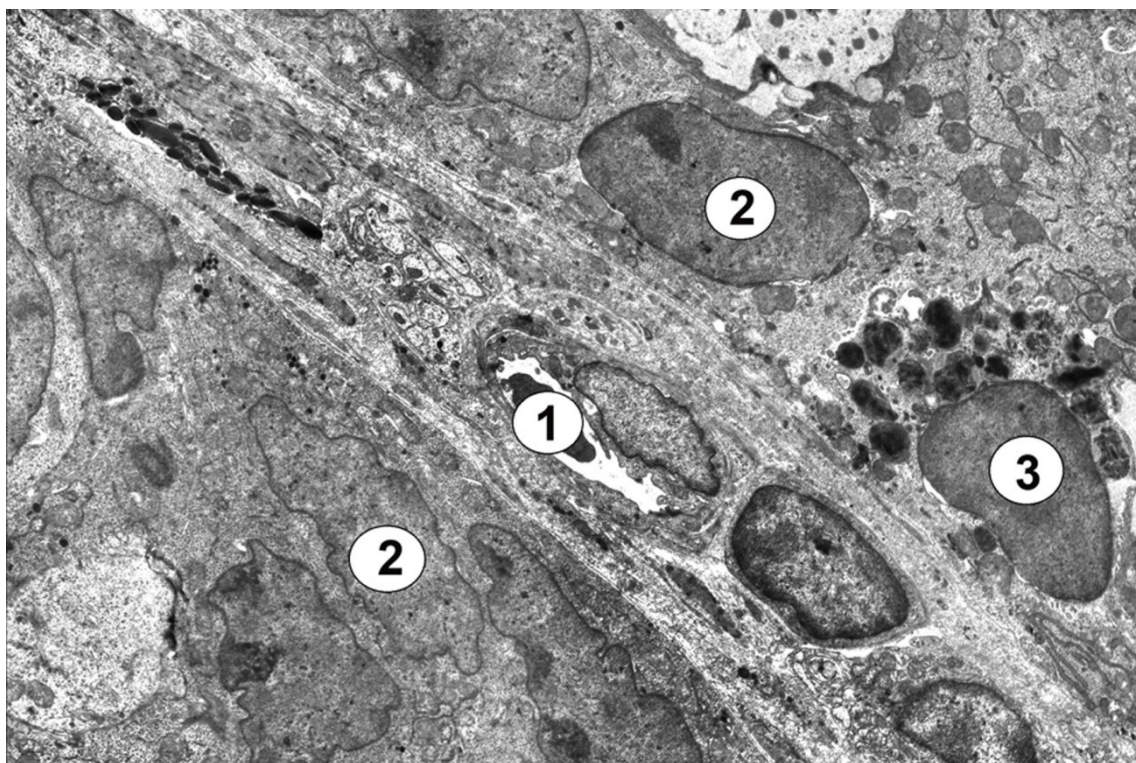


Рис. 3.3. Лейкоцити, макрофаги, лімфоцити в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. 1 – еритроцит в просвіті кровоносного капіляра; 2 – ядро епітеліоцита; 3 – ядро макрофага. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

Одночасно змінювались стовпчасті епітеліоцити без облямівки, келихоподібні клітини та кишкові ендокриноцити. Описані зміни епітеліальної вистилки супроводжувались розширенням міжепітеліальних просторів. В цих розширеннях виявляли міжепітеліальні лімфоцити, які теж мали виражені пошкодження структури. Ці морфологічні ознаки епітеліального моношару суттєво відрізняються від такого за умов норми.



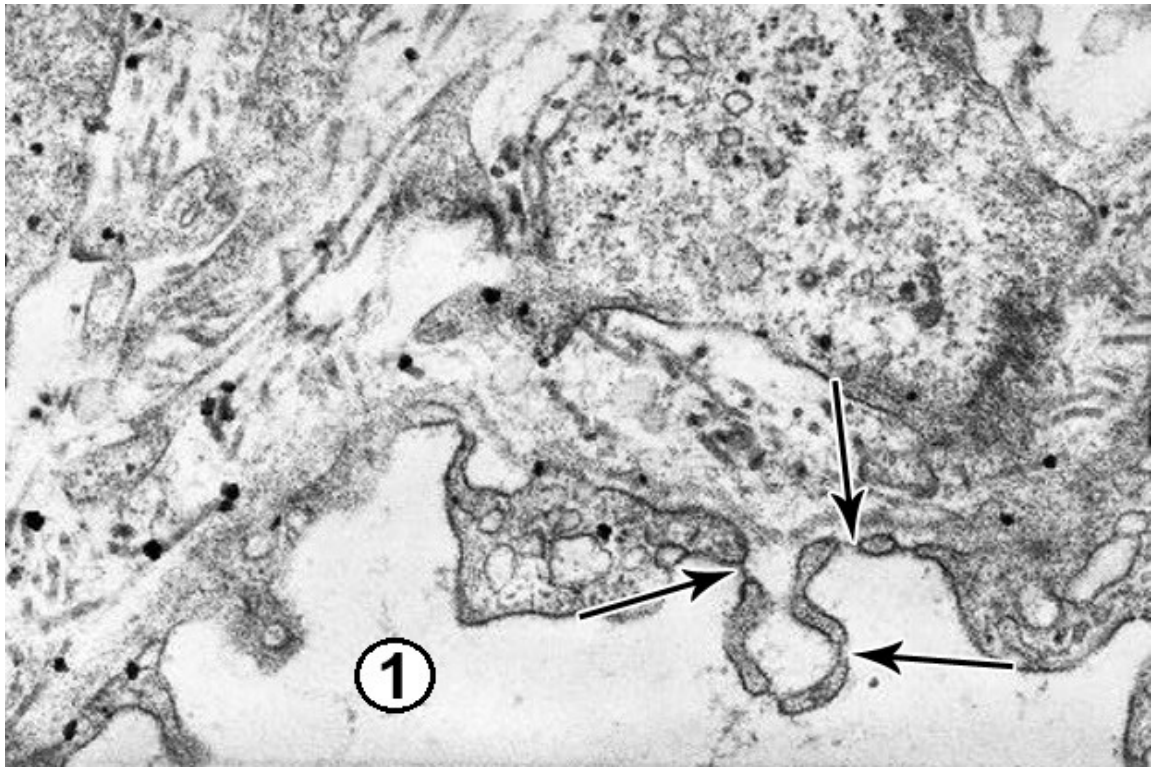


Рис. 3.4. Відшарування фенестрованого ендотелію кровоносного капіляра від збереженої базальної мембрани кровоносного капіляра в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. Стрілочками відмічені фенестри в ендотеліоциті. 1 – просвіт кровоносного капіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

У інтактних тварин (Рис. 3.5) апікальна частина кожного стовпчастого епітеліоцита з щітковою облямівкою містить монофіламенти, за допомогою яких утворюється щільні міжклітинні контакти (*tight junctions*), які ізолюють бічну поверхню епітеліоцитів від вмісту інтестинального просвіту. Ці контакти чітко візуалізуються на електронних мікрофотографіях в локусах між апіколаторальними поверхнями сусідніх епітеліоцитів з щітковою облямівкою тому, що зовнішні гідрофільні шари і глікокалікс суміжних плазмолем ніби зливаються в одному місці у суспільний електроннощільний шар, а скупчення тонофіламентів у прилеглий ділянці цитоплазми додає «точці» ще більшу електронну щільність. Цитоплазма сусідніх епітеліоцитів має довгі

тонкі відростки, які утворюють інтердигтації (міжклітинні поєднання) складної форми уздовж контактуючих бічних поверхонь клітин.

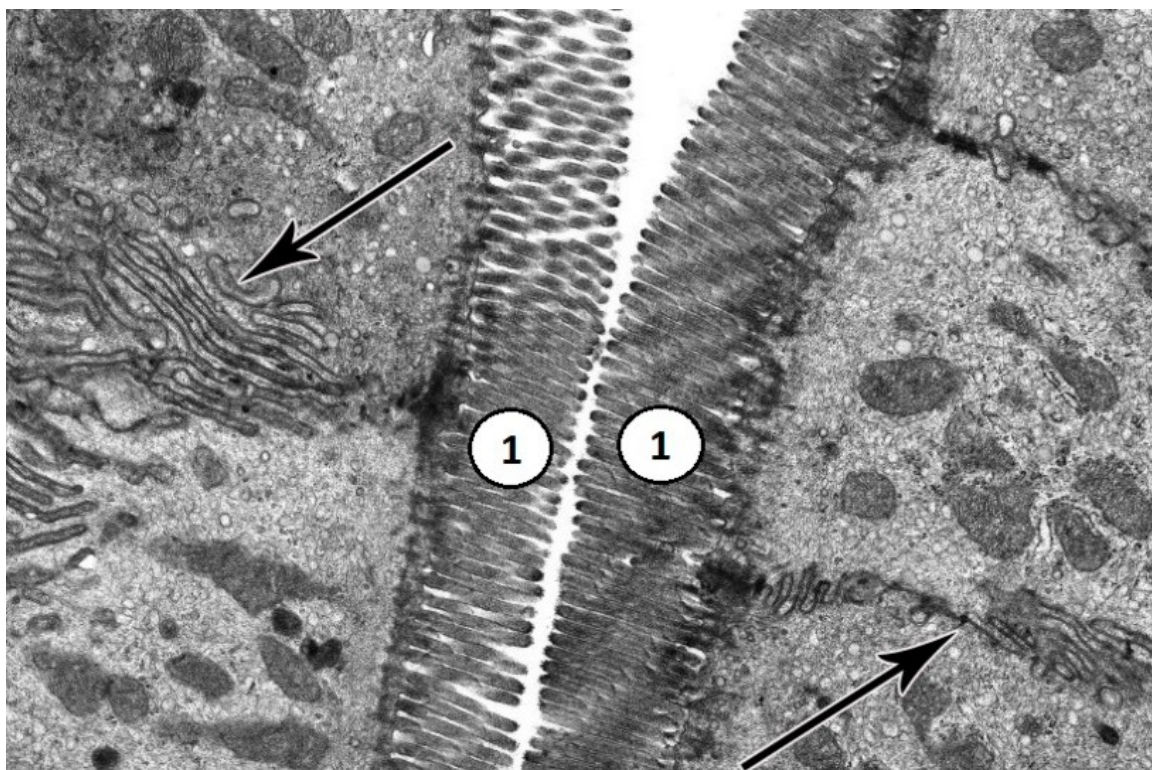


Рис. 3.5. Ультраструктурна організація епітеліоцитів з щітковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура за умов норми (інтактні тварини). Стрілочками відмічені інтердигтації цитоплазматичних відростків сусідніх епітеліоцитів. 1 – щіткова облямівка. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

За рахунок наявності щільних контактів та інтердигтації цитоплазматичних відростків (Рис. 3.6) забезпечується максимальне зближення плазмолем сусідніх епітеліоцитів і максимальне зменшення міжклітинних просторів в епітелії. У наслідок наявності щільних контактів та описаних вище інтердигтацій забезпечується максимальне зближення плазмолем сусідніх епітеліоцитів та зменшення міжклітинних просторів в епітеліальному моношарі. За умов збереження цілісності епітеліального моношару зберігається характерна однотипова, переважно листоподібна форма ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки.

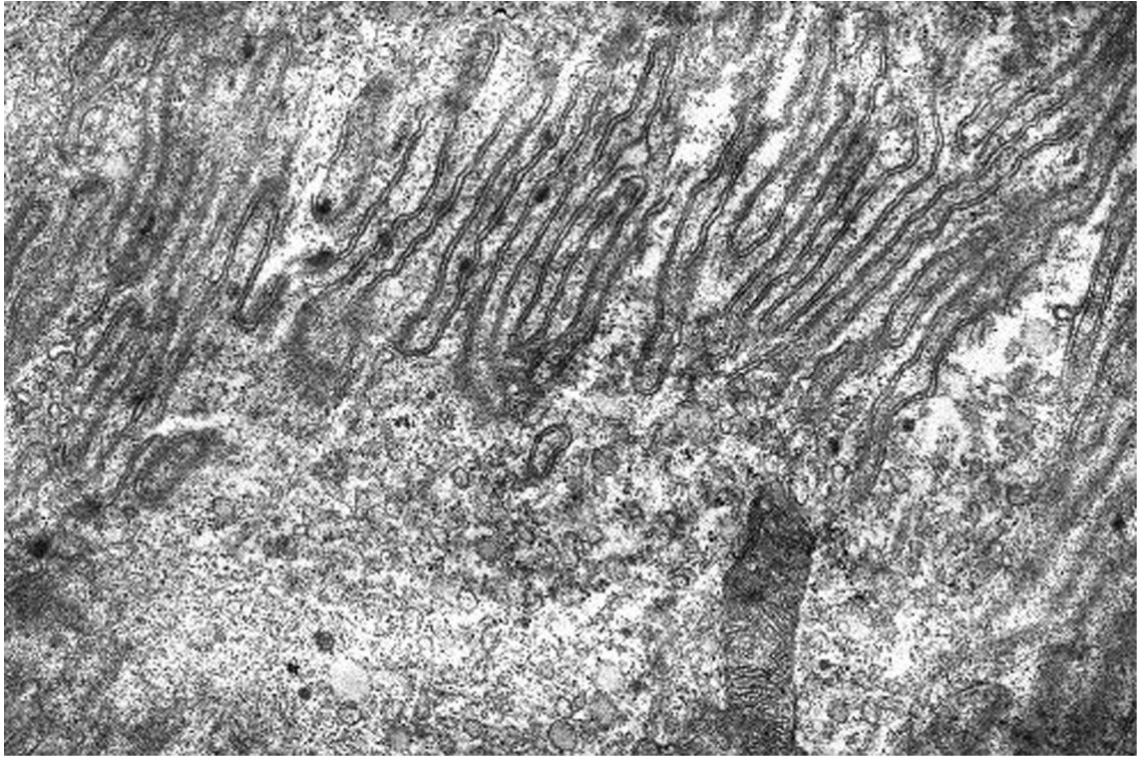


Рис. 3.6. Довгий міжклітинний контакт епітеліоцитів з щітковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. Електронна мікрофотографія. Зб. 52 000.

У забезпеченні певної архітектоніки ворсинок, ймовірно, відіграє підтримка сталості інтердигітуючих міжепітеліальних контактів, які навіть за умов ураження цитоплазми епітеліоцитів є довгими.

Навіть за умов тотального некрозу епітеліоцита, та субтотального некрозу сусіднього епітеліоцита в клітинному детриті обох клітин виявляється збережені ділянки довгих інтердигітуючих міжепітеліальних контактів (Рис. 3.7).

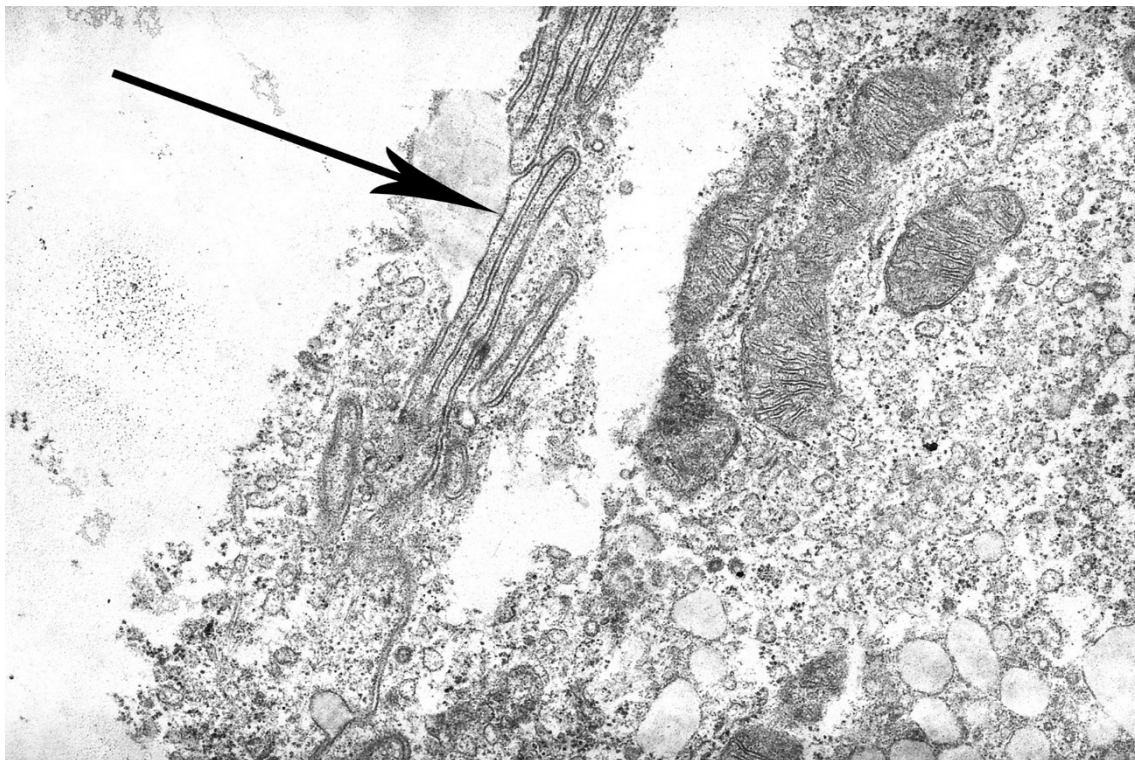


Рис. 3.7. Руйнація прилеглих один до одного ділянок суміжних епітеліоцитів з щітковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. Стрілочкою відмічена збережена ділянка міжепітеліального контакту, що збереглася у фрагменті інтестинального клітинного детриту. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

Кількість щільних контактів між епітеліоцитами зменшується, але вони зберігаються навіть за умов руйнації щіткової облямівки епітеліоцита (Рис.3.8). В слизовій оболонці дванадцятипалої кишки тварин першої експериментальної групи через 7 діб після опіку супутні зміни в мікроциркуляторному руслі спричиняли перивазальний набряк, лейкоцитарну інфільтрацію, діapedез еритроцитів, розрив окремих мікросудин з утворенням геморагій.

При порівняльному аналізі структурної організації слизової оболонки дванадцятипалої кишки у тварин цієї групи відзначені прояви адаптивних процесів. Виявлена наявність більше вираженої кількості складок слизової оболонки. Ворсинки добре розвинені, потовщені, їх власна пластинка включає значну кількість лімфоцитів.

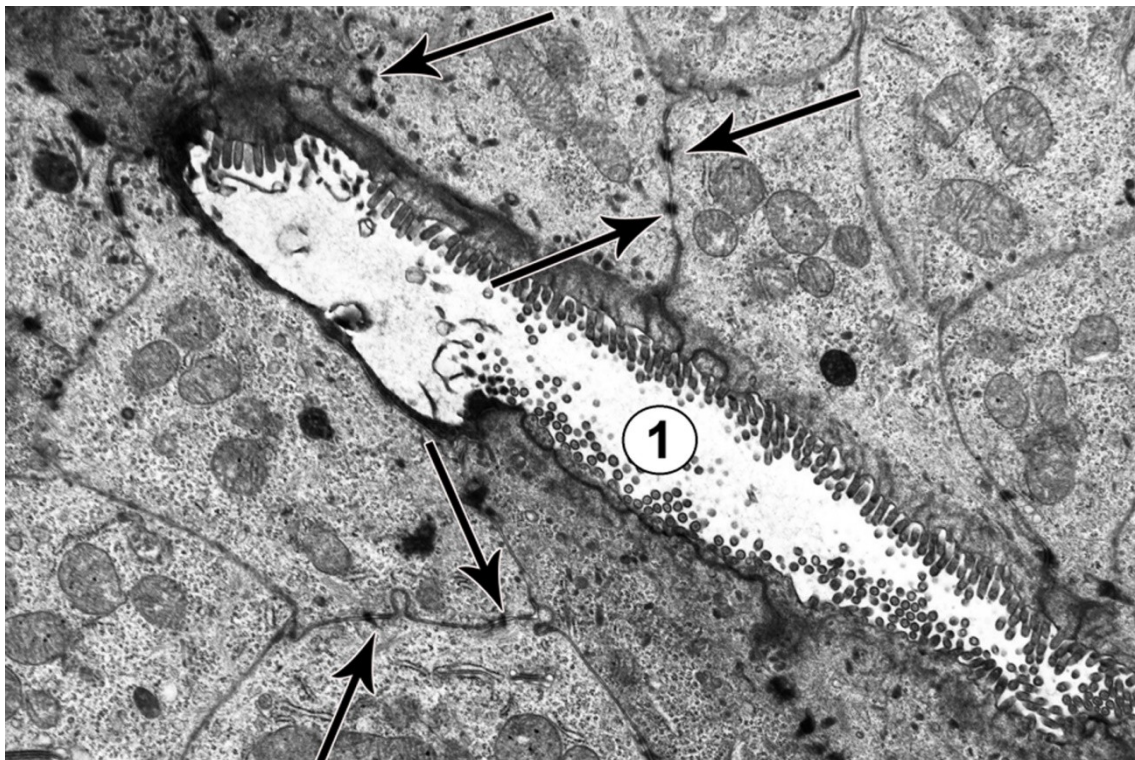


Рис.3.8. Кишкова крипта в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. Стрілочками відмічені щільні контакти між епітеліоцитами. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

Розповсюдженим явищем у цей часовий проміжок є різноманітні ультраструктурні зміни епітеліоцитів на тлі набряку їх цитоплазми (показником чого є просвітлення цитоплазматичного матриксу): від вакуолізації каналців ендоплазматичної сітки та пошкодження мітохондрій (проявом є їхнє інтенсивне набухання, фрагментація крист і внутрішньої мембрани) до повної руйнації органел, появи дефектів плазмолемі і каріолеми.

Процес руйнації епітеліоцитів з щітковою облямівкою має двоспрямований характер так, в сусідніх ділянках слизової оболонки, виявлене відшарування в інтестинальний просвіт доволі збережених апікальних ділянок епітеліоцитів, характерною особливістю яких є структурно збережена щіткова облямівка (Рис.3.9).

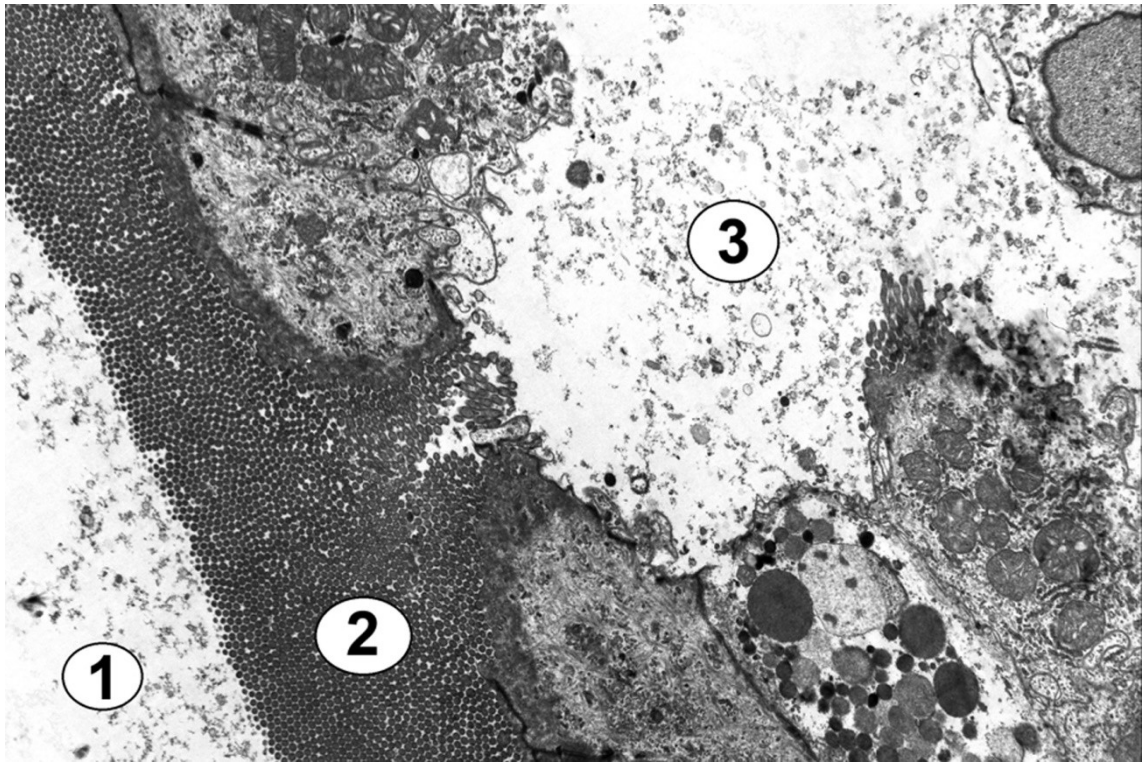


Рис. 3.9. Відшарування в інтестинальний просвіт доволі збережених апікальних ділянок епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. 1 – інтестинальний просвіт; 2 – збережена щітчаста облямівка стовпчастих епітеліоцитів; 3 – руйнація базальних відділів епітеліоцитів. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

У цьому випадку, відмічена тотальна руйнація базальних відділів епітеліоцитів фрагментація відповідних ділянок базальної мембрани епітеліоцитів і формування клітинного детриту з наявними уламками лейкоцитів та макрофагів.

В інших ділянках слизової оболонки відмічена руйнація апікальної ділянки цитоплазми епітеліоцитів, з відповідною руйнацією плазмолемі і втратою прикріплення до неї мікроворсинок щітчастої облямівки (Рис. 3.10).

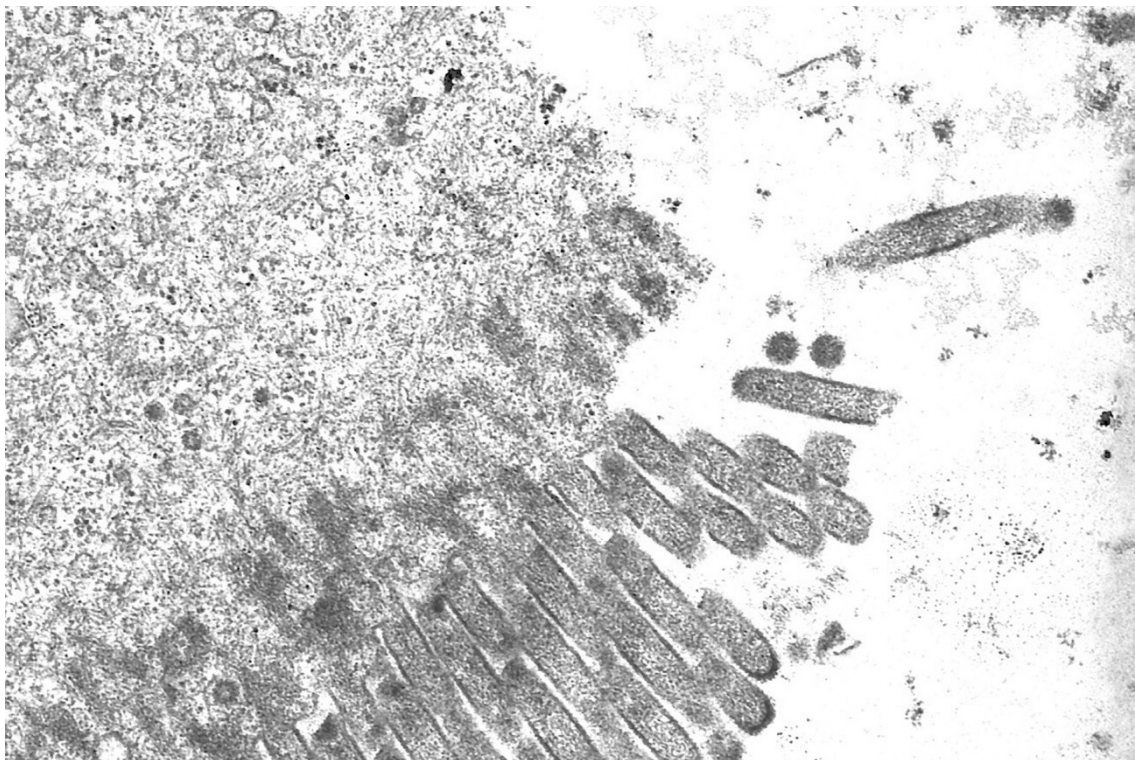


Рис. 3.10 Руйнація апікального кінця епітеліоцита з щітковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

В цитоплазмі апікальних ділянок таких епітеліоцитів з ушкодженою щітковою облямівкою відбувається деструкція органел. Найбільшою мірою це стосується мітохондрій (Рис. 3.11), які втрачають зовнішню мітохондріальну мембрану, а звільнена від неї внутрішня мітохондріальна мембрана та пов'язані з нею мітохондріальні кристи вільно розташовуються в набряклому цитоплазматичному матриксі (Рис. 3.11).

Відбувається порушення впорядкованості каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, їх фрагментація, вогнищеве набухання та вакуольна трансформація. Утворення різноманітних вакуолей в цитоплазмі епітеліоцитів можна трактувати як результат виснаження репаративних можливостей клітини і початок її некротичної загибелі. Це знаходиться у вражаючому контрасті з зареєстрованою нами нормальною будовою стовпчастого епітеліоцита з щітковою облямівкою (Рис. 3.12).

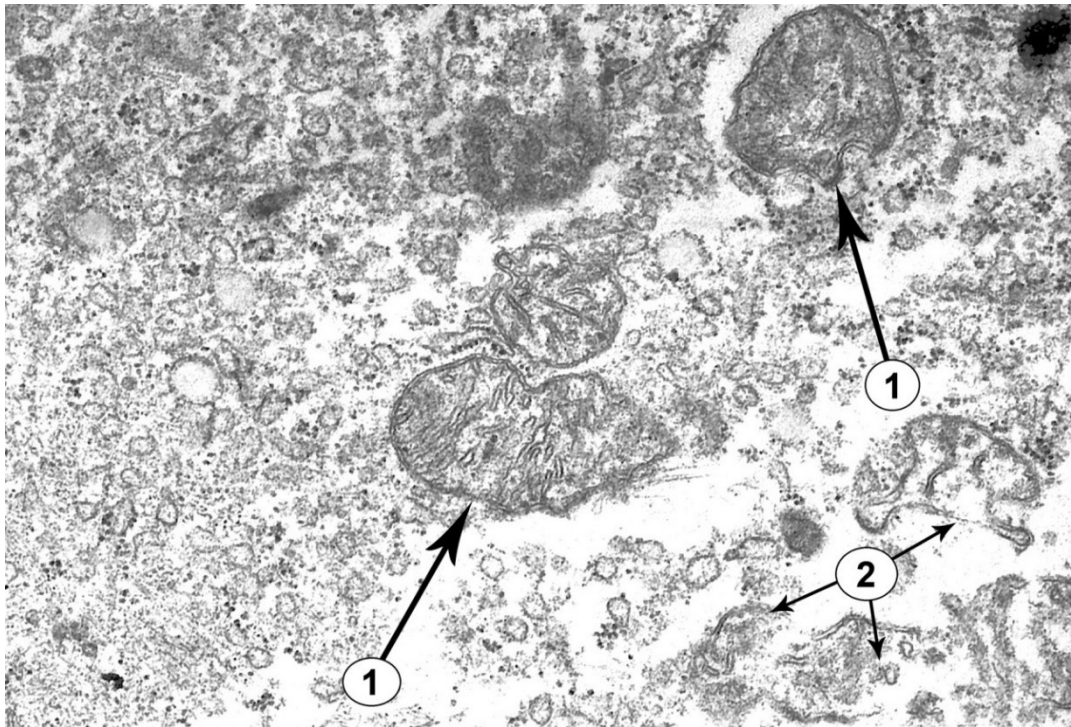


Рис. 3.11. Цитоплазма епітеліоцита з щіточковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 дів після опіку. 1 – мітохондрії зі збереженою структурною організацією; 2 – залишки мембран зруйнованих мітохондрій. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

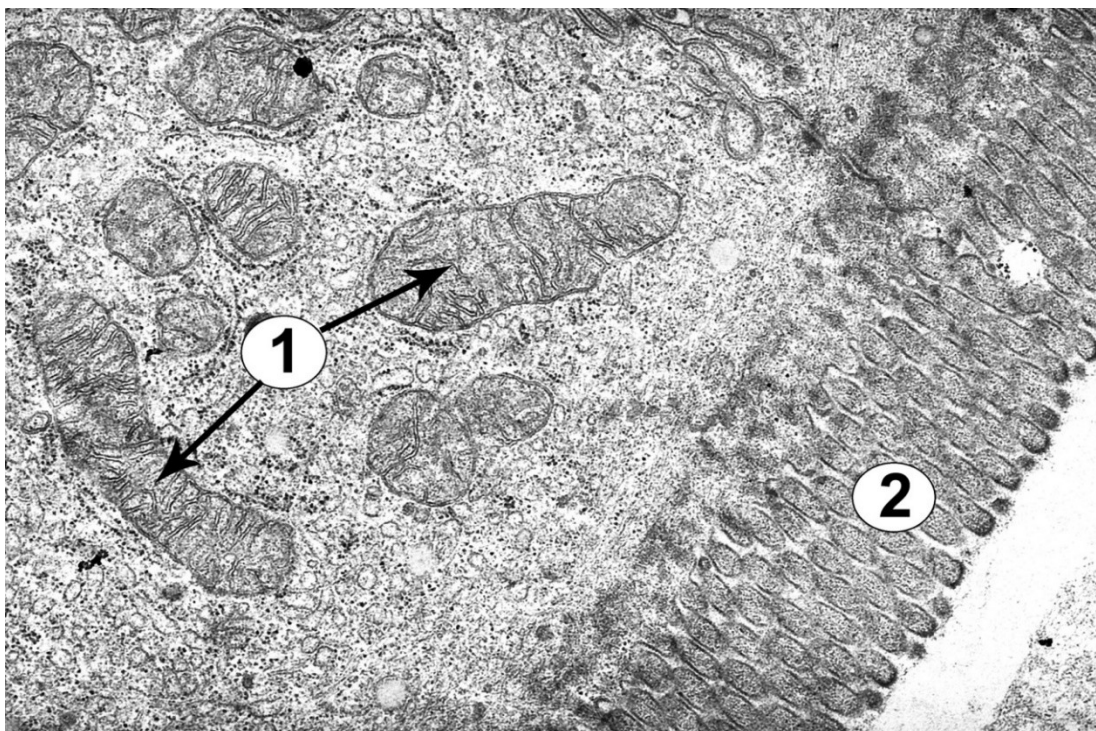


Рис. 3.12. Цитоплазма стовпчастого епітеліоцита слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура за умов норми (інтактні тварини). 1 – мітохондрії; 2 – щіточкова облямівка. Електронна мікрофотографія. Зб. 40 000.



У цитоплазмі більшості стовпчастих епітеліоцитів з щітчастою облямівкою (Рис. 3.13) нами встановлені структурні прояви асоціації вакуолізації та автофагії навіть в ділянках цитоплазми сусідніх епітеліоцитів, з'єднаних типовими інтердигітуючими клітинними контактами (в межах яких збережені поодинокі щільні контакти).

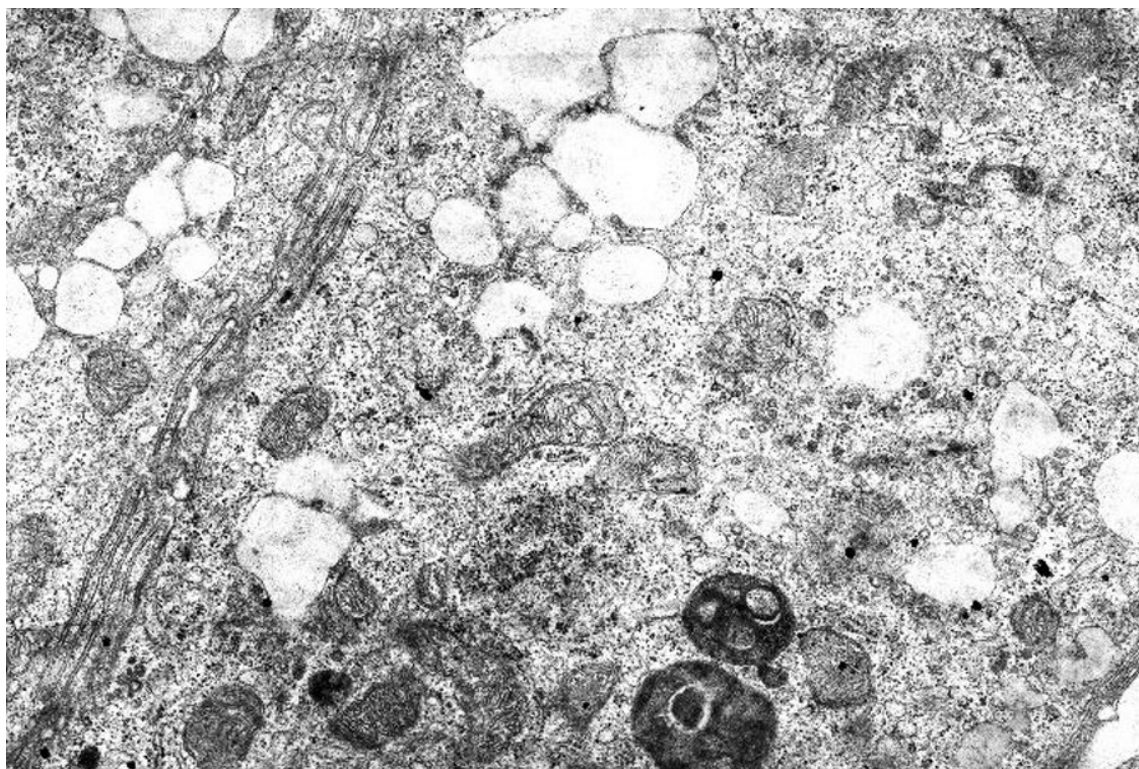


Рис. 3.13 Структурні прояви вакуолізації та автофагії в цитоплазмі з'єднаних типовим інтердигітуючим клітинним контактом епітеліоцитів з щітчастою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 14 діб після опіку. Електронна мікрофотографія. Зб. 40 000.

В ділянках цитоплазми епітеліоцитів з частково втраченою щітчастою облямівкою розташовані округлі автофагосоми та автофаголізосоми різного розміру з гетероморфними електроннощільним вмістом (Рис.3.14; Рис.3.15).

В цитоплазмі деяких епітеліоцитів поруч з автофаголізомами розташовані мітохондрії (Рис. 3.15) з ознаками набряку і деструкції мітохондрій (найчастіше у вигляді кристалізу), що є структурним проявом порушеного енергетичного обміну.

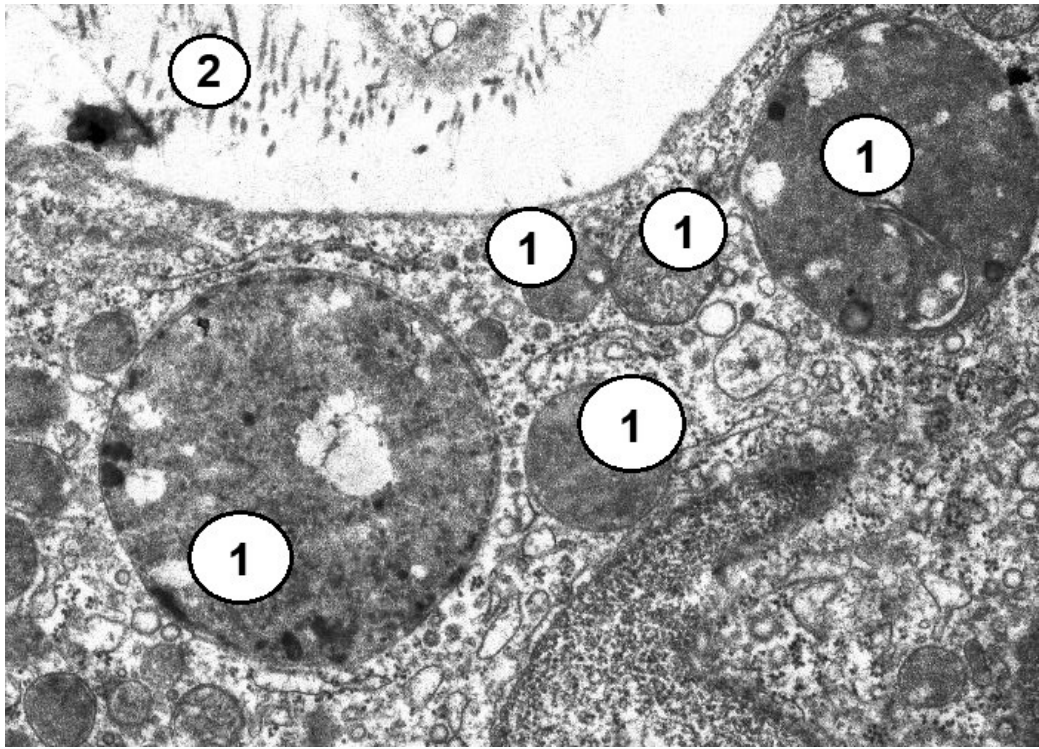


Рис. 3.14. Автофагосоми (1) різного розміру з гетероморфним електронощільним вмістом в цитоплазмі епітеліоцита із залишками щітчастої облямівки в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. 2 – залишки щітчастої облямівки. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

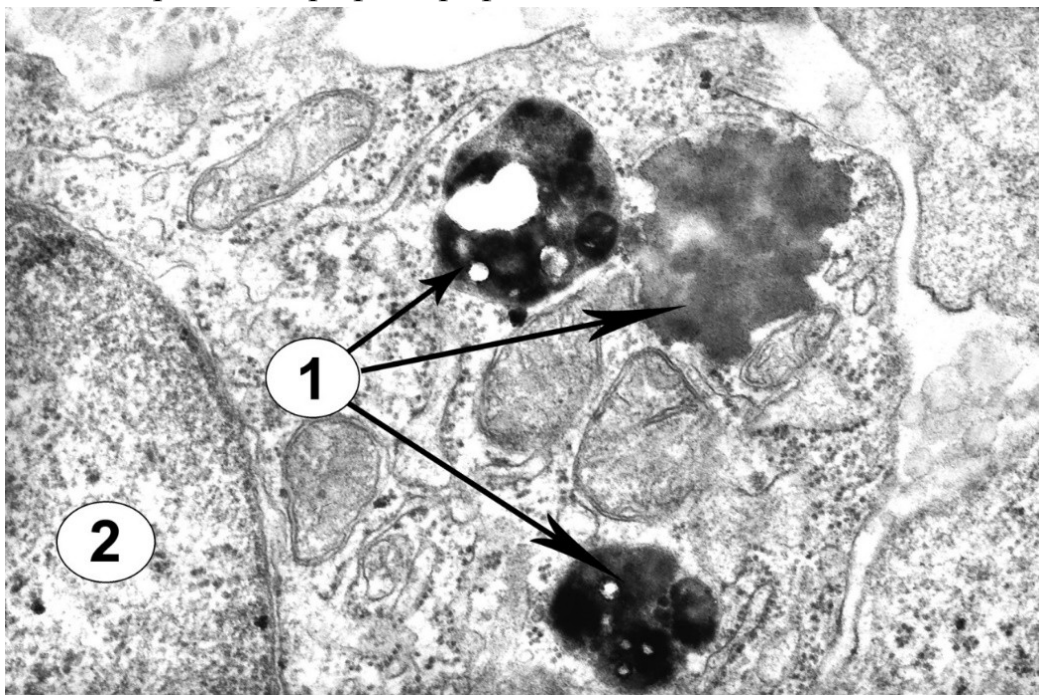


Рис. 3.15. Автофаголізосоми (1) з гетероморфним вмістом різної електронощільності в цитоплазмі епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. 2 – ядро епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

У прилеглий до базальної мембрани таких ушкоджених епітеліоцитів в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки реєструються асоціація неушкоджених макрофагів та плазмоцитів (Рис. 3.16). Про активне функціонування макрофагів свідчить наявність у цитоплазмі первинних та вторинних лізосом, а також фаголізосом з гетероморфним вмістом. Про активне функціонування плазмоцитів свідчить різке розширення просвіту каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, які набувають вигляд складного мережива.

Морфологічним свідченням початкового етапу автофагії є групування ушкоджених клітинних органел в певних локусах цитоплазматичного матрикса та їх секвестрація за допомогою концентричного охоплення характерною для автофагосом структурою – фагофором (з подвійною ізолюючою мембраною). Надалі відбувається злиття автофагосом з лізосомами і утворення автофаголізосом з вмістом різного ступеня електронної щільності та різноманітної структурованості (що є показником етапності та ефективності перетравлення секвестрованого матеріалу).

Перетравлення вмісту автофаголізосом супроводжується руйнацією внутрішньої мембрани фагофора (за цих умов продукти перетравлення, ймовірно, поглинаються і засвоюються цитоплазмою епітеліоцита).

Якщо частина матеріалу залишається неперетравленою, то відбувається трансформація автофаголізосоми у автофагійну вакуоль, яка спрямовується до плазмолемі апікальної ділянки епітеліоцита і вивільняє свій вміст назовні.

Розповсюдженим явищем у цей часовий проміжок є різноманітні ультраструктурні зміни епітеліоцитів на тлі набряку їх цитоплазми (показником чого є просвітлення цитоплазматичного матриксу): від вакуолізації каналців ендоплазматичної сітки та пошкодження мітохондрій (проявом є їхнє інтенсивне набухання, фрагментація крист і внутрішньої мембрани) до повної руйнації органел, появи дефектів плазмолемі і каріолемі. В ділянках цитоплазми епітеліоцитів з частково втраченою щіточковою облямівкою

розташовані округлі автофагосоми та автофаголізосоми різного розміру з гетероморфним вмістом різної електронної щільності.

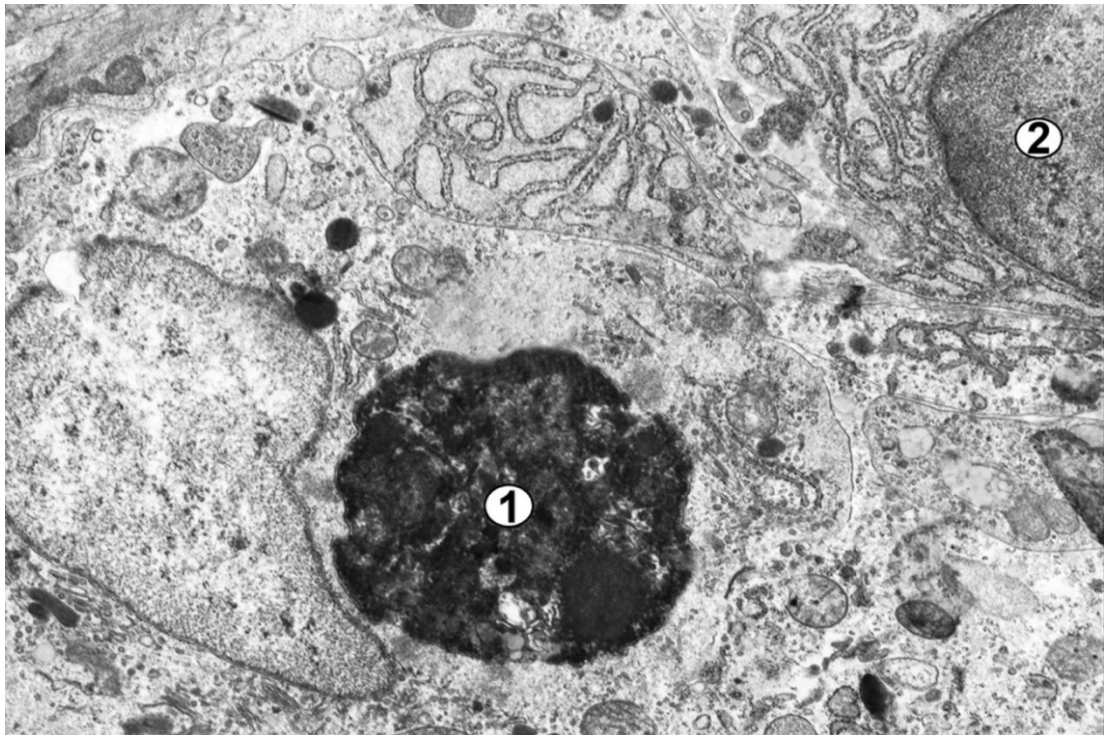


Рис. 3.16. Макрофагічна та плазмоцитарна реакція в ділянці лімфолейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. 1 – фаголізосома в цитоплазмі макрофага; 2 – ядро плазмочита. Електронна мікрофотографія. Зб. 30000.

Келихоподібні клітини слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів першої експериментальної групи через 7 діб після опіку знаходяться в стані інтенсивного продукування слизу, яке однак, інколи (Рис. 3.17; Рис.3.18) не виходить за межі виявлених нами за умов норми ультраструктурних ознак підвищення секреції.

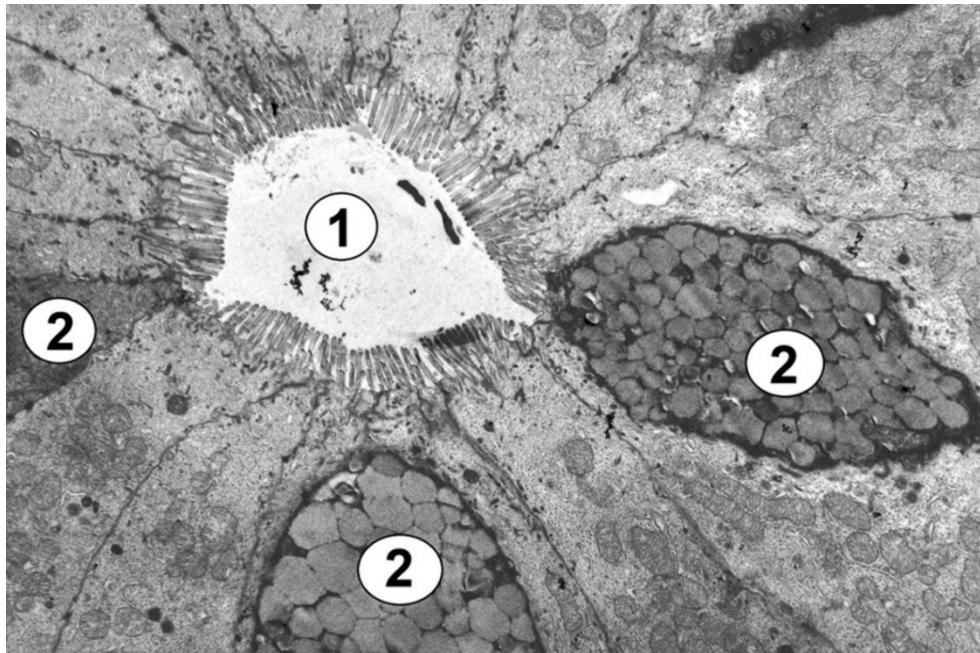


Рис. 3.17. Крипта слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура за умов норми (інтактні тварини). 1 – просвіт крипти; 2 – цитоплазма келихоподібної клітини. Електронна мікрофотографія. Зб. 8 000.

У тварин першої експериментальної групи через 14 днів після опіку відбувається лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки (Рис. 3.19).

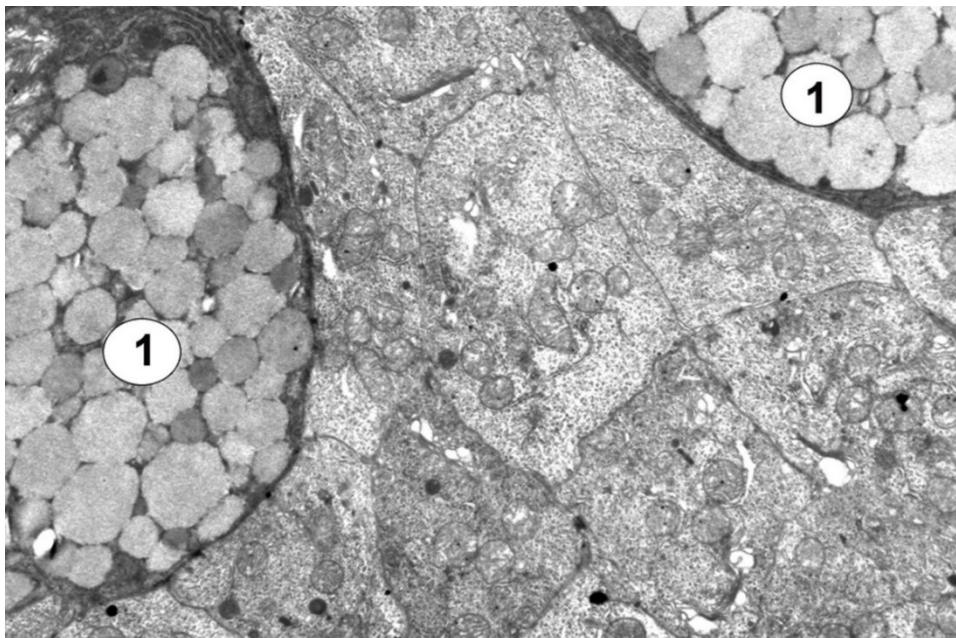


Рис. 3.18. Епітелій слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої групи через 7 днів після опіку. 1 – секреторні гранули келихоподібної клітини. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

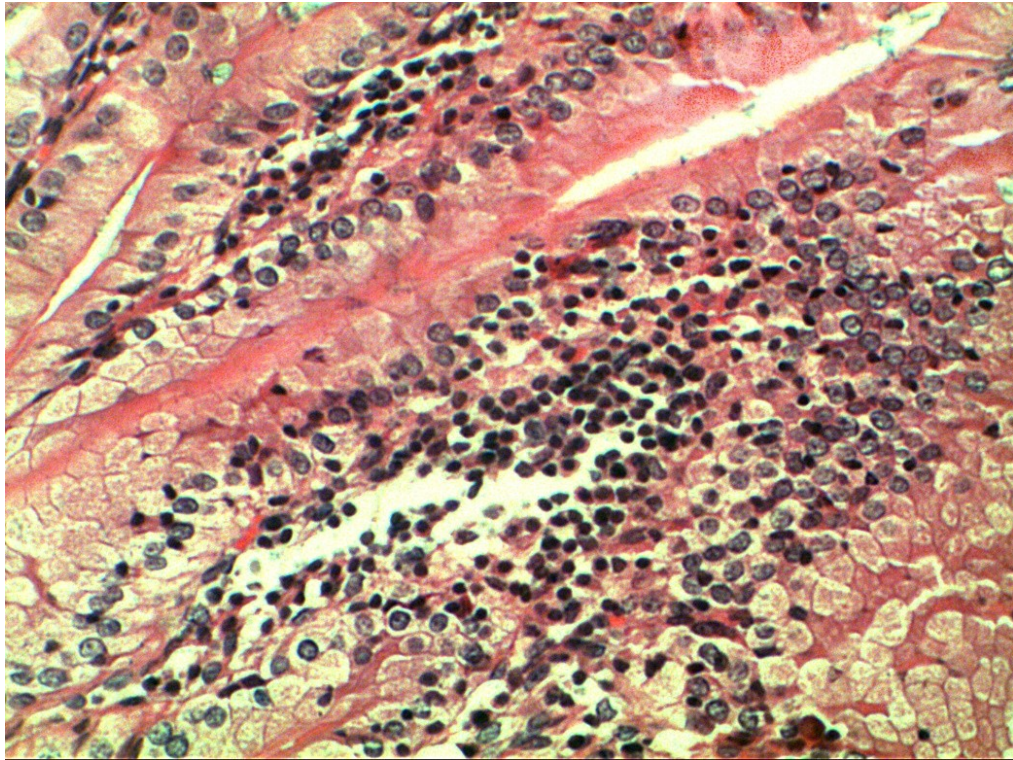


Рис. 3.19. Лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200.

Відмічено також помірна лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація в зоні кишкових крипт, (Рис. 3.20; Рис.3.21) що у ряді випадків супроводжується накопиченням у просвіті кишкових крипт аморфного еозинофільного (за умов забарвлення гістологічного зрізу гематоксиліном та еозином) вмісту, в якому виявляється злуцені епітеліоцити та їх фрагменти (Рис. 3.21).

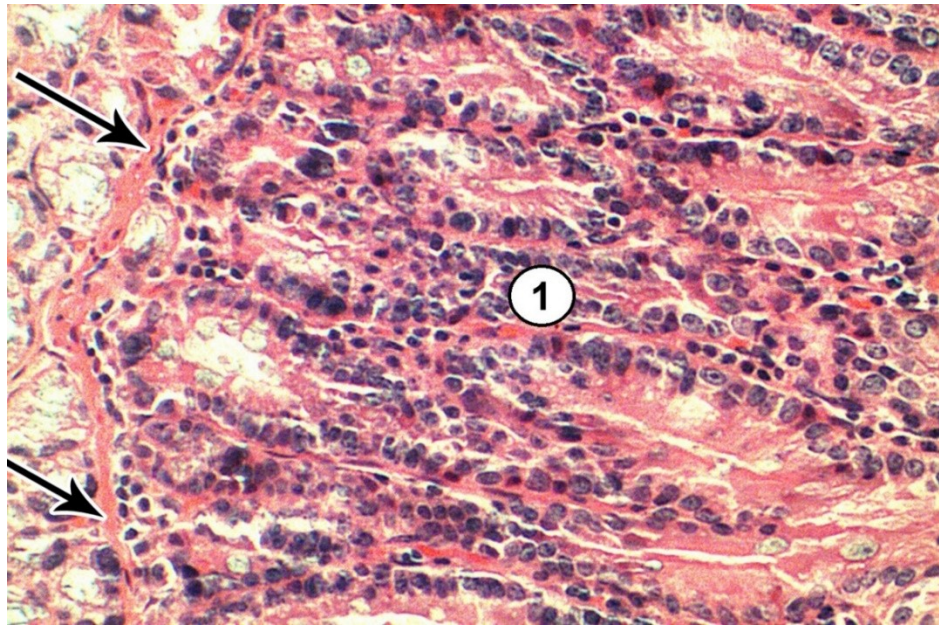


Рис. 3.20. Помірна лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація (1) в зоні кишкових крипт дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Стрілочками відмічена м'язова пластинка слизової оболонки. Мікрофотографія. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200.

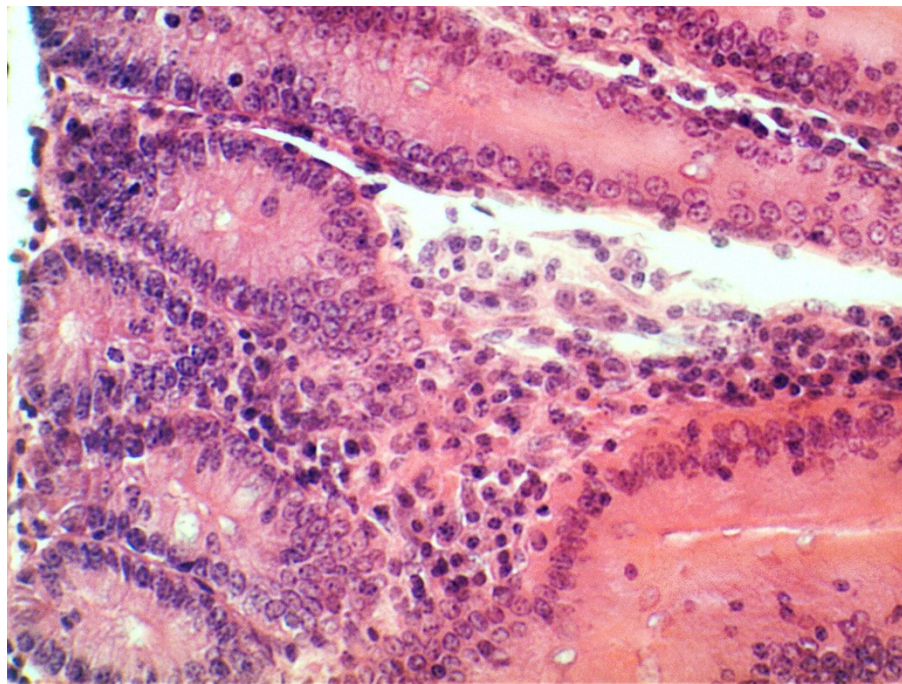


Рис. 3.21. Лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація в зоні кишкових крипт дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200.

У ділянках лімфо-лейкоцитарної інфільтрації в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів першої експериментальної групи через 14 днів після опіку серед матеріалу клітинного детриту, розташовані лейкоцити та лімфоцити із гарно збереженою типовою структурною організацією (Рис. 3.22; Рис. 3.23; Рис. 3.24). У цьому клітинному детриті можна розрізнити короткі та довгі фрагменти базальної мембрани, які можуть бути залишками зруйнованої базальної мембрани кровоносних капілярів та базальної мембрани епітеліоцитів.



Рис. 3.22. Клітинний детрит (1) в інтестинальному просторі дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 21 добу після опіку. Електронна мікрофотографія. Зб. 20000.

Серед неушкоджених кровоносних та лімфатичних капілярів (Рис.3.23) типової будови (стінка яких відрізняється від стінки кровоносних капілярів відсутністю базальної мембрани, перицитів, фенстр в ендотелії та спеціалізованих міжендотеліальних контактів) зустрічаються uszkodженні кровоносні капіляри. Зокрема, можна бачити залишки субтотально



зруйнованого фенестрованого ендотелію кровоносного капіляра до якого прилягає збережена базальна мембрана.

Така сталість структурної організації базальної мембрани кровоносних капілярів є, на нашу думку свідченням її стійкості щодо дії на організм обпечених шкідливих наслідків негативних чинників перебігу опікової травми і є запобіжником розвитку і поширення інтестинальних крововиливів.

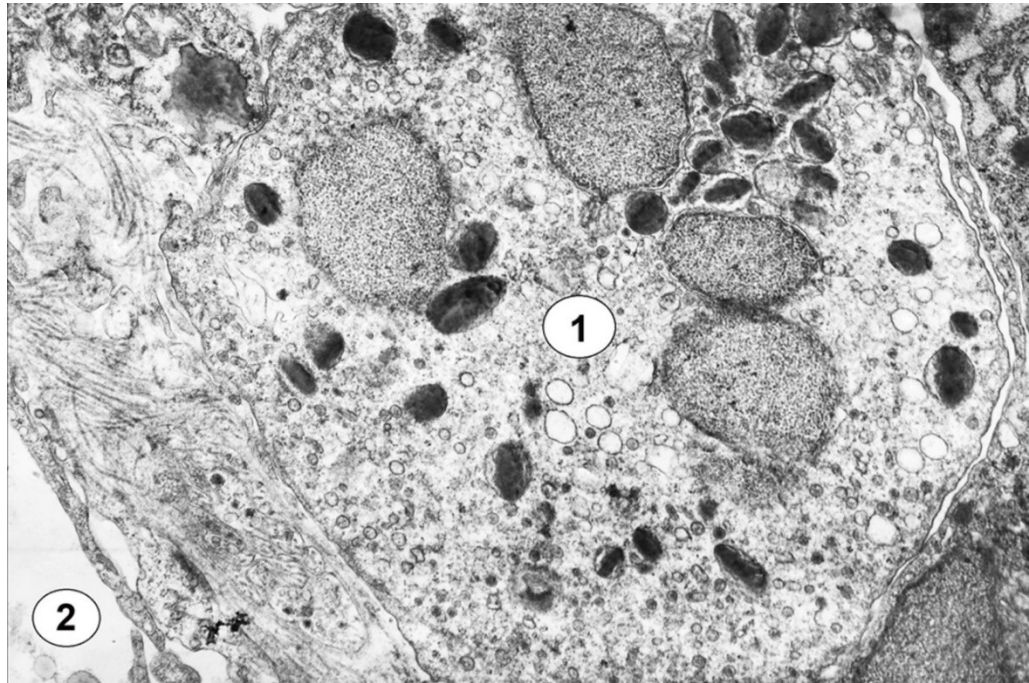


Рис. 3.23. Ділянка лімфо-лейкоцитарної інфільтрації в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. 1 – цитоплазма лейкоцита із гарно збереженою типовою структурною організацією. 2 – просвіт лімфатичного капіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

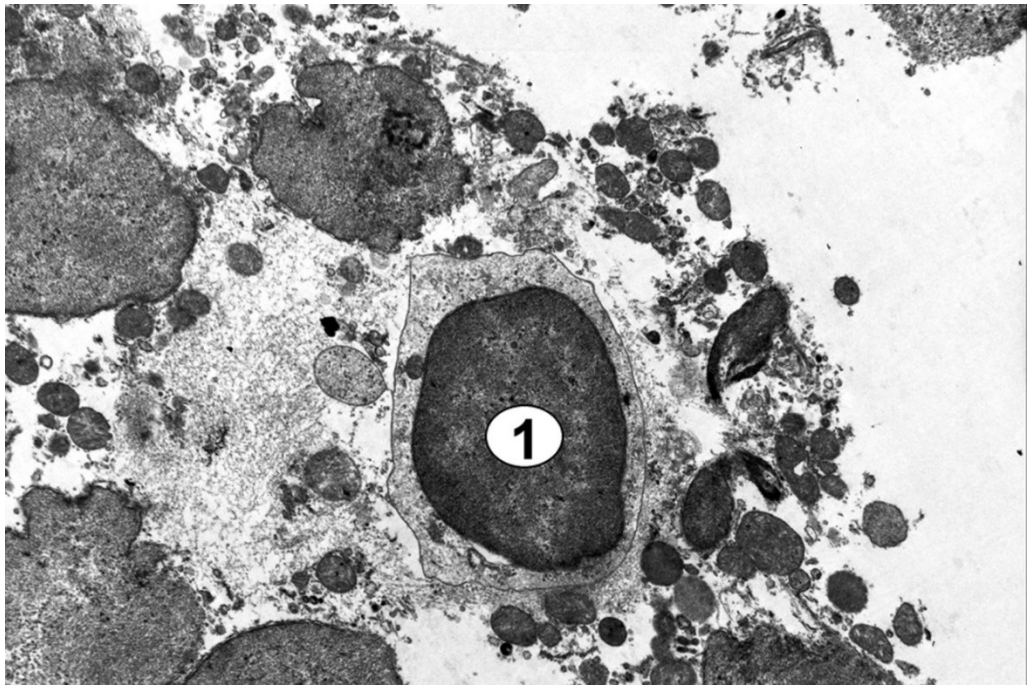


Рис. 3.24. Ділянка лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. 1 – ядро лімфоцита із гарно збереженою типовою структурною організацією. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

Через чотирнадцять діб після опіку в слизовій оболонці дванадцятипалій кишці у цитоплазмі багатьох епітеліоцитів (Рис. 3.25) з наявністю структурної ділянкової дефектності плазмолемі і каріолеми у сукупності з локальним пошкодженням цитоплазматичного матрикса (які, з огляду на їхню мінливість, ймовірно, можуть бути репаровані, а також навіть у таких, що втратили щіточкову облямівку і злушилися в інтестінальний просвіт) виявлені ознаки підвищення функціональної активності органел. Свідченням цих ознак є розширення заповнених електроннощільним вмістом каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, збільшення кількості прикріплених та вільних рибосом, наявність полісом, агрегація неушкоджених мітохондрій, цілісність ядра.

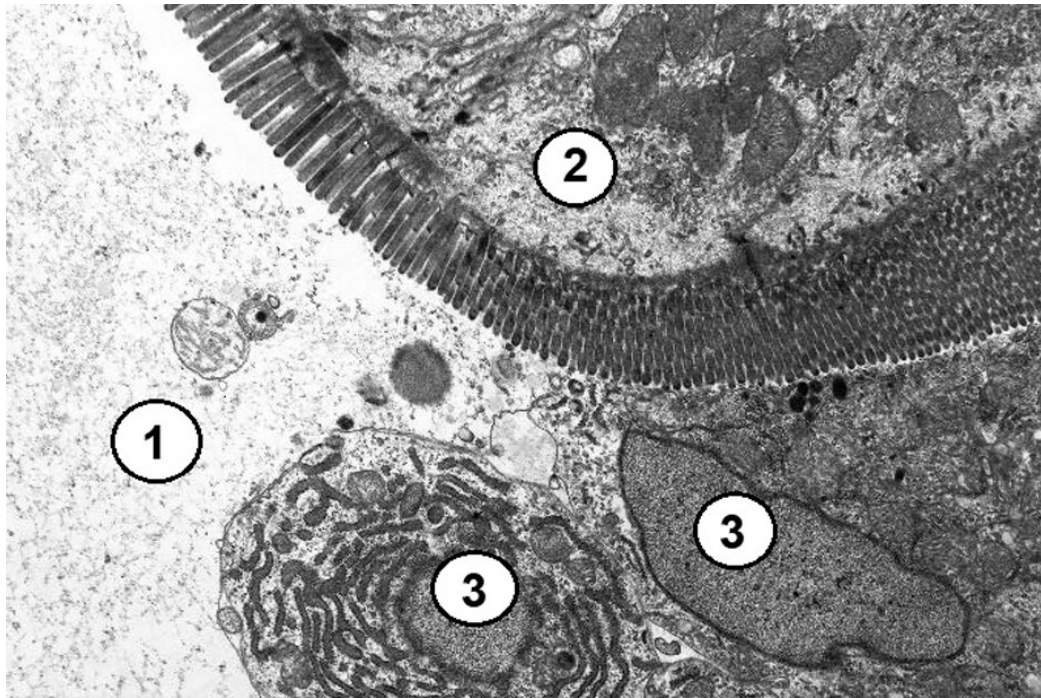


Рис. 3.25. Ділянка епітеліального моношару епітеліоцитів із збереженою щітковою облямівкою та десквамованих клітин в облямівки в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 14 діб після опіку. 1 – інтестинальний просвіт; 2 – цитоплазма епітеліоцита з щітковою облямівкою; 3 – ядро десквамованої клітини. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

В моношарі епітеліоцитів слизової оболонки залишаються різного розміру «оголені» ділянки (утворені ушкодженими епітеліоцитами з тотально або субтотально зруйнованою щітковою облямівкою) та локуси їхнього наскрізного дефекту. У інших епітеліоцитах у цей час відбувається вакуолізація цитоплазми у вигляді різного ступеня розширення каналців гранулярної ендоплазматичної сітки з просвітленням їхнього вмісту, вакуольна трансформація мітохондрій, які завершуються повною некротичною руйнацією і фрагментацією клітин з утворенням клітинного детриту.

В епітеліоцитах зі структурною збереженістю ядра і цитоплазми характерним є розширення просвіту розгалужених каналців гранулярної ендоплазматичної сітки та збільшення кількості прикріплених рибосом (Рис. 3.26).

Ділянки епітеліального моношару епітеліоцитів зі збереженою щітковою облямівкою, який скріплений (Рис. 3.27) протяжними за довжиною інтердигітуючими за формою міжклітинними контактами з наявними спеціалізованими щільними контактами, чергуються з ділянками вільними від щіткової облямівки. До епітеліоцитів епітеліального моношару прилягають десквамовані клітини різного ступеня збереженості.

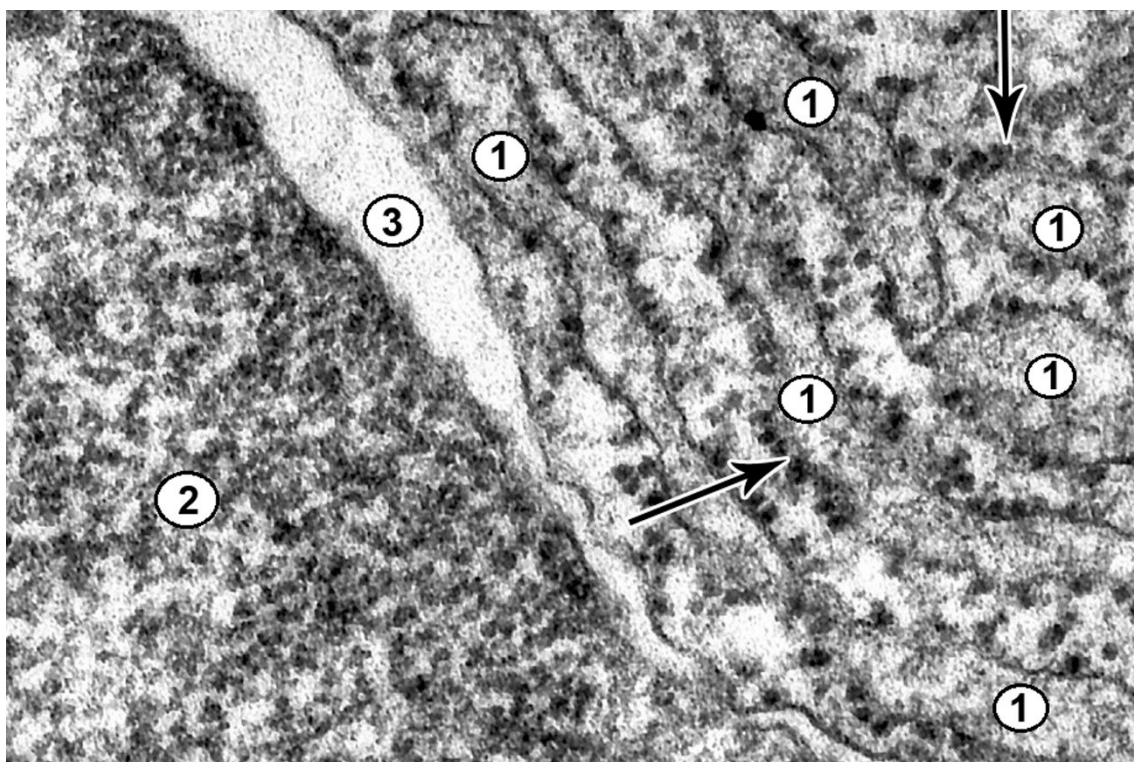


Рис. 3.26. Нерівномірне розширення просвіту розгалужених каналців гранулярної ендоплазматичної сітки епітеліоцитів з щітковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 14 діб після опіку. Стрілочками відмічені прикріплені рибосоми. 1 – просвіт каналця гранулярної ендоплазматичної сітки; 2 – ядро епітеліоцита; 3 – перинуклеарний простір. Електронна мікрофотографія. Зб. 52 000.



Рис. 3.27. Ділянка довгого міжклітинного контакту епітеліоцитів з щіточковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 14 днів після опіку. Електронна мікрофотографія. Зб. 52 000.

В апікальній частині більшості епітеліоцитів з частково втраченою щіточковою облямівкою розміщувалися групи округлих автофагосом і автофаголізосом різного розміру та вмісту (Рис. 3.28). Такі зміни епітеліоцитів з щіточковою облямівкою відбуваються на тлі структурних ознак порушення секреторної функції келихоподібних клітин свідченням чого є не характерна для норми руйнація секреторних гранул із вмістом різного ступеня електронної щільності (зрілості?) в апікальних відділах келихоподібних клітин (Рис. 3.29).

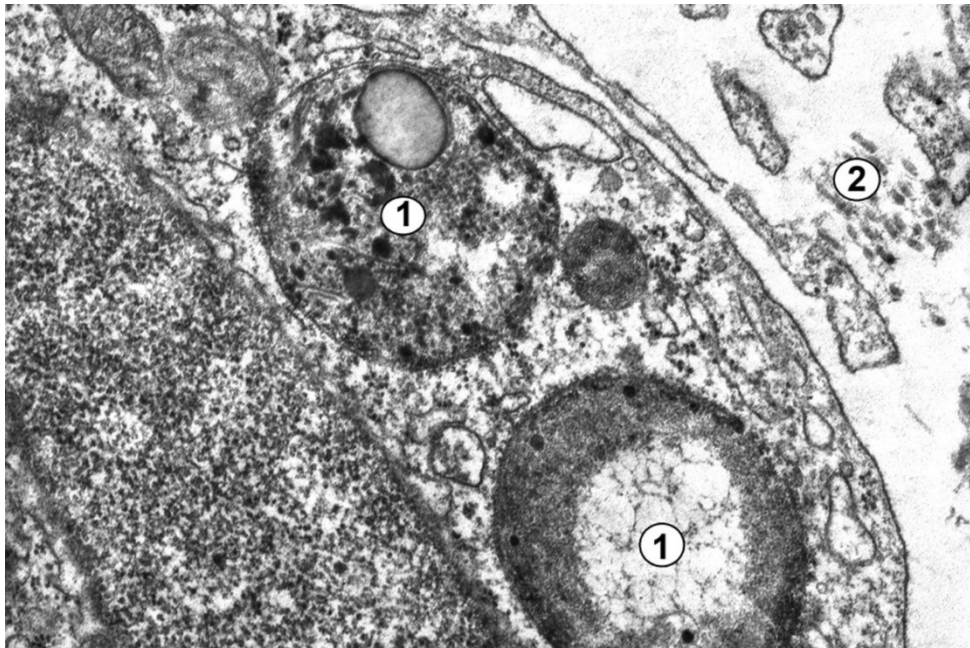


Рис. 3.28. Автофагосоми та автофаголізосоми (1) різного розміру в цитоплазмі епітеліоцита із втраченою щіточковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 14 діб після опіку. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

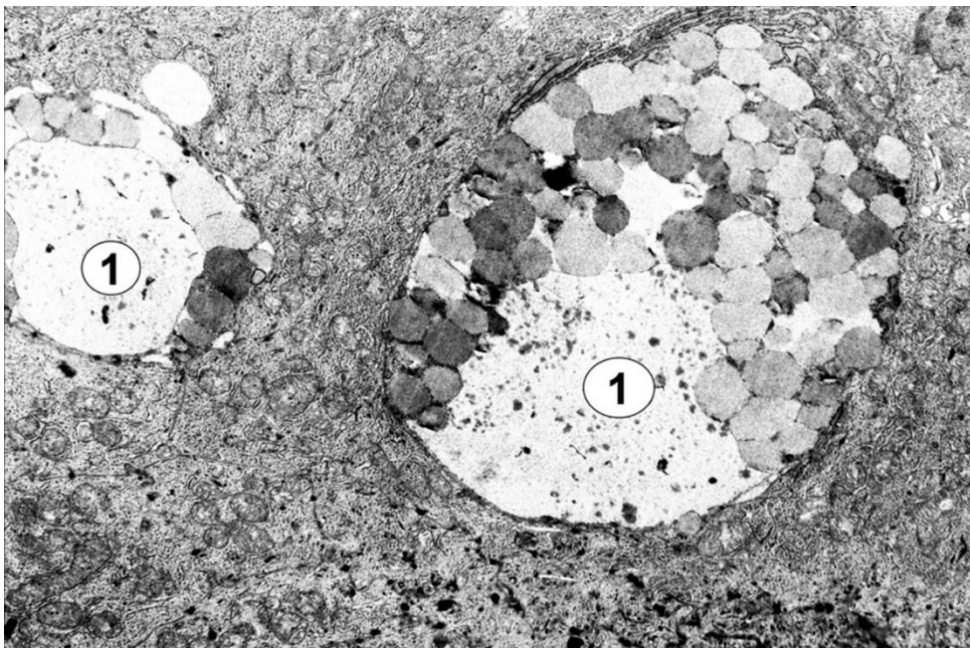


Рис. 3.29. Руйнація секреторних гранул (1) із вмістом різного ступеня електронної щільності (зрілості?) в апікальних відділах келихоподібних клітин в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 14 діб після опіку. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

У тварин першої експериментальної групи через двадцять одну добу після опіку зберігалась лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки (Рис. 3.30).

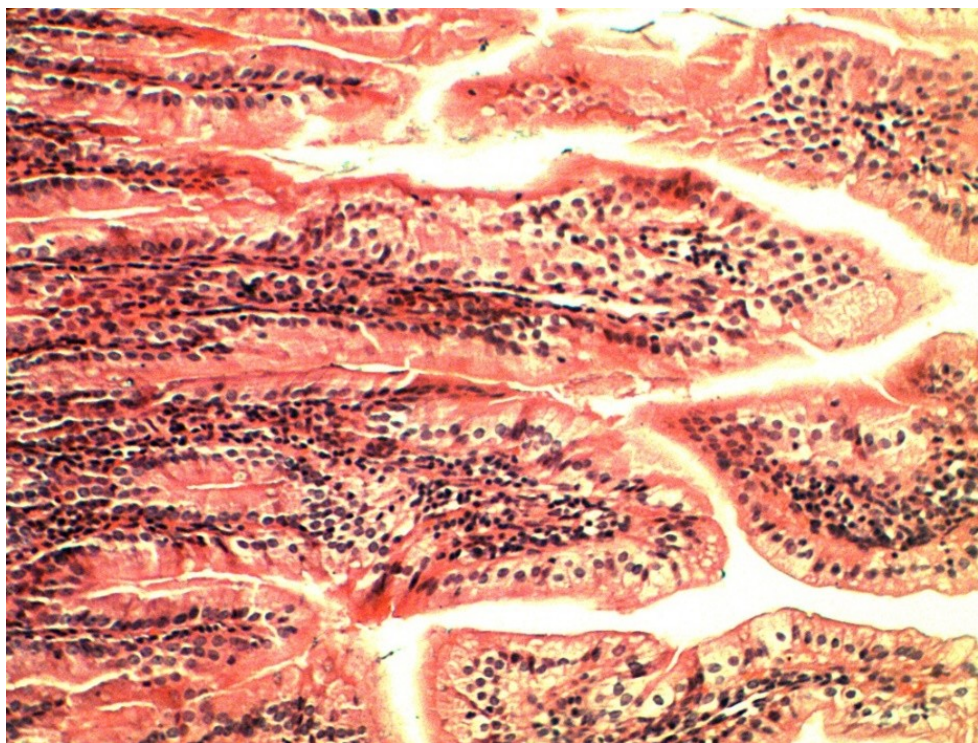


Рис. 3.30. Лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 60.

В окремих ділянках лейкоцити, макрофаги та лімфоцити в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки зберігали свою цілісність (Рис.3.31; Рис.3.32).

Цих ділянках було виявлено структурна збереженість стінки артеріол, кровоносних капілярів, лімфатичних капілярів.

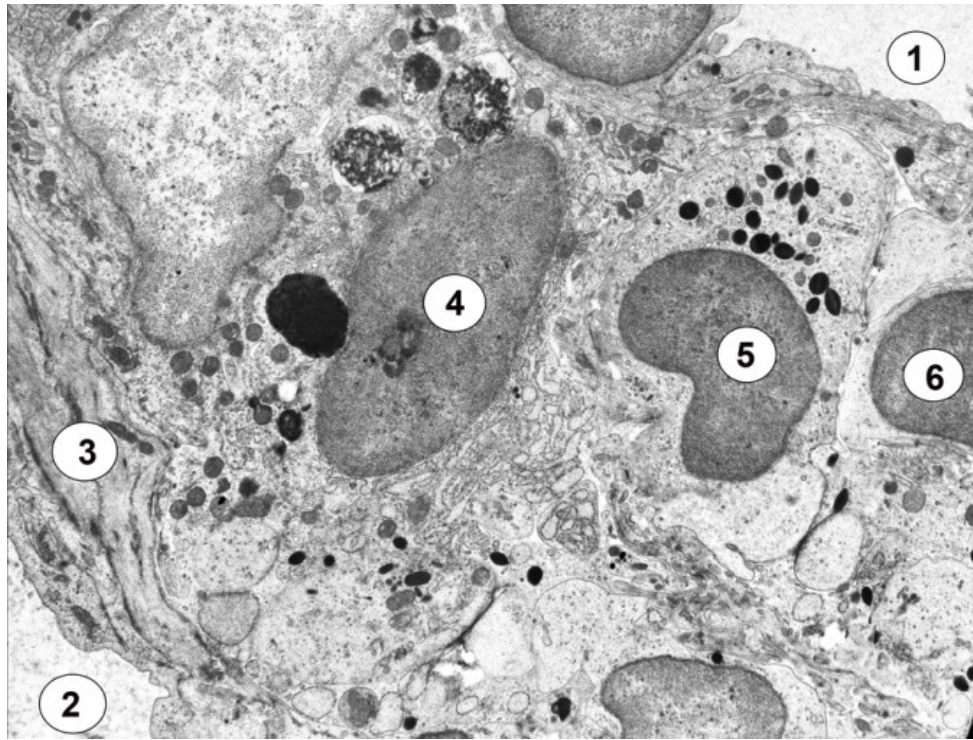


Рис. 3.31. Лейкоцити, макрофаги, лімфоцити в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. 1 – просвіт кровозносного капіляра; 2 – просвіт артеріоли; 3 – міоцити в судинній стінці артеріоли; 4 – ядро макрофага; 5 – ядро лейкоцита; 6 – ядро лімфоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

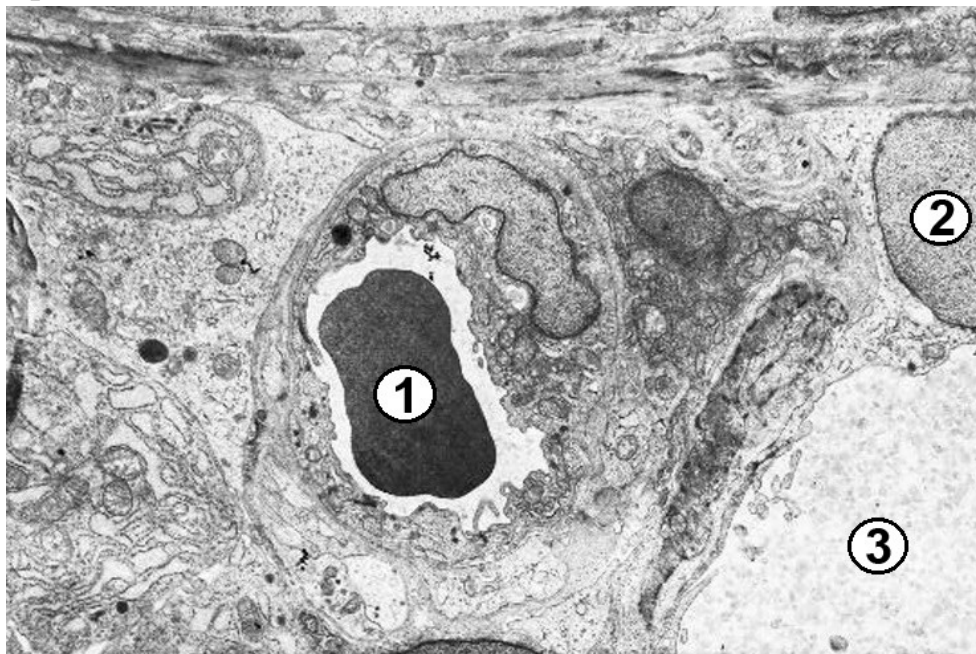


Рис. 3.32. Пухка сполучна тканина власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. 1 – еритроцит у просвіті кровозносного капіляра; 2 – ядро ендотеліоцита стінки лімфатичного капіляра; 3 – просвіт лімфатичного капіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.



У тварин першої експериментальної групи через 21 добу, після опіку морфологічно вогнищева атрофія слизової оболонки проявлялась потовщенням і вкороченням ворсинок; місцями вони повністю були відсутні. Досить часто виявляли ерозії, які були результатом некрозу епітеліоцитів з щітковою облямівкою та деструкцією келихоподібних клітин. На багатьох ділянках інтестинального епітеліального бар'єра (за рахунок втрати щільних контактів) суміжні епітеліоцити з щітковою облямівкою відокремлювались один від одного, утворюючи розширені міжепітеліальні простори.

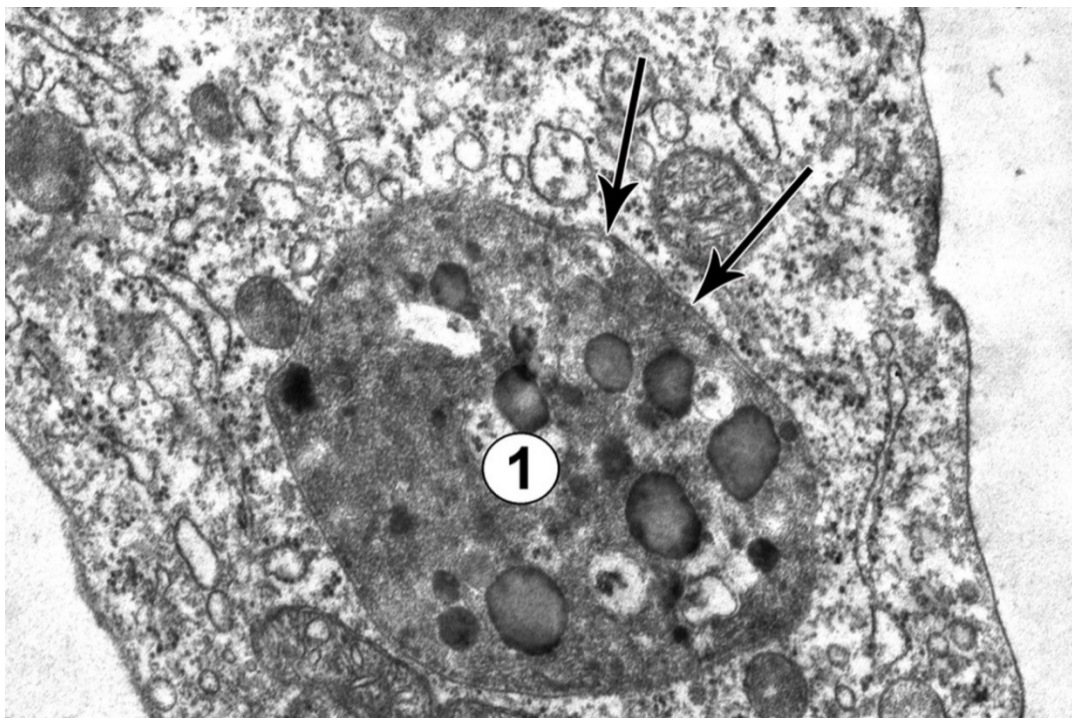


Рис. 3.33. Автофагосома (1) з гетероморфним електронощільним вмістом в цитоплазмі епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 7 діб після опіку. Стрілочками відмічена подвійна ізолююча мембрана фагофора. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

В цитоплазмі деяких з означених епітеліоцитів були виявлені типові автофаголізосоми (Рис. 3.33). У келихоподібних клітинах у цей термін спостереження відбувалося руйнація секреторних гранул із вмістом різного

ступеня електронної щільності аж до перетворення апікальної ділянки цитоплазми у клітинний детрит (Рис. 3.34). У просвіті кишкових крипт за цих умов виявлялася аморфна маса середньої електронної щільності з гранулярним компонентом високої електронної щільності різноманітного розміру і конфігурації (Рис. 3.35). Руйнація апікального кінця келихоподібних клітин призводила до появи ультрамікроінвагінацій контура просвіту кишкових крипт і була асоційована з руйнацією щіткової облямівки у прилеглих епітеліоцитах з щітковою облямівкою (Рис. 3.35).

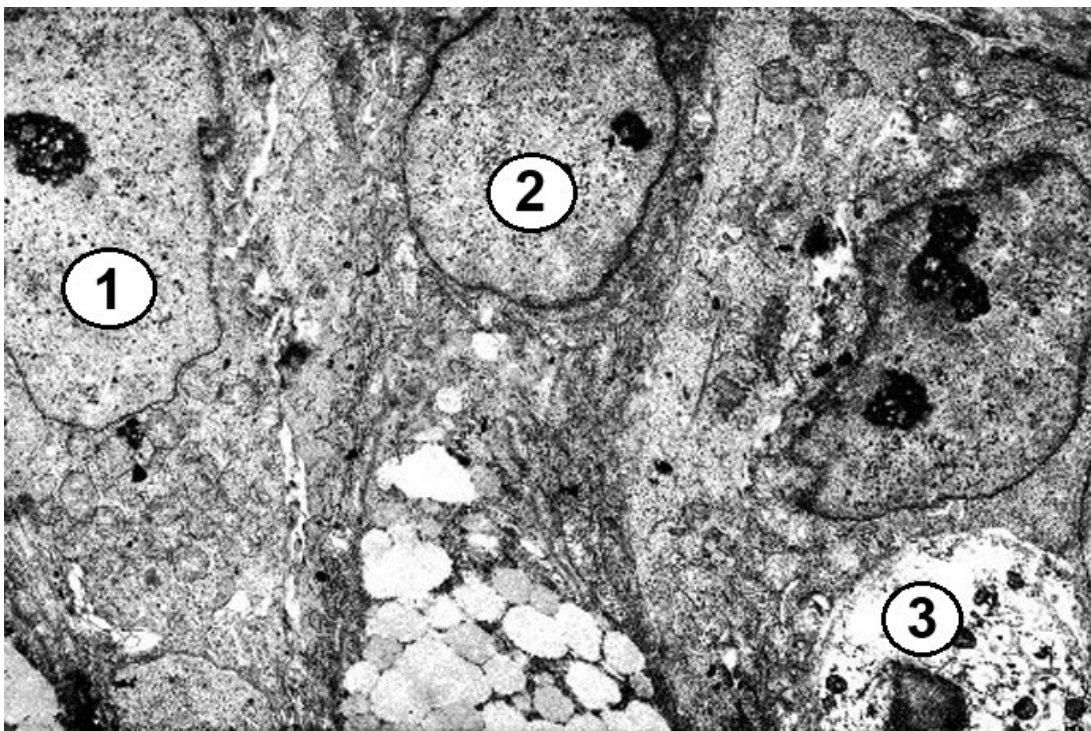


Рис. 3.34. Руйнація секреторних гранул із вмістом різного ступеня електронної щільності (зрілості?) в апікальних відділах келихоподібних клітин в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 21 добу після опіку. 1 – ядро епітеліоцита; 2 – ядро келихоподібної клітини; 3 – цитоплазма келихоподібної клітини. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

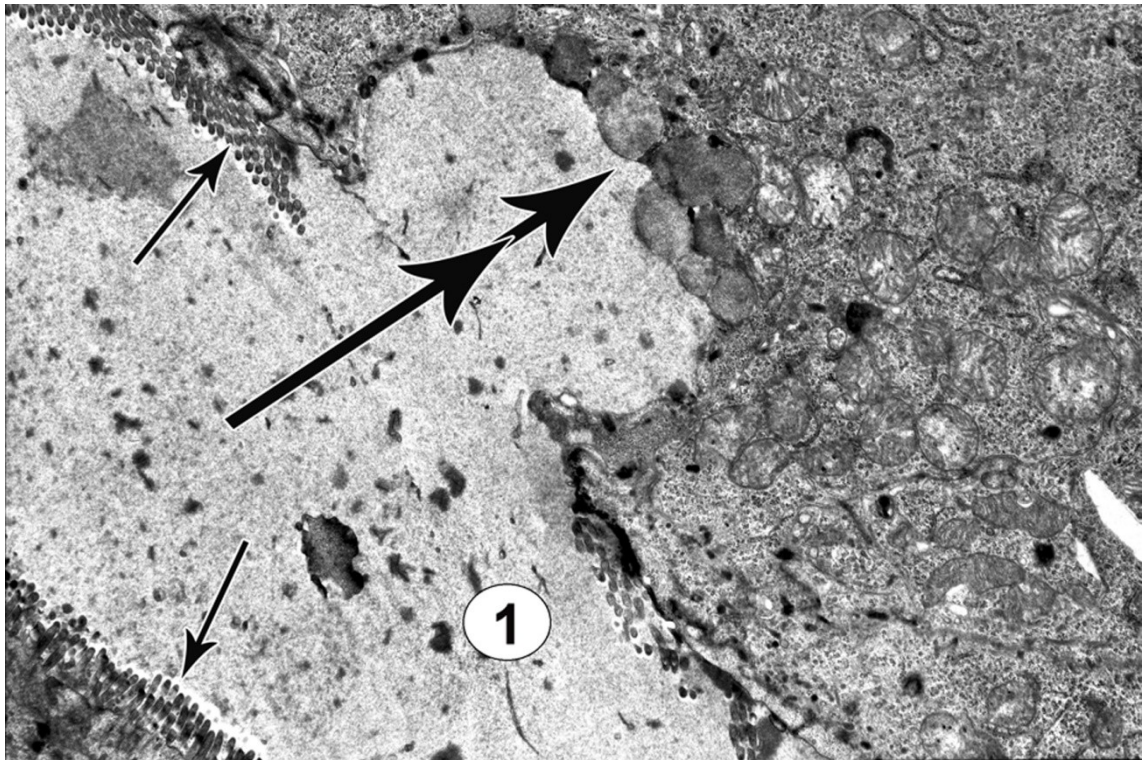


Рис. 3.35. Руйнація щіткової облямівки епітеліоцитів кишкової крипти та секреторних гранул із вмістом різного ступеня електронної щільності (зрілості?) в апікальному відділі келихоподібної клітини в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура першої експериментальної групи через 21 добу після опіку. Одинарними стрілочками відмічені залишки щіткової облямівки епітеліоцитів кишкової крипти; подвійною стрілочкою відмічено секреторні гранули із вмістом різного ступеня електронної щільності (зрілості?) в апікальному відділі келихоподібної клітини. 1 – просвіт кишкової крипти. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

Підсумовуючи результати проведених досліджень можна зробити висновок, що в основі пошкоджень епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки лежать глибокі деструктивні зміни (переважно некротичного характеру), які через 21 добу (в стадії септикотоксимії), як правило, мають незворотній характер і розвиваються на фоні значної інтоксикації організму.

Виявлені за умов здійсненого експерименту структурні зміни епітеліоцитів є свідченням порушення структурної цілісності інтестинального

епітеліального бар'єра. У тварин першої експериментальної групи ушкоджений епітелій слизової оболонки дванадцятипалої кишки критично послаблює адекватність своєї функції інтерфейсу між слизовою оболонкою і середовищем інтестинального просвіту та є нездатним структурно забезпечувати надійність ефективного бар'єру проти токсинів, патогенних мікроорганізмів та антигенних молекул.

Одержані нами дані свідчать, що перебіг структурних змін слизової оболонки щурів першої експериментальної групи за розвитком у часі є стадійним і в ньому можна виділити три стадії і дві фази. Через сім діб після опіку реєструються структурні прояви стадії перенавантаження (яка складається із поєднання тотальної та субтотальної деструкції одних клітин та з структурними проявами фази функціональної напруги інших структурно збережених клітин).

Через чотирнадцять діб після опіку розгортається зафіксована структурна картина змін слизової оболонки, яка відповідає стадії відносної стабілізації гіперфункції. Через двадцять одну добу після опіку реєструються структурні прояви поступового виснаження і розвитку декомпенсації.

Структурним виразом стадії перенавантаження є не тільки деструкція плазмолем з наступною тотальною або субтотальною руйнацією клітин, але й виявлені нами (характерні для фази функціональної напруги), зміни органел збережених клітин.

Це розширення просвіту та збільшення кількості каналців гранулярної ендоплазматичної сітки (а також збільшення кількості прикріплених до стінки каналців рибосом); збільшення кількості рибосом і полісом; гіпертрофія комплексу Гольджі; збільшення кількості та варіабельності мітохондрій (наявність великих, старих та дрібних «юних» мітохондрій). Але таке інтенсивне функціонування, на нашу думку призводять до прискорення швидкості виснаження клітини, збільшення накопичення в цитоплазмі речовин і пошкоджених (дефектних) органел, яке вмикає внутрішньоклітинні механізми, що призводять до клітинної загибелі (надлишкової автофагії та некрозу).

Фаза функціональної напруги (та усі її зазначені вище прояви) за умови сприятливого для підтримки життєдіяльності клітин перебігу подій збігається з фазою закріплення компенсаторно-приспосувальних процесів (яка передуює стадії відносної стабілізації гіперфункції).

Але подовжена у часі компенсаторна гіперфункція призводить до деструкції клітинних органел та цитоплазматичного матриксу, сприяє переходу до стадії поступового виснаження і розвитку декомпенсації.

Таким чином, не тільки первинна безпосередня руйнація клітин інтестинального епітелію, але й гіперплазія органел, ймовірно, призводить до розладу системи внутрішньоклітинної саморегуляції, порушенню міжклітинних взаємодій (у тому числі за рахунок руйнації щільних міжепітеліальних контактів). Вірогідно, що в стадії стабілізації структурних підвалин компенсації функцій закінчується розвиток компенсаторних пристосувань інтестинального епітелію і постає точка дихотомії: процес йде у бік повного поновлення функцій або у бік декомпенсації функцій (за умов втрати структурного забезпечення, навіть часткового поновлення функцій).

**Основні матеріали цього розділу дисертації наведені у наступних публікаціях:**

1. Tymoshenko, I.O., Cherkasov, E.V., Shepitko, K.V. (2020). Morphometric assessment of structural changes in the duodenal wall of rats caused by skin burn injury under conditions of experimental diabetes . *World of Medicine and Biology*, 3(73), 215-219. doi: 10.26724/2079-8334-2020-3-73-215-219.

2. Tymoshenko, I.O. (2019). Structural changes of the intestinal epithelial barrier of the duodenum of rats in burn injury of skin under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Reports of Morphology*, 25(2), 28-35. [https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(2\)-03](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(2)-03).

3. Тимошенко, І. (2019). Структурні особливості слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів при опіковій травмі шкіри за умов експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового

діабету. Український науково-медичний молодіжний журнал, (1(109), 35-47.  
[https://doi.org/10.32345/USMYJ.1\(109\).2019.35-47](https://doi.org/10.32345/USMYJ.1(109).2019.35-47).

4. Cherkasov, V., & Tymoshenko, I. (2019). Structural changes of duodenal mucosa enterocytes of rats in burn skin injury under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Reports of Morphology*, 25(1), 55-61.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(1\)-08](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(1)-08).

## РОЗДІЛ 4

### ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

Виконані нами гістологічне та електронномікроскопічне дослідження (а також результати морфометрії) структур стінки дванадцятипалої кишки щурів за умов норми (інтактні тварини) та стінки дванадцятипалої кишки щурів з експериментальним стрептозотоциніндукованим діабетом (друга група тварин) дозволили прийти до висновку, що у всіх досліджених випадках (через сім діб після початку експерименту, через чотирнадцять діб після початку експерименту, через двадцять одну після початку експерименту) у тварин другої експериментальної групи суттєвих відхилень в структурі серозної та м'язової оболонки дванадцятипалої кишки у порівнянні з нормою не виявлено. Натомість, виявлені відповідні структурні зміни слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів другої експериментальної групи, опис яких представлений у цьому розділі.

Проведене морфометричне дослідження підтвердило описано вище якісну картину змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів за умов здійсненого експерименту. Так, при збереженні структурної впорядкованості м'язової і серозної оболонок, підтвердженої відносною сталістю товщини м'язової та серозної оболонки відмічені кількісні ознаки перебудови слизової оболонки виразом чого є статистично достовірні зміни товщини ворсинок, ширини крипт, товщини підслизової основи, висоти епітеліоцитів в середній частині ворсинок та мітотичного індексу стовпчастого епітеліоциту (Табл. 3). Ці показники статистично достовірно відрізняється від показників інтактних тварин, у тварин другої експериментальної групи (Табл. 3) товщина підслизової основи дванадцятипалої кишки =  $235,28 \pm 8,60$  мкм і не тільки статистично достовірно ( $p < 0,001$ ) відрізняється від ідентичного показника інтактних тварин ( $185,45 \pm 6,08$  мкм), але і тварин першої (Табл. 3) експериментальної групи ( $p < 0,005$ ).

Таблиця 3

Морфометричні параметри структурних компонентів дванадцятипалої кишки інтактних тварин та тварин другої експериментальної групи у різні терміни спостереження [208]

Параметр (M±m)	Інтактні тварини	Тварини другої експериментальної групи		
		7 доба	14 доба	21 доба
Товщина слизової оболонки, мкм	762,51 ± 12,35	776,28 ± 14,58	782,32 ± 15,02	784,70 ± 16,17
Висота ворсинок, мкм	581,58 ± 14,23	594,66 ± 13,58	605,05 ± 19,51	607,57 ± 11,86
Товщина ворсинок, мкм	69,30 ± 1,97	78,36 ± 1,85**	81,48 ± 2,13***	82,80 ± 1,86***
Глибина крипт, мкм	171,26 ± 7,40	163,44 ± 4,44	161,18 ± 4,55	159,66 ± 5,80
Ширина крипт, мкм	38,87 ± 1,78	41,94 ± 1,46	43,83 ± 1,52*	44,87 ± 1,38**
Товщина м'язової пластинки слизової оболонки, мкм	15,05 ± 0,20	15,10 ± 0,42	15,30 ± 0,24	15,36 ± 0,27
Товщина підслизової основи, мкм	185,45 ± 6,08	216,47 ± 9,63**	227,12 ± 10,05***	237,03 ± 10,82***
Товщина м'язової оболонки, мкм	82,61 ± 2,57	81,59 ± 2,97	83,65 ± 1,48	83,87 ± 2,98
Товщина серозної оболонки, мкм	7,36 ± 0,12	7,52 ± 0,31	7,48 ± 0,29	7,41 ± 0,21
Висота епітеліоцитів в середній частині ворсинок, мкм	17,21 ± 0,21	18,29 ± 0,26**	18,34 ± 0,29**	18,39 ± 0,19***
Мітотичний індекс стовпчастих епітеліоцитів, %	3,367 ± 0,147	1,967 ± 0,102***	1,833 ± 0,118***	1,700 ± 0,085***

Примітки: Зірочкою позначено величини, які статистично достовірно відрізняються від показників інтактних тварин (\* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001).



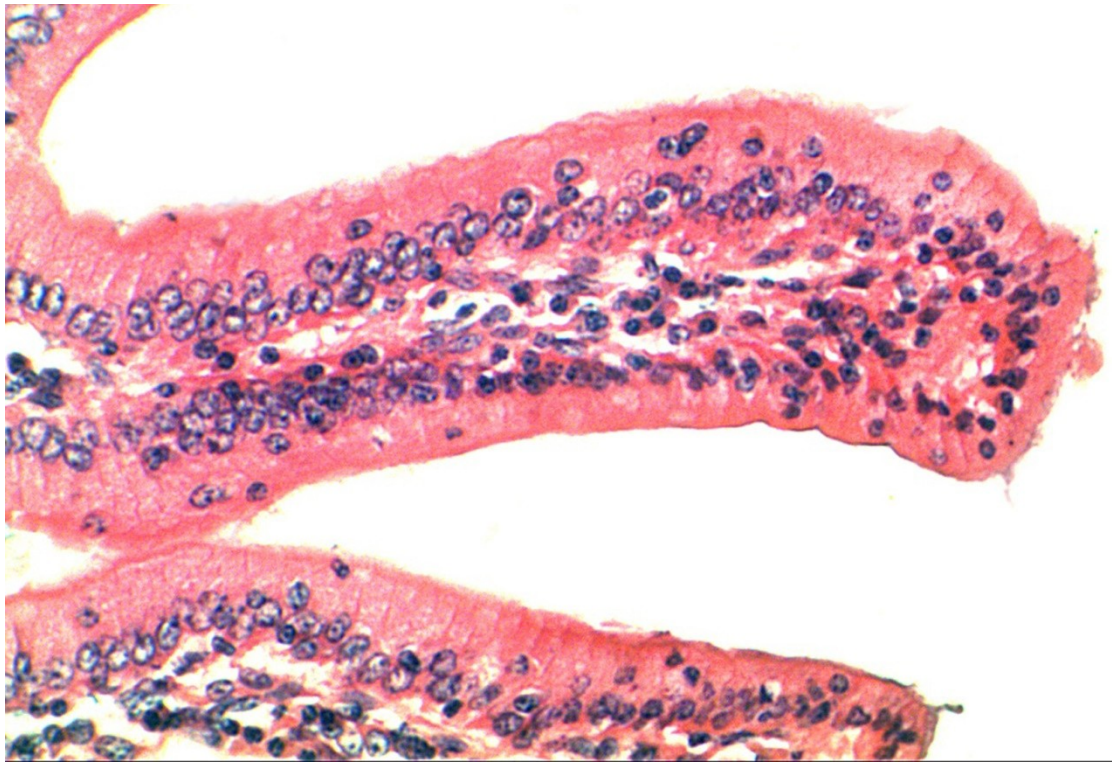


Рис. 4.1. Помірна лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 400

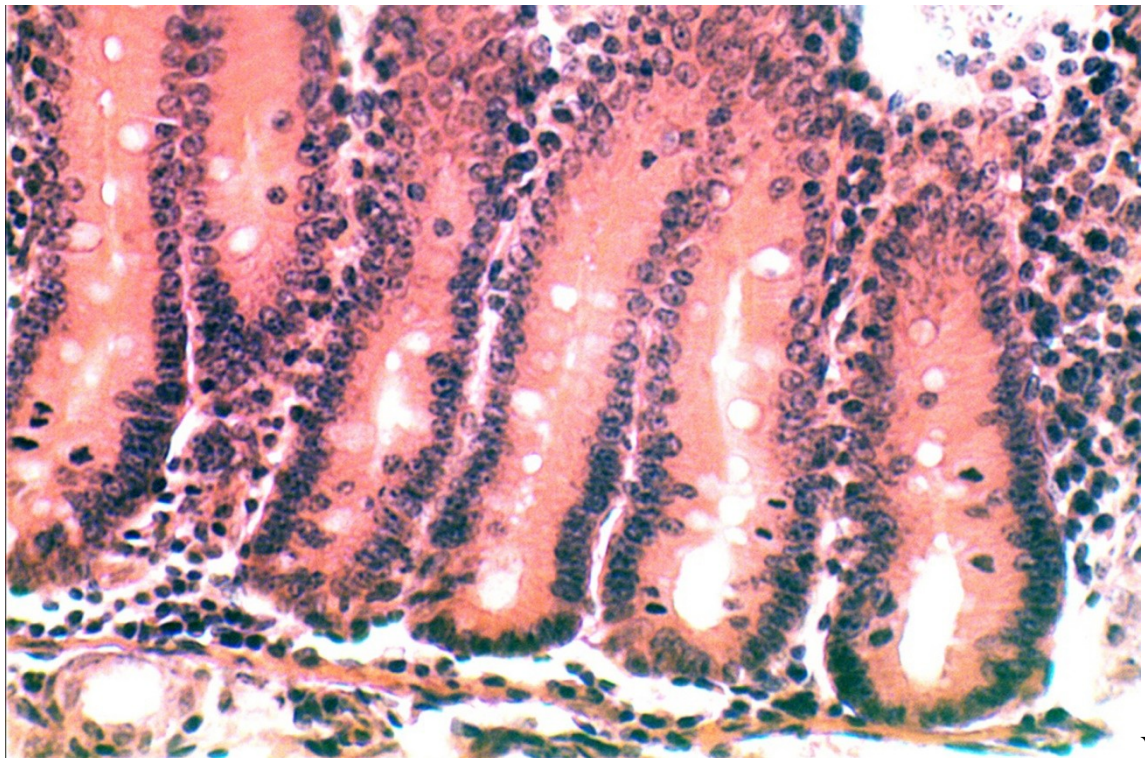


Рис. 4.2. Заповненні еозинофільним вмістом кишкові крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200

У щурів другої експериментальної групи через сім діб від початку експерименту при дослідженні слизової оболонки дванадцятипалої кишки, відмічена лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок (Рис. 4.1) та пухкої сполучної тканини в зоні набряклих кишкових крипт (Рис. 4.2) слизової оболонки дванадцятипалої кишки. При дослідженні кровоносних мікросудин у цей період часу відмічені структурні ознаки реологічних змін мікроциркуляції (Рис. 4.3; Рис. 4.4; Рис. 4.5).



Рис. 4.3. Підслизова основа стінки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – еритроцит у просвіті кровоносного капіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

Просвіт кровоносних мікросудин заповнений еритроцитами різної конфігурації з матриксом різної електронної щільності (що є ознакою їх гемолітичних змін). Відмічений також, мікроклазматоз ендотеліоцитів стінки кровоносних мікросудин просвіт яких, заповнений залишками клітинного

детриту (що ймовірно утворився внаслідок деструкції повністю відшарованих від цитоплазми клазмосом різного розміру та конфігурації).

Серед клітин, розташованих поруч з кровоносними капілярами, можна розрізнити апоптозні клітини (з проявами типового апоптозного блеббінгу), а також плазмоцити з великим ядром і характерною добре розвиненою гранулярною ендоплазматичною сіткою, яка займає більшу частину цитоплазми клітини (Рис. 4.4).

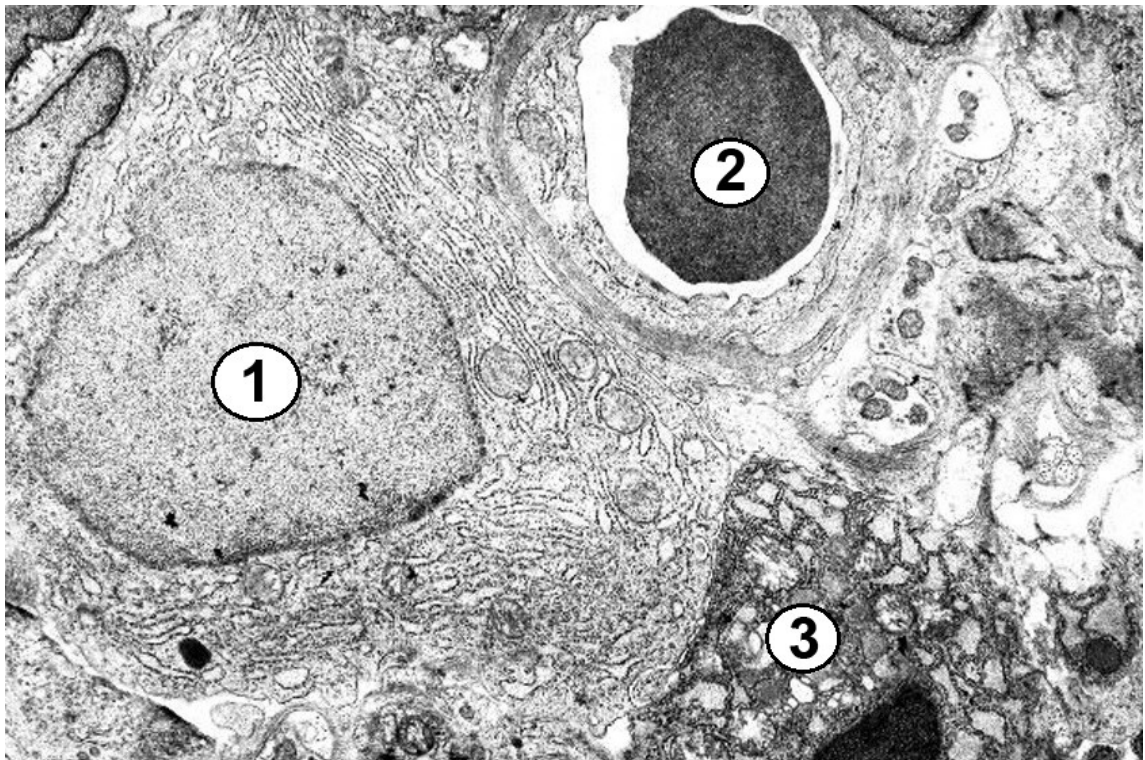


Рис. 4.4. Підслизова основа стінки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – ядро плазмоцита; 2 – еритроцит в просвіті кровоносного капіляра; 3 – цитоплазма апоптозної клітини. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

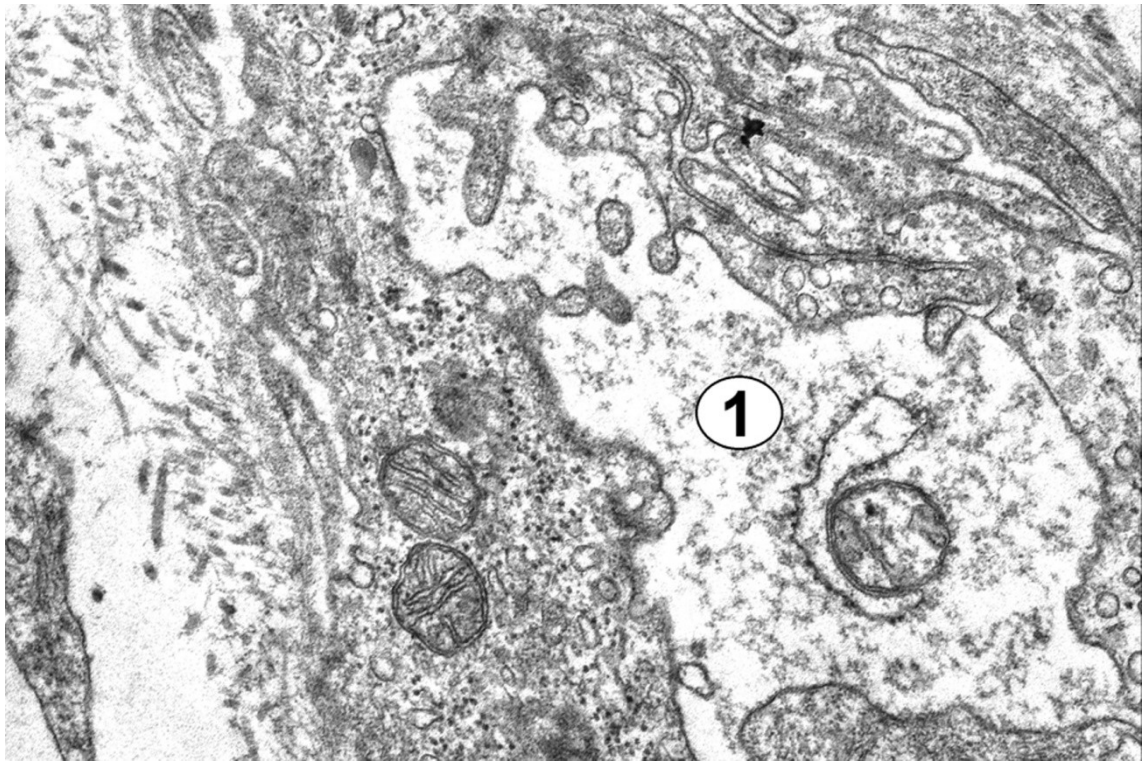


Рис. 4.5. Мікроплазматоз ендотеліоцитів у стінці кровоносного капіляра в підслизовій основі стінки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 днів початку експерименту. 1 – клітинний детрит у просвіті кровоносного капіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

Через сім днів від початку експерименту серед епітеліоцитів, ворсинок та кишкових крипт, а також клітин прилеглої пухкої сполучної тканини та підслизової основи стінки дванадцятипалої кишки щурів другої експериментальної групи відмічені апоптозні клітини, які на напівтонких зрізах, забарвлених толуїдином синім, виглядають як гіперхромні клітини із зморшкуватою цитоплазмою (Рис. 4.6). У той же час серед епітеліоцитів слизової оболонки виявлені епітеліоцити в стані мітозу (Рис. 4.7).

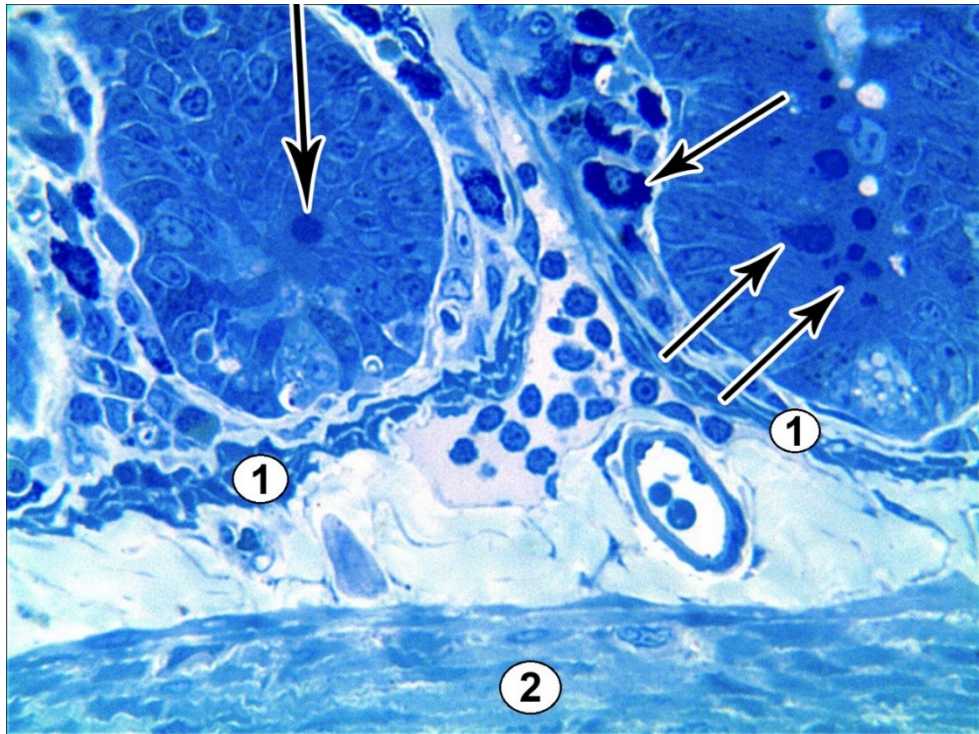


Рис. 4.6. Стінка дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Стрілочками відмічені гіперхромні (апоптозні) клітини. 1 – м'язова пластинка слизової оболонки; 2 – м'язова оболонка дванадцятипалої кишки. Напівтонкий зріз. Толуїдиновий синій. Зб. 100.

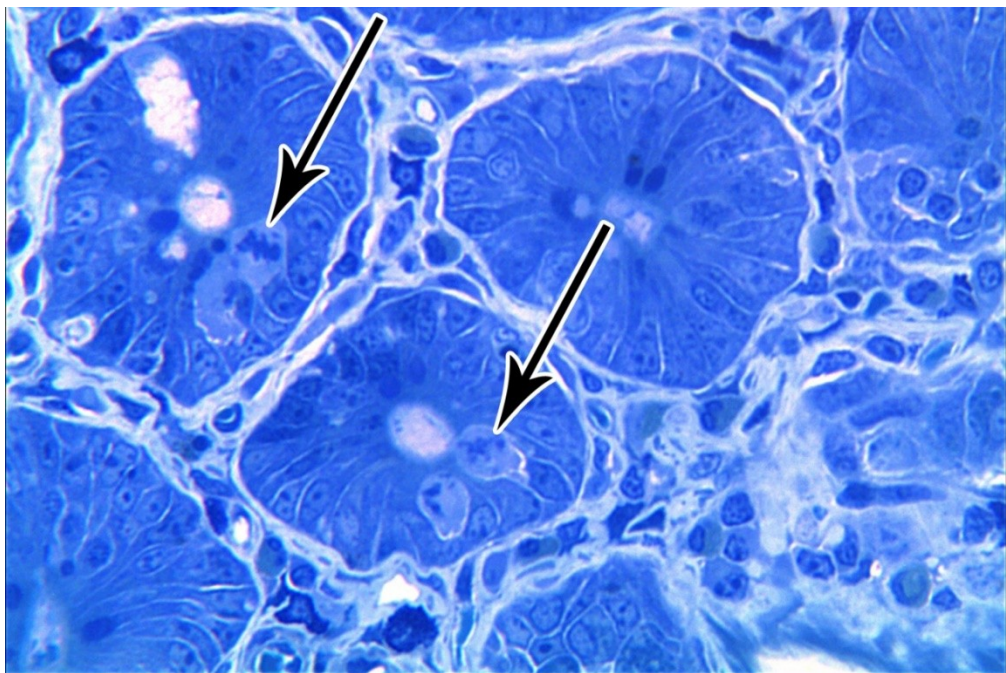


Рис. 4.7. Кишкові крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Стрілочками відмічені епітеліоцити в стані мітозу. Напівтонкий зріз. Толуїдиновий синій. Зб. 100.

При електронномікроскопічному дослідженні можна бачити, як на початкових етапах апоптозу цитоплазми епітеліоцита ущільнюються (аж до щільності гіперосмованого ядра) і виглядає доволі аморфною, але в певних ділянках цитоплазми можна розрізнити контури окремих спотворених органел (Рис. 4.8; Рис. 4.9). Ущільнення цитоплазми і ядра апоптозних епітеліоцитів, зазвичай призводить до суттєвих змін як конфігурації так і розмірів ядра клітини та їх цитоплазми, що виразно проявляється при порівнянні їх з ядром і цитоплазмою розташованих поруч епітеліоцитів із збереженою структурною організацією (Рис. 4.9).

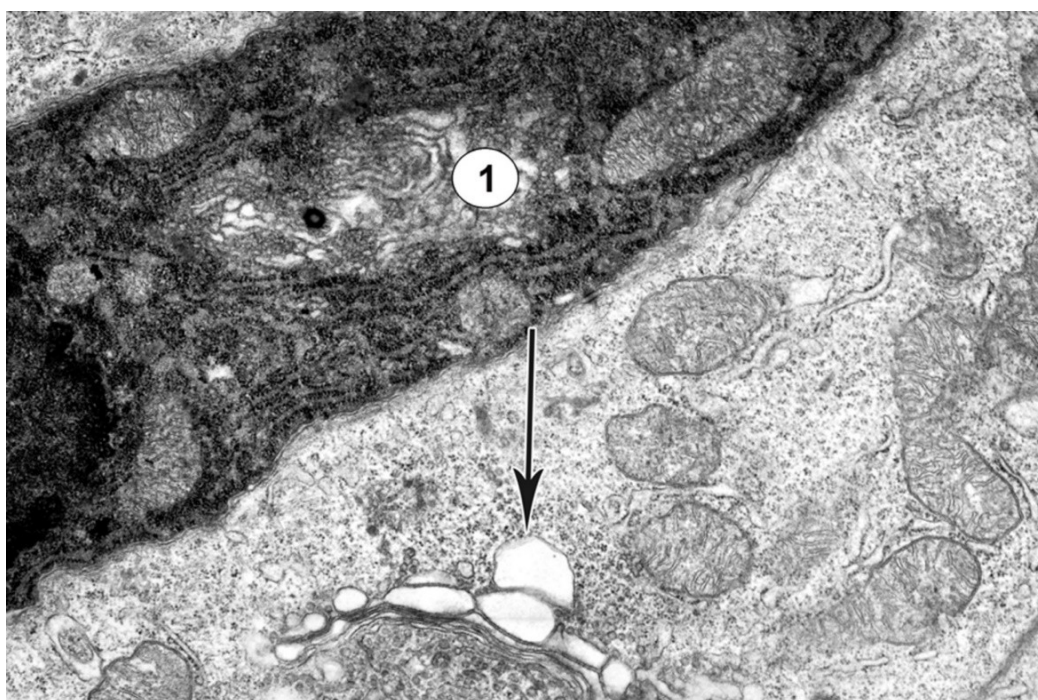


Рис. 4.8. Електроннощільна цитоплазма (1) апоптозного епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Стрілочкою відмічена розширення трубочок і пухирців комплексу Гольджи епітеліоцита із збереженою структурною організацією. Електронна мікрофотографія. Зб. 40000.

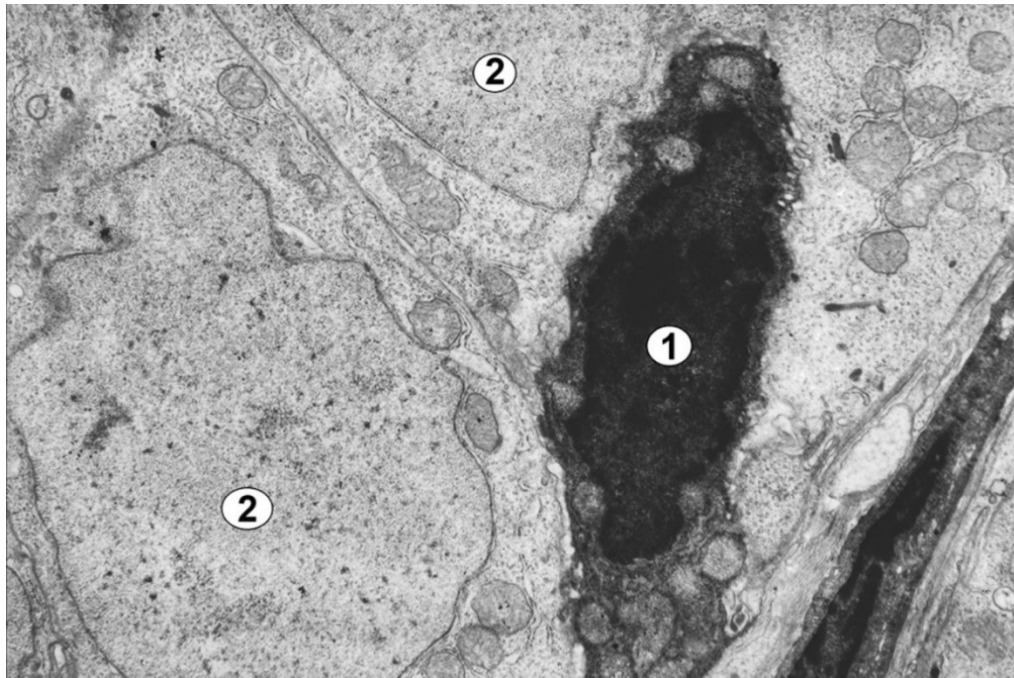


Рис. 4.9. Апоптоз епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – ядро апоптозного епітеліоцита; 2 – ядро епітеліоцита зі збереженою структурною організацією. Електронна мікрофотографія. Зб. 10000.

Подібні апоптозні зміни відбуваються в деяких фібробластах в пухкій сполучній тканині, які є навіть більше виразними ніж в епітеліоцитах (Рис. 4.10).

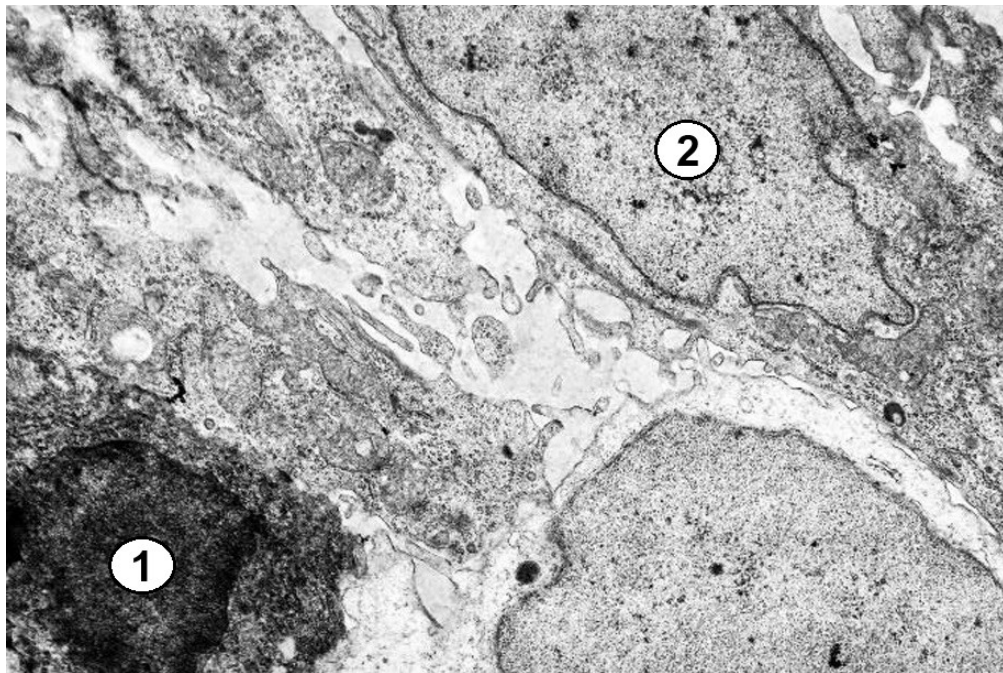


Рис. 4.10. Апоптоз фібробласта в підслизовій основі стінки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку

експерименту. 1 – ядро апоптозного фібробласта; 2 – ядро фібробласта звичайної будови. Електронна мікрофотографія. Зб. 15 000.

У цей проміжок часу відмічені також, структурні ознаки змін інтенсивності секреції та якості секреторного матеріалу в келихоподібних клітинах слизової оболонки дванадцятипалої кишки. В більшості келихоподібних клітин секреторні гранули заповнені вмістом середньої та низької електронної щільності (Рис. 4.11). Тоді, коли за умов норми секреторні гранули келихоподібних клітин мають, за умов помірної секреторної активності вміст набагато більшої електронної щільності (Рис. 4.12).

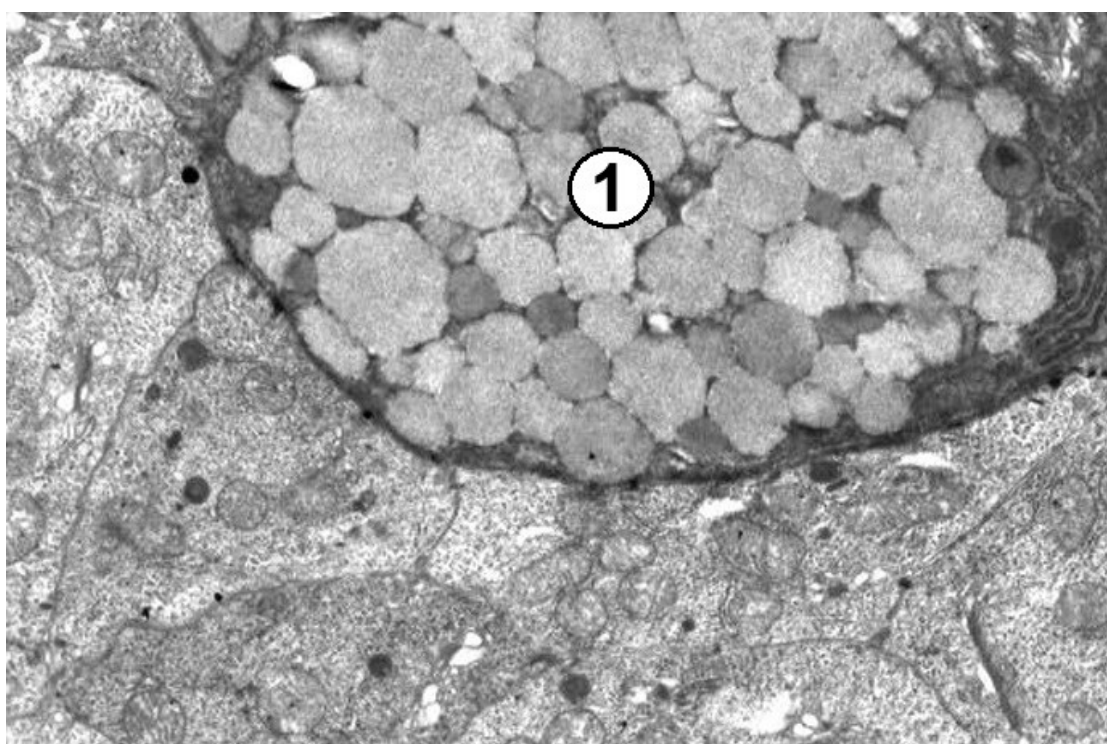


Рис. 4.11. Епітелій слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 днів після початку експерименту. 1 – секреторні гранули келихоподібної клітини. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.



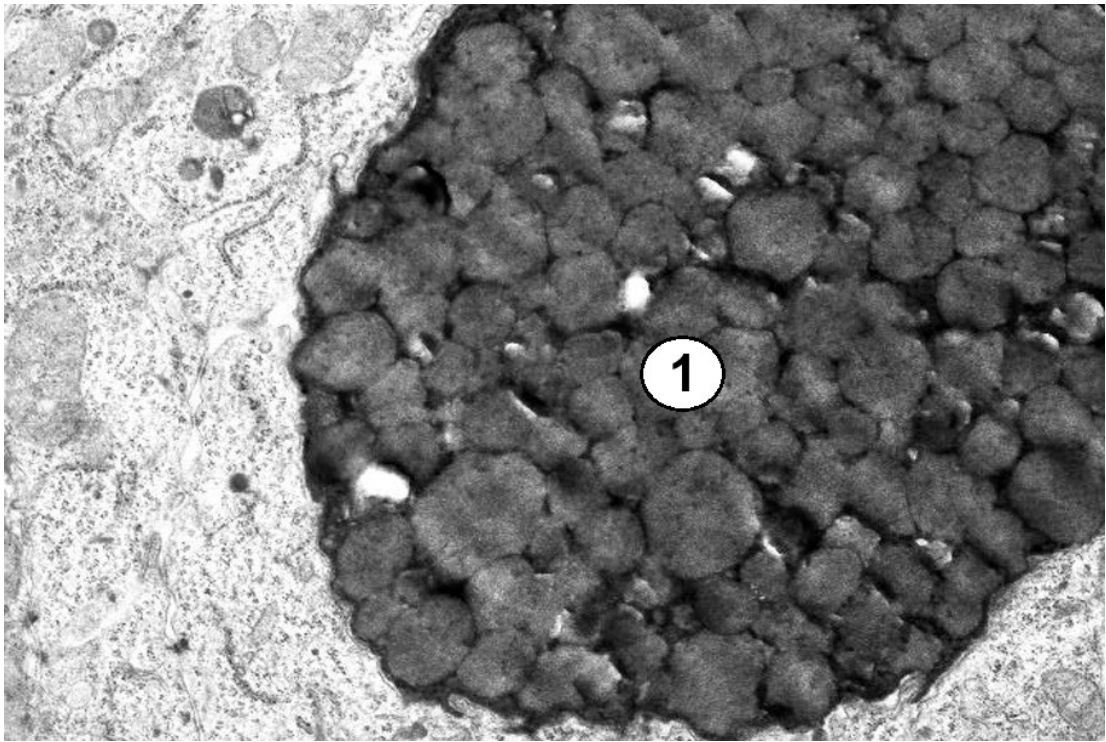


Рис. 4.12. Епітелій слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура за умов норми (інтактні тварини). 1 – секреторні гранули келихоподібної клітини. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

У щурів другої експериментальної групи через чотирнадцять діб від початку експерименту при дослідженні слизової оболонки дванадцятипалої кишки, відмічена лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок (Рис. 4.13) та пухкої сполучної тканини в зоні набряклих кишкових крипт (Рис. 4.14) слизової оболонки дванадцятипалої кишки.

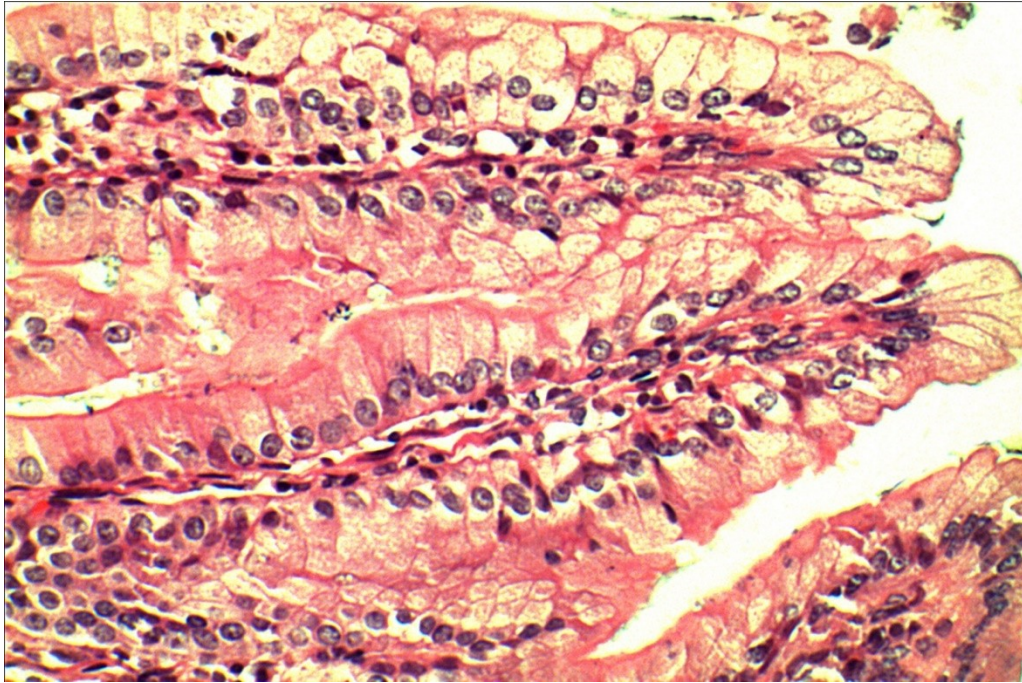


Рис. 4.13. Помірна лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200

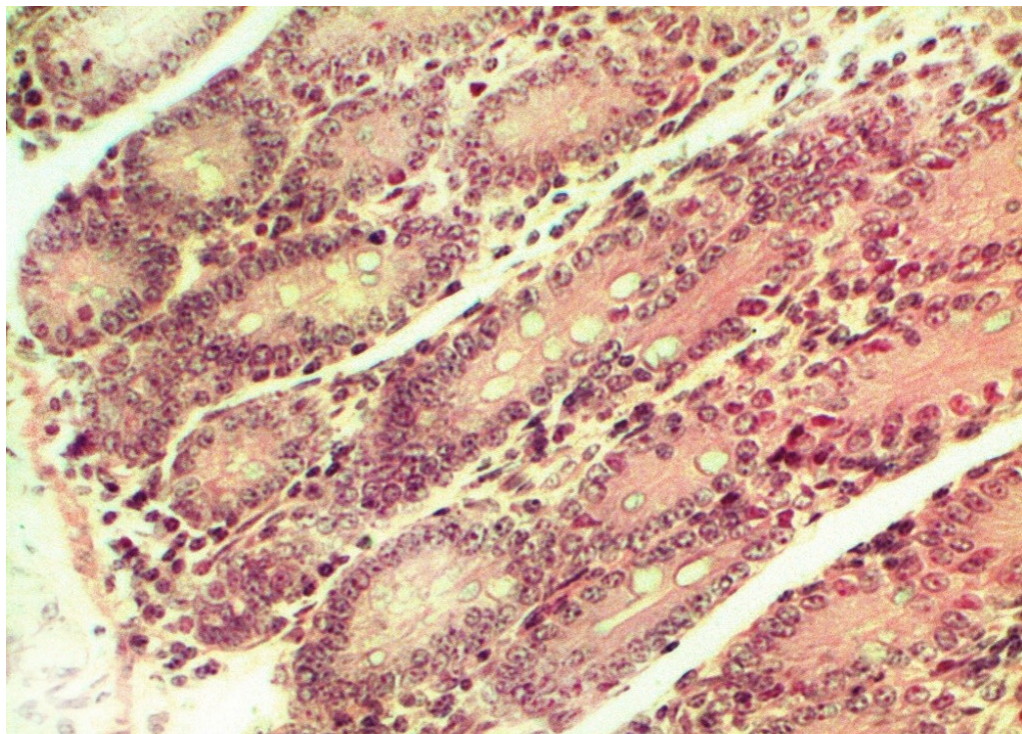


Рис. 4.14. Заповненні еозинофільним вмістом кишкові крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200

В цитоплазмі фібробластів та епітеліоцитів відмічені структурні ознаки автофагії що проявляються утворенням в цитоплазмі автофагосом та автофаголізосом (Рис. 4.15; Рис. 4.16).

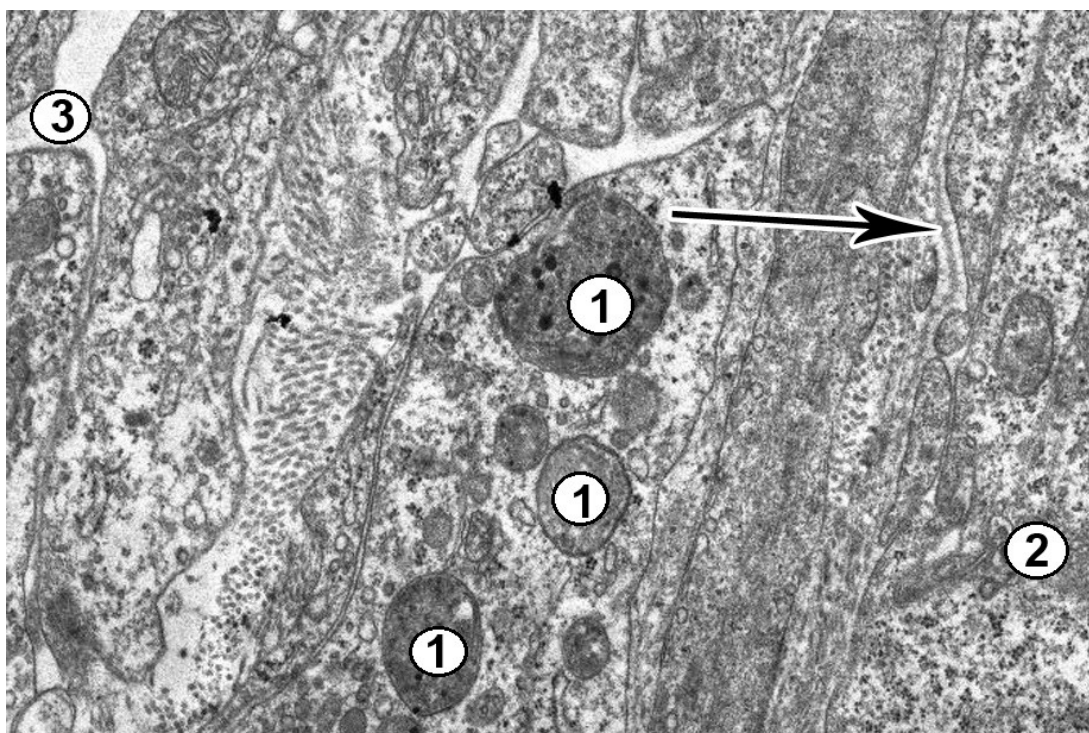


Рис. 4.15. Різні за розміром автофаголізосоми (1) в ділянці цитоплазми фібробласта в підслизовій основі стінки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. 2 – цитоплазма епітеліоцита; 3 – просвіт лімфатичного капіляра. Стрілочкою відмічена базальна мембрана епітеліоцитів. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

Такі прояви автофагії супроводжуються збереженням базальної мембрани епітеліоцитів та органел клітин. Комплекс Гольджі, мітохондрії, цитоплазматичний матрикс та ядро клітини на ультраструктурному рівні зберігають типову організацію (Рис. 4.16).

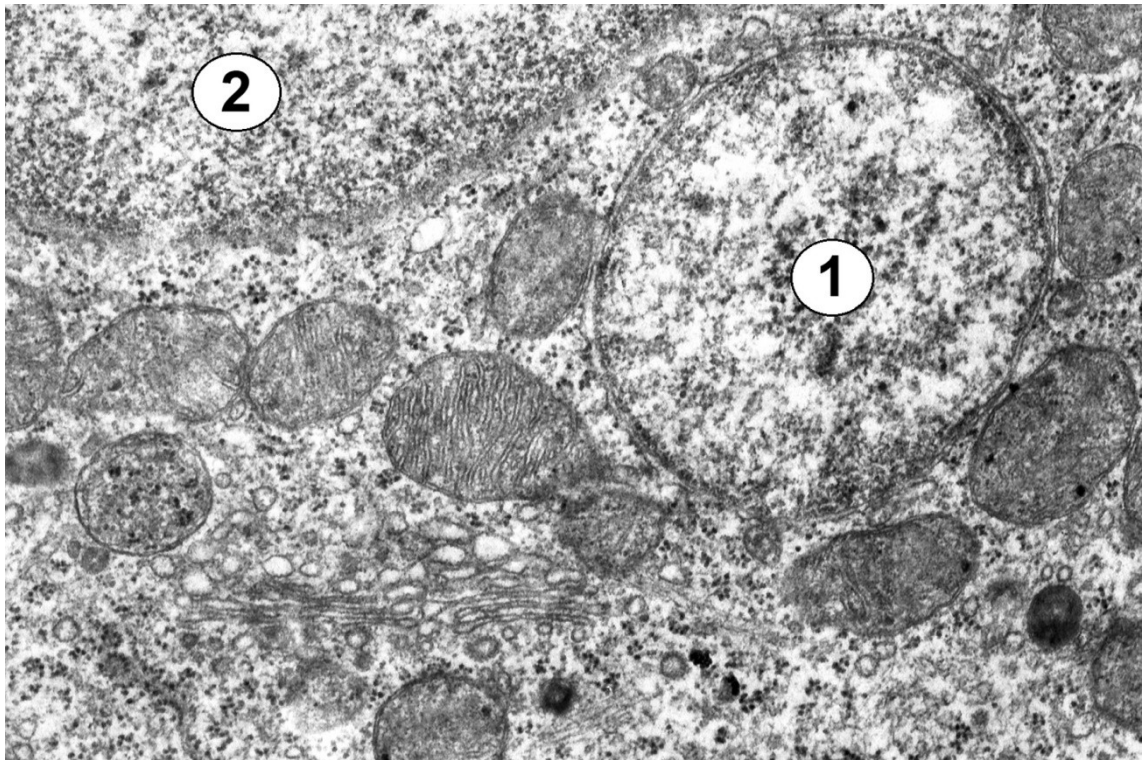


Рис. 4.16. Велика за розміром автофагосома (1) в оточені дрібних вторинних лізосом, автофаголізосом, а також мітохондрій та комплексу Гольджі із збереженою структурною організацією в ділянці цитоплазми епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. 2 – ядро епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 40 000.

В багатьох епітеліоцитах зареєстровано новоутворення мітохондрій (Рис. 4.17) за рахунок брункування передіснуючих мітохондрій, свідченням чого є формування інвагінацій мітохондріальної оболонки, що призводить до появи вузьких «перетяжок» і відділення менших частин мітохондрії (з яких формуються «юні» мітохондрії) від більшої частини мітохондрії (яка, відповідно стає «материнською» мітохондрією).

В мітохондріях можна добре розрізнити зовнішню та внутрішню мітохондріальні мембрани, розташований між ними міжмембранний простір, а також мітохондріальний матрикс середньої електронної щільності, в якому візуалізуються складки внутрішньої мітохондріальної мембрани у вигляді мітохондріальних крист.

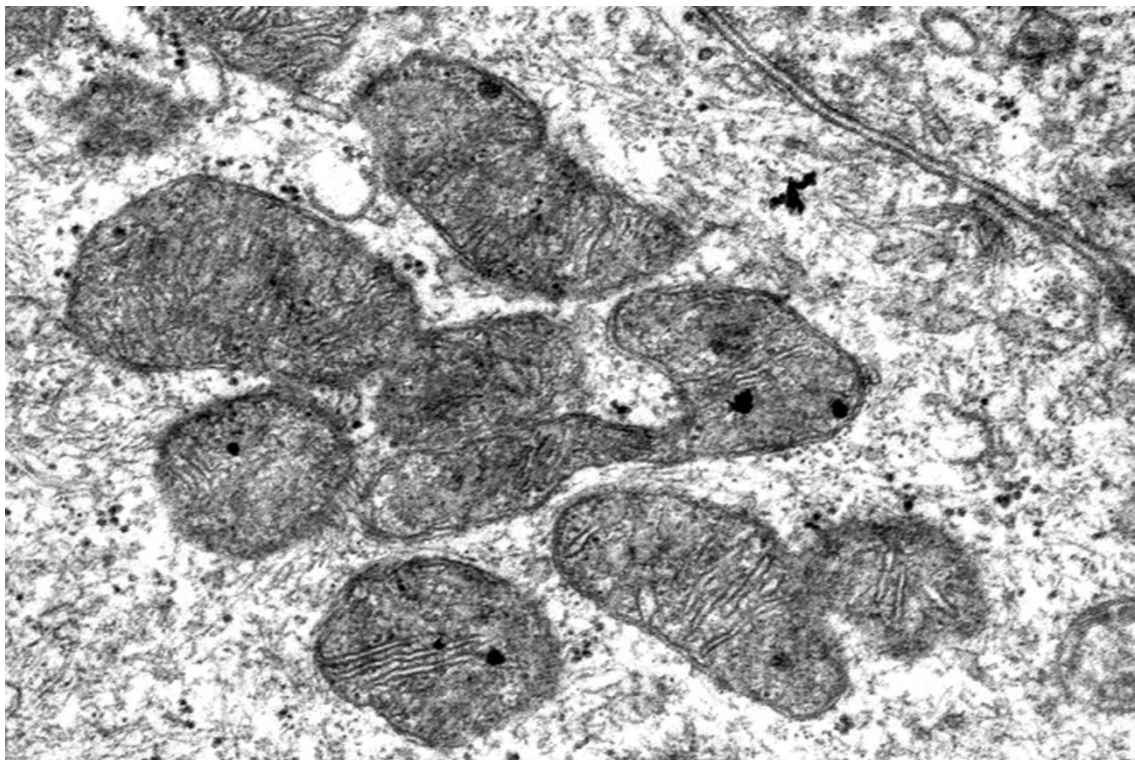


Рис. 4.17. Брункування мітохондрій в ділянці цитоплазми епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб початку експерименту. Електронна мікрофотографія. Зб. 52 000.

Відмічено також, збільшення кількості вільних та прикріплених рибосом, а також нерівномірне розширення просвіту розгалужених каналців гранулярної ендоплазматичної сітки. Доволі характерною є асоціація великих за розміром автофагосом з дрібними вторинними лізосомами, автофаголізосомами (які утворились в результаті злиття автофагосом з лізосомами), а також мітохондрій та комплексу Гольджі.

Така ультраструктурна картина може свідчити про активну перебудову клітини: знищення за рахунок автофагії одних клітинних елементів, рециклізація їх матеріалу та синтез нового матеріалу (за умов метаболічного підґрунтя, яке забезпечує гранулярна ендоплазматична сітка та комплекс Гольджі, а також відповідне підсилення енергетичного забезпечення, що підтримується новоутворенням мітохондрій).

Різноманітні за формою та розмірами мітохондрії звичайної будови в окремих ділянках цитоплазми епітеліоцитів щільно прилягають одна до одної та формують характерні групи (Рис. 4.18; Рис. 4.19).

В епітелії слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів другої експериментальної групи через чотирнадцять діб від початку експерименту виявлено зменшення кількості щільних міжепітеліальних контактів, яке супроводжує розширення міжклітинного простору.

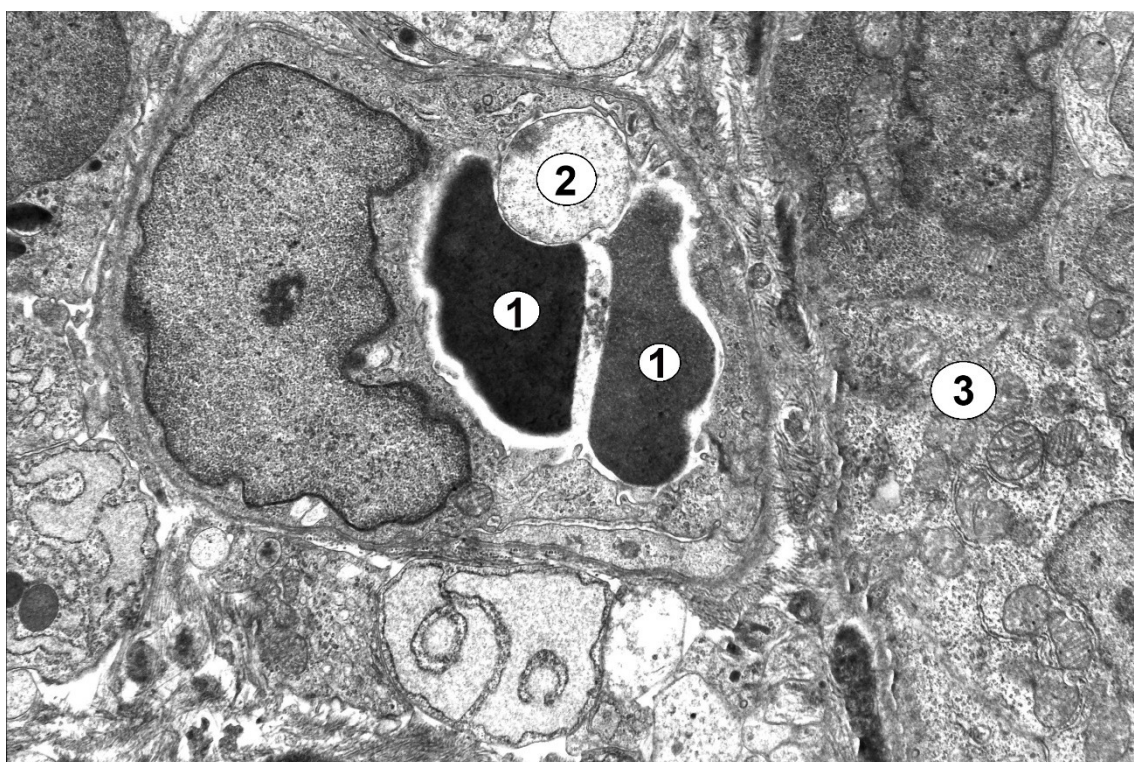


Рис. 4.18. Слизова оболонка стінки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – деформований еритроцит у просвіті кровоносного капіляра пухкої сполучної тканини власної пластинки слизової оболонки; 2 – гемолітично змінений еритроцит із просвітленим цитоплазматичним матриксом просвіті кровоносного капіляра пухкої сполучної тканини власної пластинки слизової оболонки; 3 – група мітохондрій в базальному відділі епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

Це призводить до ускладнення конфігурації (Рис. 4.19) інтердигтацій латеральних цитоплазматичних відростків епітеліоцитів в зонах міжклітинних контактів (реактивні зміни, що спрямовані на утримання суцільності епітеліального моношару та гальмування утворення «парацелюлярних пор проникності?»).

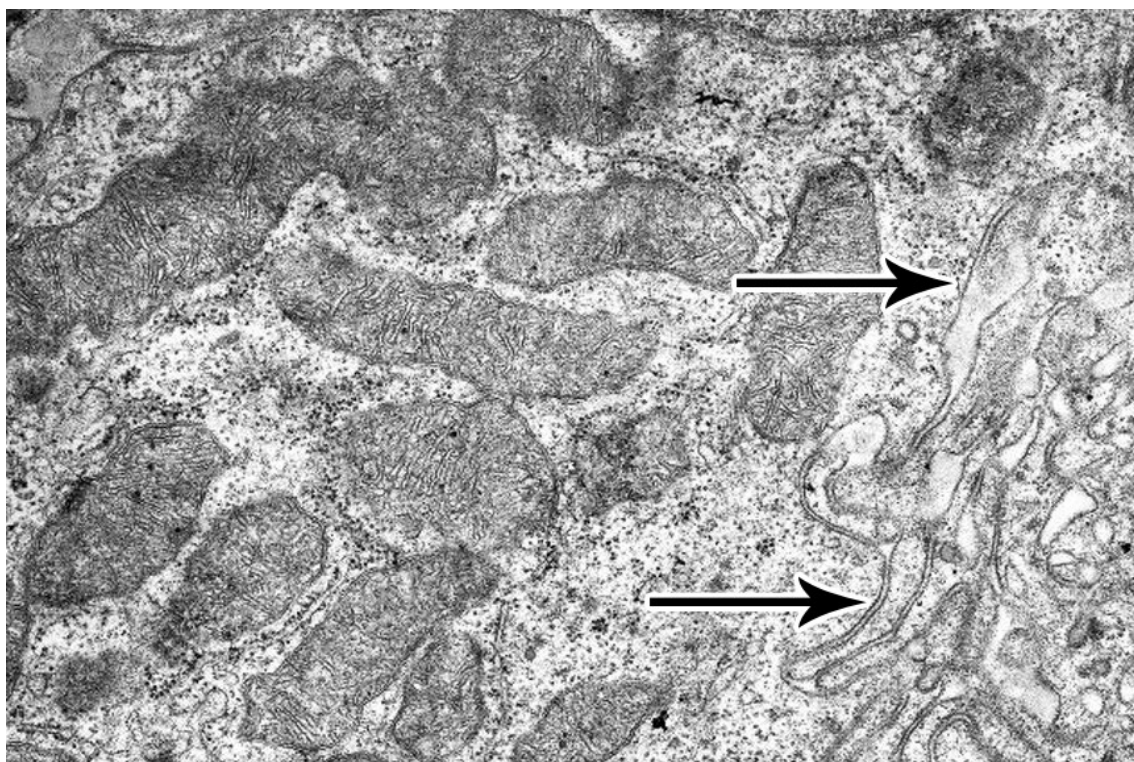


Рис. 4.19. Помірне розширення міжклітинного простору в ділянці довгого міжклітинного контакту епітеліоцитів з щіточковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Електронна мікрофотографія. Зб. 40 000.

Відмічена також, міграція лімфоцитів через (утворені, за зазначеним вище механізмом) розширені міжепітеліальні простори в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів (Рис. 4.20). Характерною складовою, що супроводжує процеси автофагії, міграції лімфоцитів, конфігураційні зміни міжепітеліальних контактів, розширення міжепітеліальних просторів є локальна і доволі щільна асоціація автофагосом і автофаголізосом різних розмірів і форм з розширеними каналцями розгалуженої гранулярної ендоплазматичної сітки, а також з вузькими каналцями гранулярної

ендоплазматичної сітки з електроннопрозорим вмістом в цитоплазмі епітеліоцитів, які розташовані поруч з довгими розгалуженими мітохондріями (Рис. 4.20; Рис. 4.21).

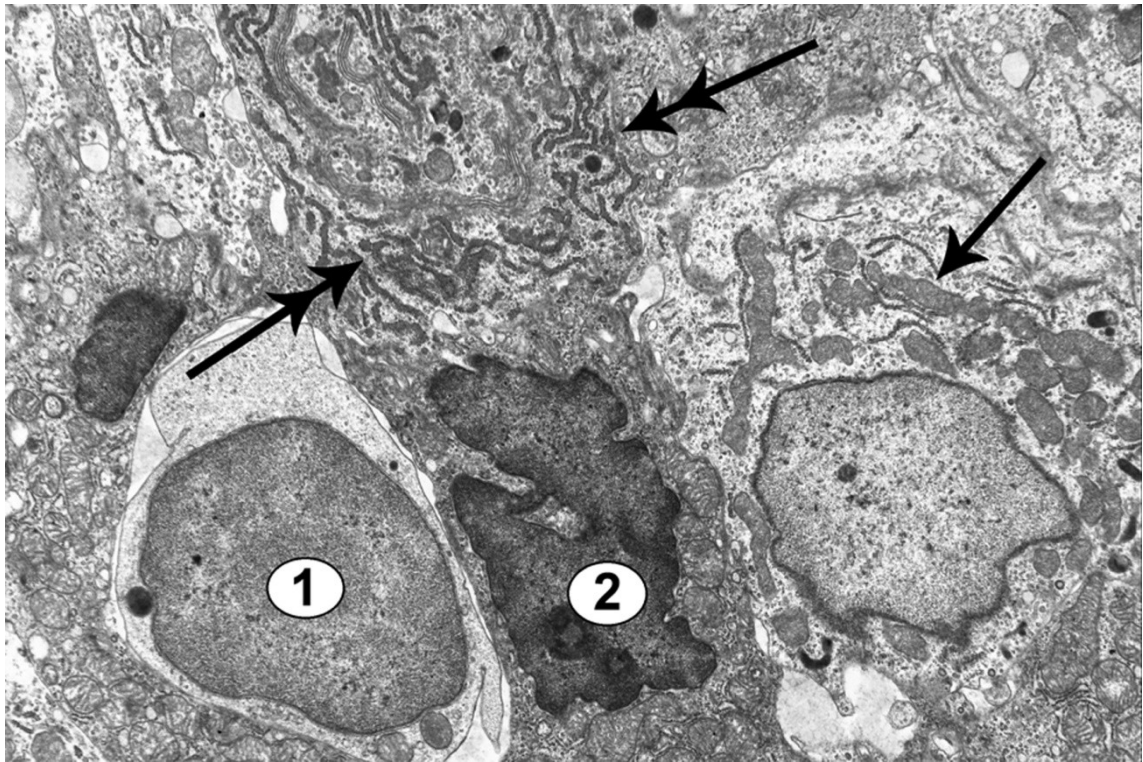


Рис. 4.20. Лімфоцит мігрує через розширений міжепітеліальний простір в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Одиною стрілочкою відмічена асоціація довгих розгалужених мітохондрій з розгалуженою гранулярною ендоплазматичною сіткою; подвійними стрілочками відмічені наповнені електроннощільним вмістом каналці розгалуженої гранулярної ендоплазматичної сітки. 1 – ядро лімфоцита; 2 – ядро епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 8 000

Звертає на себе увагу, що каналці гранулярної ендоплазматичної сітки з електроннощільним вмістом мають нерівномірний просвіт, а їх булавоподібні випини, що особливо помітно при великих збільшеннях (Рис. 4.21). Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки з електроннощільним вмістом зазвичай розташовані паралельними рядами і примикають до рядів вузьких каналців



гранулярної ендоплазматичної сітки з електроннопрозорим вмістом, стінка яких майже повністю втратила прикріплені рибосоми.

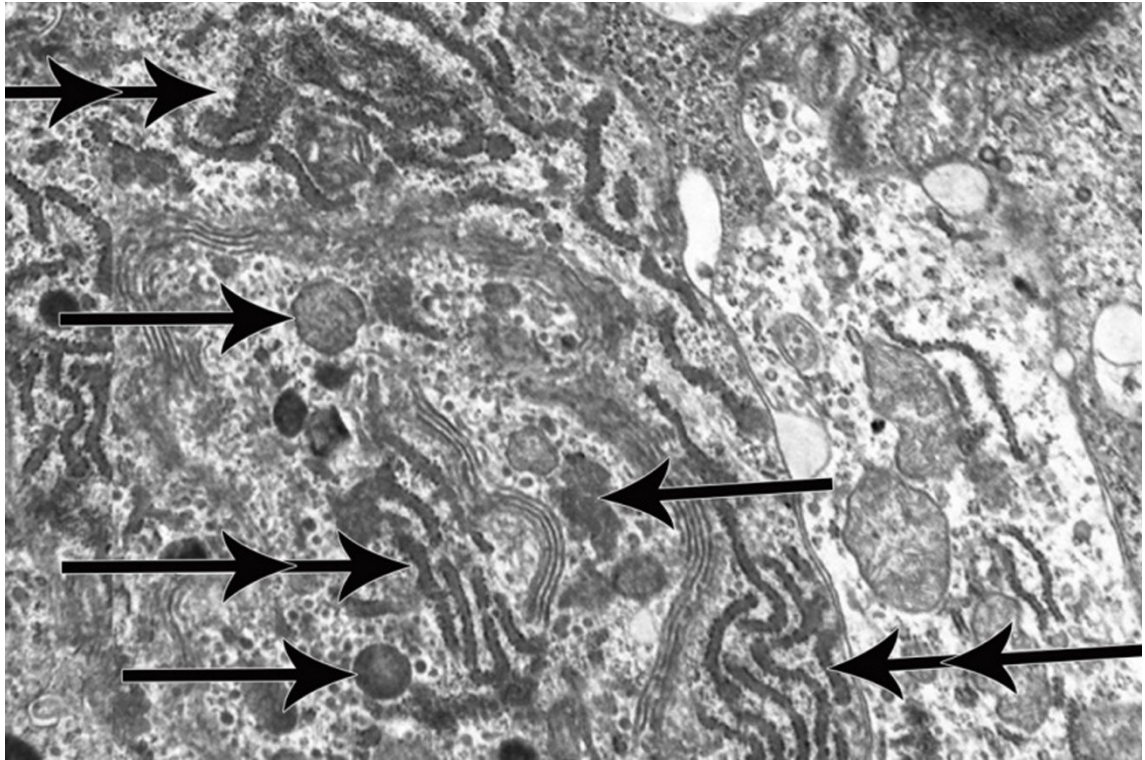


Рис. 4.21. Асоціація автофагосом і автофаголізосом різних розмірів і форм з розширеними каналцями розгалуженої гранулярної ендоплазматичної сітки, а також з вузькими каналцями гранулярної ендоплазматичної сітки з електроннопрозорим вмістом в епітеліюцитах слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту (деталь з Рис. 3.21). Одиначними стрілочками відмічені автофагосоми і автофаголізосоми різних розмірів і форми. Подвійними стрілочками відмічені наповнені електроннощільним вмістом каналці розгалуженої гранулярної ендоплазматичної сітки. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

В епітелії слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів другої експериментальної групи через чотирнадцять діб від початку експерименту розповсюдженим явищем є апоптоз епітеліюцитів (Рис.4. 22).

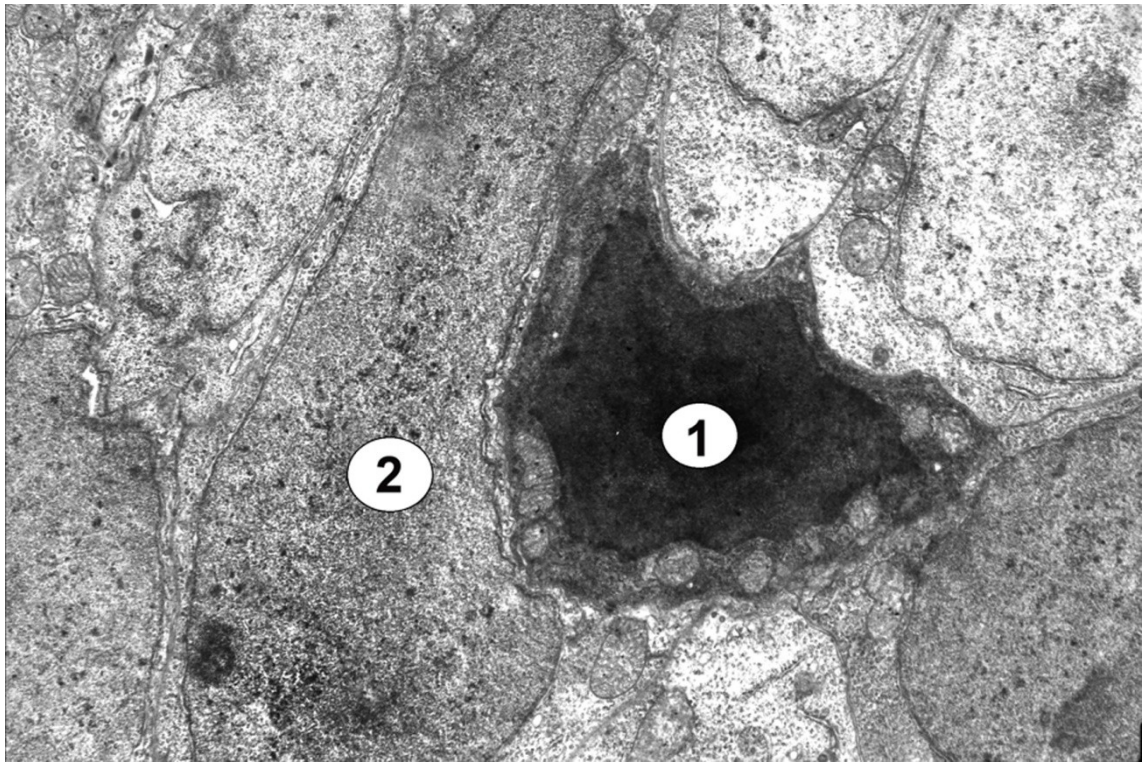


Рис. 4.22. Апоптоз епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. 1 – ядро апоптозного епітеліоцита; 2 – ядро епітеліоцита із збереженою структурною організацією. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

Апоптоз епітеліоцитів у цей проміжок часу може мати характер поодинокого явища (Рис. 4.22), поруч з апоптозними епітеліоцитами у стані максимального ущільнення гіперосмованих цитоплазми і ядра знаходяться клітини з ознаками кластеризації ушкоджених органел та утворення інвагінацій в ядрі з матриксом звичайної електронної щільності (ультраструктурні прояви початку апоптозних змін?). Кількість щільних контактів між епітеліоцитами зменшуються, а міжклітинні простори розширюються. Частина епітеліоцитів повністю втрачає міжклітинні контакти та клітинно-матриксні зв'язки і відшаровується від базальної мембрани. Епітеліоцити відрізняються один від одного різною електронною щільністю цитоплазми та кількісним представництвом органел.

На тлі характерних для цього терміну спостереження проявів дезорганізації міжепітеліальних контактів та руйнації апікальних відділів

келихоподібних клітин, в яких локалізовані секреторні гранули з вмістом різної електронної щільності, нами виявлені келихоподібні клітини з ознаками помірного поступового дозрівання та локальної руйнації секреторних гранул (Рис. 4.23). Такі келихоподібні клітини розташовані поруч з епітеліоцитами, які з'єднанні збереженими поодинокими та груповими щільними міжклітинними контактами.

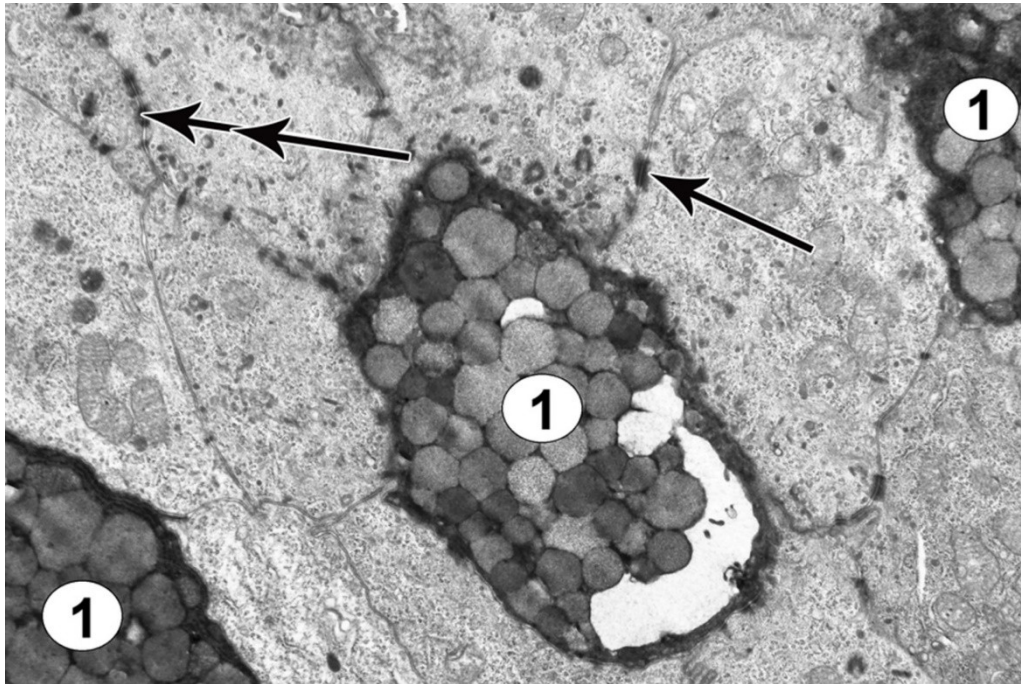


Рис. 4.23. Помірне поступове дозрівання та локальна руйнація секреторних гранул (1) в апікальних відділах келихоподібних клітин в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб початку експерименту. Стрілочками відмічені поодинокі та групові щільні міжепітеліальні контакти. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

У щурів другої експериментальної групи через двадцять одну добу від початку експерименту при дослідженні слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів, відмічена лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок (Рис. 4.24; Рис. 4.25) та пухкої сполучної тканини в зоні набряклих кишкових крипт (Рис. 4.26) слизової оболонки дванадцятипалої кишки. Серед ворсинок звичайної будови зустрічаються ворсинки з сплющеною верхівкою та роздвоєні (Рис. 4.25).

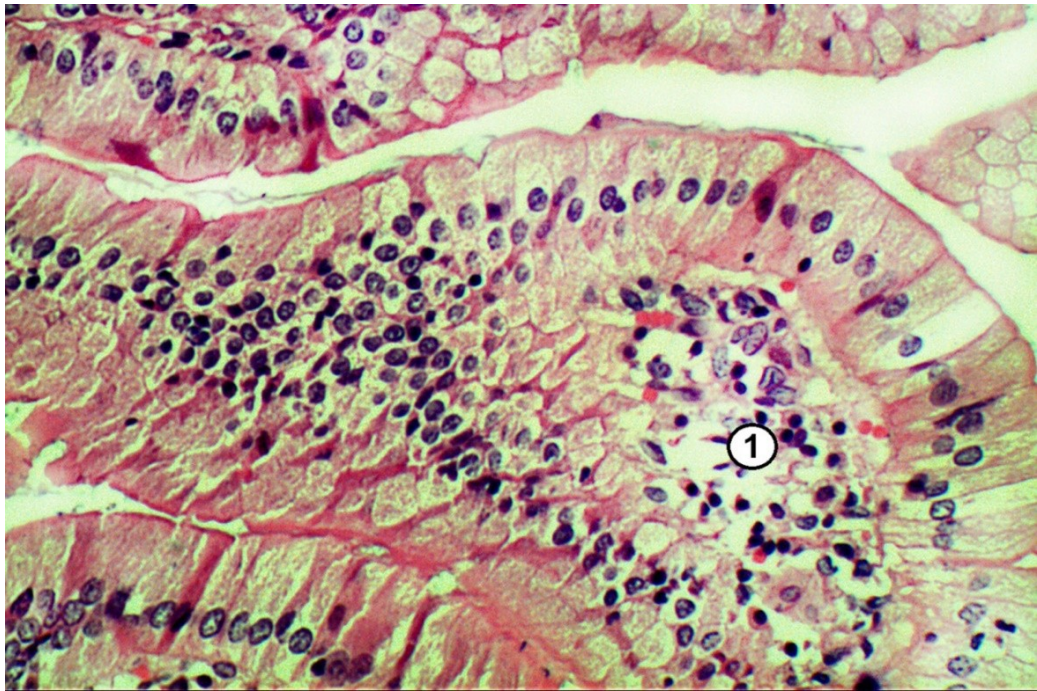


Рис. 4.24. Лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – осередок некрозу. Мікрофотографія. Збарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200.

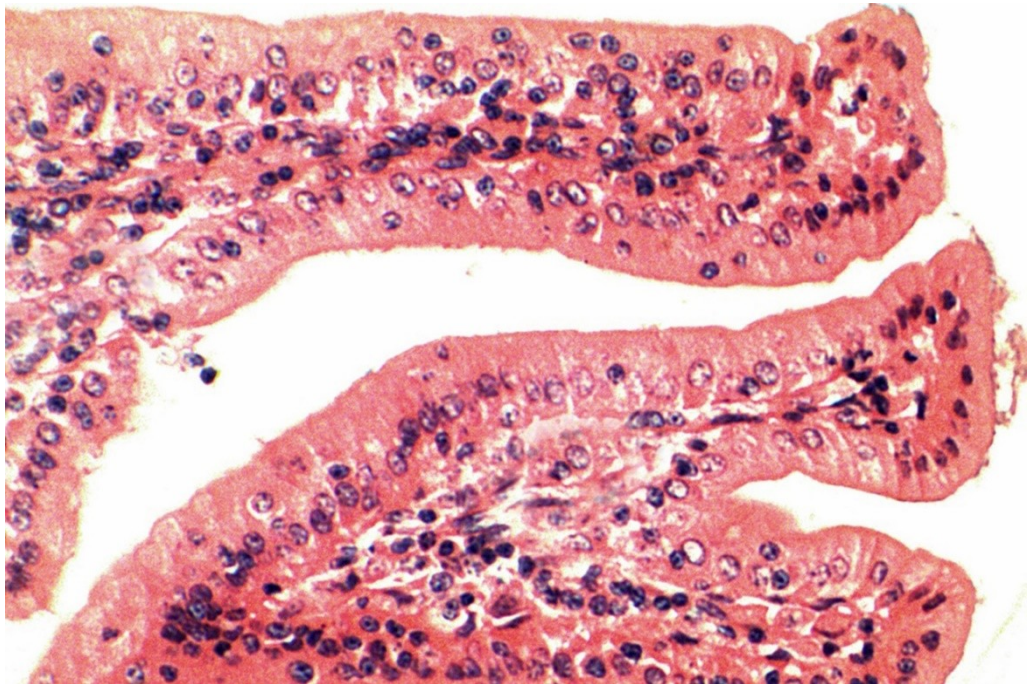


Рис. 4.25. Помірна лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. Мікрофотографія. Збарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 400.

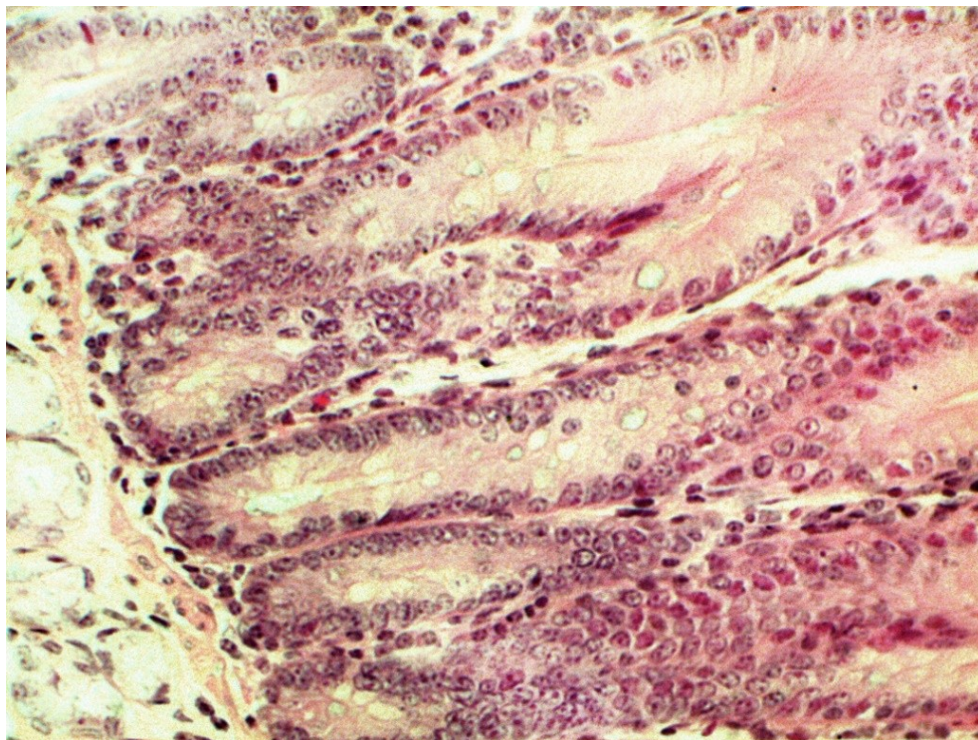


Рис. 4.26. Заповненні еозинофільним вмістом кишкові крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200.

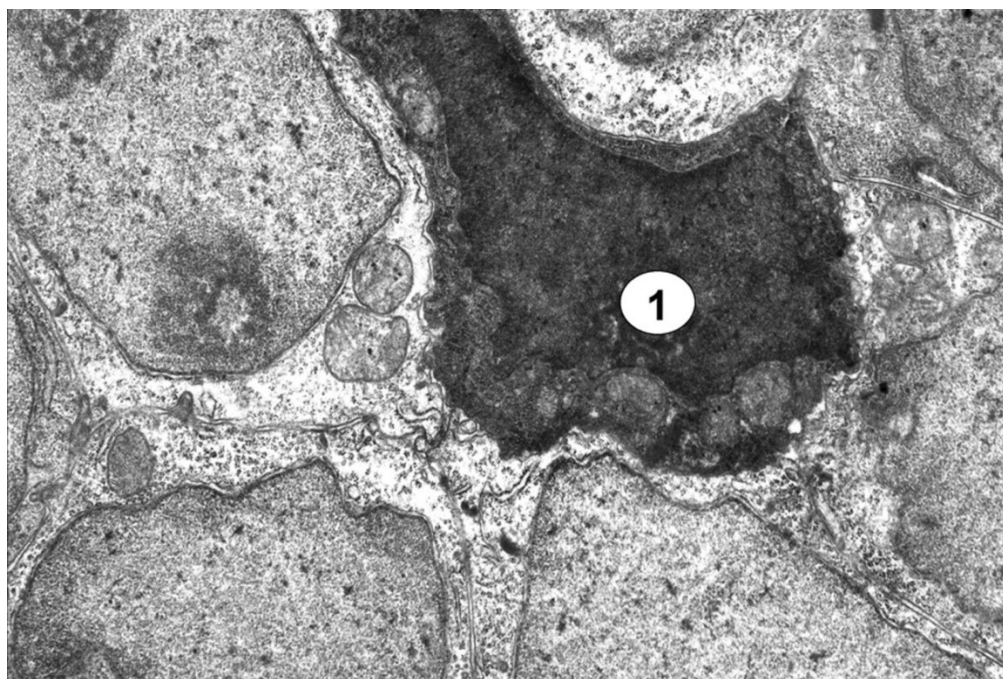


Рис. 4.27. Апоптоз епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – ядро апоптозного епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

Зміни форми кишкових ворсинок відбуваються на тлі структурних проявів поглиблення апоптозу епітеліоцитів (Рис. 4.27; Рис. 4.28; Рис. 4.29; Рис. 4.30; Рис. 4.31). Типовими у випадку апоптозу епітеліоцитів є зміни ядра з характерною суперконденсацією хроматину, яке поділяється перетинками на окремі фрагменти (Рис. 4.28).

Апоптозні епітеліоцити втрачають контакти з базальною мембраною і спеціалізовані щільні міжклітинні контакти, а також характерні для міжепітеліальних контактів інтердигітації латеральних відростків, які втягуються, за рахунок чого апоптозні епітеліоцити набувають форму, що наближується до кулястої або веретеноподібної. Такі апоптозні епітеліоцити витискуються між епітеліоцитами звичайної будови у напрямку до просвіту кишкових крипт, або інтестинального просвіту.

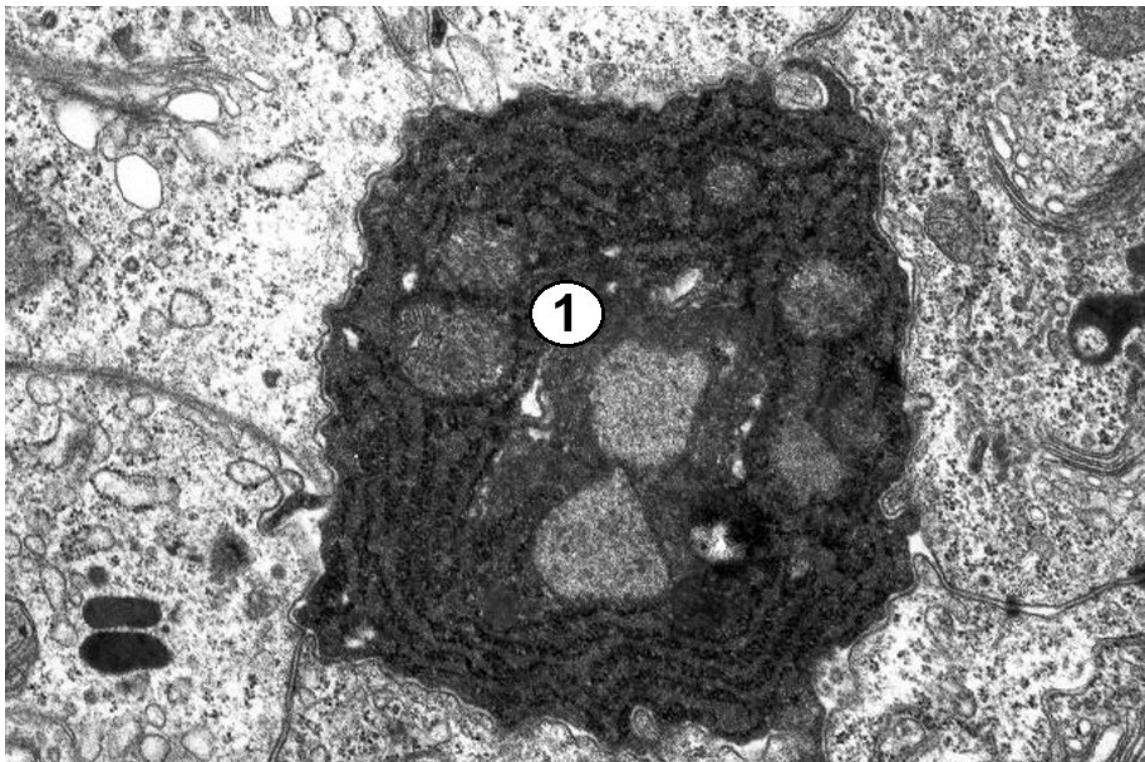


Рис. 4.28. Апоптоз епітеліоцитів в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – ядро апоптозного епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

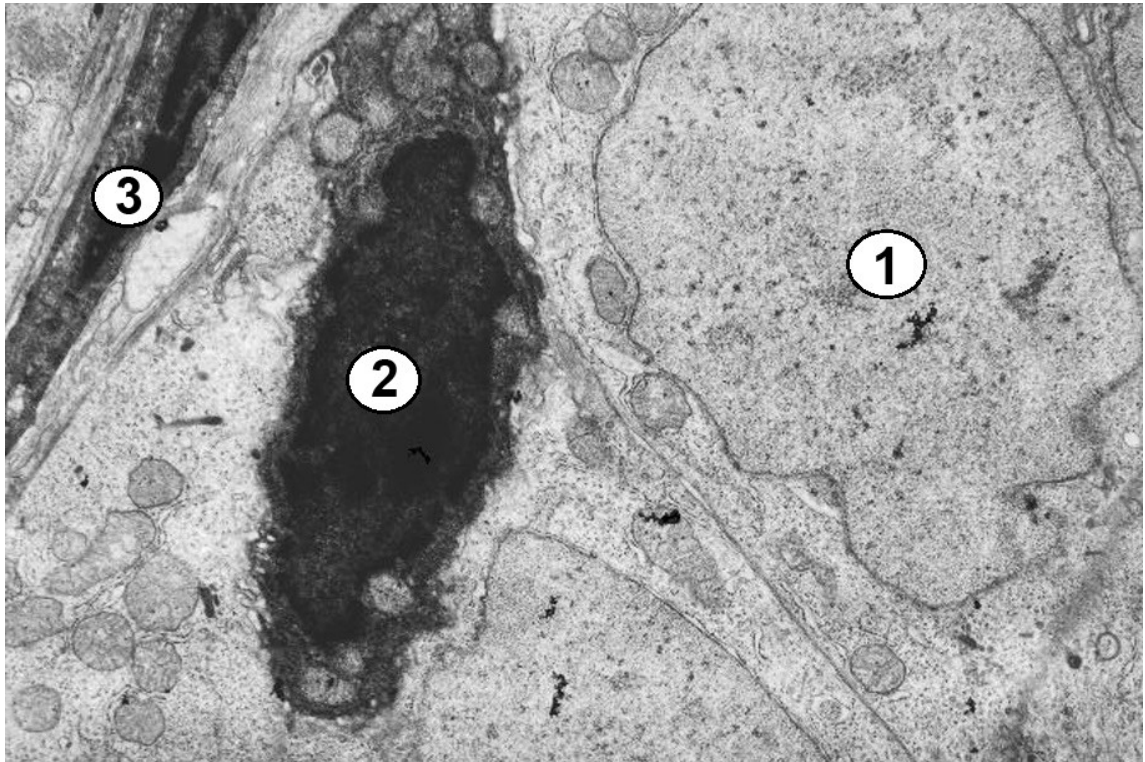


Рис. 4.29. Апоптоз клітин в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – ядро епітеліоцита звичайної будови; 2 – ядро апоптозного епітеліоцита; 3 – ядро апоптозного фібробласта. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

За даними електронної мікроскопії цитоплазма частини епітеліоцитів з щітковою облямівкою була вакуолізована, мітохондрії набрякли, більшість мітохондріальних крист зруйнована; в інших епітеліоцитах з щітковою облямівкою цитоплазма виглядала гіперхромною, а їхні ядра містили конденсований гіперхромний хроматин.

Відмічені появи гетероморфності мітохондрій; серед великих та середніх за розміром мітохондрій типової будови локалізовані менші за розміром гіперхромні мітохондрії, які іноді щільно контактують з великими мітохондріями, що мають характерні пальцеподібні вип'ячування («бруньки росту?»).

Прилегла до епітеліоцитів базальна мембрана (Рис. 4.30; Рис. 4.31) має мінливу структурну організацію, проявом якої є чергування різних за

протяжністю зон її розпушення і просвітлення із зонами її потовщення та ущільнення.

В багатьох епітеліоцитах мікроросинки щіткової облямівки були коротшими, втрачали упорядковану орієнтацією, а деякі з них руйнувалися і накопичувалися у складі клітинного детриту у інтестинальному просвіті.

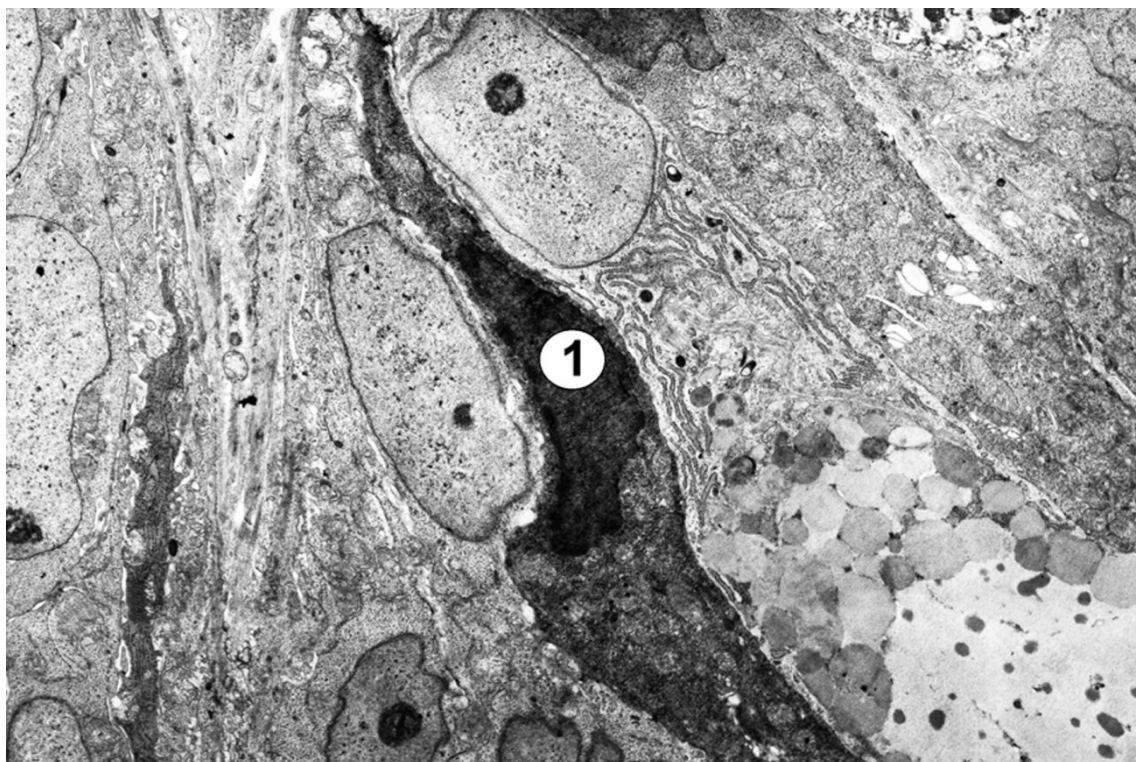


Рис. 4.30. Руйнація секреторних гранул із вмістом різного ступеня електронної щільності (зрілості?) в апікальному відділі келихоподібної клітини та апоптоз епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – ядро апоптозного епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

В цих епітеліоцитах цистерни комплексу Гольджі та каналці гранулярної ендоплазматичної сітки були частково фрагментованими, втрачали прикріплення до їхньої мембрани рибосоми та формували різні за розміром вакуолі.

У келихоподібних клітинах слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів другої експериментальної групи через двадцять одну добу від початку



експерименту відмічено руйнація гранул із вмістом різного ступеня електронної щільності.

У цьому випадку апікальний відділ цитоплазми виглядає повністю зруйнованим, а в прилеглих до ядра ділянках електроннопрозорої цитоплазми локалізуються збережені органели з ознаками високої синтетичної активності. (Рис. 4.30).

Окремо слід зазначити своєрідність апоптозу келихоподібних клітин (Рис. 4.31), який поєднується із збереженням структури секреторних гранул із вмістом помірної електронної щільності в структурно цілісному апікальному відділі клітини. У такій апоптозній келихоподібній клітині затриманий від вивільнення секреторний матеріал займає майже увесь об'єм цитоплазми, а решта вільної цитоплазми має вигляд вузької електроннощільної облямівки, в якій виявлення органел є практично неможливим.

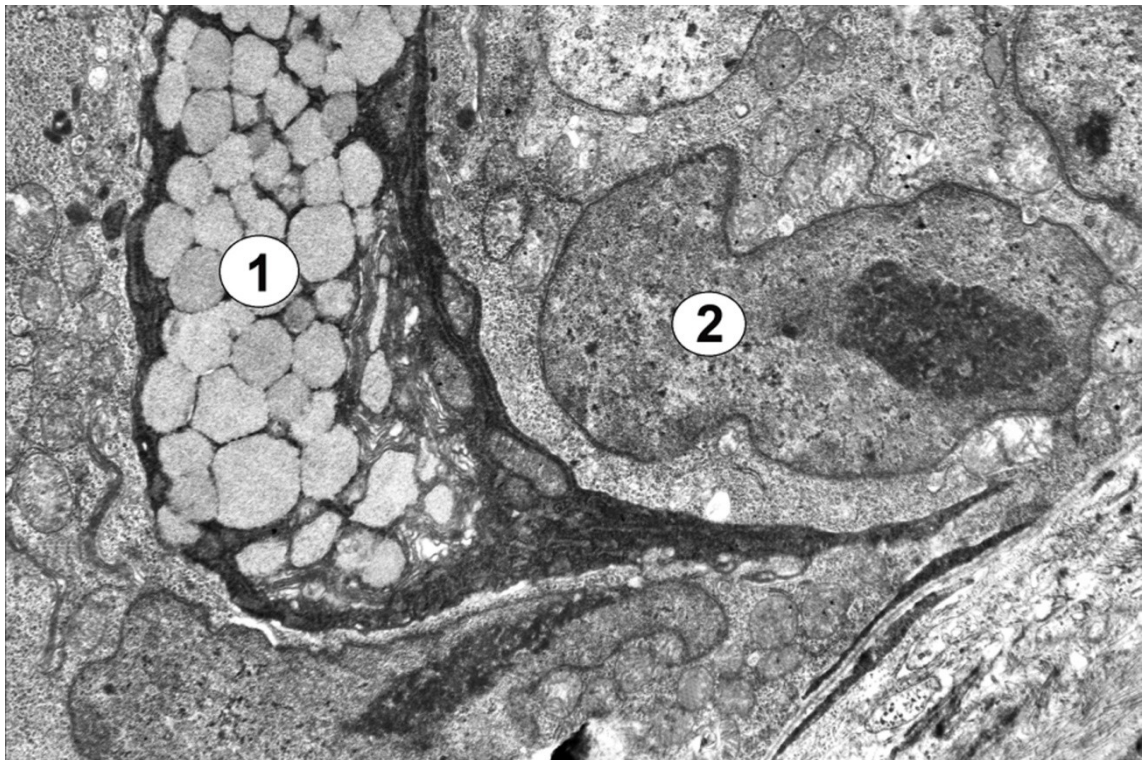


Рис. 4.31. Збереження структури секреторних гранул із вмістом помірної електронної щільності в апікальному відділі апоптозної келихоподібної клітини в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – секреторна гранула; 2 – ядро епітеліоцита звичайної будови. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

У переважній частині келихоподібних клітин, однак засвідчений лізис мембран секреторних гранул, вміст яких вивільнюється через дефекти плазмолемі клітини назовні. Ці зміни поєднуються з деструкцією мембран каналців гранулярної ендоплазматичної сітки і мітохондрій.

Прилегла до епітеліоцитів базальна мембрана візуально є потовщеною і зберігає свою цілісність, архітектонічно необхідну для подальшого відновлення епітеліального моношару як компоненту інтестинального епітеліального бар'єру.

На статичних морфологічних препаратах важко дослідити послідовність і підпорядкованість змін гранулярної ендоплазматичної сітки, але на препаратах можна бачити:

1) розширення і розгалуження каналців гранулярної ендоплазматичної сітки переповнених електроннощільним вмістом (що свідчить про адаптивне напруження функціонування гранулярної ендоплазматичної сітки, яке спрямоване на продукцію білків);

2) втрату частини рибосом прикріплених до мембран каналців гранулярної ендоплазматичної сітки (що може свідчити про зниження рівня продукції білків, у тому числі структуроутворюючих білків щільних контактів);

3) сегментацію каналців гранулярної ендоплазматичної сітки на вакуолі (що свідчить про дизадаптацію та про можливу продукцію спотвореною органелою невірно зібраних та модифікованих білків);

4) поява автофагосом і автофаголізосом (що може свідчити про суттєві зміни внутрішньоклітинного білкового гомеостазу і спробу їх зневілювати шляхом знищення спотвореного матеріалу в автофаголізосомах).

Результати проведених досліджень показали, що в основі пошкоджень епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки лежать деструктивні зміни, які у фінальній фазі закінчуються клітинною загибеллю, переважно, шляхом апоптозу.

Виявлені за умов здійсненого експерименту структурні зміни епітеліоцитів, призводять до порушення структурної цілісності інтестінального епітеліального бар'єра і, таким чином у тварин другої експериментальної групи ушкоджений епітелій слизової оболонки дванадцятипалої кишки критично послаблює адекватність своєї функції інтерфейсу між слизовою оболонкою і середовищем інтестінального просвіту.

Одержані нами дані свідчать, що структурні зміни слизової оболонки щурів другої експериментальної групи за розгортанням проявів компенсації та декомпенсації загалом відповідають характеру компенсаторно-приспосувальних процесів, встановлених нами при дослідженні щурів першої експериментальної групи. Структурні процеси перебігу відбуваються стадійно і послідовно проходять: стадію перенавантаження (з фазою функціональної напруги); стадію відносної стабілізації гіперфункції; стадію поступового виснаження і розвитку декомпенсації.

Визначенні стадії допомагають порівнювати ступінь виразності структурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів першої експериментальної та другої експериментальних груп.

Для слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів другої експериментальної групи структурним виразом стадії перенавантаження є не деструкція плазмолем, а характерна гіперплазія органел, які відповідають за енергетичний та пластичний обміни в клітинах.

Це розширення просвіту та збільшення кількості каналців гранулярної ендоплазматичної сітки (а також збільшення кількості прикріплених до стінки каналців рибосом); збільшення кількості рибосом і полісом; гіпертрофія комплексу Гольджі; збільшення кількості мітохондрій (за рахунок утворення «бруньок росту» великих розгалужених мітохондрій та утворення нових дрібних мітохондрій, які відбруньковуються від великих розгалужених мітохондрій).

Поява таких структурних ознак, на нашу думку, має не тільки компенсаторний характер, але й свідчить про прискорення швидкості

виснаження клітини, яке вмикає внутрішньоклітинні механізми, що призводять до клітинної загибелі (надлишкової автофагії та апоптозу).

Одержані нами ультраструктурні дані щодо асоціації автофагосом з розгалуженими каналцями гранулярної ендоплазматичної сітки (частина з яких не рівномірно переповнена електроннощільним вмістом, а інша частина має рівномірно вузький просвіт і невелику кількість прикріплених рибосом) відповідає концепції стресу ендоплазматичної сітки (ER-стресу).

**Основні матеріали цього розділу дисертації наведені у наступних публікаціях:**

1. Tymoshenko, I.O., Cherkasov, E.V., Shepitko, K.V. (2020). Morphometric assessment of structural changes in the duodenal wall of rats caused by skin burn injury under conditions of experimental diabetes . *World of Medicine and Biology*, 3(73), 215-219. doi: 10.26724/2079-8334-2020-3-73-215-219.

2. Tymoshenko, I.O. (2019). Structural changes of the intestinal epithelial barrier of the duodenum of rats in burn injury of skin under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Reports of Morphology*, 25(2), 28-35. [https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(2\)-03](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(2)-03).

3. Тимошенко, І. (2019). Структурні особливості слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів при опіковій травмі шкіри за умов експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, (1(109)), 35-47. [https://doi.org/10.32345/USMYJ.1\(109\).2019.35-47](https://doi.org/10.32345/USMYJ.1(109).2019.35-47).

4. Cherkasov, V., & Tymoshenko, I. (2019). Structural changes of duodenal mucosa enterocytes of rats in burn skin injury under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Reports of Morphology*, 25(1), 55-61. [https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(1\)-08](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(1)-08).

## РОЗДІЛ 5

### ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ШКІРИ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Результати проведених нами гістологічного та електронномікроскопічного досліджень (а також дані аналізу морфометрії) структур стінки дванадцятипалої кишки щурів за умов норми (інтактні тварини) та стінки дванадцятипалої кишки щурів з експериментальним опіком шкіри асоційованим з експериментальним стрептозотоциніндукованим діабетом (третья група тварин) дозволили прийти до висновку, що у всіх досліджених випадках (через сім діб після початку есперименту, через чотирнадцять діб після початку есперименту, через двадцять одну після початку есперименту) у тварин третьої експериментальної групи суттєвих відхилень в структурі серозної та м'язової оболонки дванадцятипалої кишки у порівнянні з нормою не виявлено. Натомість, виявлені відповідні структурні зміни слизової оболонки дваданцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи, опис яких представлений у цьому розділі.

Здійснений морфометричний аналіз свідчить про відповідність описаної вище якісної картини змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів за умов здійсненого експерименту. Зокрема, за умов виявленої збереженості певної структурної організації м'язової і серозної оболонки засвідченої показниками відносної сталості товщини м'язової та серозної оболонки виявлені кількісні ознаки перебудови слизової оболонки свідченням чого є статистично достовірні зміни товщини ворсинок, ширини крипт, товщини підслизової основи, висоти епітеліоцитів в середній частині ворсинок та мітотичного індексу стовпчастого епітеліоциту (Табл. 4). Ці показники статистично достовірно засвідчують структурні зміни у порівнянні з такими, що об'єктивізовані морфометричними показниками структур стінки дванадцятипалої кишки інтактних тварин.

Таблиця 4

Морфометричні параметри структурних компонентів дванадцятипалої кишки інтактних тварин та тварин третьої експериментальної групи у різні терміни спостереження [208]

Параметр ( $M \pm m$ )	Інтактні тварини	Тварини з опіковою травмою шкіри+діабет		
		7 доба	14 доба	21 доба
Товщина слизової оболонки, мкм	762,51 ± 12,35	772,68 ± 17,48	780,17 ± 12,85	782,64 ± 14,12
Висота ворсинок, мкм	581,58 ± 14,23	592,01 ± 15,61	600,86 ± 14,08	602,54 ± 19,05
Товщина ворсинок, мкм	69,30 ± 1,97	78,13 ± 1,93**	79,63 ± 2,19***	81,08 ± 1,79***
Глибина крипт, мкм	171,26 ± 7,40	165,53 ± 3,37	163,75 ± 5,15	163,02 ± 3,02
Ширина крипт, мкм	38,87 ± 1,78	41,76 ± 1,29	42,50 ± 1,49	44,04 ± 1,56*
Товщина м'язової пластинки слизової оболонки, мкм	15,05 ± 0,20	15,11 ± 0,25	15,25 ± 0,40	15,27 ± 0,26
Товщина підслизової основи, мкм	185,45 ± 6,08	211,88 ± 8,41*	224,18 ± 11,79**	235,28 ± 8,60***
Товщина м'язової оболонки, мкм	82,61 ± 2,57	80,77 ± 2,20	83,67 ± 2,14	83,72 ± 1,35
Товщина серозної оболонки, мкм	7,36 ± 0,12	7,47 ± 0,17	7,44 ± 0,24	7,36 ± 0,19
Висота епітеліоцитів в середній частині ворсинок, мкм	17,21 ± 0,21	18,22 ± 0,33*	18,35 ± 0,27**	18,37 ± 0,23***
Мітотичний індекс стовпчастих епітеліоцитів, %	3,367 ± 0,147	2,400 ± 0,123**	2,133 ± 0,104***	2,067 ± 0,135***

Примітки: Зірочкою позначено величини, які статистично достовірно відрізняються від показників інтактних тварин (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

У щурів третьої експериментальної групи через 21 добу експерименту ( $237,03 \pm 10,82$  мкм з достовірністю від показника другої експериментальної

групи  $p < 0,005$ ). Але все ж таки найбільше виразною є динаміка зміни товщини ворсинок та мітотичного індексу стовпчастих епітеліоцитів, зокрема мітотичний індекс стовпчастих епітеліоцитів щурів третьої експериментальної групи через 21 добу експерименту дорівнює  $1,700 \pm 0,085$  %, що статистично достовірно менше ( $p < 0,001$ ), ідентичного показника інтактних щурів ( $3,367 \pm 0,147\%$ ). Така динаміка змін мітотичного індексу свідчить про пригнічення мітотичної активності ділення клітин, що може призвести до порушення умов реалізації загальних компенсаторних можливостей суцільного інтестінального епітеліального шару слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів і порушення захисної спроможності інтестінального бар'єру [208].

При гістологічному дослідженні слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи через сім діб від початку експерименту виявили ознаки деформації та дисконкомплексації ворсинок, що призводило до їхнього загального поліморфізму. Ці процеси перебудови кишкових ворсинок відбувалися на тлі набряку пухкої сполучної тканини власної пластинки та їхньої лімфоцитарно-лейкоцитарної інфільтрації (Рис.5.1). На верхівках ворсинок розповсюдженим явищем є десквамація епітеліоцитів з щіточковою облямівкою, а поновлення епітеліального моношару супроводжується сплюсненням верхівок деяких ворсинок.

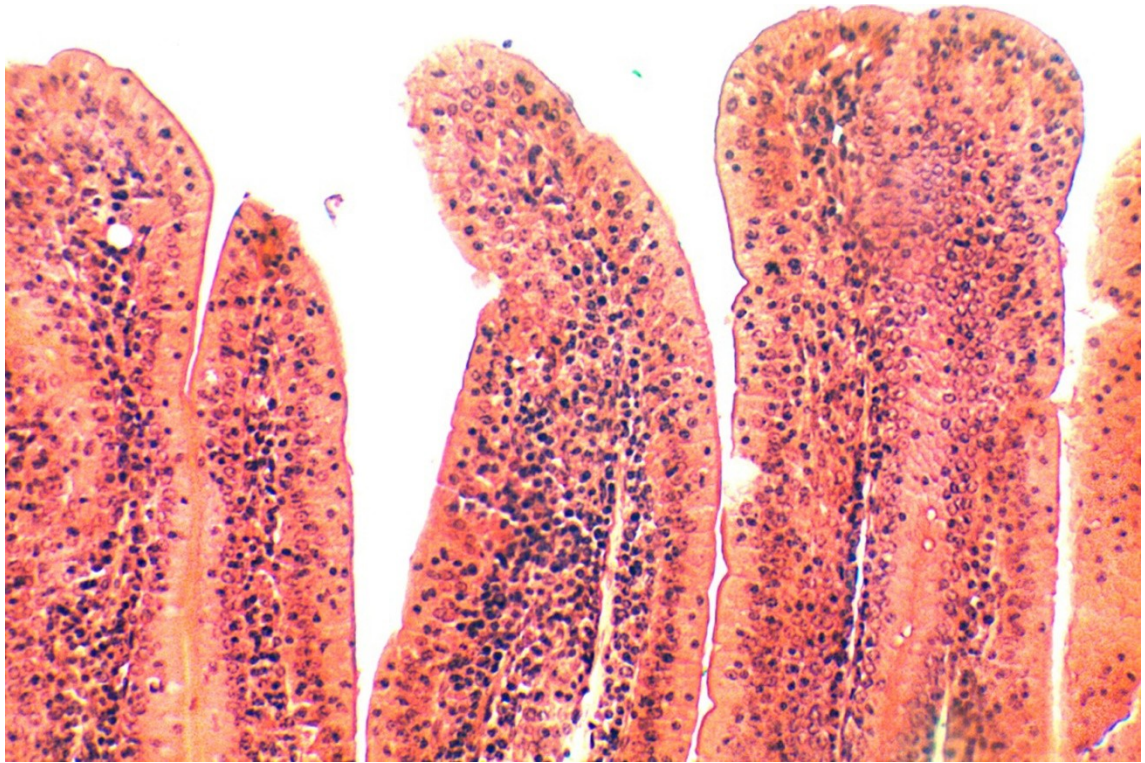


Рис. 5.1. Лейкоцитарна та лімфоцитарна інфільтрація набряклих ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 100

Саме тому, верхівки ворсинок стають поліморфними і поруч з конічними верхівками можна бачити пальцеподібні верхівки і платоподібні верхівки.

У зонах прилеглих до кишкових крипт дванадцятипалої кишки локалізовані лімфо-лейкоцитарні інфільтрати доволі значних розмірів (Рис.5.2).



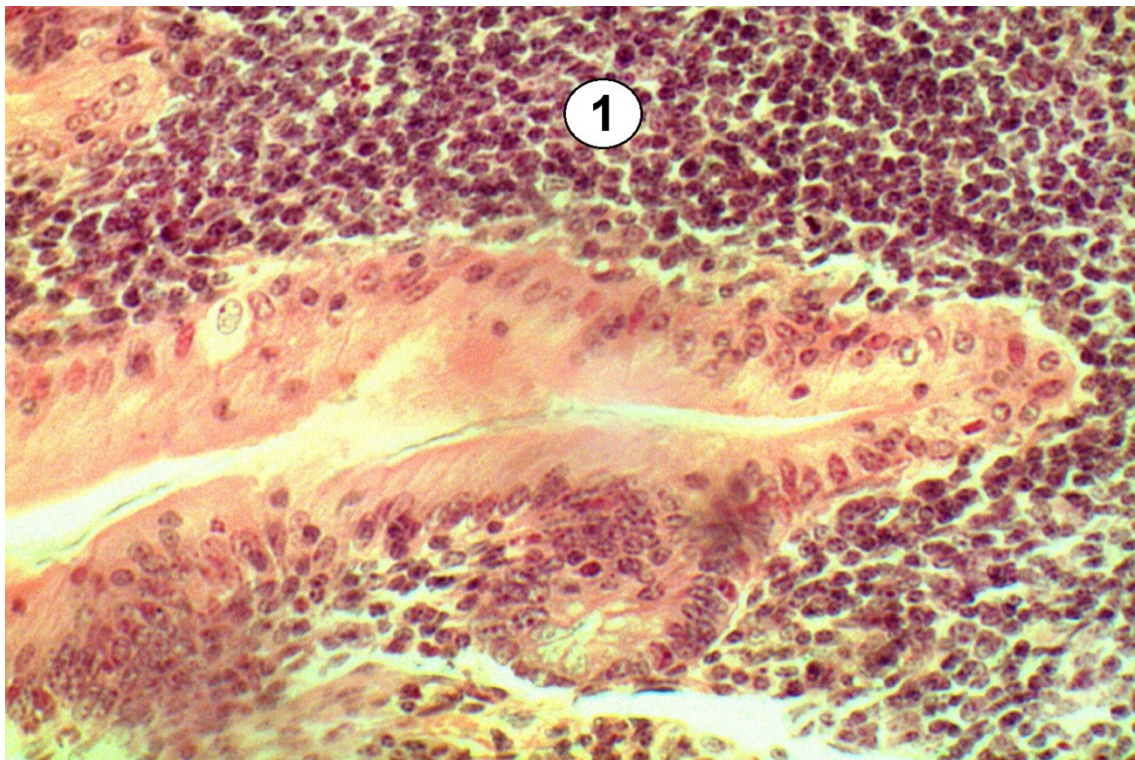


Рис. 5.2. Лімфо-лейкоцитарний інфільтрат (1) у зоні прилеглий до кишкової крипти дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 200.

Результати електронномікроскопічного дослідження підтверджують дані світлової мікроскопії і свідчать, що у тварин третьої експериментальної групи через сім діб після початку експерименту в зонах лімфо-лейкоцитарної інфільтрації в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки переважає різноманітний клітинний детрит (Рис.5.3; Рис. 5.4 – А; Рис. 5.4. – Б; Рис.5.5; Рис. 5.6).

Більшість артеріол в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи через сім діб після початку експерименту є спазмовані (Рис. 5.3), про це свідчить ультраструктурні прояви скорочення контрактильного апарату міоцитів, яке призводить до набуття цитоплазмою міоцитів полігональної форми, а ядер міоцитів – круглої форми. Ядра ендотеліоцитів артеріол випинають у звужений за рахунок скорочення міоцитів судинний просвіт ефективно зменшуючи його. Можна припустити, що ефективне спазмування

артеріол зменшує у даному випадку загрозу розвитку і поширенню геморагій за умов локальної руйнації стінки окремих кровоносних капілярів.

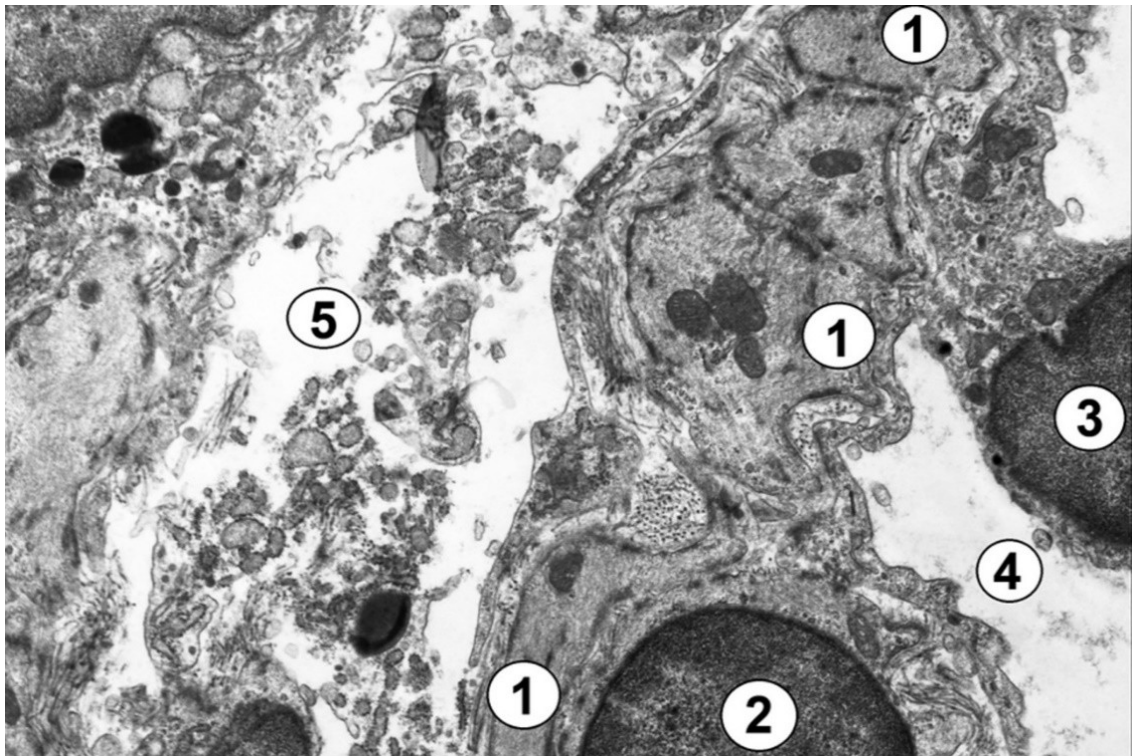


Рис. 5.3. Пухка сполучна тканина власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – цитоплазма міоцита стінки артеріоли; 2 – ядро міоцита стінки артеріоли; 3 – ядро ендотеліоцита стінки артеріоли; 4 – просвіт артеріоли; 5 – клітинний детрит. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

Клітинний детрит в зонах лімфо-лейкоцитарної інфільтрації містить різноманітні клітинні органели (розташовані як в ділянках цитоплазми зруйнованих клітин, так і поза ними). Найбільшу стійкість за цих умов виявляють судини гемомікроциркуляторного русла, але деякі з них підлягають деструкції. Свідченням цього є поява доволі протяжних «подвійних» фрагментів базальних мембран в ділянках клітинного детриту (Рис. 5.4. – А, Рис.5.4. – Б).

Логічно припустити, що одна базальна мембрана є залишком «оголеної» базальної мембрани кровоносного капіляра, а інша базальна мембрана є залишком «оголеної» базальної мембрани зруйнованих епітеліоцитів.

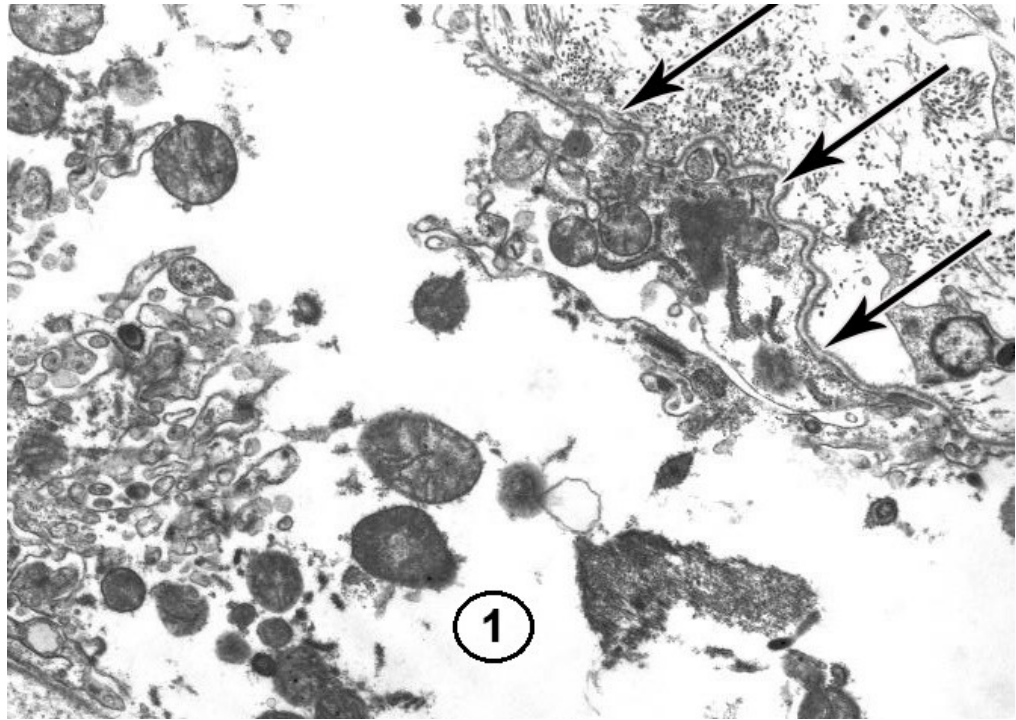


Рис. 5.4. – А. Клітинний детрит (1) та «подвійні» фрагменти базальних мембран (відмічені стрілочками) в ділянці лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Електронна мікрофотографія. Зб. 15 000.

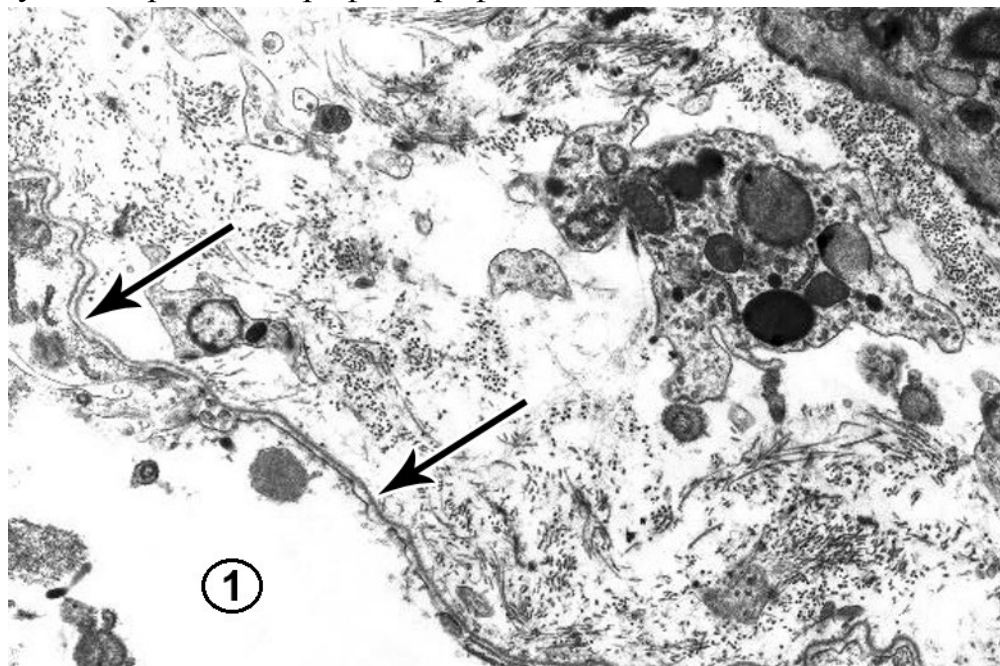


Рис. 5.4. – Б. Клітинний детрит (1) та “подвійні” фрагменти базальних мембран (відмічені стрілочками) в ділянці лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту (продовження ділянки ультратонкого зрізу з Рис. 5.4 - А) Електронна мікрофотографія. Зб. 15 000.

В пухкій сполучній тканині у складі клітинного детриту можна розрізнити окремі овальні структури, які мають вигляд утворів високої щільності з однією, або декількома порожнинами.

Такі утвори зареєстровані нами тільки в слизовій оболонці щурів третьої експериментальної групи і можуть бути ідентифіковані як мікробні тіла. Ці мікробні тіла виявлені нами як в епітелії так і в пухкій сполучній тканині слизової оболонки, де вони розташовуються групами (Рис. 5.5), або поодинокі (Рис. 5.6).

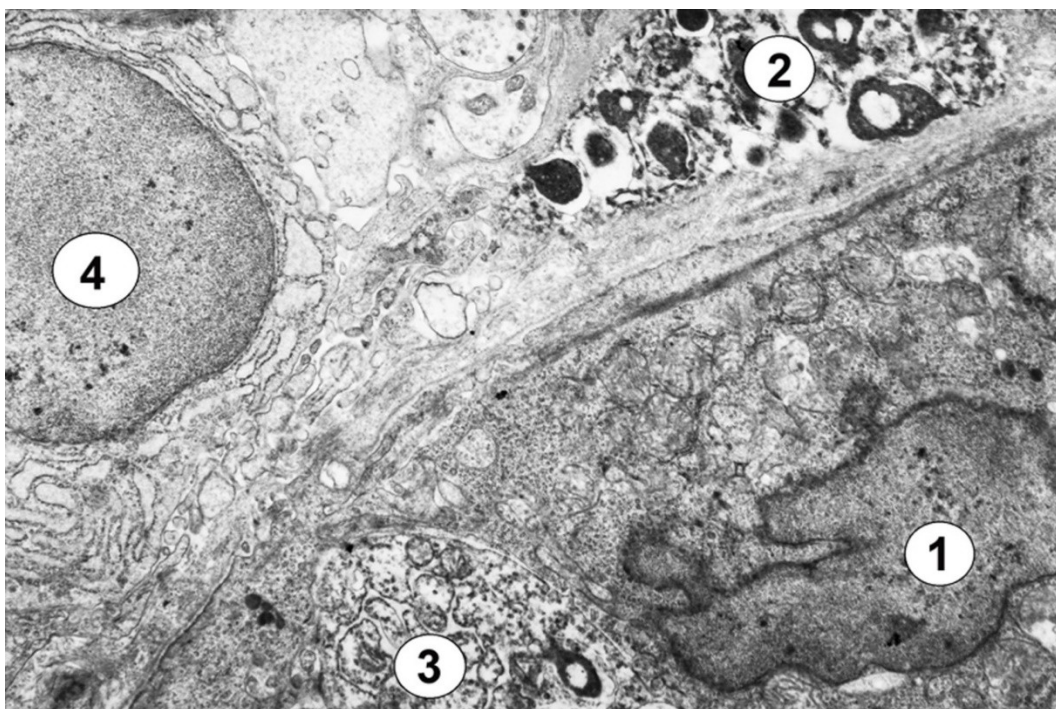


Рис. 5.5. В пухкій сполучній тканині слизової оболонки стінки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – цитоплазма епітеліоцита з початковими апоптозними змінами конфігурації (інвагінація) ядра; 2 – скупчення мікробних тіл; 3 – некроз епітеліоцита; 4 – ядро плазмоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

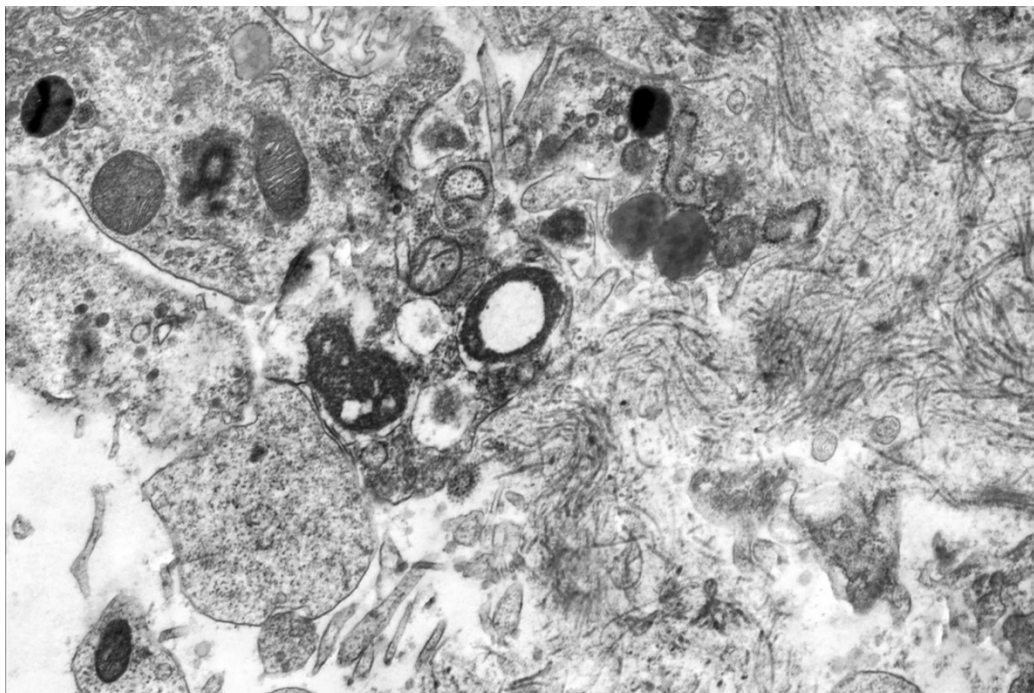


Рис. 5.6. Клітинний детрит, який містить мікробні тіла, фагосоми, лізосоми, різноманітні клітинні органели (розташовані як в ділянках цитоплазми, так і поза ними), в зоні лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в підслизовій основі стінки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

Крім клітинного детриту в ділянках лімфо-лейкоцитарних інфільтратів візуалізується структурно збережені лімфоцити, лейкоцити та плазмоцити. Ці клітини розташовані переважно периваскулярно навколо кровоносних та лімфатичних капілярів (Рис. 5.7; Рис. 5.8) стінка яких є структурно спотвореною і виразно відрізняється від такої в судинах м'язової (Рис. 5.9) та серозної (Рис.5.10) оболонки дванадцятипалої кишки.

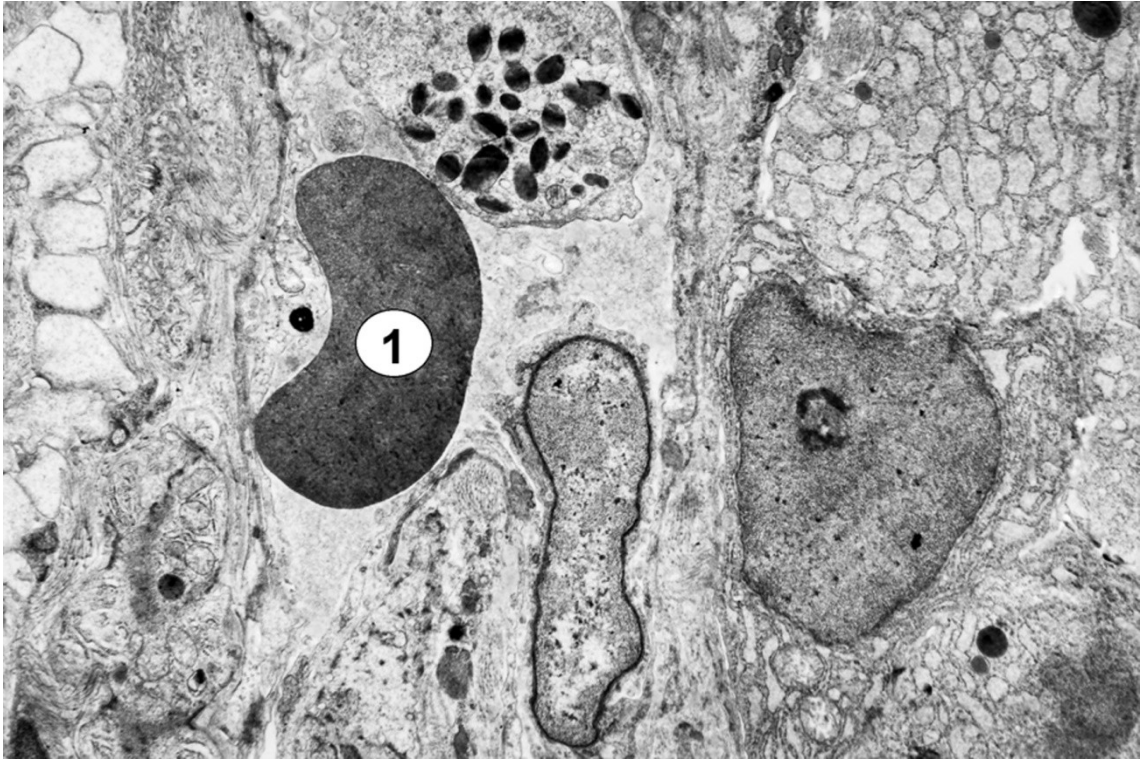


Рис. 5.7. Ділянка лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – еритроцит у просвіті кровоносного капіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

Слід зауважити, що у цей термін спостереження нами не виявлено структурних змін м'язової та серозної оболонок дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи (у той час, коли в слизовій оболонці до спотворених стінок мікросудин прилягають клітини різного ступеня некротичних перетворень). Такі некротичні перетворення клітин починаються бурхливою вакуолізацією цитоплазми (Рис. 5.7; Рис. 5.8), а закінчуються її повною руйнацією.

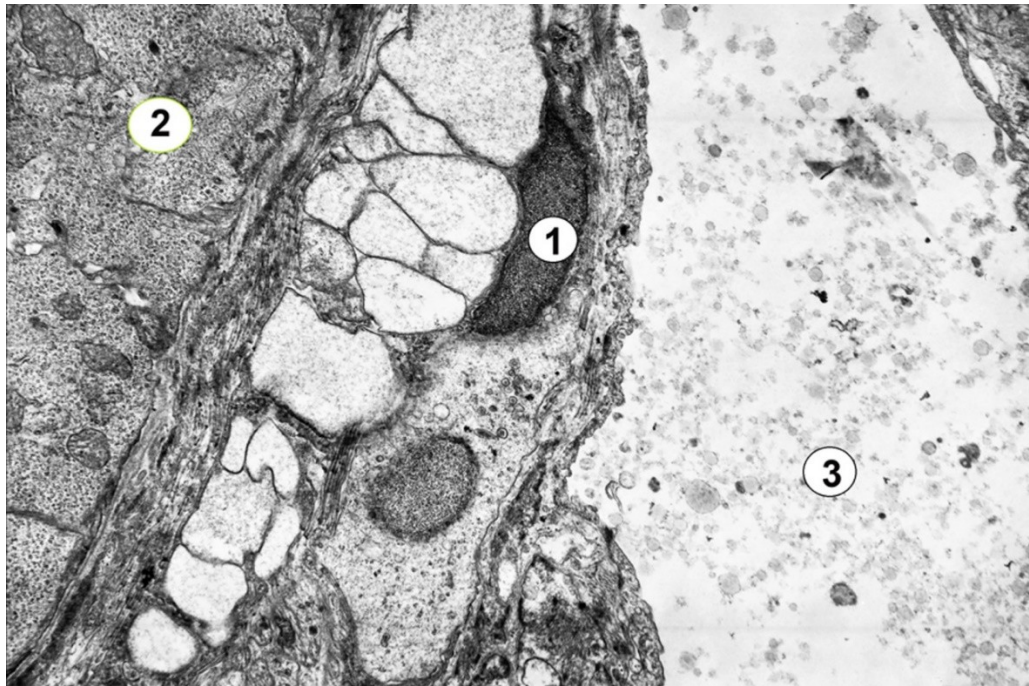


Рис. 5.8. Пухка сполучна тканина власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 днів після початку експерименту. 1 – ядро фібробласта із вакуалізованою цитоплазмою; 2 – цитоплазма епітеліоцита звичайної будови; 3 – просвіт розширеного лімфатичного капіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

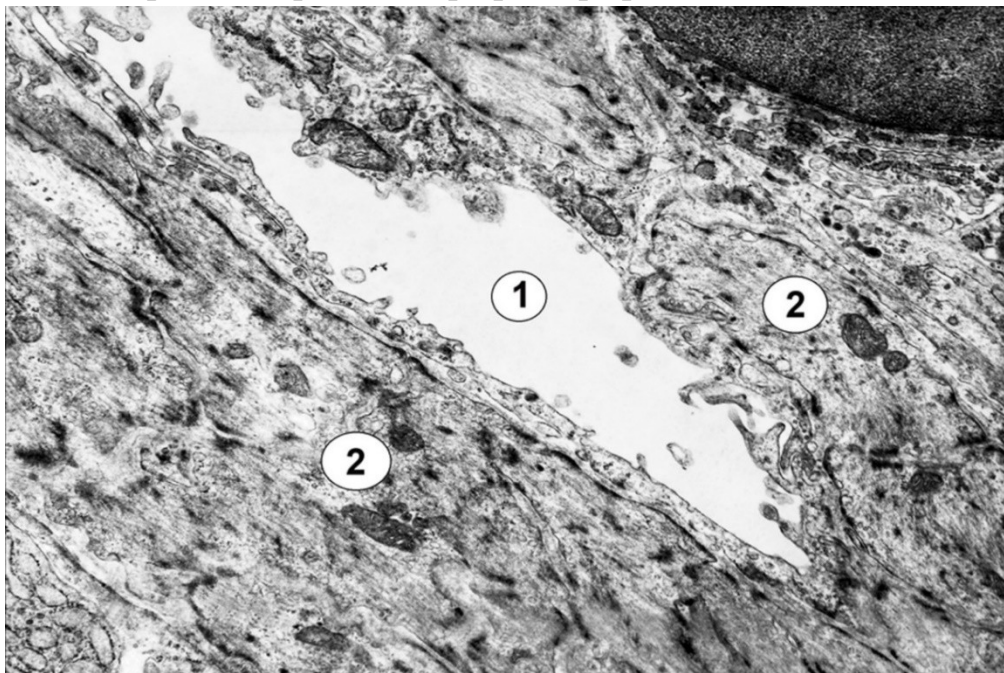


Рис. 5.9. М'язова оболонка дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 днів після початку експерименту. 1 – просвіт лімфатичного капіляра; 2 – міоцити м'язової оболонки. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

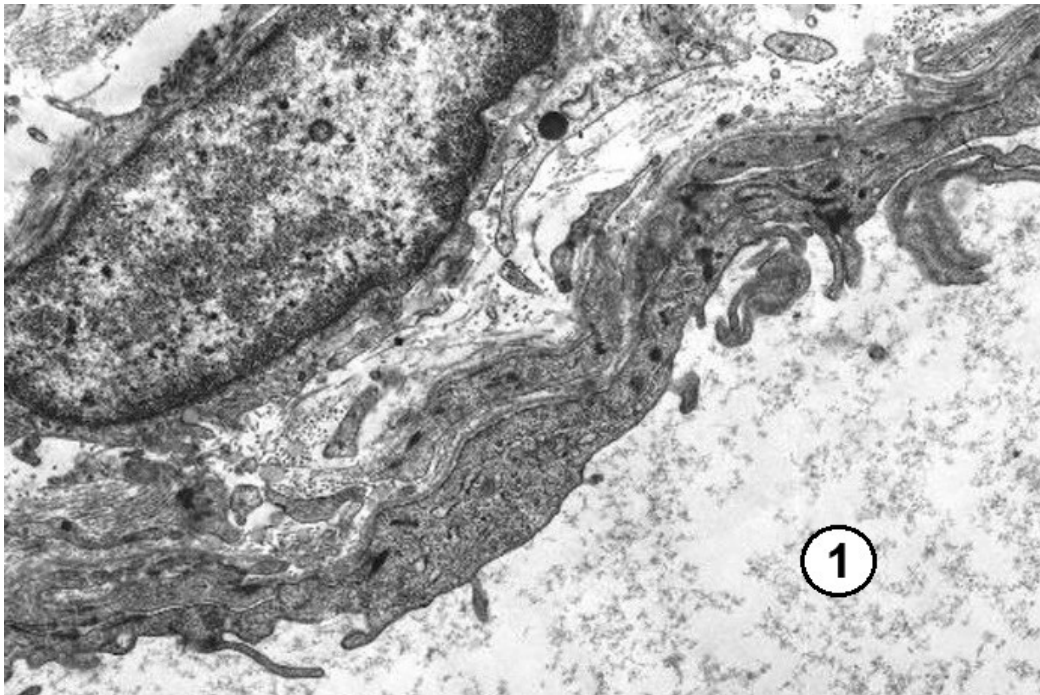


Рис. 5.10. Серозна оболонка дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – просвіт кровоносного капіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 15 000.

Нами виявлені мікробні тіла в цитоплазми епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи власної пластинки слизової оболонки (Рис. 5.11). Зважаючи на це, можна припустити, що в пухку сполучну тканину мікробні тіла потрапляють безпосередньо через дефекти епітеліального моношару слизової оболонки, або в результаті некротичних перетворень цитоплазми епітеліоцитів, що містить мікробні тіла.



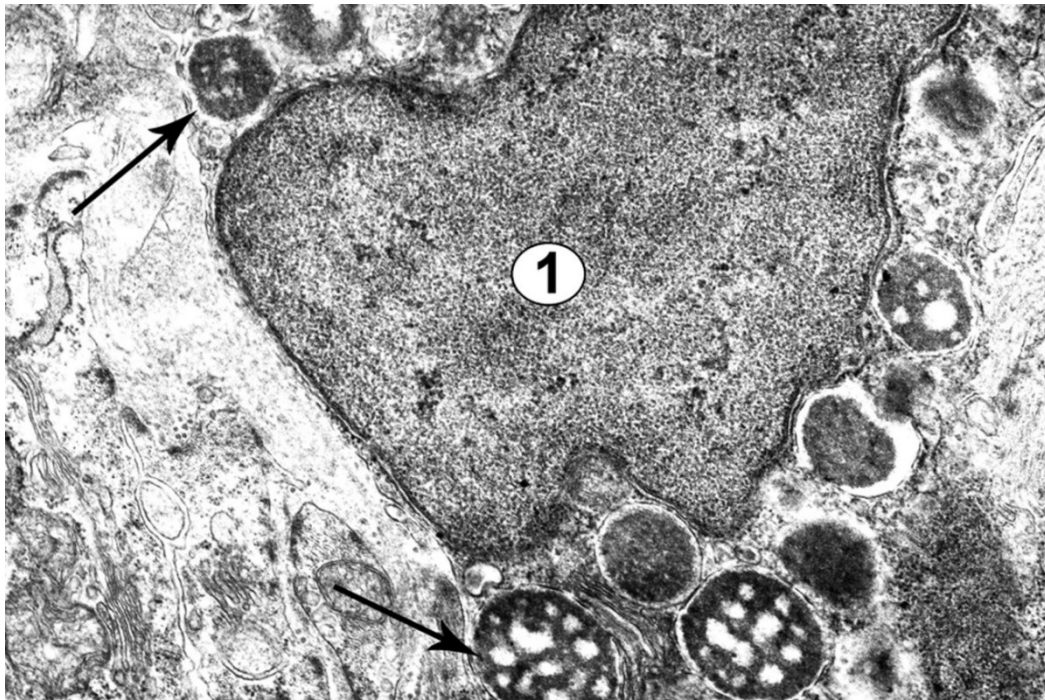


Рис. 5.11. Мікробні тіла (відмічені стрілочками) в цитоплазмі епітеліюцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – ядро епітеліюцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

Результати електронномікроскопічного дослідження підтверджують дані світлової мікроскопії і свідчать, що у тварин третьої експериментальної групи через сім діб після початку експерименту розповсюдженими є різноманітні зміни щіточковою облямівки епітеліюцитів збереженої структурної організації (зменшення кількості і розмірів мікрворсинок за рахунок апікального, або тотального мікроклазматозу, коли клазмосоми відокремлюються у просвіт крипт (Рис.5.12), або в інтестінальний просвіт).

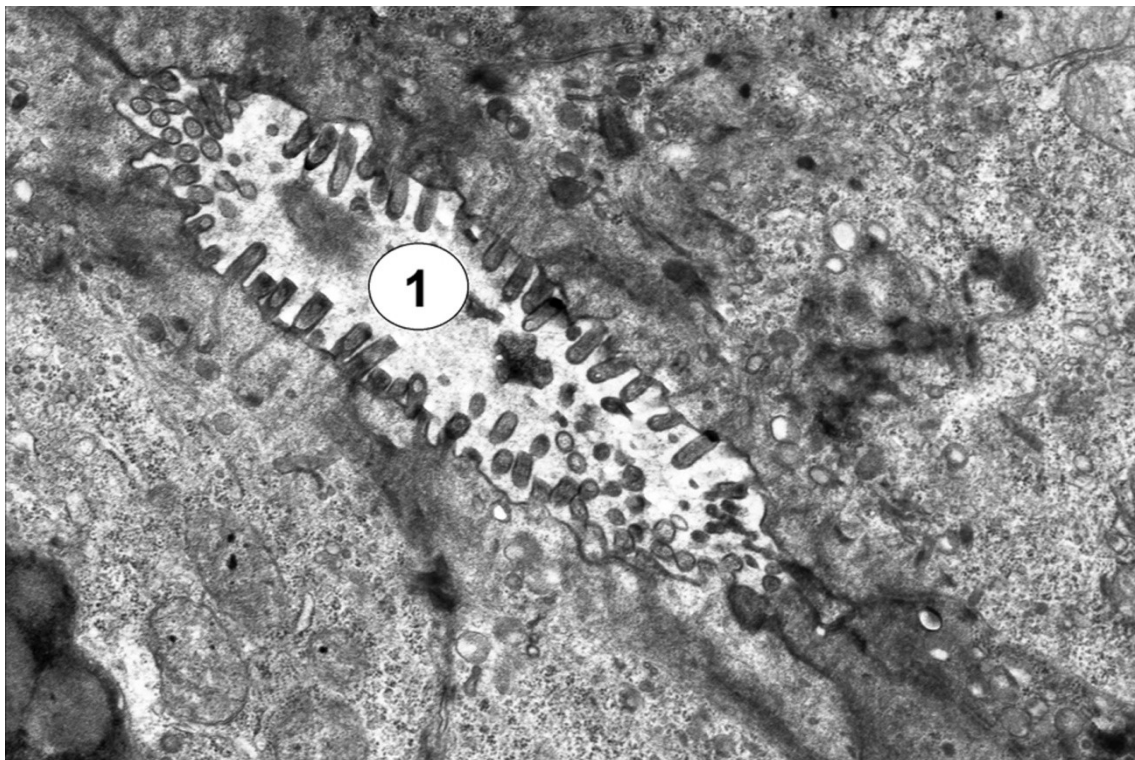


Рис. 5.12. Крипта слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – просвіт крипти. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

Це відбувається на тлі субтотального некрозу інших епітеліоцитів з щіточковою облямівкою, коли при збереженні частини цитоплазми з неушкодженою облямівкою, окрема ділянка клітини підлягає некротичній дегенерації, а утворений клітинний детрит з мікрворсинками облямівки потрапляє у інтестинальний простір.

Деструкції підлягає більшість келихоподібних клітин, які після накопичення секрету повністю руйнуються. Якщо це відбувається в криптах, то залишки келихоподібних клітин включаються до вмісту крипти (разом з рештками епітеліоцитів) деформують їхній просвіт (Рис. 5.13).

За даними світлової мікроскопії через чотирнадцять діб від початку експерименту у тварин третьої експериментальної групи типовими є прояви дисконфлексії, деформації та поліморфізму кишкових ворсинок слизової оболонки дванадцятипалої кишки (Рис. 5.14).

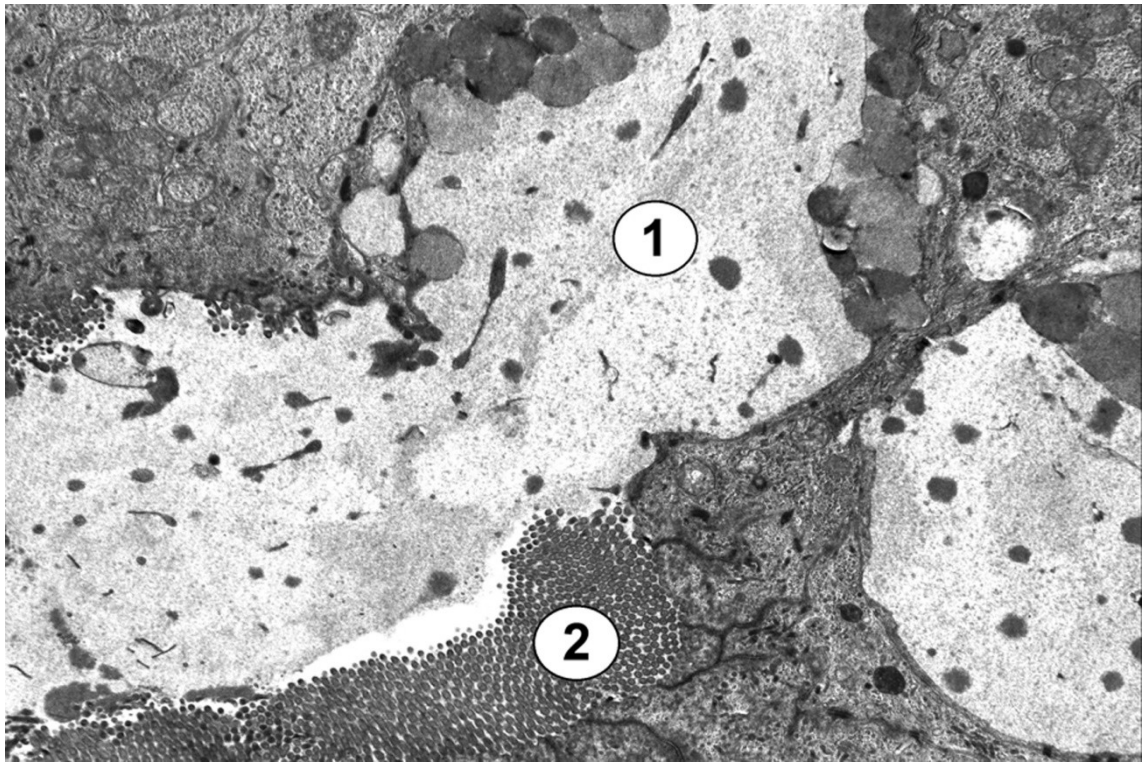


Рис. 5.13. Деформація просвіту крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 7 днів після початку експерименту. 1 – залишки келихоподібних клітин в просвіті крипти; 2 – рештки щіткової облямівки. Електронна мікрофотографія. Зб. 25 000.

Ворсинки втрачають типову листоподібну форму, часто набувають «покрученого» вигляду, з'являються ниткоподібні ворсинки, що оточені групами десквамованих епітеліоцитів і клітинним детритом. Доволі чисельними є ділянки десквамації епітеліоцитів з щітковою облямівкою (за рахунок чого моношар епітеліоцитів на ворсинках втрачав необхідну суцільність).

Особливо типовим це явище було характерним для розгалужених кишкових ворсинок і втрачало свою типовість для вкорочених кишкових ворсинок. Епітеліальний моношар покриття ворсинок виглядає сплющеним, ядра епітеліоцитів зміщені від базального полюса до центру клітини.

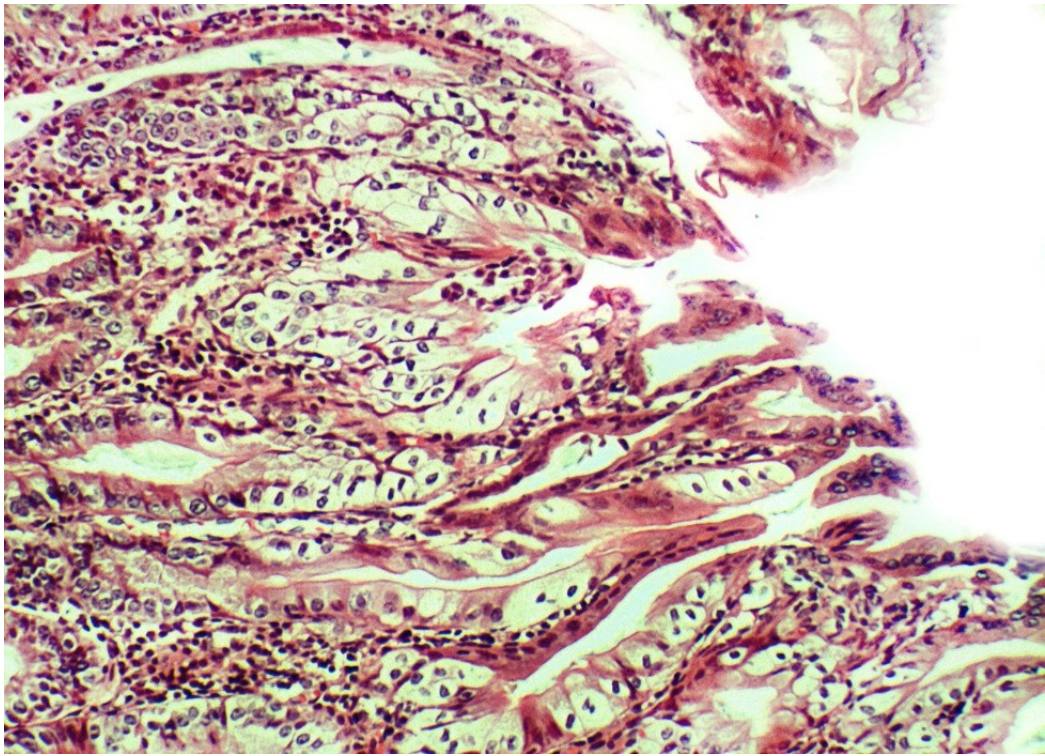


Рис. 5.14. Деформація та деструкція кишкових ворсинок дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб. 60.

Глибина кишкових крипт виглядає зменшеною, у порівнянні з нормою, їхні просвіти розширені та заповнені еозинофільним вмістом (Рис. 5.15). Чисельні келихоподібні клітини наповнені слизовим секретом.

Ближче до дна крипт у епітеліальному моношарі виявлені малодиференційовані клітини на різних стадіях мітозу. Цитоплазма епітеліоцитів з щіточковою облямівкою виглядає набряклого, базальна орієнтація ядер є порушеною.

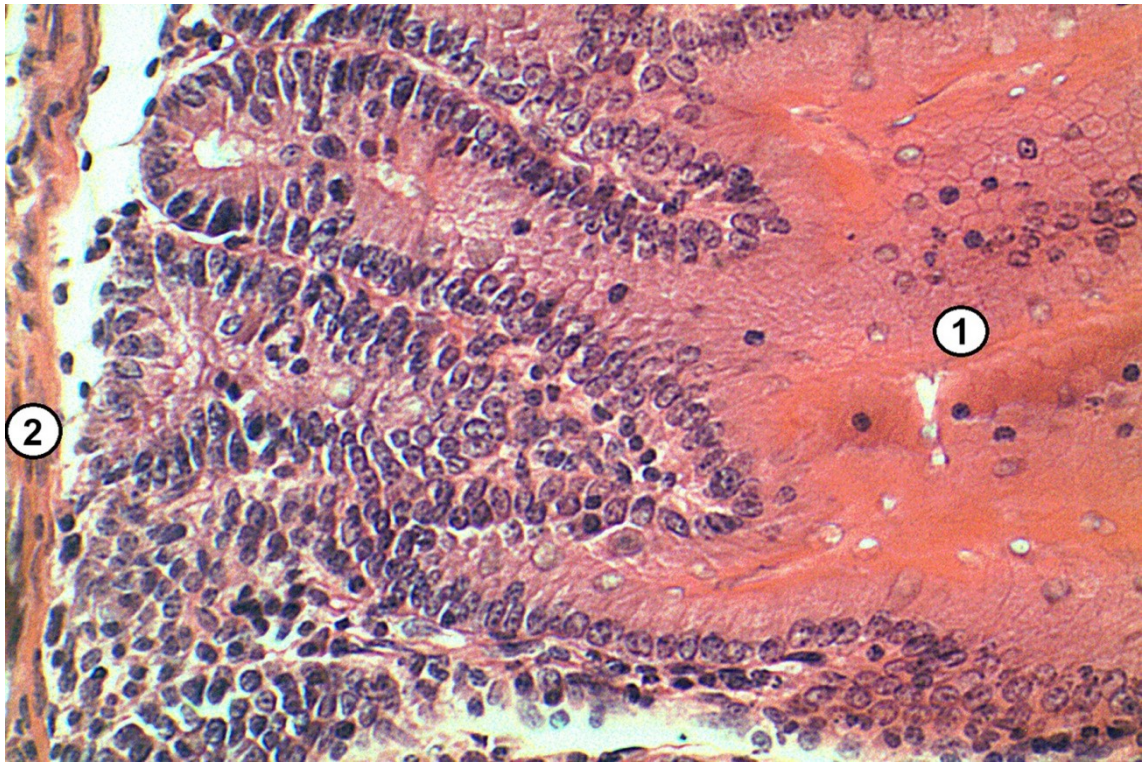


Рис. 5.15. Заповненні еозинофільним вмістом кишкові крипти слизової оболонки та інтестинальний просвіт (1) дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. 2 – м'язова пластинка слизової оболонки. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб. 200.

В сполучнотканинній стромі кишкових ворсинок серед фібробластів розміщувалися нейтрофільні лейкоцити, лімфоцити, плазмоцити, макрофаги, а також поодинокі тканинні базофіли і еозинофільні лейкоцити. В деяких зонах пухкої сполучної тканини власної пластинки слизової оболонки візуалізується округлої форми лімфо-лейкоцитарні інфільтрати, що прилягають до кишкових крипт (Рис. 5.16).

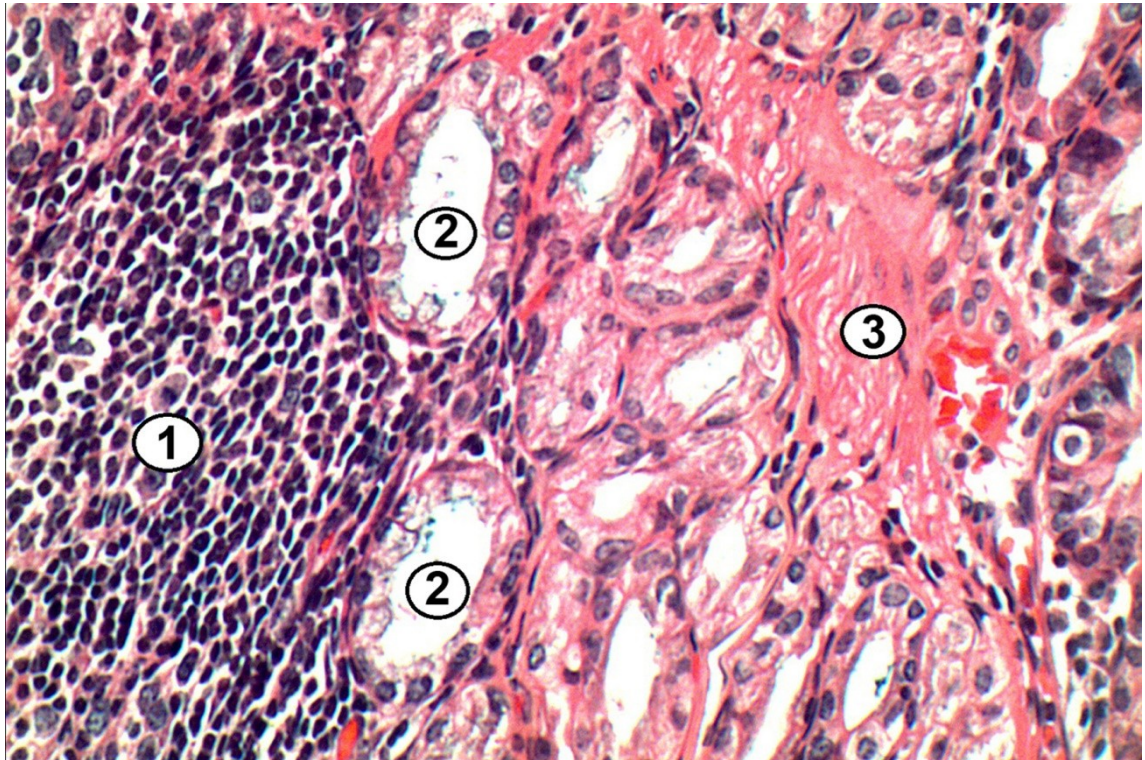


Рис. 5.16. Лімфо-лейкоцитарний інфільтрат (1) у підслизовій основі слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 днів після початку експерименту. 2 – просвіт кишкових крипти; 3 – м'язова пластинка слизової оболонки. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб. 200.

Електронномікроскопічне дослідження слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи через чотирнадцять днів після початку експерименту свідчить, що в зонах інфільтрації розташовані залишки некротично змінених епітеліоцитів, фібробластів, лейкоцитів і макрофагів (Рис.5.17; Рис.5.18; Рис.5.19; Рис.5.20), які розташовані поміж структурно збережених клітин сполучної тканини та структурно збережених лімфатичних та кровоносних (Рис. 5.18) капілярів.

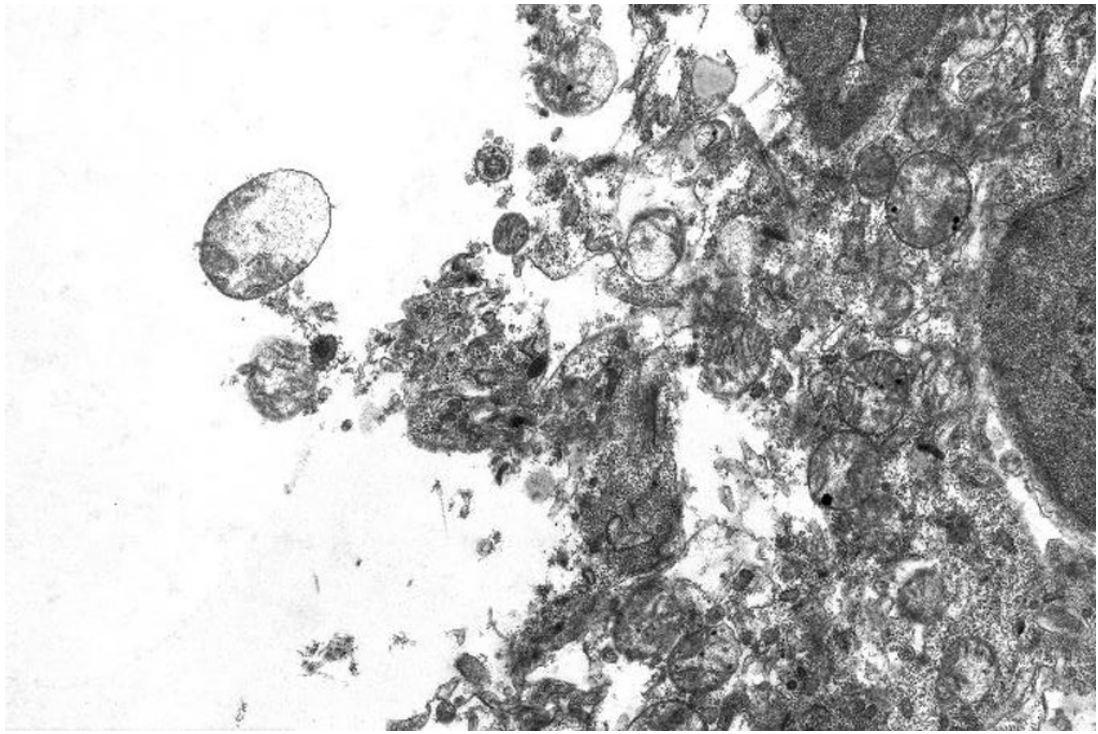


Рис. 5.17. Некроз епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Електронна мікрофотографія. Зб. 25 000.

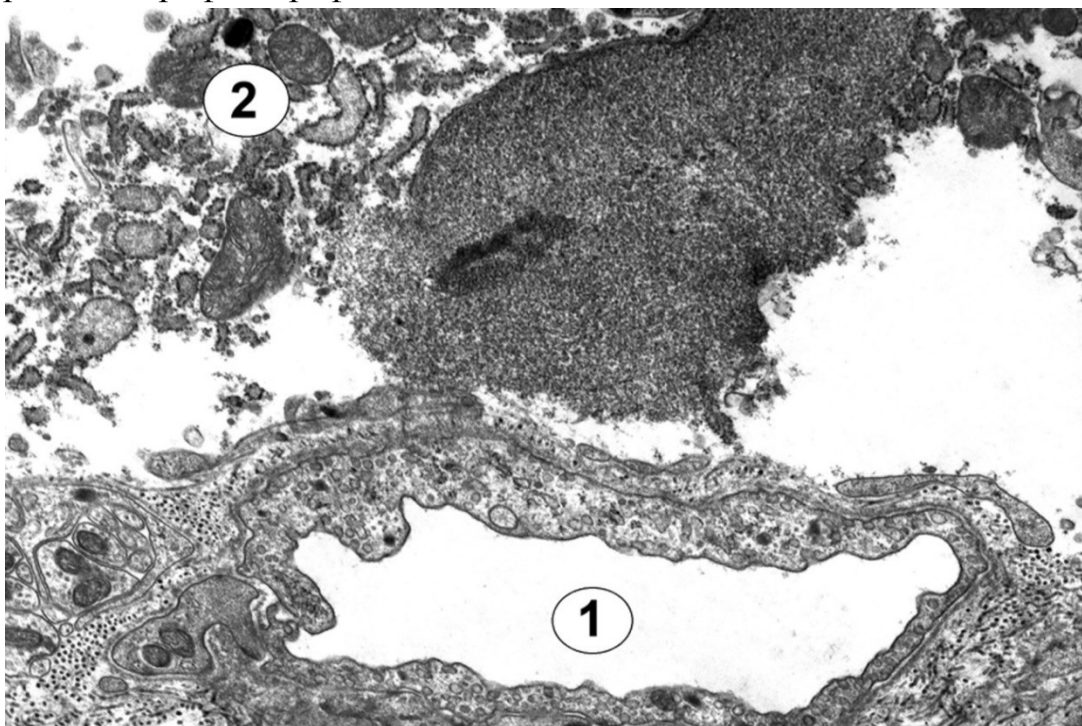


Рис. 5.18. Клітинний детрит у межах ділянки лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. 1 – просвіт кровоносного капіляру; 2 – клітинний детрит. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

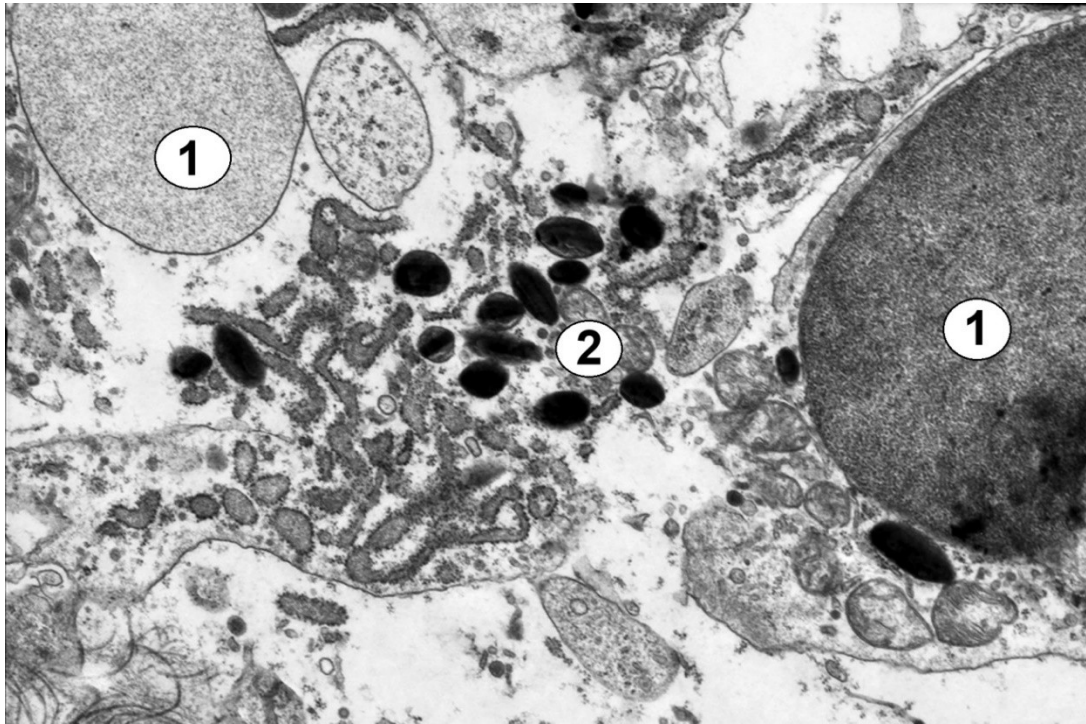


Рис. 5.19. Ділянка лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту, в якій поміж збережених ядер лейкоцитів (1), можна бачити (2) характерні фрагменти цитоплазми цих клітин. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

Детальне електронномікроскопічне дослідження дозволило уточнити, що через чотирнадцять діб після початку експерименту в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки тварин третьої експериментальної групи епітеліоцити на певних ділянках епітеліального моношару підлягають повному некротичному розпаду, якому передують бурхлива вакуолізація цитоплазми епітеліоцитів (Рис. 5.21) В цих ділянках базальна мембрана стає «оголеною». Вона є доволі гарно збереженою і, навіть, на окремих ділянках є дещо потовщеною у порівнянні з такою за умов норми (у інтактних тварин), але й в ній є наскрізні дефекти (Рис. 5.22).



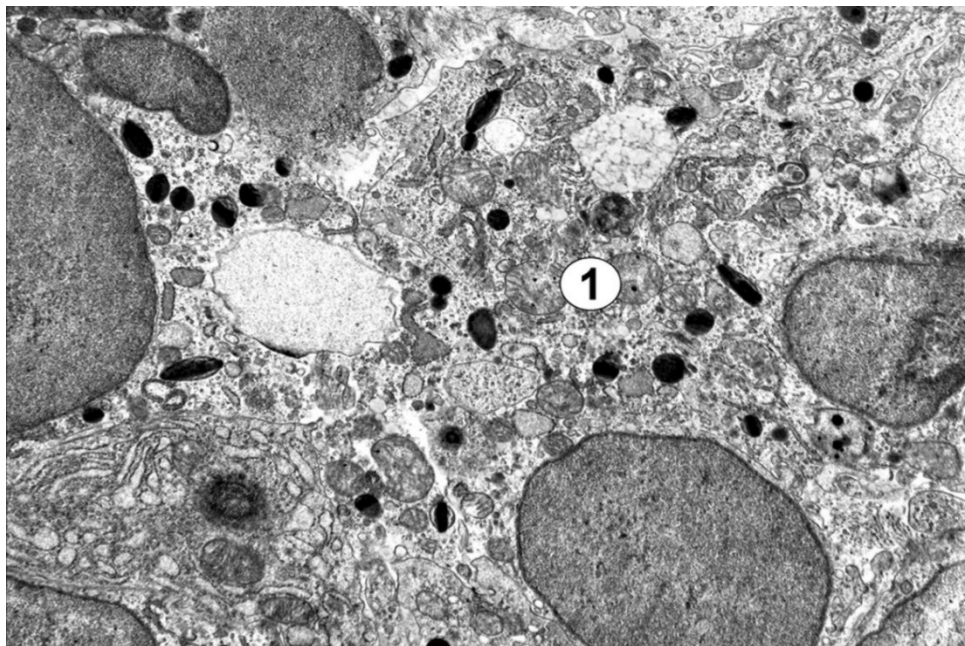


Рис. 5.20. Ділянка лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту, в якій поміж збережених ядер лейкоцитів, лімфоцитів, плазматичних клітин, макрофагів можна бачити (1) характерні фрагменти цитоплазми цих клітин, а також доволі збережені еозинофільні гранули, фагосоми та вторинні лізосоми. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

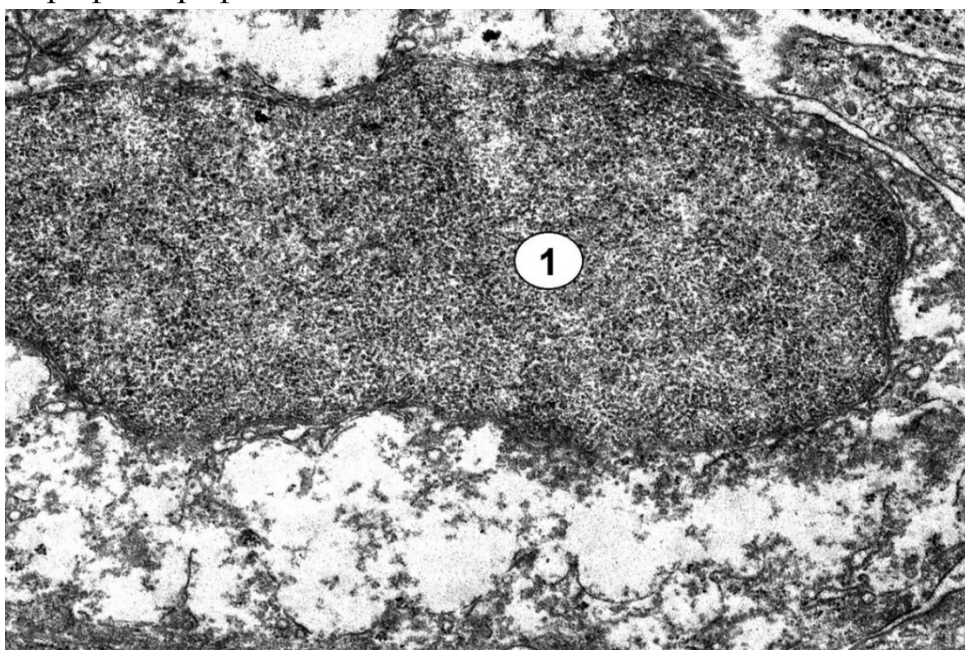


Рис. 5.21. Некроз епітеліоцита слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. 1 – ядро епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 40 000.

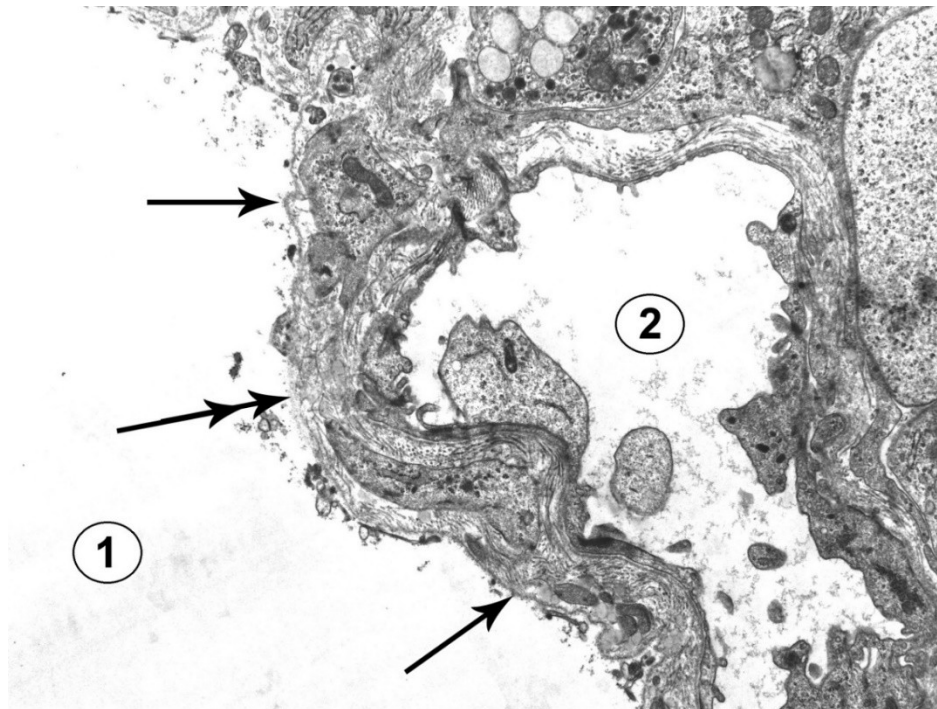


Рис. 5.22. Некроз епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. Одиначними стрілочками відмічена «оголена» базальна мембрана епітеліального моношару. Подвійної стрілочкою відмічений наскрізний дефект (відсутність) базальної мембрани. 1 – інтестинальний просвіт; 2 – просвіт кровоносного капіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 15 000

Така «оголена» базальна мембрана епітеліоцита є єдиним залишком інтестинального епітеліального бар'єру, який відокремлює інтестинальний простір від пухкої сполучної тканини власної пластики слизової оболонки, та розміщених в ній клітин і мікросудин.

В епітелії ушкоджених епітеліоцитів з щіточковою облямівкою виявляються мікробні тіла (Рис. 5.23), а серед неушкоджених епітеліоцитів з щіточковою облямівкою візуалізуються апоптозні епітеліоцити (Рис. 5.24).



Рис. 5.23. Мікробні тіла в цитоплазмі епітеліюцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 7 діб після початку експерименту. 1 – ядро епітеліюцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 30 000.

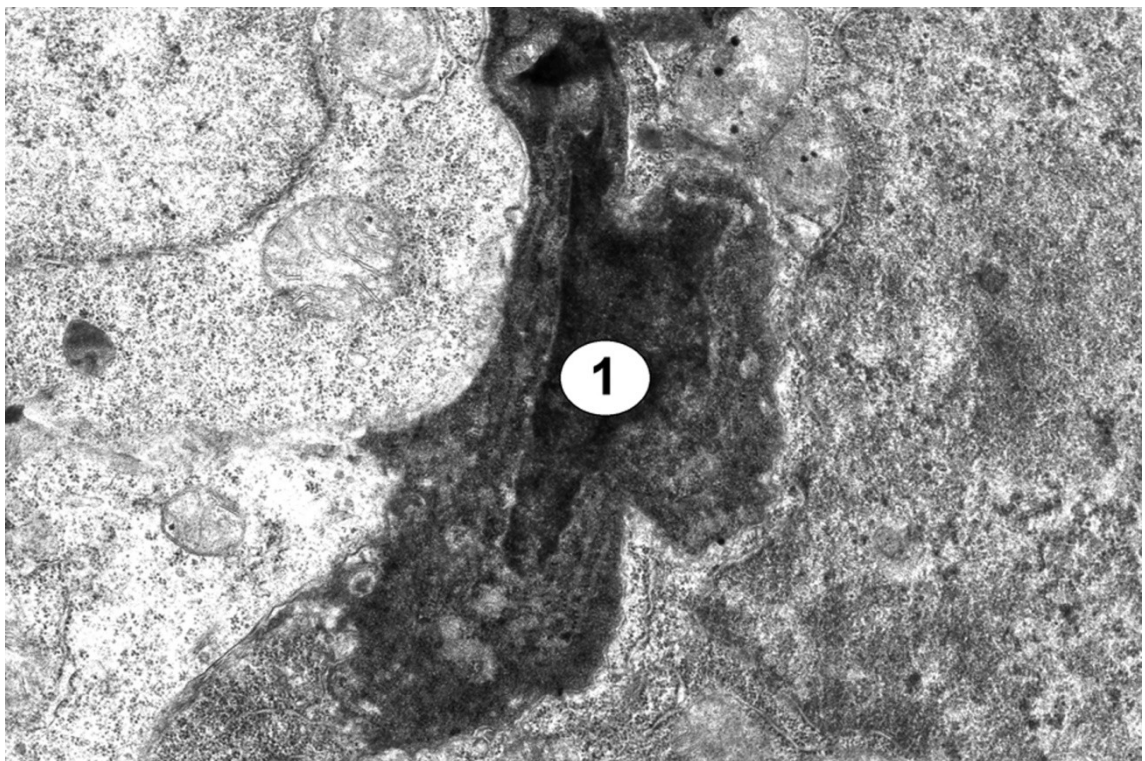


Рис. 5.24. Апоптоз епітеліюцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку

експерименту. 1 – ядро апоптозного епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

Такі апоптозні епітеліоцити втрачають зв'язок з базальною мембраною, та спеціалізовані міжепітеліальні контакти (у першу чергу – щільні контакти), ущільнюються (за рахунок суперконденсації ядерного хроматину та цитоплазматичного матриксу) і витискуються між сусідніми епітеліоцитами в напрямку до інтестинального просвіту, або просвіту кишкової крипти.

Келихоподібні клітини слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи через чотирнадцять діб після початку експерименту проявляють ультраструктурні ознаки підвищеної секреторної активності, асоційованої з тотальною, або субтотальною руйнацією апікальної ділянки цитоплазми (Рис. 5.25).

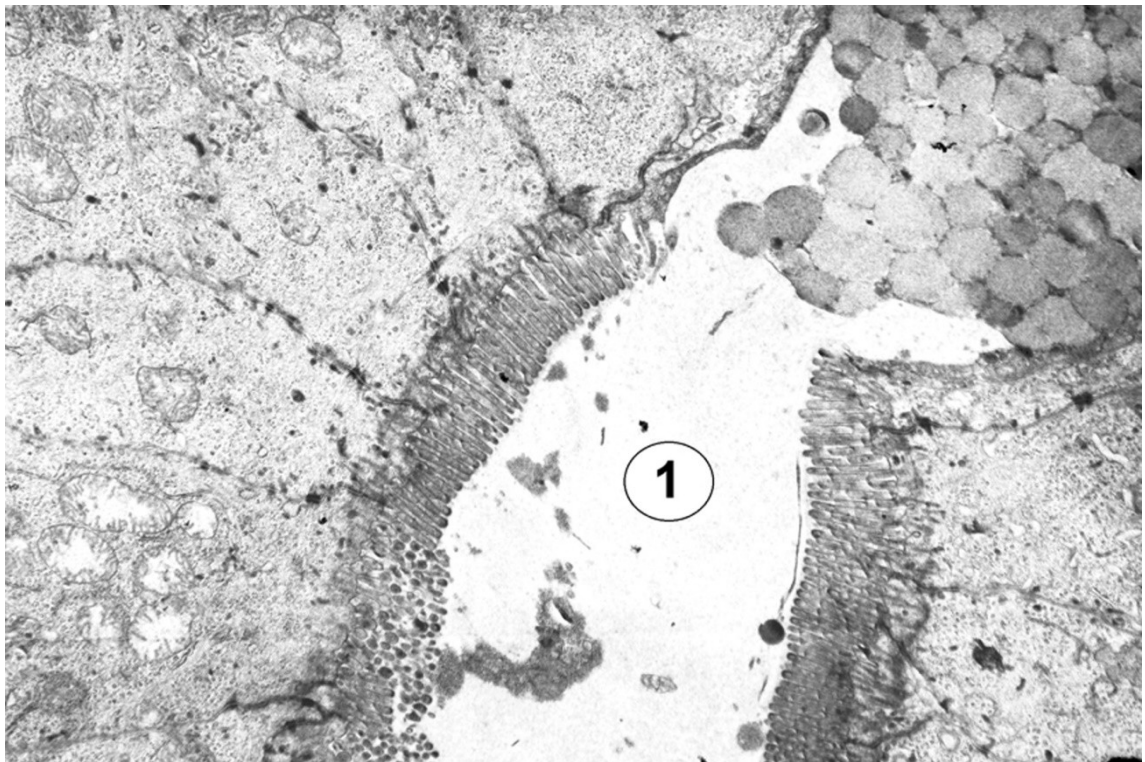


Рис. 5.25. Крипта слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. 1 – просвіт крипти. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

При гістологічному дослідженні слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи через двадцять одну добу від початку експерименту зберігалися явища деформації кишкових ворсинок, які є проявом їхньої дисконфлексії (у сенсі порушення правильного співвідношення клітинних елементів), що взагалі призводить до виразного поліморфізму кишкових ворсинок (крайнім проявом якого є поява кишкових ворсинок з різко відмінними ознаками).

Останнє може бути свідченням (відміченої і у попередні терміни перебігу ентеропатії) різноманітності структурних проявів патологічного процесу, обумовленою асоційованою дією чинників опікової хвороби та цукрового діабету (ця асоційована дія виглядає не як проста сумація структурних ефектів, а як більше складний процес їхньої трансформації).

Епітеліальний покрив кишкових ворсинок має чисельні ділянки десквамації епітеліоцитів не тільки на верхівках ворсинок, але й поза ними. Епітеліоцити із збереженою щіточковою облямівкою сплюснені з порушеною упорядкованістю базальної орієнтації ядер.

В інтестинальному просвіті розташовані частково збережені злуцнені епітеліоцити та клітинний детрит.

У ворсинках і криптах слизової оболонки достатньо великою є чисельність келихоподібних клітин із зруйнованою апікальною цитоплазмою. Строма власної пластинки кишкових ворсинок інфільтрована нейтрофільними лейкоцитами і виглядає набряклою. Відмічене застійне повнокрів'я в судинах гемомікроциркуляторного русла та значне розширення просвітів центральних лімфатичних судин в кишкових ворсинках [208-212].

Кишкові ворсинки на певних ділянках втрачають свою типову цитоархітектоніку і мають вигляд гроноподібних (а іноді грибоподібних) конгломератів епітеліоцитів різного ступеня структурної збереженості (Рис. 5.26).

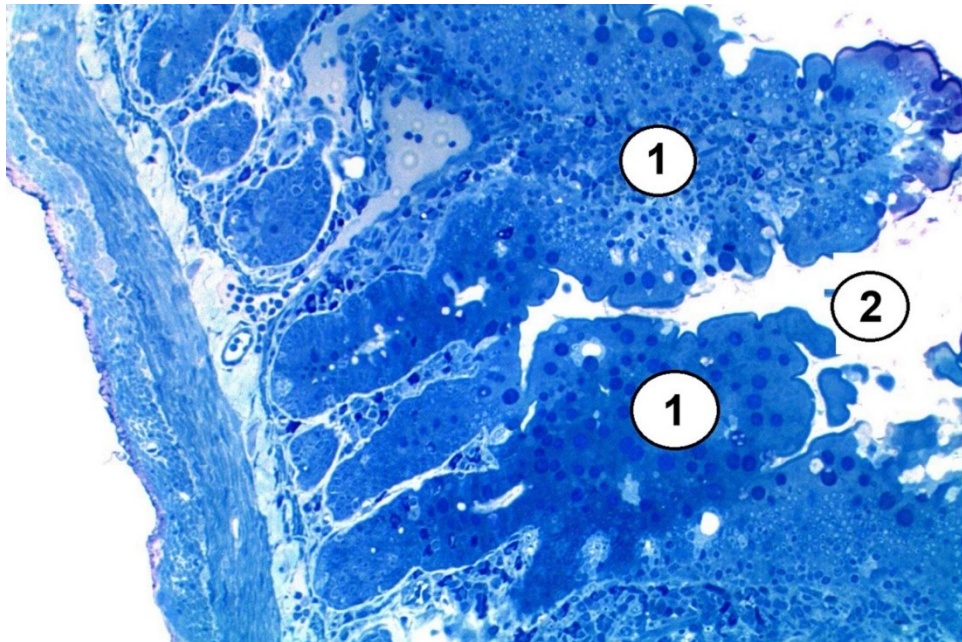


Рис. 5.26. Деформовані ворсинки та крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – ворсинки слизової оболонки; 2 – інтестинальний просвіт. Напівтонкий зріз. Толуїдиновий синій. Зб. 60.

В цих ділянках слизової оболонки кишкові крипти виглядають деформованими (Рис. 5.27).

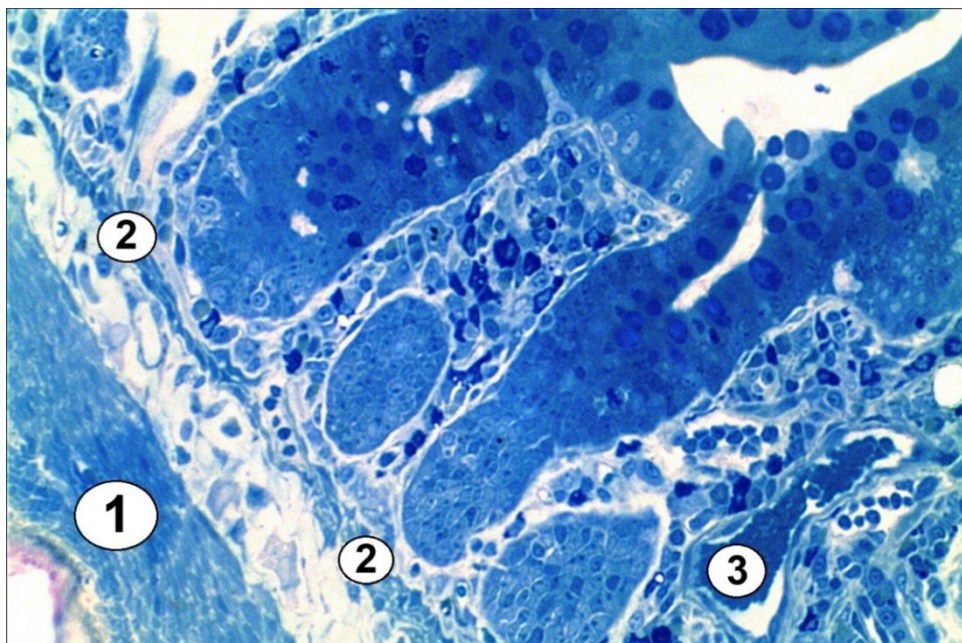


Рис. 5.27. Деформовані крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – м'язова оболонка; 2 – м'язова пластинка слизової оболонки; 3 – стаз еритроцитів в просвіті венули. Напівтонкий зріз. Толуїдиновий синій. Зб. 100.

В підслизовій основі слизової оболонки дванадцятипалої кишки формуються куполоподібні за формою поодинокі ліфмо-лейкоцитарні інфільтрати (Рис. 5.28).

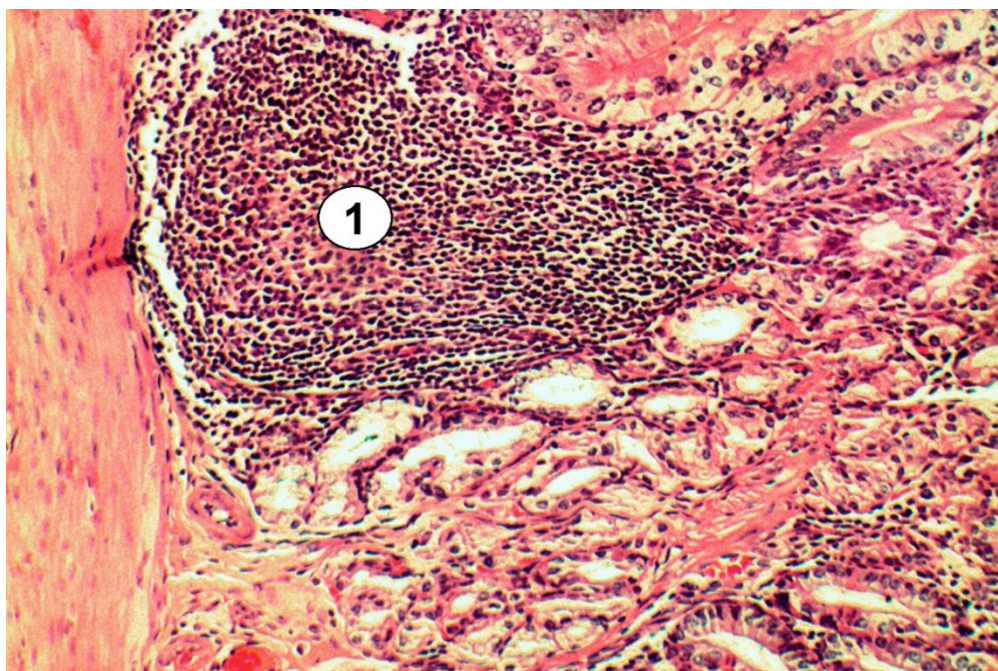


Рис. 5.28. Ліфмо-лейкоцитарний інфільтрат (1) у підслизовій основі слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 60.

Верхівка таких ліфмо-лейкоцитарних інфільтратів має розгалуження, яке продовжуються в пухку сполучну тканину власної пластинки слизової оболонки.

До складу клітинного детриту таких інфільтратів (Рис. 5.29) входять вільні еритроцити та фрагменти одинарних “оголених” мембран, джерелом яких є зруйновані ділянки стінки кровоносних капілярів (хоча поруч з ними розташовані кровоносні капіляри з гарно збереженою судинною стінкою).

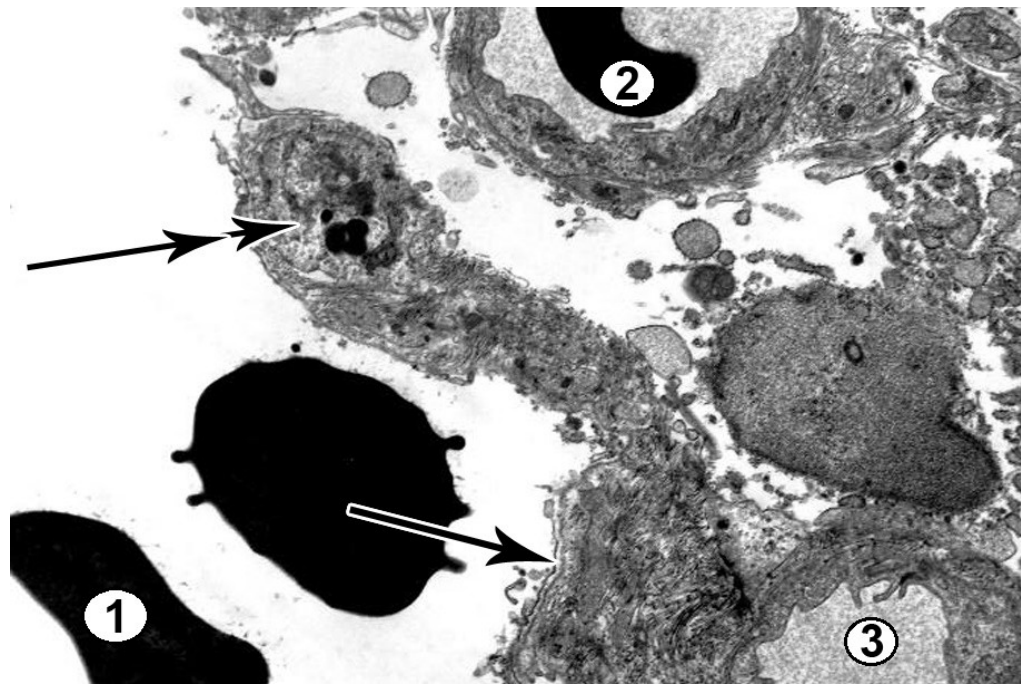


Рис. 5.29. Клітинний детрит, вільні еритроцити (1) та «одинарні» фрагменти базальних мембран (відмічені стрілочками) в ділянці лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 2 – еритроцит у просвіті кровоносного капіляра звичайної будови; 3 – просвіт кровоносного капіляра звичайної будови. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

В пухкій сполучній основі власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи через двадцять одну добу після початку експерименту виявлені скупчення мікробних тіл, неушкодженні плазмоцити та лейкоцити (Рис. 5.30).

На певній своїй протяжності інтестинальний епітеліальний бар'єр (Рис. 5.31) втрачає цілісність клітинної складової при частковій збереженості базальної мембрани (перше відбувається як за рахунок некрозу епітеліоцитів з щітковою облямівкою, так і за рахунок повної деструкції келихоподібних клітин).



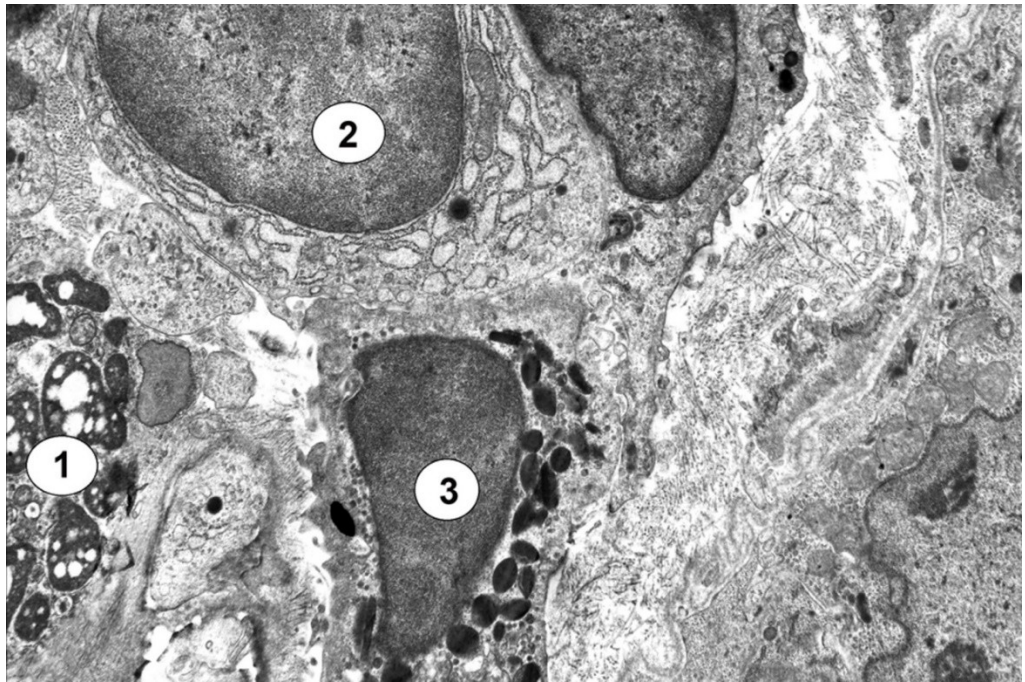


Рис. 5.30. Пухка сполучна тканина власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – скупчення мікробних тіл; 2 – ядро плазмоцита; 3 – ядро лейкоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

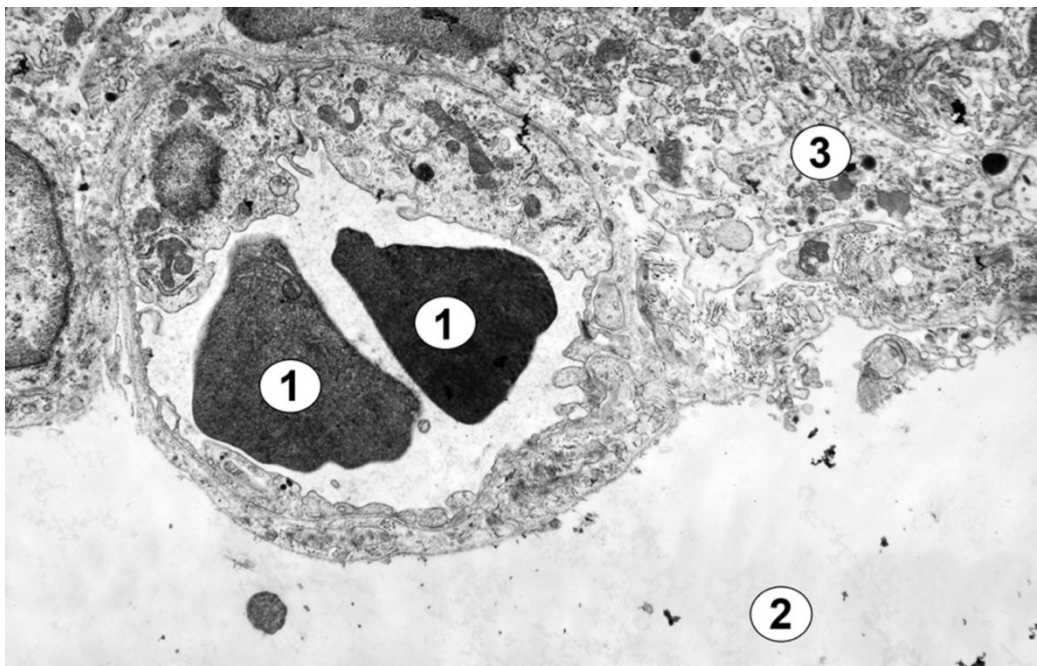


Рис. 5.31. Некроз епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – еритроцит у просвіті кровоносного капіляра; 2 – інтестинальний просвіт кровоносного капіляра; 3 – клітинний детрит. Електронна мікрофотографія. Зб. 15 000.

У всіх випадках в інтестинальному епітеліальному бар'єрі з'являються дефекти, які є потенційними шляхами парацелюлярної транслокації патогенного вмісту дванадцятипалої кишки.

Не виключно, що частина цього інтестинального патогенного вмісту може бути транслокована і через частково пошкоджені клітин. Свідченням останнього є виявлена наявність мікробних тіл в цитоплазмі клітин з частково зруйнованою плазмолемою (але збереженими органелами та ядром) [208-212].

Звертає на себе увагу структурна стійкість кровоносних капілярів та окремих лімфатичних капілярів. Структурним підтвердженням стійкості стінки лімфатичних капілярів є формування та збільшення товщини паравазальних муфт утворених колагеновими волокнами (Рис. 5.32).

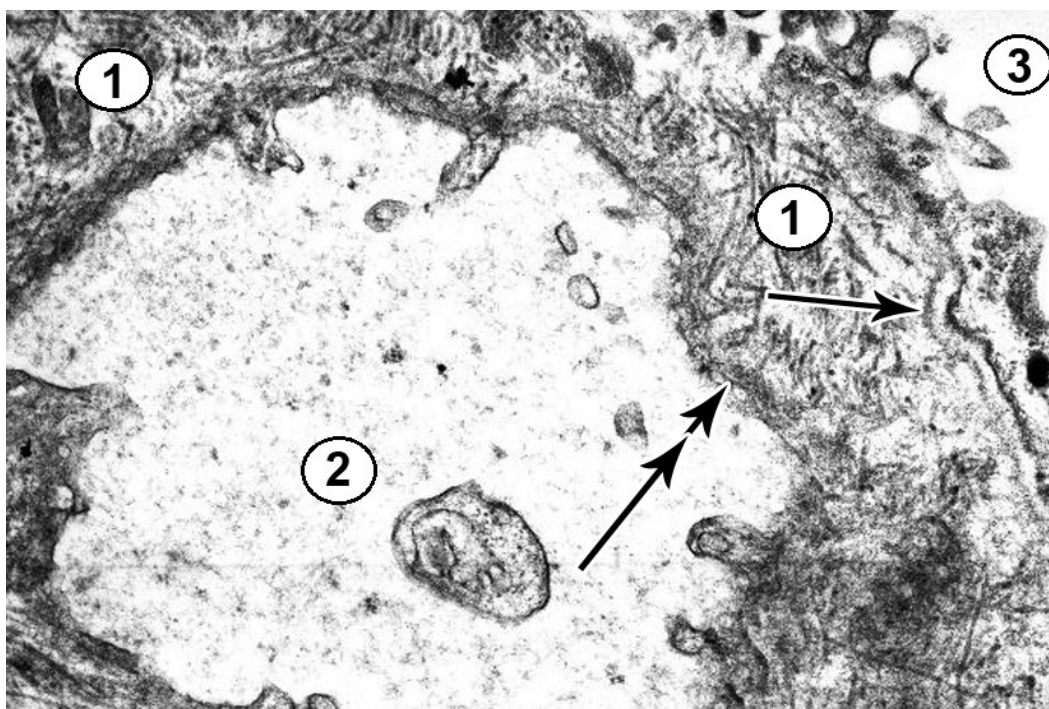


Рис. 5.32. Клітинний детрит та «подвійні» фрагменти базальних мембран (відмічені стрілочкою) в ділянці лімфо-лейкоцитарного інфільтрату в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 днів після початку експерименту. Подвійною стрілочкою відмічений спотворений тонкий моношар ендотелія лімфатичного капіляра. 1 – паравазальні колагенові волокна, від яких ідуть «стропні філаменти» до ендотелія лімфатичного капіляра; 2 – просвіт лімфатичного капіляра; 3 – клітинний детрит. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

За цих умов підтримка форми та розміру просвіта лімфатичного капіляра здійснюється за допомогою «стропних філаментів» які йдуть від паравазальних колагенових волокон до ендотелія лімфатичного капіляра. Епітеліоцити слизової оболонки у цей термін спостереження підлягають різноманітним структурним перебудовам, які стосуються ядра і органел цитоплазми (Рис. 5.33; Рис. 5.34; Рис. 5.35; Рис. 5.36).

В деяких апоптозних клітинах (Рис. 5.33) відбуваються вакуольні трансформації гіперосмованої цитоплазми (характерне апоптозне «закипання» цитоплазми, або блеббінг). «Зморшкуватість» цитоплазми призводить до набуття клітиною варіабельної химерної форми.

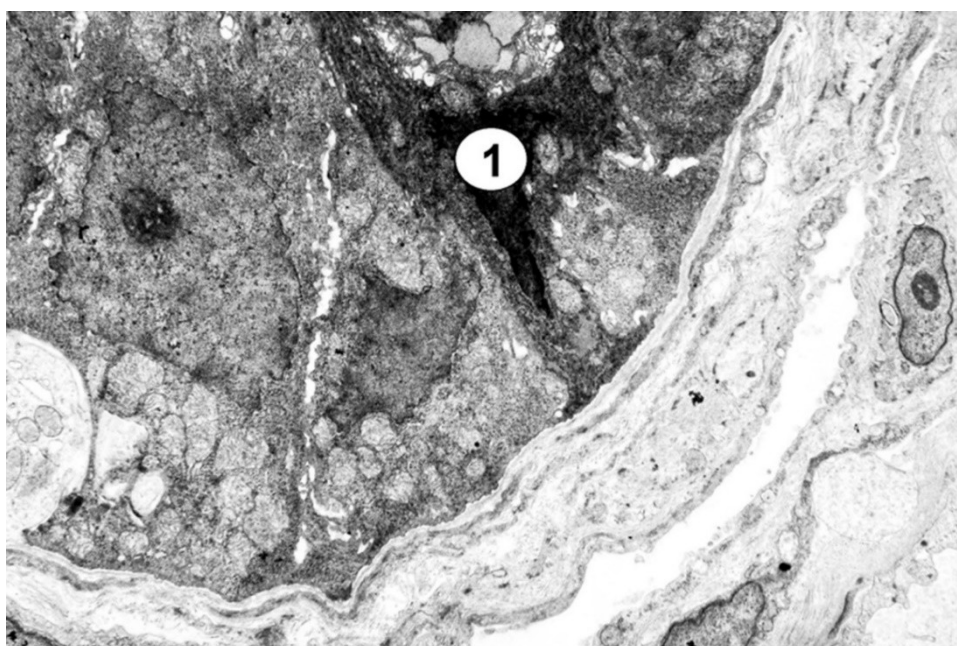


Рис. 5.33. Апоптоз епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – ядро апоптозного епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

За умов втрати такими клітинами міжклітинних і клітинно-матриксних контактів апоптозні епітеліоцити витискуються у напрямку до інтестинального просвіту. В деяких епітеліоцитах відбуваються структурні зміни які можна характеризувати як початкові апоптозні зміни, коли разом з деформацією ядра і цитоплазми спостерігається перебезування та концентрація гіпертрофованих

органел в окремі компактні групи на тлі локальних змін щільності цитоплазматичного матриксу, в результаті чого цитоплазма набуває «плямистого» вигляду (Рис. 5.33).

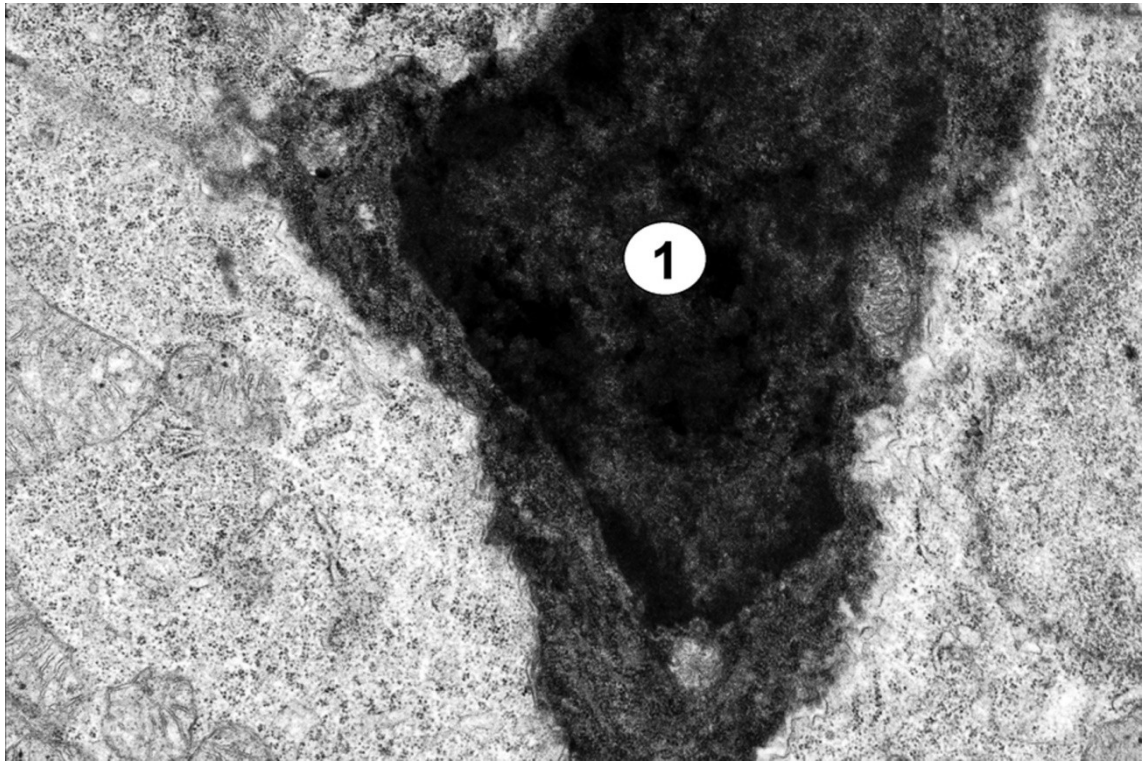


Рис. 5.34. Апоптоз епітеліоцита в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – ядро апоптозного епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

Серед таких епітеліоцитів виявлені апоптозні епітеліоцити (Рис. 5.33; Рис. 5.34), а також стовпчасті епітеліоцити з щітчастою облямівкою ядро і цитоплазма яких є електроннощільною, але не деформованою, а щітчаста облямівка є збереженою (Рис.5.36; Рис. 5.37).

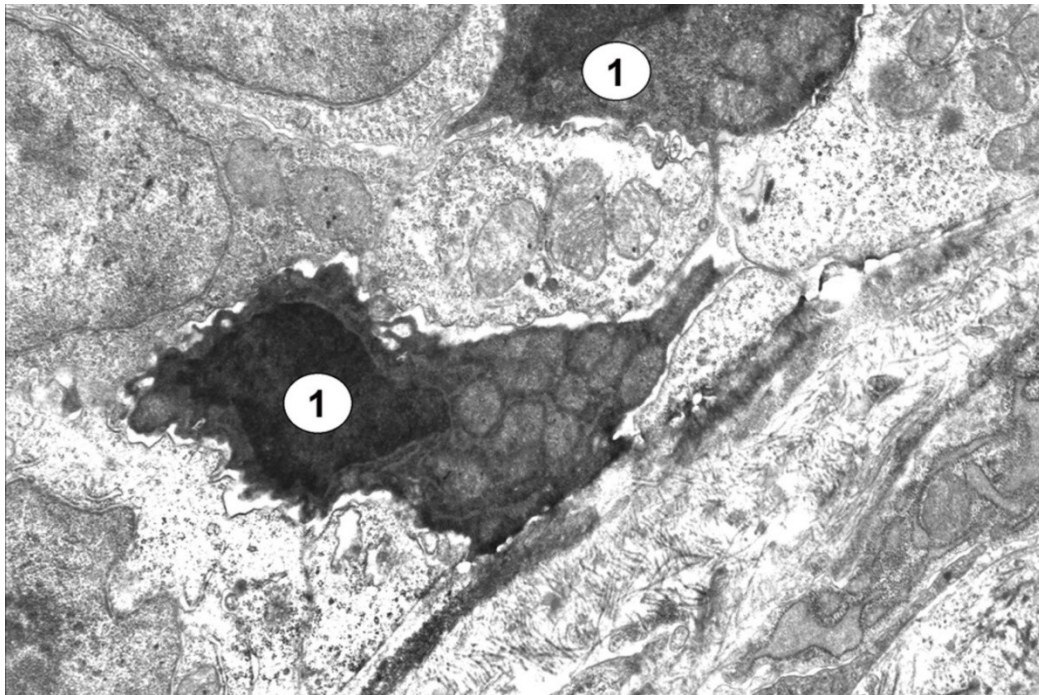


Рис. 5.35. Апоптоз епітеліоцитів в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – ядро апоптозного епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 10 000.

В цитоплазмі таких епітеліоцитів відмічене нерівномірне розширення просвіту розгалужених каналців гранулярної ендоплазматичної сітки та збільшенню кількості прикріплених рибосом (Рис. 5.36). Натомість, в апоптозних епітеліоцитах є ущільнене ядро, конденсована і «зморшкувата» цитоплазма.

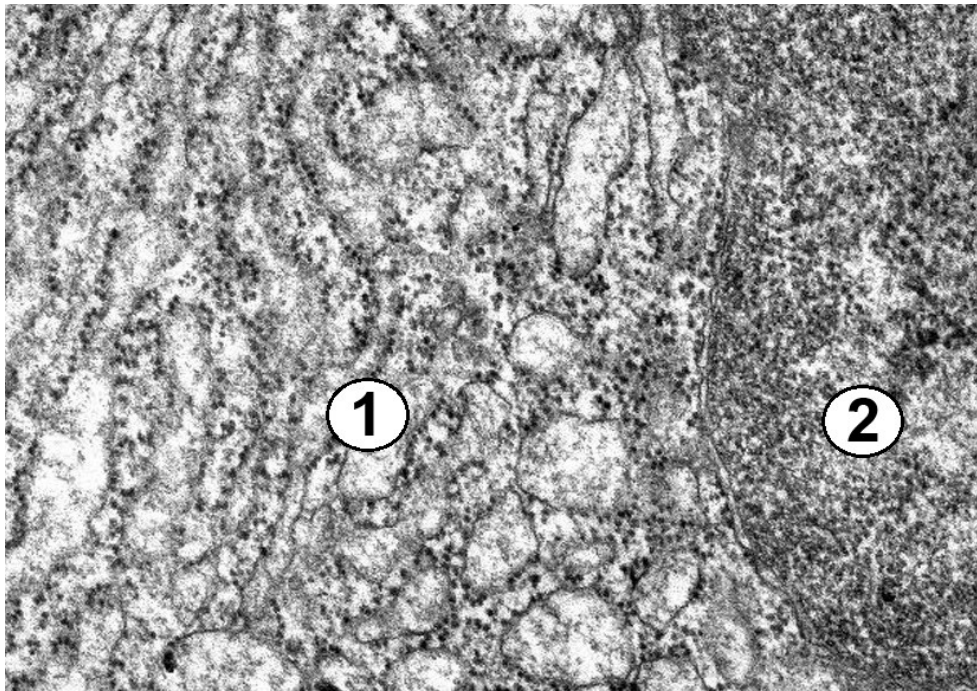


Рис. 5.36. Нерівномірне розширення просвіту розгалужених каналців гранулярної ендоплазматичної сітки епітеліоцитів з щітковою облямівкою в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура другої експериментальної групи через 14 діб після початку експерименту. 1 – каналці гранулярної ендоплазматичної сітки; 2 – ядро епітеліоцита. Електронна мікрофотографія. Зб. 52 000.

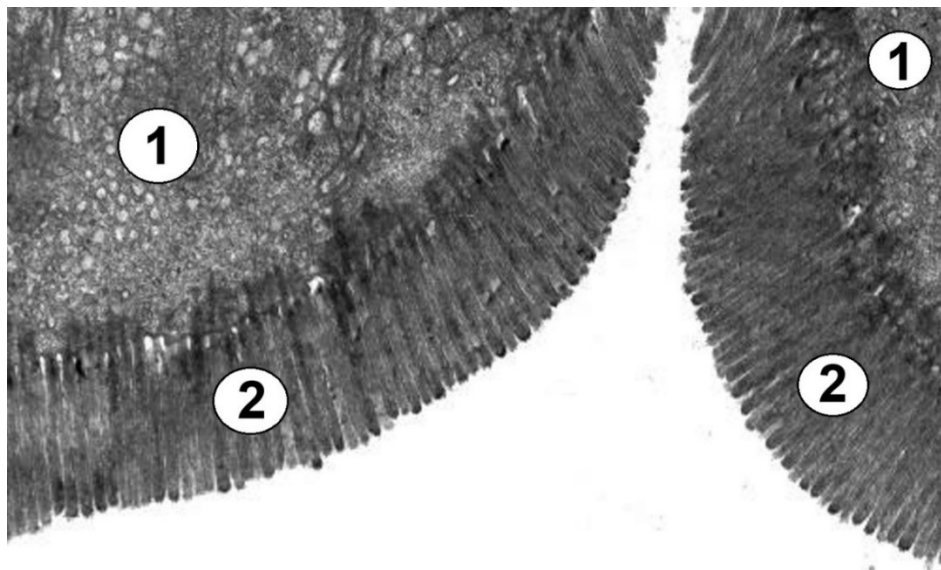


Рис. 5.37. Цитоплазма стовпчастих епітеліоцитів (1) слизової оболонки дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 2 – щіткова облямівка. Електронна мікрофотографія. Зб. 15 000.

В апікальних відділах келихоподібних клітин (Рис. 5.38) в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи через двадцять одну добу після початку експерименту відзначено руйнація секреторних гранул із вмістом різного ступеня електронної щільності (зрілості?).

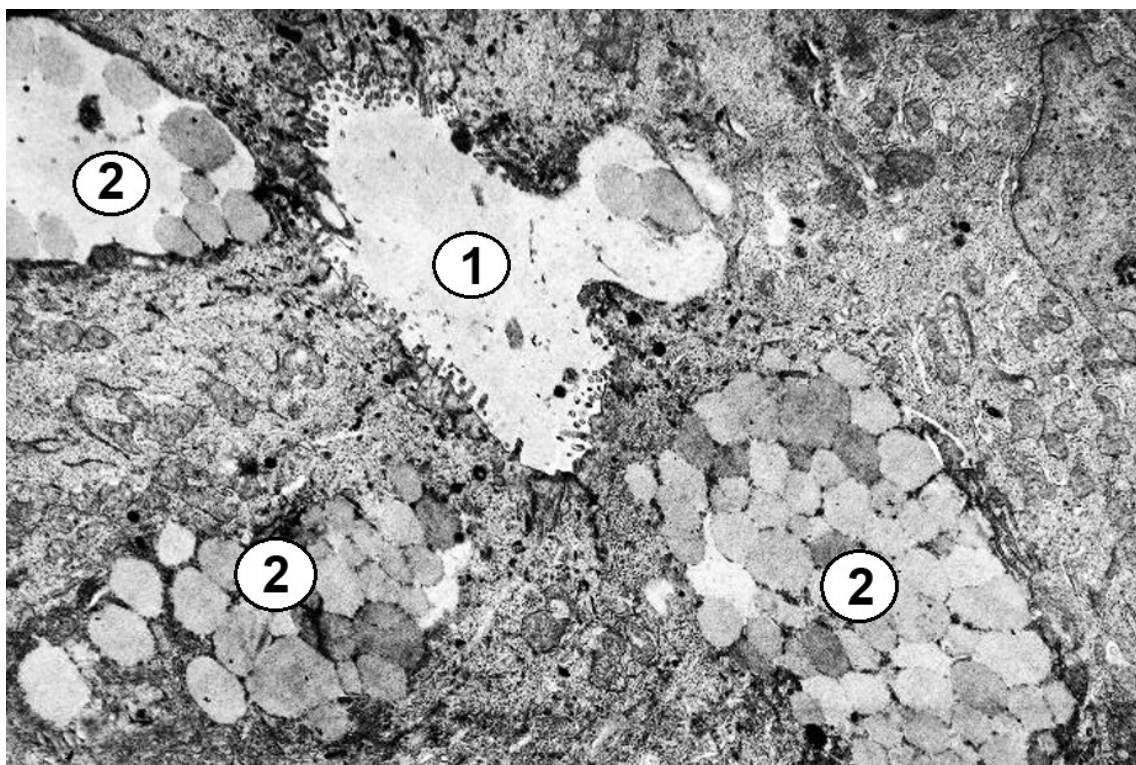


Рис. 5.38. Руйнація секреторних гранул із вмістом різного ступеня електронної щільності (зрілості?) в апікальних відділах келихоподібних клітин в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щура третьої експериментальної групи через 21 добу після початку експерименту. 1 – просвіт, 2 – секреторні гранули із вмістом різного ступеня електронної щільності. Електронна мікрофотографія. Зб. 20 000.

Підсумовуючи можна сказати, що в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи, динаміка морфологічних змін упродовж різних термінів після опіків (7 діб – стадія шоку і ранньої токсимії; 14 діб – стадія пізньої токсимії; 21 доба – стадія септикотоксимії) відрізняється від такої у тварин першої експериментальної групи.

Співставлення отриманих даних із раніш виявленими надають підставу вважати, що часові проміжки та характер адаптивних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки є в значній мірі пролонговані і погіршені.

Суттєві ураження слизової оболонки мають призвести до порушення процесів функціонування травної системи, пристінкового травлення та всмоктування, а також імунологічного захисту (зважаючи на те, що слизові оболонки є першою зоною контакту організму з антигенами оточення і провідною ланкою імунного захисту), що, без сумніву, впливає на стан організму обпечених і, в значній мірі, визначає розвиток опікової хвороби, а також перебіг цукрового діабету.

Свідченням порушень функціонування імунної складової кишкового бар'єру є відмічені нами структурні ознаки напруження функції (адаптації) різноманітних імуннокомпетентних клітин (лімфоцитів, плазмоцитів, макрофагів, які забезпечують функції представлення антигенів та секреції медіаторів локальної запальної відповіді), а в подальшому до їх часткового та повного руйнування (зрив адаптації).

Це призводить до подальшого розвитку запальної реакції із залученням лейкоцитів, які також, проходять стадію активації та наступного виснаження (ознакою якого є руйнація лейкоцитів).

Ці структурні перетворення супроводжуються появою в цитоплазмі епітеліоцитів та в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки мікробних тіл, що є ознакою мікробної інфільтрації та загальних зрушень інтестинальної мікробіоти (яка, за умов норми, виконує роль біологічного інтестинального фільтру).

Ушкодженням також є проникність бар'єр слизової оболонки дванадцятипалої кишки за умов асоціації експериментальної опікової травми шкіри з стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом.

Нами виявлені структурні перетворення келихоподібних клітин, які продукують інтестинальний слиз, що утворює шар на поверхні інтестинальної слизової оболонки.



Проведене нами електронномікроскопічне дослідження показало, що келихоподібні клітини характеризуються добре розвиненим комплексом Гольджі та гранулярною ендоплазматичною сіткою, розташованими по периферії клітини та навколоядерній зоні.

Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки безпосередньо контактують з мембранами комплексу Гольджі. Більшість ламелярних структур комплексу Гольджі розтягнуті секретом і утворюють пухирці, які поступово втрачають зв'язок з ламелярними структурами і формують окремі гранули, оточені мембраною.

У напрямку до апікального кінця келихоподібних клітин секреторні гранули збільшуються у розмірі, їх вміст втрачає характерну високу електронну щільність і стає прозорим.

За умов накопичення секрету структурні компоненти комплексу Гольджі та гранулярної ендоплазматичної сітки (а також мітохондрії, вільні рибосоми та полісоми) стають менш виразними і переміщуються (разом з ядром у «ніжку келиху»), де, у зв'язку з високою електронною щільністю цитоплазматичного матрикса, втрачають виразність структурованості.

Зареєстровано поетапна зміна типів виділення секрету келихоподібних клітин: з мерокринового типу (шляхом екзоцитозу дозрілих секреторних гранул) до апокринового типу (шляхом відторгнення апікальної частини келихоподібних клітин разом з секреторними гранулами та окремими органелами за рахунок клазматозу), а надалі – до голокринового типу (шляхом повного руйнування апікальної частини келихоподібних клітин і, навіть, повної руйнації цих клітин).

Саме це призводить до структурних ознак змін слизового інтестинального шару (який на електронномікроскопічному рівні складається з дрібноглобулярного вмісту невеликої електронної щільності, секреторних гранул із збереженою мембраною та клітинного детриту, а на гістологічних зрізах забарвлених гематоксиліном та еозином у просвіті кишкових крипт має вигляд еозинофільного вмісту).

Таким чином, проникність слизового бар'єру кишки є зміненою і ці зміни можна трактувати як такі, що сприяють мікробній інвазії. Результати проведених досліджень показали, що в основі пошкоджень епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки лежать глибокі деструктивні зміни, які через 21 добу (в стадії септикотоксимії), як правило, мають незворотній характер і розвиваються на фоні значної інтоксикації організму.

Виявлені за умов здійсненого експерименту структурні зміни епітеліоцитів є свідченням порушення структурної цілісності інтестинального епітеліального бар'єра.

У тварин третьої експериментальної групи ушкоджений епітелій слизової оболонки дванадцятипалої кишки критично послаблює адекватність своєї функції інтерфейсу між слизовою оболонкою і середовищем інтестинального просвіту та є нездатним структурно забезпечувати надійність ефективного бар'єру проти токсинів, патогенних мікроорганізмів і антигенних молекул.

В слизовій оболонці дванадцятипалої кишки після опікової травми шкіри асоційованої з цукровим діабетом відбувається погіршення проявів адаптивної реакції і пролонгація деструктивних процесів, що супроводжуються порушенням міжклітинних взаємодій в цитоархітектонічнозмінених та деформованих ворсинках і криптах.

Одержані нами дані свідчать, що структурні зміни слизової оболонки щурів третьої експериментальної групи мають характерні ознаки компенсаторно-приспосувального процесу, який проходить три стадії: стадію перенавантаження (в якій клітини гинуть шляхом некрозу та апоптозу, проходячи фазу аварійної функціональної напруги); стадію спроби структурно стабілізувати гіперфункцію збережених клітин; стадію поступового структурного виснаження, коли гіперплазовані енергетичні та пластичні органели виявляють ознаки деструкції, яка призводить до декомпенсації функцій органел та до клітинної загибелі (шляхом некрозу та апоптозу). Особливо слід зазначити, що структурні зміни слизової оболонки у щурів

третьої експериментальної групи розгортаються у часі настільки стрімко, що стадію відносної стабілізації можна вважати суттєво зневільованою.

У заключенні розділу слід зауважити, що у теперішній час важко достеменно стверджувати чи діють негативні чинники опікової хвороби та цукрового діабету сукупно (спільно) на клітини та неклітинні утвори (базальні мембрани, аморфну та волокнисту складові пухкої сполучної тканини) через спеціалізовані структури клітинної поверхні (за допомогою різноманітних факторів запалення, індукторів апоптозу та автофагії). Як клітинна поверхня, взаємодіючи із зовнішніми по відношенню до клітин агентами, контролює стан клітини та характер синтетичних процесів у ній, а, відповідно, і функціональний стан органел (зміни, яких у межах здійсненого експерименту нам вдалося з'ясувати за допомогою електронної мікроскопії?). На цих питаннях ми зупинимось при обговоренні одержаних результатів у розділі 4 дисертації.

**Основні матеріали цього розділу дисертації наведені у наступних публікаціях:**

1. Tymoshenko, I.O., Cherkasov, E.V., Shepitko, K.V. (2020). Morphometric assessment of structural changes in the duodenal wall of rats caused by skin burn injury under conditions of experimental diabetes . *World of Medicine and Biology*, 3(73), 215-219. doi: 10.26724/2079-8334-2020-3-73-215-219.

2. Tymoshenko, I.O. (2019). Structural changes of the intestinal epithelial barrier of the duodenum of rats in burn injury of skin under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Reports of Morphology*, 25(2), 28-35. [https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(2\)-03](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(2)-03).

3. Тимошенко, І. (2019). Структурні особливості слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів при опіковій травмі шкіри за умов експериментального стрептозоточиніндукованого цукрового діабету. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, (1(109)), 35-47. [https://doi.org/10.32345/USMYJ.1\(109\).2019.35-47](https://doi.org/10.32345/USMYJ.1(109).2019.35-47).

4. Cherkasov, V., & Tymoshenko, I. (2019). Structural changes of duodenal mucosa enterocytes of rats in burn skin injury under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Reports of Morphology*, 25(1), 55-61. [https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(1\)-08](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(1)-08).

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Захворюваність на цукровий діабет стрімко зростає по всьому світу з тривожною швидкістю і створює велике навантаження на системи охорони здоров'я [3]. Особливе занепокоєння у останні роки викликає переважання прогресування цукрового діабету першого типу над цукровим діабетом другого типу. Поширеність цукрового діабету, його специфічні ускладнення та наявність інших супутніх захворювань, які часто супроводжують цукровий діабет, роблять цю хворобу однією з головних проблем соціального та громадського здоров'я. Неухильне збільшення інформації про етіологію та патогенез цукрового діабету, а також його хронічних ускладнень, призводять до необхідності своєчасного доповнення та чіткого уточнення існуючих наукових концепцій, яке супроводжується постійною переоцінкою вже з'ясованих патофізіологічних процесів та структурних механізмів, що їх забезпечують. У даний час цукровий діабет, як правило, класифікують [1, 2] на цукровий діабет першого типу, цукровий діабет другого типу, гестаційний цукровий діабет та групу «інших специфічних синдромів». Однак, все більше даних з'являється про те, що є підстави виділяти підтипи цукрового діабету з чітко визначеною етіологією і клінічними особливостями (наприклад LADA, MODY та ін).

Міжнародною федерацією діабету визнано [3], що цукровий діабет є епідемією світового масштабу; збільшується також поширеність опікового травматизму [1]. Прогнозується, що кількість пацієнтів з цукровим діабетом, які звернуться до клінічних установ з приводу опіку, значно зросте протягом наступних десятиліть. Постійно здійснюється накопичення даних про багатопланову оцінку наявному стану базових наукових, клінічних і організаційних медико-соціальних підстав щодо необхідності виділення окремого і особливого епідеміологічного профілю пацієнтів з діабетичними опіками (epidemiological profile of diabetic burn patients). Шляхом співставлення

різноманітного (існуючого в науковій літературі) матеріалу науковці дійшли до висновку, що цукровий діабет є незалежним фактором ризику при одержанні опікових травм, але опосередковує зміни фізіологічних систем, включаючи, судинну, сечовидільну, нервову, імунну та травну. Незважаючи на те, що цукровий діабет та (окремо від нього) опіки були предметом інтенсивного вивчення протягом останніх десятиліть, успіхи в їх лікуванні та у подоланні їхнього глобального поширення є не виправдано помірними. Що стосується діабетичних опіків, то до останнього часу, вони знаходилися поза прискіпливої уваги клініцистів і теоретиків, чим і обумовлена вражаюче невелика наукова фактологія щодо цього питання.

У межах проведеного нами дослідження не було завдань щодо аналізу поєднаних між собою (або спільних) патогенетичних механізмів розвитку цукрового діабету та опікової хвороби, але зважаючи на те, що в науковій літературі практично відсутня єдина концепція патогенезу діабетичного опіку, ми зупинилися на деяких аспектах можливих взаємних впливів проявів кожного із зазначених патологічних станів.

В сучасній науковій літературі панує уявлення про те, що «diabetes is predominantly an intestinal disease» – «діабет є переважно кишковим захворюванням». Добре відомо [17], що тонка кишка відіграє важливу роль як у травленні, та і в ендокринній відповіді щодо регулювання рівня глюкози в крові. Гормони (GLP-1 та GIP), що вивільняються з слизової оболонки тонкої кишки у відповідь на потрапляння з їжею поживних речовин модулюють секреторну реакцію інсуліну та глюкагону на цю їжу. Вони обидва підвищують секрецію інсуліну та допомагають знизити рівень глюкози при цукровому діабеті другого типу, але лише GLP-1 пригнічує секрецію глюкагону. Окрім цього GLP-1 гальмує випорожнення шлунку, зменшує засвоєння мікроелементів (вуглеводів, білків та жирів), уповільнює швидкість утворення ендогенної глюкози. Найбільше поширеним [17] та переконливо експериментально доведеним є уявлення про те, що виключення дванадцятипалої кишки та проксимального відділу решти тонкої кишки

призводить до прискореної доставки хімусу в дистальний відділ кишкової трубки, посилення вивільнення GLP-1 та кишкового пептиду YY (PYY). Наведене вище свідчить про актуальну доцільність здійсненого нами вивчення структурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів після опікової травми шкіри за умов стрептозотоциніндукованого цукрового діабету.

У нашому дослідженні ми встановили значення ER – стресу у структурних перетвореннях слизової оболонки дванадцятипалої кишки після опікової травми асоційованої з стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом. Між тим, у останні роки усе більшого розповсюдження набуває точка зору про те, що ER – стрес є фактором, розвитку [22, 23] багатьох захворювань (і, особливо) тих, що супроводжуються метаболічними зрушеннями. Зокрема, суттєво змінилося сучасне розуміння нормального шляху згортання препроінсуліну в каналцях ендоплазматичної сітки, що дозволило переглянути існуючі зв'язки між неправильним складанням білка – попередника інсуліну, дисфункцією ендоплазматичної сітки та ушкодженням бета-клітин підшлункової залози у розвитку та прогресуванні цукрового діабету першого та другого типів, а також деяким моногенних форм цукрового діабету.

Визнано, що різкі коливання кількості та якості вжитих організмом поживних речовин та резистентність клітин організму до інсуліну зменшують потенційні можливості бета-клітини підшлункової залози синтезувати інсулін та гальмують їх здатність до забезпечення ефективного та безпомилкового згортання та секреції білка, а також до своєчасного включення відповіді на незгорнуті білки (unfolded protein respons, UPR), яка є адаптивним молекулярним шляхом для сприяння виживанню клітин при патологічному накопиченню не згорнутих білків в каналцях ендоплазматичної сітки. За цих умов навантаження і швидкоплинності, обмежена кількість (стандартний чи, іншими словами, стаціонарний рівень) помилок при згортанні проінсуліну є природним побічним результатом інтенсивного перебігу біосинтезу. За нормальних обставин функціонування бета-клітин, кількість невірно складеного проінсуліну (потенційного чинника ER-стресу) пов'язана із: 1)

швидкістю його утворення; 2) гомеостатичним станом середовища (структурним та молекулярним складом) каналців ендоплазматичної сітки; 3) наявністю або відсутністю природних (мутаційних) дефектів проінсуліну; 4) кліренсу невірно складених молекул проінсуліну. При моно- або полікаузальному поступовому зростанні рівня невірно складеного проінсуліну, його накопичення понад певний поріг починає перешкоджати нормальному внутрішньоклітинному транспорту вірно складеного (навіть у екстремальних умовах) проінсуліну, що у сукупності призводить до зменшення продукції інсуліну та гіперглікемії, а також до прогресуючого посилення ER-стресу і незворотного ушкодження бета-клітин.

За сучасними уявленнями відповідь на незгорнуті білки необхідна для підтримки цілісності ендоплазматичної сітки, запобігання оксидативного стресу та збереження клітини. Це теза про «prevent oxidative stress» є загальною при розгляді уражень клітин усіх органів за умов розвитку цукрового діабету і опікової хвороби. Станом на теперішній час участь оксидативного стресу (до якого залучено дію вільних радикалів, нерадикальних активних сполук та процесів) та пов'язаного з ним ендотоксикозу, в якості патогенетичних компонентів розвитку та прогресування опікової хвороби та цукрового діабету не викликає сумнівів. Активні форми кисню (вільні радикали, продукти неповного відновлення, атомарного кисню, синглетний кисень, пероксид водню тощо) є продуктами клітинного метаболізму і володіють високою реакційною здатністю. За умов метаболічних зрушень (синдром гіперметаболізму) утворені у надлишковій кількості активні форми кисню порушують гомеостаз внутрішньоклітинного середовища, реагуючи з макромолекулами (білками, ДНК, ліпідами) та підвищуючи інтенсивність перекисного окислення ліпідів (з утворенням продуктів руйнівної дії, щодо мембран клітин) призводить до суттєвого ушкодження мембранних клітинних органел.

При патологіях з виразною метаболічною компонентою оксидативний стрес поєднується з ендогенною інтоксикацією, яка є складним багатокомпонентним процесом, що обумовлений не тільки патологічною



біологічною активністю ендотоксинів, але й дисфункцією системи детоксикації та біотрансформації, які мали б спрацювати на усіх рівнях структурної організації цілісного організму. До основних показників ендогенної інтоксикації відносять наявність в плазмі крові молекул середньої маси, рівень яких є також прогностичним критерієм метаболічних негараздів [30, 34]. До молекул середньої маси (молекулярна маса 300-500 Дальтон) входять продукти метаболізму білків, олігоцукру, похідні глюкоренової кислоти тощо. Відомо, що молекули середньої маси здатні блокувати рецептори кожної клітини, неадекватно впливаючи на її метаболізм і функції [34].

При вивченні ендогенної інтоксикації у щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри, модель якої є повністю ідентичною до застосованої нами, було встановлено [22], що рівень молекул середньої маси є статично значуще нижчим у щурів без опіку, ніж у щурів з опіком шкіри (навіть при застосуванні внутрішньовенної інфузії різних дезінтоксикаційних розчинів). Рівень молекул середньої маси збільшувався через сім діб після опіку, досягав свого максимуму через чотирнадцять діб та зменшувався через двадцять одну добу після опіку. Спираючись на ці дані, ми обрали для дослідження структурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки в умовах здійсненого нами експерименту часовий інтервал у сім діб (на сьому, на чотирнадцяту та на двадцять першу добу після опіку шкіри).

Для інтегральної об'єктивної оцінки перебігу компенсаторних, пристосувальних та деструктивних процесів в стінці дванадцятипалої кишки щурів за умов здійсненого експерименту було проведене, морфометричне дослідження, яке виконували використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Дослідження проводили у визначені терміни досліду в препаратах забарвлених гематоксиліном і еозином. Оцінювали: товщину слизової оболонки, висоту ворсинок, товщину ворсинок, глибину крипт, ширину крипт, товщину м'язової пластинки слизової оболонки, товщину підслизової основи, товщину м'язової оболонки, товщину серозної оболонки,

висоту епітеліоцитів в середній частині ворсинок, мітотичний індекс стовпчастих епітеліоцитів.

Проведене морфометричне дослідження підтвердило з'ясовану у нашому дослідженні якісну картину змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів за умов здійсненого експерименту. Встановлено, що при збереженні структурної впорядкованості м'язової і серозної оболонки, підтвердженої відносною сталістю товщини м'язової та серозної оболонки відмічені кількісні ознаки перебудови слизової оболонки, виразом чого є статистично достовірні зміни товщини ворсинок, ширини крипт, товщини підслизової основи, висоти епітеліоцитів в середній частині ворсинок та мітотичного індексу стовпчастого епітеліоциту (Табл. 2, Табл. 3, Табл. 4). Ці показники статистично достовірно відрізняється від показників інтактних тварин, у тварин другої експериментальної групи товщина підслизової основи дванадцятипалої кишки  $= 235,28 \pm 8,60$  мкм і не тільки статистично достовірно ( $p < 0,001$ ) відрізняється від ідентичного показника інтактних тварин ( $185,45 \pm 6,08$  мкм), але і тварин першої експериментальної групи ( $p < 0,005$ ). Максимум цей показник досягає у тварин третьої експериментальної групи через 21 добу експерименту ( $237,03 \pm 10,82$  мкм з достовірністю від показника другої експериментальної групи  $p < 0,005$ ). Але все ж таки найбільш виразною є динаміка зміни товщини ворсинок та мітотичного індексу стовпчастих епітеліоцитів, зокрема мітотичний індекс стовпчастих епітеліоцитів щурів третьої експериментальної групи через 21 добу експерименту дорівнює  $1,700 \pm 0,085$  %, що статистично достовірно менше ( $p < 0,001$ ), ідентичного показника інтактних щурів ( $3,367 \pm 0,147$ %) та щурів першої експериментальної групи ( $2,867 \pm 0,171$ ). Така динаміка змін мітотичного індексу свідчить про пригнічення мітотичної активності ділення клітин, що може призвести до порушення умов реалізації загальних компенсаторних можливостей суцільного інтестінального епітеліального шару слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів і порушення захисної спроможності інтестінального бар'єру [208].

Загалом одержані нами дані можуть свідчити про найбільший внесок в розвиток діабетичної ентеропатії структурних перебудов слизової оболонки дванадцятипалої кишки. Крім того, слід зазначити, що структурні трансформації слизової оболонки дванадцятипалої кишки за умов застосованої моделі експериментального опіку поглиблюється при його асоціації з цукровим діабетом.

Статистично достовірні зміни таких параметрів як товщина ворсинок, ширина крипт, мітотичний індекс стовпчастих епітеліоцитів та товщина підслизової основи стінки дванадцятипалої кишки підтверджують дані гістологічного та електронномікроскопічного дослідження щодо прогресивного перебігу типових для діабетичної ентеропатії змін, виразність яких поступово збільшується через 7, 14 та 21 доби експерименту.

Одержанні нами дані свідчать, що ушкодження слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів з опіковою травмою шкіри асоційованою з експериментальним стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом (третя група тварин) є пролонгованим процесом та вагомим патогенетичним чинником навіть у віддалені терміни розвитку патологічного процесу, після нанесення експериментального опіку та після внутрішньоочеревинного введення стрептозотину. Ми пов'язуємо появу вивчених морфологічних змін з впливом багатьох взаємопов'язаних і взаємозалежних локальних та системних ушкоджуючих факторів серед яких чільне місце посідає виявлене нами структурне порушення захисної функції інтестінального епітеліального бар'єру, що сприяє гематогенному та лімфогенному розповсюдженню патогенної та сапрофітної кишкової мікрофлори (на системному рівні за найбільш сприятливих умов розвитку подій це має спрацювати як чинник сенсibiliзації до сапрофітних бактерій та алергізації організму, або, за найбільш несприятливих обставин, як чинник генералізації інфекційного процесу).

Важливою є також залежність морфологічних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки від перебігу характерних [27, 30, 31, 54-56], для опікової хвороби комплексів синдромів (ендотоксичного синдрому, синдрому

гіперметаболізму, системної запальної відповіді та їхнього загального прояву у вигляді дисфункції внутрішніх органів). Слід зазначити, що виведення токсинів з організму обпечених [27] здійснюється кількома шляхами (шкіра, нирки, легені, печінка та шлунково-кишковий тракт), але ці шляхи за умов розвитку опікової хвороби є заблокованими перебігом в них «власне внутрішньоорганної післяопікової патології». Крім того, що на слизову оболонку дванадцятипалої кишки впливають ендотоксини різного походження (із вогнищ ішемії та некрозу у зоні опіку та з первинно неушкоджених внутрішніх органів), окремо варто відмітити локальні патогенні впливи лейкоцитів, яких у чималій кількості ми виявляли в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів першої та особливо третьої експериментальної групи. При цьому слід зауважити, що, за даними літератури, їх основні осередки токсичних продуктів утворюються внаслідок взаємодії лейкоцитів та їх основних форм кисню із пошкодженими клітинами. Це явище дістало назву «киснево-метаболічного, або респіраторного вибуху» [20]. Ланцюговий зв'язок ланок цього явища полягає в тому, що на фоні активації нейтрофільних лейкоцитів відбувається майже п'ятнадцятиразово, що індукує в свою чергу розслаблення гладкої мускулатури. За умов поєднання опікової хвороби з цукровим діабетом зазначені процеси накладаються на типові для діабетичної ентеропатії зміни кишкової моторики у вигляді чергування проносу з закрепом [105-110], що має породжувати утворення замкненого хибного кола тимчасового внутрішньопросвітнього інтестінального накопичення ендотоксинів та наступного інтестінального вивільнення від них. Загалом такий варіант динаміки зміни патологічних механізмів, який підсилює невизначеність і додає нестабільності характеру інтестінальної моторики, має впливати на перебіг діабетичної ентеропатії за умов її асоціації з опіковою травмою. Ці отриманні нами дані та зроблені на основі їх припущення є теоретично вірогідними, але потребують підтвердження у клінічних дослідженнях.

У зв'язку з визнанням кишкової непроникності [54, 55, 59] новою мішенню щодо профілактики та терапії багатьох захворювань (*intestinal*

*permeability – a new target for disease prevention and therapy*) у науковій літературі виникла дискусія щодо застосування при трактуванні інтестинальних функцій таких термінів як кишковий бар'єр, кишкова непрохідність, кишкове поглинання. Існує концепція про те, що кишковий бар'єр складається із механічного, імунного, біологічного та хімічного бар'єрів. Механічний бар'єр включає слизовий шар на поверхні інтестинальної слизової оболонки, клітин інтестинального епітелію (та міжклітинних з'єднань між ними) підслизової основи тощо. Функціонування імунного бар'єру забезпечує значна кількість різноманітних імунокомпетентних клітин (лімфоцитів, макрофагів, та плазматичних та дендритних клітин), які забезпечують функції представлення антигенів, секреції медіаторів локальної запальної та алергічної відповідей. Резидентні бактерії (зокрема лактобактерії та біфідобактерії) утворюють біологічний фільтр у вигляді біоплівки на поверхні епітеліоцитів, протистоять адгезії та колонізації екзогенних патогенних бактерій, забезпечують споживання епітеліоцитами утворених ними коротколанцюгових жирних кислот, молочної кислоти та ін. Хімічний бар'єр складають антибактеріальні речовини (що продукують резистентні бактерії), а також такі речовини як шлункова кислота, жовч та травні ферменти, які гальмують бактеріальні інвазію.

У науковій періодиці [50, 60, 61] зазначено, що інтестинальний бар'єр слизової оболонки (*mucosal barrier*) або просто інтестинальний бар'єр (*intestinal barrier*): по-перше, захищає організм від вторгнення мікроорганізмів і токсинів; по-друге, має бути відкритим для поглинання необхідних рідин і поживних речовин. Такі протилежні цілі досягаються відповідними функціонально підпорядкованими анатомічними структурами, з яких складається «кишковий бар'єр» (з його невід'ємною частиною – «інтестинальним епітеліальним бар'єром»), а функціональний статус цього бар'єру визначається «кишковою проникністю».

Ми підтверджуємо зазначене термінологічне упорядкування і підкреслюємо, що за умов здійсненого нами експериментально дослідження

zareєстровані структурні свідчення щодо суттєвих (обумовлених часом перебігу і різновидом патологічного стану) змін кишкового бар'єру поглинання та проникності.

Нами відмічено структурні ознаки змін слизового інтестинального шару (як складової механічного компоненту кишкового бар'єру), що пов'язані із змінами типів секреції келихоподібних клітин (від мерокринового та апокринового до голокринового типу секреції). Переважання апокринового та голокринового типів секреції келихоподібних клітин у тварин першої та третьої експериментальних груп призводять до потрапляння у слиз секрету різного ступеня зрілості, свідченням чого є руйнація мембран секреторних гранул різного розміру та ступеня електронної щільності вмісту. До утворення слизу залучаються також, секреторні гранули з незруйнованими мембранами та клітинним детритом. Такі структурні перетворення, на нашу думку, мають призводити до суттєвих змін слизового інтестинального шару.

Означені вище зміни слизового інтестинального шару дванадцятипалої кишки супроводжується змінами імунного інтестинального бар'єру, функціонування якого забезпечує структурна збереженість імунокомпетентних клітин власної пластинки слизової оболонки (лімфоцитів, плазмоцитів, макрофагів), які за умов здійсненого експерименту підлягають руйнації шляхом некрозу.

Zareєстровані нами структурні прояви некрозу та апоптозу епітеліоцитів, а також фібробластів пухкої сполучної тканини власної пластинки слизової оболонки дванадцятипалої кишки призводять до структурних змін кишкових крипт та ворсинок, які є найбільш виразними у тварин третьої експериментальної групи.

За сучасними уявленнями ворсинка є однією із найбільш визначальних інтестинальних структур. Саме інтестинальні ворсинки та мікроворсинки щітчастої облямівки епітеліоцитів збільшують поверхню в 30 і 600 разів відповідно. Мікроворсинки щітчастої облямівки адсорбують на своїй поверхні ферменти та розщеплюванні ними (до амінокислот та моносахаридів) білки та

вуглеводи, які транспортуються від апікального до базального полюсів клітин, а потім, пройшовши через базальну мембрану, досягають кровоносних капілярів сполучнотканинної основи ворсинок. Подібним є шлях транспортування води та розчинених у ній мінеральних солей. Жири поглинаються епітеліоцитами із залученням механізмів фагоцитозу і, надалі потрапляють у лімфатичні капіляри. Нами відмічені структурні зміни, які призводять до порушення усіх компонентів кишкового поглинання (що є особливо виразними у щурів третьої експериментальної групи): 1) руйнація мікроворсинок щіткової облямівки епітеліоцитів; 2) послідовний процес поліморфізму – деформації (дископлексації інтестинальних ворсинок); 3) ER-стрес, автофагія, апоптоз, некроз епітеліоцитів; 4) деструкція базальної мембрани епітеліального моношару. Перша та друга зазначені складові призводять до порушення інтестинального травлення і зменшення кишково-поглинальної площі; третя і четверта складові унеможливають (або щонайменше ускладнюють) нормальне забезпечення трансцелюлярного і трансмембранного транспортування речовин із інтестинального просвіту.

У нашому дослідженні ми виявили, що за умов опіку шкіри (перша група щурів), за умов стрептозотоциніндукованого цукрового діабету (друга група щурів) та за умов поєднання опіку шкіри з стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом (третья група щурів) відбуваються структурні зміни інтестинального епітеліального бар'єру, які можуть привести до трансбар'єрного проникнення кишкової мікробіоти з інтестинального просвіту (а у тварин третьої експериментальної групи це проникнення вдалося візуалізувати за допомогою методу електронної мікроскопії). Як подібна транслокація мікробіоти може вплинути на стан опечених хворих на цукровий діабет, стан хворих на цукровий діабет з опіком шкіри? Точна відповідь на ці питання може бути одержана лише при продовженні подібних досліджень і, зокрема, при дослідженні патогенезу діабетичного опіку, як окремого різновиду патологій. У той же час відомо, що, крім бактерій, грибів, архей, кишкова мікробіота

виключає віруси, які приносять в організм господаря більшу кількість генів, ніж притаманні клітинами цього організму [26].

Останні епідеміологічні, клінічні, генетичні дослідження обґрунтовують положення про те, що вірусна інфекція (діабетогенні віруси) може бути пусковим механізмом розвитку цукрового діабету першого типу у людей, викликаючи прогресуючий аутоімуноопосередкований вибірково апоптоз бета-клітин підшлункової залози. З'ясовано, що багато кандидатних генів для цукрового діабету першого типу, таких як МДАБ, RTPN2 та ТЦК2, неефективно регулюють противірусну реакцію в клітинах імунної системи та в бета-клітинах (а в альфа-клітинах підшлункової залози противірусна відповідь є більше виразною та ефективною, що забезпечує життєздатність).

Є багато свідчень про суттєву роль, яку можуть відігравати різноманітні віруси у розвитку цукрового діабету. Це відбулося у спробах створити на цій основі експериментальні моделі цукрового діабету. Зокрема, більше десяти вірусів використовують для моделювання на тваринах цукрового діабету першого типу [195]. З цією метою з успіхом застосовують інфікування: вірусом Коксакі В – мишей і приматів; Mengo-вірусом, енцефаломіокардиту, ретровірусом та ретровірусом – мишей; вірусом краснухи – хом'яків та кролів; вірусом ящуру – свиней і великої рогатої худоби; Kilham-вірусом (KRV1) – щурів [6, 21].

Kilham-вірус (маленький ДНК-вірус) викликає цукровий діабет, провокуючи специфічне аутоімунне ушкодження (без прямого цитолізу) бета-клітин підшлункової залози лінійних щурів резистентних до діабету (DR-BB1), які є нащадками схильних до цукрового діабету попередників. Через два-чотири тижні після інфікування Kilham-вірусом приблизно у тридцяти відсотків інфікованих DR-BB1 щурів розвивається специфічний аутоімунний діабет. Спочатку для пояснення механізму інфікування аутоімунного цукрового діабету у DR-BB1 щурів була створена гіпотеза молекулярної мімікрії, яка базувалася на наявності спільного епітопу між KRV-специфічним пептидом і аутоантигенами бета-клітин [6, 21].



У подальшому, більше розповсюдженою стала точка зору про те, що провідне значення у аутоімунній реакції проти бета-клітин DR-BB1-щурів має співвідношення Th1 – та Th2 – клітин імунної системи (підтипи CD4+ Т-клітин). Th1 – це CD45RC+CD4+Т-клітини, які продукують ІЛ-2 та ІFN-гамма та відіграють важливу роль у клітинній імунній відповіді, в той час як Th2 – це CD45RC-CD4+Т-клітини, які продукують ІЛ-4 та ІЛ-10 і беруть участь у гуморальній імунній відповіді [17].

Зазначені вище дослідження щодо відтворення цукрового діабету першого типу у DR-BB1 щурів за допомогою їхнього інфікування Kilham-вірусом ще раз доводять факт залежності розвитку цукрового діабету від стану імунної системи та спроможності бар'єрів (у тому числі інтерстиційного епітеліального бар'єру) ефективно протидіяти інфекції.

У надрукованій у 2018 році ґрунтовній статті Yalan Huang et al. [63] відмічають, що порушення інтестинального епітеліального бар'єру відіграє важливу роль у патофізіологічних змінах в організмі після важкої опікової травми; однак, базові механізми цього явища залишаються маловивченими і процеси їхнього дослідження відбуваються доволі повільно. Проте, не викликає жодних сумнівів, щодо провідної ролі щільних міжклітинних контактів в інтестинальному епітеліальному бар'єрі як утворів, що обмежують і регулюють парацелюлярний транспорт [1]. У місцях розташування щільних контактів мембрани сусідніх епітеліоцитів максимально зближенні та «зшиті» спеціалізованими мембранними білками щільних контактів [2]. Мембранні білки щільних контактів поділяють [2] на дві групи: 1) ті, що перетинають клітинну мембрану чотири рази (клаудини; окклюдни; трицелюлін); 2) ті, що перетинають клітину тільки один раз (YAM-A, -B, -C, -D; CAR; ESAM; cRB<sub>3</sub>). В геномі людини [3] є гени принаймі 24 білків родини клаудинів (від лат. *claudo* – закривати). Дослідження експресії білків родини клаудинів, функції яких були вивчені в інтестинальному епітелії щурів, свідчать, що клаудини-2, -7 і -12 переважають у щільних міжепітеліальних контактах слизової оболонки тонкої кишки (епітелій якої відноситься до всмоктуючого типу), а клаудини-1, -3, -5, -

8, -16, -18 переважають у майже непроникному епітелії слизової оболонки товстої кишки [4].

Групою дослідників [56, 57, 60, 61, 63] були з'ясовані деякі молекулярні механізми змін проникності інтестинального бар'єру, які дозволили клініцистам і теоретикам поступово перейти від висловленої ще в 1990 році [54] парадигми «інтестинальна проникність збільшується в опікових хворих незабаром після травми» до нової, більше радикальної та загрозованої за змістом, парадигми про «руйнування інтестинального бар'єру як причину смертності при важких опіках» [61].

Yalan Huang et al. [63] досліджували *in vivo* параметри інтестинальної проникності клубової кишки мишей після 1, 2, 6, 12, 24 години після експериментальної опікової травми шкіри розміром 30% загальної площі поверхні тіла шляхом визначення в крові появи та вимірювання рівнів fluorescein isothicyante – labeled dextran (FITC-декстрану), введеного в просвіт ізольованого сегменту клубової кишки. З'ясовано, що інтестинальна проникність для FITC-декстрану була значно збільшена вже через одну годину після опіку і досягла максимуму через шість годин (набувши у п'ять разів більшого рівня, ніж такий у мишей безпосередньо відразу після опіку). Паралельно, за допомогою Wesrern Blot Analysis оцінювали експресію мембранних білків щільних міжклітинних контактів (зонуліну-1, окклюдину, клаудину-1 та клаудину-2), а також методом імунофлюоресцентного аналізу (за допомогою моноклональних кролячих антитіл) визначали їхню локалізацію в щільних контактах між епітеліоцитами. Встановлено, що рівні експресії зонуліну-1 та окклюдину помітно зменшувалися через дві та через шість годин після опіку, а рівень експресії клаудину-1 значно знижувався через дванадцять годин після опіку. Натомість, рівень клаудину-2 (пороутворюючого білка щільних контактів, який збільшує парацелюлярну проникність), помітно зростав через шість годин після опікової травми. Метод імунофлюоресцентного аналізу продемонстрував також перелокацію зонуліну-1 (білка, який визнають найважливішим у підтримці та регуляції бар'єрної спроможності щільних контактів).

Досліджень, щодо змін щільних контактів, як надважливої бар'єроутворюючої складової інтестінального епітеліального бар'єру, через певний тривалий час (через 7, 14, 21 і більше діб) після опіку (при аналізі наукової літератури), нами не виявлено. Однак, одержані нами електронномікроскопічні дані щодо слизової оболонки дванадцятипалої кишки у щурів з важким опіком шкіри та за умов асоціації важкого опіку шкіри з стрептозотоциніндукованим діабетом свідчать про передислокацію та зменшення кількості міжепітеліальних щільних контактів (до повного їхнього зникнення і злушення епітеліоцитів у інтестінальний просвіт). Загалом результати нашого дослідження відповідають мейнстриму тих сучасних наукових робіт, які акцентують увагу на важливому значенні інтестінального епітеліального бар'єру для ініціації, перебігу та розвитку ускладнень кишкової патології різного генезу (у тому числі кишкової дисфункції після опікової травми).

Чим викликані зміни (найчастіше – це падіння) рівнів мембранних білків щільних контактів у обставинах, коли вони мають бути стабільними, щоб підтримувати функцію інтестінального епітеліального бар'єру у загрозливих для організму ситуаціях? На це питання однозначної відповіді від науковців до цього часу не одержано.

Отримані нами дані щодо структурних перетворень каналців гранулярної ендоплазматичної сітки та автофагії в епітеліоцитах слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів з опіком шкіри найбільше відповідають концепції стресу ендоплазматичного ретикулуму (endoplasmaticulum stress або ER-стресу), який зазвичай, асоційований з автофагією.

У теперішній час ендоплазматичну сітку або ендоплазматичний ретикулум розглядають як складну органелу, яка є безперервною мембранною системою, що включає в якості доменів ядерну оболонку та периферійну частину у вигляді розгалуженої мережі каналців агранулярної та гранулярної ендоплазматичної сітки [9, 10]. Нещодавно було опубліковано кілька наукових оглядів, які детально висвітлюють тему загальної структури ендоплазматичної

сітки [11, 12], тому ми обмежилися аналізом новітніх наукових даних щодо гранулярної ендоплазматичної сітки. Гранулярна ендоплазматична сітка, за сучасними уявленнями, є надзвичайно динамічною органелою, яка забезпечує високу точність контролю якості синтезу, дозрівання та транспорту білків [13, 14, 15]. В клітинні білки синтезуються у вільних рибосомах, які можуть приєднуватися (у відповідь на розпізнавання мембранного сигналу у належності до N-сигнальної послідовності) до поверхні мембран каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, де синтезуються багато білків, що мають пройти шлях сортування і переміщення до певних ділянок клітини (інтегральні мембранні білки; білки органел; білки, що призначені для секреції). Лінійні ланцюги амінокислот розміщуються в порожнині каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, де згодом піддаються пострасляційній модифікації і згортаються (folding of proteins) до нативної конфігурації, набуваючи необхідну тривимірну структуру [16].

Ендоплазматична сітка має забезпечити дуже точний, високоякісний контроль за дозріванням та згортанням мембранних і секреторних білків, для того, щоб лише правильно згорнуті білки мали змогу потрапити за межі каналців ендоплазматичної сітки, а незгорнуті чи неправильно згорнуті залишалися в каналцях ендоплазматичної сітки і були знищені. За умов дії різноманітних чинників (а також при зміні внутрішньоклітинного та позаклітинного гомеостазу), які призводять до порушень згортання і дозрівання білків в каналцях ендоплазматичної сітки, клітинна реагує [17] на незгорнуті чи неправильно згорнуті білки стресом ендоплазматичного ретикулула (ER-стресом). Індукція ER-стресу не лише призводить до посиленої деградації незгорнутих чи неправильно згорнутих білків, але й сприяє реорганізації метаболічних процесів у клітині для забезпечення її виживання або смерті у разі прогресії незворотних змін [18, 19]. Для відновлення внутрішньоклітинної гомеостатичної функції за умов ER-стресу спрацьовує розгалужений сигнальний каскад або гарно оркестрований («orchestrating») сигнальний шлях, який [18, 19, 20] дістав назву «відповідь на незгорнуті білки» (англ. *unfolded*

*protein response*, UPR). У ссавців складовими відповіді на незгорнуті білки є три основні спеціалізовані сенсорно-сигнальні системи, ланцюгова дія яких починається з просвіту каналців ендоплазматичної сітки (де розміщена їхня сенсорна частина) і досягає цитоплазми та ядра [210]. Внаслідок відповіді на незгорнуті білки трансляція більшості білків пригнічується (для зменшення навантаження на ендоплазматичну сітку); винятком є тільки ті білки, що сприяють подоланню ER-стресу: шаперони; трансмітери амінокислот; білки ERAD (ER-associated degradation), що необхідні для деградації незгорнутих білків. Таким чином, сценарій розвитку відповіді на незгорнуті білки передбачає досягнення послідовного вирішення конкретних завдань щодо відновлення нормального функціонування клітини шляхом: 1) зупинки або обмеження трансляції білків; 2) деградації неправильно складених білків; 3) активації сигнальних шляхів, що призводять до збільшення виробництва шаперонів, які приймають участь у складанні білків. При найгіршому розвитку сценарію (якщо зазначені завдання не будуть вирішені і не вдасться своєчасно відновити гомеостаз) відповідь на незгорнуті білки може завершитися смертю клітини [21].

Протягом останнього десятиліття здійснюється інтенсивне і детальне наукове вивчення молекулярних механізмів регуляції основних метаболічних циклів на рівні клітини та відбувається ідентифікація ключових молекулярних факторів сигнальної мережі ER-стресу, як фундаментального явища захисту клітин у відповідь на дію різних чинників [17, 21]. Успіхи у фундаментальних дослідженнях з біохімії і молекулярної фізіології призвели до того, що дисрегуляція ER-стресу була визнана причиною численних патофізіологічних станів, які призводять до різноманітних захворювань, у тому числі – до розвитку інсулінорезистентності та ініціації цукрового діабету [22, 23].

Нещодавно повідомлялося, що ER-стрес і опосередкована відповіддю на незгорнуті білки передача сигналів пов'язані з патогенезом запального захворювання кишечника, оскільки маркери ER-стресу в інтестинальному епітелії зазвичай збільшується у пацієнтів з активним перебігом запального

захворювання кишечника [24, 25, 26, 27]. Хоча не тільки структурні, але й основні молекулярні механізми ще не з'ясовані, попередні новітні дослідження показали, що важка опікова травма спричиняє пошкодження клітин шляхом індукції ER-стресу в клубовій кишці, печінці, легенях, скелетних м'язах [28, 29, 30, 31]. Було також встановлено, що індукований опіковою травмою ER-стрес в клітинах міокарду тісно пов'язаний з посиленням в них процесів автофагії [32]. Е. В. Черкасов [24-26] описав в тимусі розвиток різних типів автофагії, які призводили як до клітинної загибелі, так і сприяли життєзабезпеченню і виживанню клітин за умов перебігу експериментальної опікової хвороби. Неоднозначно оцінюють роль автофагії в патогенезі хвороби Крона, як чинника негативного, так і чинника позитивного [36].

Існують також контраверсійні погляди щодо впливу автофагії на проникність інтестинального епітеліального бар'єру. Повідомлялось, що індукована голодуванням автофагія відіграє критичну роль у регуляції бар'єрної функції щільних контактів шляхом націлювання на деградацію пороутворюючого протеїну клаудин-2, посилює бар'єрну функцію і гальмує парацелюлярну проникність інтестинального епітеліального бар'єра [37].

Натомість Yalan Huang et al. [63] доводять, що дисфункція інтестинального епітеліального бар'єра, яка індукована опіком шкіри у мишей, пов'язана з ER-стресом і автофагією, але супроводжується збільшенням рівня клаудину-2 (і, відповідно, збільшенням проникності щільних контактів). У цьому дослідженні розвиток ER-стресу та автофагію виявили за наявності відповідних молекулярних маркерів. Про ER-стрес свідчило підвищення маркерних білків: VIP (intraluminal chaperone binding protein); CHOP (enhancer-binding protein homologous protein); RE1 (inositol-requiring enzyme 1); XBP1 (X-box binding protein 1 splicing). Розвиток автофагії визначався за збільшенням співвідношення: ATG5 (autophagy related protein 5); Beclin 1 та LC311/LC31/ і зменшенням p62. Відносно інтерпретації цих та інших молекулярних показників є припущення, що індукована ER-стресом автофагійна загибель клітин може бути пояснена інактивацією mTOR (mammalian target of

garamycin) – центрального регулятора клітинного росту, що інтегрує сигнали від факторів росту і нутрієнтів [38].

В сучасній науковій літературі існує багато різних підходів щодо з'ясування морфологічних та молекулярних ознак реактивних або адаптивних змін клітин (які відповідають принципу зворотності та структурного поновлення) і таких деструктивних змін, які є незворотними і призводять до загибелі клітин. Для досягнення максимальної термінологічної точності у визначенні, зокрема, типів клітинної смерті свого часу був створений Номенклатурний комітет з клітинної смерті (NCCD), який послідовно укладав відповідну номенклатуру. Не заглиблюючись у всі аспекти існуючих проблем, слід зауважити, що найбільш аргументованими є формулювання NCCD щодо трьох класичних типів клітинної смерті: некрозу, апоптозу і автофагії. Однак до цього часу актуальними залишаються питання, які навіть у заголовках наукових оглядів називають «питаннями без відповідей» («unanswered questions»), щодо функціональних та регуляторних аспектів репаративної автофагії і автофагової загибелі клітин, а також, загалом, про автофагію в клітинному житті та клітинній смерті.

На прикладі післяопікових змін у тимусі свого часу [21-26] була показана певна послідовність розгорнутої динаміки змін типів клітинної смерті та роль у цьому процесі автофагії. Встановлено, що упродовж тридцяти діб розвитку опікової хвороби частина функціонально різних клітин тимусу зазнає незворотних деструктивних змін і гине за сценарієм розвитку різних типів клітинної смерті: тимоцити (шляхом апоптозу, некрозу, мітотичної катастрофи, апонекрозу); епітеліоретикулоцити (шляхом апоптозу, некрозу, автофагії); епітеліоретикулоцити тілець Гассаля (шляхом зроговіння); дендритні клітини (шляхом апоптозу і апонекрозу); макрофаги (шляхом некрозу і автофагії); ендотеліальні клітини венул і кровоносних капілярів (шляхом апоптозу і некрозу). Адаптивні процеси структурної перебудови переважної більшості зазначених клітин спрямовані на відновлення функції апоптозу як механізму контролю генетичного гомеостазу в тимусі, якщо вони не спрацьовують

клітини гинуть шляхом некрозу. Мітотична катастрофа, як окремий тип клітинної смерті, пов'язана з порушеннями процесу мітозу тимоцитів (коли реконструкція ядер клітин є дефектною і не закінчується цитомією). У цьому випадку відбувається мультиплекція і з'являються тимоцити з декількома ядрами різного розміру. Ці трансформації тимоцитів у кінцевому випадку завершуються їхнім апоптозом. Частина тимоцитів і дендритних клітин гине шляхом, що за рекомендаціями NCCD [42, 43, 44] визначений як апонекроз. Апонекроз може бути свідченням зриву післяопікових компенсаторно-приспосувальних процесів у тимусі і на початковому етапі проявляється появою характерних ознак апоптозу, а закінчується як некроз (повною руйнацією клітинних мембран і утворенням клітинного детриту). Процес автофагії є типовою післяопіковою реакцією епітеліоретикулоцитів антигенпредставляючих клітин тимуса (дендритних клітин і макрофагів).

Автофагія може бути джерелом додаткового (аварійного) живлення клітин в умовах характерного для опікової хвороби гіперметаболізму і його складової – гіперкатаболізму. При локальному характері розвитку автофагія забезпечує ізоляцію та видалення з клітин ушкоджених органел і цитоплазматичного матриксу, а також сприяє адаптивній перебудові клітини (вилучення елементів дефективних структур та застосування переробленого у автофаголізосомах матеріалу для відновлення структурної спроможності наявної частини неушкоджених органел). Адаптивність автофагії полягає в тому, що репарована частина клітини може бути не тільки ідентичною (за структурним забезпеченням) до вилученої, але й більше придатною (у кількісному і якісному виразі) для функціонування за умов негативних впливів чинників опікової хвороби.

Приймаючи до уваги усі наведені вище дані наукової літератури слід зауважити, що отримані нами ультраструктурні дані дають підстави вважати, що розвиток ER-стресу та асоційованої з ним автофагії в епітелії слизової оболонки дванадцятипалої кишки після опікової травми шкіри (тварин другої групи) можуть відбуватися у наступній послідовності: 1) розширення і



розгалуження каналців гранулярної ендоплазматичної сітки переповнених електроннощільним вмістом (що свідчить про адаптивне напруження функціонування гранулярної ендоплазматичної сітки, яке спрямоване на продукцію білків); 2) втрата частини рибосом прикріплених до мембран каналців гранулярної ендоплазматичної сітки (що може свідчити про зниження рівня продукції білків, у тому числі структуроутворюючих білків щільних контактів); 3) сегментація каналців гранулярної ендоплазматичної сітки на вакуолі (що свідчить про дезадаптацію та про можливу продукцію спотвореною органелою невірно зібраних та модифікованих білків); 4) поява автофагосом і автофаголізосом (що може свідчити про суттєві зміни внутрішньоклітинного білкового гомеостазу і спробу їх зневілювати шляхом знищення спотвореного матеріалу в автофаголізосомах) [210].

Нами виявлені ультраструктурні зміни, які передують (або супроводжують) автофагію в епітеліоцитах слизової оболонки дванадцятипалої кишки. Ці ультраструктурні зміни, свідчать про інтенсифікацію енергетичного та пластичного обмінів (збільшення кількості та розмірів мітохондрій, поява овальних, дрібних «юних» мітохондрій, розгалуження великих мітохондрій та поява у них вип'ячувань у вигляді «бруньок росту», щільне прилягання до мітохондрій каналців розгалуженої гранулярної ендоплазматичної сітки, просвіт яких є нерівномірно розширеним та заповненим електроннощільним вмістом).

Визначені нами, як складові структурної характеристики ER-стресу, розширення просвіту і розгалуження каналців гранулярної ендоплазматичної сітки можуть вірогідно свідчити про функціональну напруженість щодо продукції білків, які сприяють подоланню стресу [18, 19]. Проте, можливе і інше тлумачення подібних трансформацій каналців гранулярної ендоплазматичної сітки при ER-стресі. Зокрема, Bernales S. et al. [54] у дріжджів засвідчили асоціацію автофагії з ER-стресом і показали, що клітини за умов індукції відповіді на незгорнуті білки розширюють як набір молекулярних механізмів, так і простір, призначений для згортання білків, щоб задовольнити

потреби нового фізіологічного стану, в якому білки залишаються у просвіті каналців гранулярної ендоплазматичної сітки (поки вони не будуть належним чином складені або не деградуються). Розгалуження і розширення просвіту каналців гранулярної ендоплазматичної сітки дозволяють знизити концентрацію незгорнутих білків, а з іншого боку – створюються умови (часові і просторові) для більш чіткої дії механізмів розпізнавання невірно складених білків і подальшого звільнення клітини від них шляхом залучення системи ERAD (ER-associated degradation).

Ще раз підкреслюємо, що нами засвідчена суттєва різниця у перебігу ER-стресу в епітеліоцитах щурів різних експериментальних груп. В слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи (за умов поєднання експериментальної опікової травми шкіри з експериментальним цукровим діабетом) ER-стрес відбувається настільки стрімко і супроводжується неухильним поширенням (від локального до осередкованого і надалі – до субтотального і до тотального) деструкції плазмолем, каріолем і критичної кількості мембранних органел, що механізми автофагії не встигають спрацювати, епітеліоцити накопичують не утилізований спотворений матеріал і гинуть шляхом некрозу. Найбільш чутливим до ER-стресу є, як нами виявлено, келихоподібні клітини, які серед решти епітеліоцитів гинуть шляхом некрозу першочергово. Логічним буде висновок, що відсутність асоціації ER-стресу з автофагією є негативним маркером втрати гальмівного за сутністю механізму, який за цих умов не перериває каскадний характер молекулярних процесів за участю неутілізованого спотвореного матеріалу, що призводить до незворотних структурних змін в клітинах. Описані нами морфологічні події є в край несприятливими щодо забезпечення захисної функції інтестінального епітеліального бар'єру, наслідком втрати якої може бути складна відповідь усього організму у вигляді погіршення загального стану опеченого і ускладнення перебігу супутнього захворювання.

За наведених вище міркувань пацієнти з цукровим діабетом мають увійти до групи ризику і повинні бути забезпечені від можливості отримати опікову травму на роботі чи у побуті. При опіковому травмуванні пацієнтів з цукровим діабетом слід особливу увагу звертати не тільки на розвиток ентеропатії, а й на такі наслідки порушення інтестинального епітеліального бар'єру як транслокація мікробіоти та іншого внутрішньопросвітного інтестинального вмісту токсичної та імуногенної дії (що погіршує перебіг цукрового діабету і додає до розвитку його ускладнень багато негативних чинників) [208-212].

Таким чином, отриманий нами фактичний матеріал уточнює конкретні структурні механізми альтераційних, компенсаторно-приспосувальних та регенераційних процесів у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки після опікової травми шкіри (перша група щурів), а також за умов розвитку стрептозотоциніндукованого цукрового діабету (друга група щурів). Уперше досліджені структурні зміни слизової оболонки дванадцятипалої кишки за умов опікової травми шкіри поєднаної з стрептозотоциніндукованим діабетом (третья група щурів) та одержані дані, які містять нову інформацію про залежність альтераційних компенсаторно-приспосувальних та регенераційних процесів від особливостей перебігу ER-стресу.

Підводячи підсумки можемо констатувати, що втрата селективної автофагії, як запобіжника некротичної загибелі клітини, а також прискорення динаміки некротичної смерті клітин, переважання некрозу над апоптозом (який є частиною адаптивної відповіді на опік та діабетичну гіперглікемію) призводять до подальшого розвитку запального процесу і подальшої некротичної загибелі клітин (яка, за сучасним визначенням, є нерегульованою, швидкоплинною і може бути катастрофічною за руйнівними наслідками). Саме втрата рівноваги між перебігом альтераційних змін (тих, що призводять до некрозу) і компенсаторно-приспосувальних змін (до яких можна віднести селективну автофагію і, з певними обмеженнями, апоптоз); дисбаланс між зворотними і незворотними структурними змінами клітин – призводять до викривлення процесів регенерації (виразом якого є поява статистично

достовірних змін розмірних морфометричних показників, навіть, структурно неушкоджених епітеліоцитів). Загальним проявом усіх відмічених вище змін є поява виразного поліморфізму, деформації та дисконфлексії (у сенсі порушення правильного співвідношення клітинних елементів) кишкових ворсинок.

Відповідно до одержаних нами даних, кишкові ворсинки є чутливими щодо дії чинників діабетичного опіку, віддзеркаленням чого, зокрема, є її дисконфлексія. Найбільш стійкою структурою кишкової ворсинки є базальна мембрана інтестинального епітелію, яку у теперішній час розглядають не як пасивну матрицю для прикріплення епітеліоцитів, а як формоутворюючу структуру, що виконує важливі регуляторні функції з точки зору контролю розвитку епітеліоцитів, становлення їхньої полярності, появи функціональних ознак та участі у реконструкції кишкових ворсинок за умов їхнього ушкодження. У контексті цього, реорганізація слизової оболонки дванадцятипалої кишки при діабетичному опіку (третя група щурів) вимагає величезної узгодженої кооперації між усіма клітинами по обидва боки від базальної мембрани інтестинального епітелію (як епітеліоцитів, так і сполучнотканинних клітин власної пластинки слизової оболонки). Така кооперація є порушеною за умов некротичної загибелі епітеліоцитів і розвитку запального процесу (з усіма його ознаками і наслідками) в сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки. Інтенсифікація описаних явищ посилюється руйнацією базальної мембрани, що призводить до появи характерних ерозій.

Навіть у ділянках візуально неушкодженої слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи нами відмічені ознаки порушення гармонійної згуртованості клітин епітеліального моношару у вигляді зміни форм клітини (які підтвержені нами динамікою статистично достовірної розбіжності відповідних морфометричних показників).

Такі трансформації інтестинальних епітеліоцитів можна пояснити виявленими нами змінами щільних міжепітеліальних контактів ER-стресу і

пов'язаним з ним порушенням синтезу цитоскелетних білків, змінами між епітеліальних рецепторів і рецепторів позаклітинного матриксу. Узагальнюючи можна сказати, що основою дисконкомплексації кишкових ворсинок при діабетичному опіку є порушення міжклітинних та клітинно-матриксних взаємодій, але, коли в умовах дії різноманітних і різноспрямованих чинників діабетичного опіку виникає дизадаптація і утворюється «хибне коло», то не виключено, що первинна дисконкомплексація кишкових ворсинок надалі ще більше поглиблює порушення міжклітинних та клітинно-матриксних взаємодій у кишковій ворсинці.

Структурні зміни слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів усіх експериментальних груп (у тварин з опіком шкіри; у тварин з цукровим діабетом; у тварин з опіком шкіри асоційованим з цукровим діабетом) є доволі універсальним, але в той же час мають виявлені нами та описані вище специфічні особливості. При порівняльному аналізі у першому наближенні складається враження, що у часі і структурному виразі ці зміни слизової оболонки відбуваються дещо паралельно. На прикладі слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів першої експериментальної групи можна бачити, що чинники опікової хвороби виявляють більше виразну деструктивну дію, яка супроводжується доволі бурхливою запальною реакцією і відповідними до неї некротичними змінами. В слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів другої експериментальної групи дія чинників пов'язаних з патогенезом цукрового діабету, призводить до менш виразних запальних проявів і супроводжується апоптозними змінами клітин. В слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи наведені вище патологічні процеси не просто «сумуються» (інакше вони були б просто жахливими), а певним чином модифікуються у негативний бік (зокрема, перебігом ER-стресу і асоційованої з ним автофагії в інтестинальному епітелії).

Одержані нами дані свідчать, що структурні зміни слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів першої та другої експериментальних груп за розвитком у часу загалом відповідають усталеним і загальноновизнаним

увявленням про компенсаторно-приспосувальні процеси в кишковому тракті. А саме структурні процеси перебігу свідчать про стадійність перших сім днів відбувається стадія перенавантаження (з фазою функціональної напруги); упродовж наступних 7 днів розгортається стадія відносної стабілізації гіперфункції; ще через 7 днів реєструються структурні прояви поступового виснаження і розвитку декомпенсації. Структурні зміни слизової оболонки у щурів третьої експериментальної групи розгортаються у часі настільки стрімко, що стадію відносної стабілізації можна вважати суттєво зневільованою.

Структурним виразом стадії перенавантаження є не тільки деструкція плазмолем з наступною тотальною або субтотальною руйнацією клітин, але й виявлені нами (характерні для фази функціональної напруги), зміни органел збережених клітин. Це розширення просвіту та збільшення кількості каналців гранулярної ендоплазматичної сітки (а також збільшення кількості прикріплених до стінки каналців рибосом); збільшення кількості рибосом і полісом; гіпертрофія комплексу Гольджі; збільшення кількості та варіабельності мітохондрій (наявність великих, старих та дрібних «юних» мітохондрій). Але таке інтенсивне функціонування, на нашу думку призводять до прискорення швидкості виснаження клітини, збільшення накопичення в цитоплазмі речовин і пошкоджених (дефектних) органел, яке вмикає внутрішньоклітинні механізми, що призводять до клітинної загибелі (надлишкової автофагії, некрозу, апоптозу).

Фаза функціональної напруги (та усі її зазначені вище прояви) за умови сприятливого для підтримки життєдіяльності клітин перебігу подій збігається з фазою закріплення компенсаторно-приспосувальних процесів (яка передуює стадії відносної стабілізації гіперфункції). Але подовжена у часі компенсаторна гіперфункція призводить до деструкції клітинних органел та цитоплазматичного матриксу, сприяє переходу до стадії поступового виснаження і розвитку декомпенсації. Таким чином, не тільки первинна безпосередня руйнація клітин інтестинального епітелію, але й гіперплазія органел, ймовірно, призводить до розладу системи внутрішньоклітинної

саморегуляції, порушенню міжклітинних взаємодій (у тому числі за рахунок руйнації щільних міжепітеліальних контактів). Вірогідно що в стадії стабілізації структурних підвалин компенсації функцій закінчується розвиток компенсаторних пристосувань інтестінального епітелію і постає точка дихотомії: процес йде у бік повного поновлення функцій або у бік декомпенсації функцій (за умов втрати структурного забезпечення, навіть часткового поновлення функцій).

У заключенні слід зауважити, що у теперішній час важко достеменно стверджувати чи діють негативні чинники опікової хвороби та цукрового діабету сукупно (спільно) на клітини та неклітинні утвори (базальні мембрани, аморфну та волокнисту складові пухкої сполучної тканини) через спеціалізовані структури клітинної поверхні (за допомогою різноманітних факторів запалення, індукторів апоптозу та автофагії). Як клітинна поверхня, взаємодіючи із зовнішніми по відношенню до клітин агентами, контролює стан клітини та характер синтетичних процесів у ній, а, відповідно, і функціональний стан органел (зміни, яких у межах здійсненого експерименту нам вдалося з'ясувати за допомогою електронної мікроскопії?).

Аналіз літератури свідчить, що мало даних про роль інтестінальних клітин у системі тканинної і гуморальної регуляції функцій, зв'язку її з іншими системами регуляції постраждалих від опіку щурів за умов його асоціації з цукровим діабетом. Але одержані нами дані дозволяють припустити наявність таких зв'язків, що віддзеркалюються на структурі слизової оболонки дванадцятипалої кишки за умов здійсненого експерименту, а також у закріпленні структурних основ компенсаторних пристосувань. Це дозволяє дати клініцистам практичні рекомендації, спрямовані на прискіпливу увагу до пацієнтів на цукровий діабет, які отримали опікову травму. В узагальненому вигляді ці рекомендації стосуються обов'язкового контрольного стану шлунково-кишкового тракту таких пацієнтів, а дії лікаря комбустіолога чи діабетолога у цьому випадку мають бути спрямовані на посилення розвитку і закріплення морфофункціональних основ компенсаторних пристосувань, які

забезпечують більше легкий перебіг захворювання і максимально оптимізують відновлення функцій кишкового тракту.

Підсумовуючи можна сказати, що в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів третьої експериментальної групи, динаміка морфологічних змін упродовж різних термінів після опіків (7 діб – стадія шоку і ранньої токсимії; 14 діб – стадія пізньої токсимії; 21 доба – стадія септикотоксимії) відрізняється від такої у тварин першої експериментальної групи. Співставлення отриманих даних із раніш виявленими надають підставу вважати, що часові проміжки та характер адаптивних змін інтестинального епітеліального бар'єра дванадцятипалої кишки є в значній мірі пролонговані і погіршені. Суттєві ураження інтестинального епітеліального бар'єра мають призвести до порушення процесів функціонування травної системи, пристінкового травлення та всмоктування, а також імунологічного захисту (зважаючи на те, що інтестинальний епітеліальний бар'єр є першою зоною контакту організму з антигенами оточення і провідною ланкою імунного захисту), що, без сумніву, впливає на стан організму обпечених і, в значній мірі, визначає розвиток опікової хвороби, а також перебіг цукрового діабету. Перспектива подальших досліджень у цьому напрямку пов'язанні з вивченням впливу на дванадцятипалу кишку препаратів, що зменшують інтоксикацію організму і рівень цукру в крові.

Результати проведених досліджень показали, що в основі пошкоджень епітеліоцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів з опіковою травмою шкіри лежать глибокі деструктивні зміни, які через 21 добу (в стадії септикотоксимії), як правило, мають не зворотній характер і розвиваються на фоні значної інтоксикації організму. Виявлені за умов здійсненого експерименту структурні зміни епітеліоцитів є свідченням порушення структурної цілісності інтестинального епітеліального бар'єра. У тварин першої та (більшою мірою) третьої експериментальних груп ушкоджений епітелій слизової оболонки дванадцятипалої кишки критично послаблює адекватність своєї функції інтерфейсу між слизовою оболонкою і середовищем



інтестінального просвіту та є нездатним структурно забезпечувати надійність ефективного бар'єру проти токсинів, патогенних мікроорганізмів і антигенних молекул. Відмічено зменшення кількості щільних контактів в інтестінальному епітеліальному бар'єрі дванадцятипалої кишки щурів першої та третьої експериментальних груп та втрата упорядкованості (набуття певної хаотичності) їхньої локалізації у міру збільшення часу після опікової травми. На більшості своєї протяжності інтестінальний епітеліальний бар'єр втрачає цілісність клітинної складової при частковій збереженості базальної мембрани (перше відбувається як за рахунок некрозу епітеліоцитів з щіточковою облямівкою, так і за рахунок повної деструкції келихоподібних клітин). У всіх випадках в інтестінальному епітеліальному бар'єрі з'являються дефекти, які є потенційними шляхами парацелюлярної транслокації патогенного вмісту дванадцятипалої кишки. Не виключно, що частина цього інтестінального патогенного вмісту може бути транслокована і через частково пошкоджені клітин. Свідченням останнього є виявлена наявність мікробних тіл в цитоплазмі клітин з частково зруйнованою плазмолемою (але збереженими органелами та ядром). Адаптивним механізмом щодо забезпечення репарації ушкоджених епітеліоцитів є селективна автофагія, яка виступає чинником рециклізації матеріалу зруйнованих органел і цитоплазматичного матриксу, спрямованого, в першу чергу, на підтримку життєздатності клітин [208-212].



## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання щодо встановлення структурних особливостей пошкодження та компенсаторно-приспосувальних змін у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки щурів після опікової травми шкіри за умов експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету на 7, 14 та 21 добу після початку експерименту.

1. В основі пошкоджень слизової оболонки дванадцятипалої кишки після опікової травми шкіри лежать глибокі деструктивні зміни, переважно некротичного характеру, які на 21 добу, як правило, мають незворотній характер і розвиваються на фоні значної інтоксикації організму. Перебіг структурних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів за розвитком у часі є стадійним: на 7 добу після опікової травми реєструються структурні прояви стадії перенавантаження; на 14 добу – стадія відносної стабілізації гіперфункції; на 21 добу – реєструються структурні прояви поступового виснаження і розвитку декомпенсації.

2. Структурні зміни слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів з цукровим діабетом у фінальній фазі закінчуються клітинною загибеллю, переважно, шляхом апоптозу і за розгортанням проявів компенсації та декомпенсації загалом відповідають характеру компенсаторно-приспосувальних процесів, встановлених у щурів після опікової травми шкіри.

3. У щурів після опікової травми шкіри та цукровим діабетом патологічні процеси не просто «сумуються» (інакше їх проградієнтний перебіг був би прогностично гіршим), а певним чином адаптивно модифікуються із залученням механізмів ER-стресу і асоційованої з ним автофагії.

4. При збереженні структурної впорядкованості м'язової і серозної оболонки, підтвердженої відносною сталістю товщини м'язової та серозної оболонки відмічені кількісні ознаки перебудови слизової оболонки, виразом чого є статистично достовірні зміни товщини ворсинок, ширини крипт, товщини підслизової основи, висоти епітеліоцитів в середній частині ворсинок

та мітотичного індексу стовпчастого епітеліоциту. У тварин після опікової травми шкіри ( $p < 0,005$ ), у тварин з цукровим діабетом товщина підслизової основи дванадцятипалої кишки =  $235,28 \pm 8,60$  мкм; максимум цей показник досягає у тварин після опікової травми шкіри з цукровим діабетом через 21 добу експерименту ( $237,03 \pm 10,82$  мкм з достовірністю від показника у тварин з цукровим діабетом  $p < 0,005$ ). Найбільш виразною є динаміка зміни товщини ворсинок та мітотичного індексу стовпчастих епітеліоцитів, зокрема мітотичний індекс стовпчастих епітеліоцитів щурів після опікової травми шкіри з цукровим діабетом через 21 добу експерименту дорівнює  $1,700 \pm 0,085$  %, що статистично достовірно менше ( $p < 0,001$ ), ідентичного показника інтактних щурів ( $3,367 \pm 0,147\%$ ) та щурів після опікової травми шкіри ( $2,867 \pm 0,171$ ).

5. Структурні зміни слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів після експериментальної опікової травми шкіри за умов експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету через 7, 14 та 21 добу після початку експерименту свідчать про структурні особливості (своєрідність морфологічних рис) перебігу ентеропатії у обпечених з цукровим діабетом.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Smolle, Ch., Cambiaso-Daniel, J., Forbes, A.A. (2017). Recent trends in burn epidemiology worldwide: A systemic review. *Burns*, 43(2), 249-257.
2. Seuring, T., Archangelidi, O., Suhrcke, M. (2015). The economic costs of type 2 diabetes: a global systemic review. *Pharmacoeconomics*, 33. 811-831. doi: 10.1007/s40273-0150-0268-9.
3. IDF Diabetes Atlas [Електронний ресурс] URL: <http://www.diabetesatlas.org/resouces/2017-atlas.html>.
4. Тронько, Н. Д., Зак, К.П. (2019). Современные достижения клинической патофизиологии в изучении патогенеза сахарного диабета 1-го и 2-го типа у человека. *Міжнародний ендокринологічний журнал*, 15(6), 422-434. Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mezh\\_2019\\_15\\_6\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mezh_2019_15_6_4).
5. Маньковський, Б. Н. (2016). Диабетология: что нового в клинических рекомендациях? *Здоров'я України*, 1(33), 13-14.
6. Маньковський, Б. Н. (2018). Диабетология сегодня. Виден ли прорыв в лечении? *Діабет. Ожиріння. Метаболічний синдром*, 2, 39-44.
7. Лукашевич, П.Ю., Орленко, В.Л., Тронько, М.Д. (2017). Сучасні підходи до забезпечення цукрознижувальною терапією хворих на цукровий діабет в Україні. *Ендокринологія*, 1(22), 45-51.
8. Довідник основних показників діяльності ендокринологічної служби України за 2015 рік. (2016). *Ендокринологія*, 21(1), додаток 1, 40.
9. Mitsunaga Junior, J.K., Gragnani, A., Ramos, M.L., & Ferreira, L.M. (2012). Rat an experimental model for burns: a systematic review. *Acta Cir Bras*, 27(6), 417-423.
10. Abdulahi, A., Amini-Nik, S., & Jeschke, M. G. (2014). Animal models in burn research. *Cell Mol Life Sci*, 71(17), 3241-3255.
11. Brito-Casilas, Y., Melian, C., Wagner, A. (2016). Study of the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus through animal models. *Endocrinologia y Nutricion*, 63(7), 345-353. doi: 10.1016/j.endoen.2016.09.002.

12. Asrafuzzaman, M., Cao, Y., Afroz, R., Kamato, D., Gray, S. (2017). Animal models for assessing the impact of natural products on the aetiology and metabolic pathophysiology of type 2 diabetes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89: 1242-1251. doi: 10.1016/j.biopha.2017.03.010.

13. Khoshbaten, M., Madaad, L., Baladast, M., Mohammadi, M., Aliasgarzadeh, A. (2011). Gastrointestinal signs and symptoms among persons with diabetes mellitus. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 4: 219-223. PubMed <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24834186>.

14. Rodrigues, M.L., Motta, M.E. (2012). Mechanisms and factors associated with gastrointestinal symptoms in patients with diabetes mellitus. *J Pediatr*, 88(1):17-24. doi:10.2223/JPED.2153.

15. Ihana-Sugiyama, N., Nagata, N., Yamamoto-Honda, R., Izawa, E., Kajio, H., Shimbo, T., ...Noda, M. (2016). Constipation, hard stools, fecal urgency, and incomplete evacuation, but not diarrhea is associated with diabetes and its related factors. *World J Gastroenterol.*, 22(11): 3252-3260. doi: 10.3748/wjg.v22.i11.3252.

16. Azpiroz, F. & Malagelada, C. (2016). Diabetic neuropathy in the gut: pathogenesis and diagnosis. *Diabetologia*, 59: 404. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3831-1>.

17. Gotfried, J., Priest, S., Schey, R. (2017). Diabetes and the small intestine. *Curr Treat Options Gastroenterol*, 15(4):490-507. doi: 10.1007/s11938-017-0155-x.

18. Netyukhailo, L. G., Kharchenko, A. G., & Kostenko, S. V. (2011). Pathogenesis of burn disease (in 2 parts). *World of Medicine and Biology*, 1, 127-131, 131-135.

19. Galunko, G.M. (2017). Histological changes in the small intestine in the advanced stages of burn diseases. *World of Medicine and Biology*, 3(61), 90-96. doi: 10.26724/ 2079-8334-2017-3-61-90-96.

20. Evers, L.H. (2010). The biology of burn injury. *Exp. Dermatol*, 19(2), 9, 777-783. doi: 10.1111/j.1600-0625.2010.01105.x.

21. Черкасов, В.Г., Ковальчук, А.И., Дзевульская, И.В., Черкасов, Э.В., Маликов, А.В., Титаренко, В.Н., Лахтадыр, Т.В., Маткивская, Р.М. (2014).

Структурные механизмы цитопротекции во внутренних органах при инфузионной терапии ожоговой болезни. *Biomedical and biosocial anthropology*, 23, 6-12.

22. Черкасов, В.Г., Дзевульская, И.В., Ковальчук, А.И., Черкасов, Э.В. (2015). Структурные модификации эндотелия сосудов гемомикроциркуляторного русла органов нейроиммуноэндокринной системы при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперосмолярных растворов. *The modern achievements of Azerbaijan medicine*, 4, 161-169.

23. Черкасов, В.Г., Дзевульская, И.В., Ковальчук, А.И., Черкасов, Э.В., Маликов, А.В., Лахтадыр, Т.В., Титаренко, В.Н., Маткивская, Р.М. (2015). Ультраструктурные изменения эндотелия кровеносных капилляров внутренних органах при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперосмолярных растворов. *Вісник морфології*, 21(1), 96-102.

24. Черкасов, В.Г., Ковальчук, А.И., Дзевульская, И.В., Черкасов, Э.В., Маликов, А.В., Титаренко, В.Н., Лахтадыр, Т.В., Маткивская, Р.М. (2014). Структурные особенности адаптации при инфузионной терапии ожоговой болезн. *Світ медицини та біології*, 4(46), 165-170.

25. Черкасов, В.Г., Дзевульская, И.В., Ковальчук, А.И., Черкасов, Э.В., Маликов, А.В., Лахтадыр, Т.В., Титаренко, В.Н., Маткивская, Р.М. (2015). Ультраструктурные трансформации межклеточного вещества во внутренних органах при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперосмолярных растворов. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 14, 1(51), 37-44.

26. Чайковський, Ю.Б., Черкасов, Е.В. (2016). Структурні модифікації тілець тимуса (тілець Гассалья) за умов експериментальної опікової хвороби та її лікування шляхом інфузії лактропротеїну з сорбітолом. *Вісник морфології*, 1 (22), 70-75.

27. Козинец, Г.П., Слесаренко, С.В. & Повстяной, Н.Е. (2004). Ожоговая интоксикация. Патогенез, клиника, принципы лечения. К.: Феникс.

28. Бігуняк, В.В., Повстяний, М.Ю. (2004). Термічні ураження. Тернопіль: Укрмедкнига, с. 196.
29. Козинець, Г.П., Слесаренко, С.В., & Сорокіна, О.М. (2008). Опікова травма та її наслідки. Дніпропетровськ: Преса України, с. 224.
30. Мартусевич, А.К., Перетягин, С.П. & Погодін, І.Е. (2009). Метаболические аспекты патогенеза ожогового эндотоксикоза. Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 1, 30-32.
31. Клименко, М.О., Нетюхайло, Л.Г. (2009). Опікова хвороба (патогенез і лікування). Полтава, с. 118.
32. Clark, J. A., & Coopersmith, C. M. (2007). Intestinal crosstalk – a new paradigm for understanding the gut as the “motor” of critical illness. *Shock* (Augusta, Ga), 28(4), 384-393.
33. Grimes, L., Doyle, A., Miller, A. L., Pyles, R. B., Olah, G., Szabo, C., Eaves-Pyles, T. (2016). Intraluminal Flagellin Differentially Contributes to Gut Dysbiosis and Systemic Inflammation following Burn Injury. *PLoS ONE*, 11(12), e0166770.
34. Шейман, Б. С., & Трещинский, А. И. (2001). Взгляд на проблему токсикоза и интоксикации. *Современные проблемы токсикологии*, 1, 3-10.
35. Winchurch, R. A., Thupari, J. H., Munster, A. M. (1987). Endotoxemia in burn patients: levels of circulating endotoxins are related to burn size. *Surgery*, 102, 808-812.
36. Пасечка, Н. В. (1996). Морфологія кишки при опіковій хворобі та після корекції ентеросорбентами (Докторська дисертація). <http://ifnmu.edu.ua>
37. Carter, E. A., Udall, J. N., Kirkham, S. E., Walker, W. A. (1986). Thermal injury and gastrointestinal function. I. Small intestine nutrient absorption and DNA synthesis. *J. Burn. Care. Rehab.*, 7, 469-474.
38. Повстяний, М. Ю., Б.С. Шейман, Осадча, О. І. (2001). Динаміка токсометричних показників у хворих з тяжкими та вкрай тяжкими опіками. *Шпитальна хірургія*, 4, 53-56.
39. Матківська, Р.М. (2017). Структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри



за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом. Вісник Вінницького національного медичного університету, 21(2), 385-392.

40. Матківська, Р.М. (2017). Структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов інфузії 0.9% розчину NaCl. Вісник морфології, 23(2), 231-240.

41. Матківська, Р.М. (2017). Структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов інфузії розчину гекотону. Biomedical and biosocial anthropology, 29, 20-26.

42. Varedi, M., Greeley, G. H. Jr., Herndon, D. N., Englander, E. W. (1999). A thermal injury-induced circulating factor(s) compromises intestinal cell morphology, proliferation, and migration. American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology, 277(1), 175-182.

43. Wolf, S. E., Ikeda, H., Matin, S., Debroy, M. A., Rajaraman, S., Herndon, D. N., Thompson, J. C. (1999). Cutaneous burn increases apoptosis in the gut epithelium of mice. *J. Am. Coll. Surg.*, 188(1), 10-16.

44. Wlodkovic, D., Telford, W., Skommer, J., Darzynkiewicz, Z. (2011). Apoptosis and beyond: cytometry in studies of programmed cell death. *Methods Cell Biol.*, 103, 55-98.

45. Husain, K. D., Stromberg, P. E., Woolsey, C. A., Turnbull, I. R., Dunne, W. M., Javadi, P., Coopersmith, C. M. (2005). Mechanisms of decreased intestinal epithelial proliferation and increased apoptosis in murine acute lung injury. *Critical care medicine*, 33(10), 2350-2357.

46. Dagenais, M., Douglas, T., Saleh, M. (2014). Role of programmed necrosis and cell death in intestinal inflammation. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 30(6), 566-575.

47. Wang, L., Li, J., Li, Q., Zhang, J., Duan, X. L. (2003). Morphological changes of cell proliferation and apoptosis in rat jejunal mucosa at different ages. *World J. Gastroenterol.*, 9(9), 2060-2064.

48. Vyas, D., Robertson, C. M., Stromberg, P. E., Martin, J. R., Dunne, W. M., Houchen, C. W., Coopersmith, C. M. (2007). Epithelial apoptosis in mechanistically

distinct methods of injury in the murine small intestine. *Histology and histopathology*, 22(6), 623-630.

49. Reino, D. C., Pisarenko, V., Palange, D., Doucet, D., Bonitz, R. P., Lu, Q., Feinman, R. (2011). Trauma Hemorrhagic Shock-Induced Lung Injury Involves a Gut-Lymph-Induced TLR4 Pathway in Mice. *PLoS ONE*, 6(8), e14829.

50. Watson, A. J., & Hughes, K. R. (2012). TNF- $\alpha$ -induced intestinal epithelial cell shedding: implications for intestinal barrier function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1258, 1-8.

51. Гаврилюк, А. О., Гунас, І. В., Галунко, Г. М., Черешнюк, І. Л., Лисенко, Д. А. (2017). Показники клітинного циклу і фрагментації ДНК клітин слизової оболонки тонкої кишки через 14, 21 та 30 діб після опікового ушкодження шкіри на фоні інфузії 0,9 % розчину NaCl. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 29, 104-108.

52. Gavryluk, A. O., Galunko, G. M., Cheresniuk, I. L., Tikholaz, V. O., Cherkasov, E.V., Dzevulska, I. V., Kovalchuk, O. I. (2018). Indicators cell cycle and DNA fragmentation in cells of small intestine mucosa 14, 21 and 30 days after skin burns on the background of preliminary infusion of solution lactoprotein with sorbitol or HAES-LX 5%. *World of Medicine and Biology*, 1(63), 104-108.

53. Галунко, Г.М. (2018). Показники клітинного циклу клітин слизової оболонки тонкої кишки щурів через 14, 21 та 30 діб після попередньої інфузії 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX 5%. «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку» : Міжнародна науково-практична конференція : мат. конф. – Львів,. – С. 10-12.

54. Deitch, E.A. (1990). Intestinal permeability is increased in burn patients shortly after injury. *Surgery*, 107(4):411-416. doi: 10.1002/bjs.1800770541.

55. Epstein, M.D., Tchervenkov, J.I., Alexander, J.W, Johnson, J.R., and Vester, J.V. (1991). Increased gut permeability following burn trauma. *Arch. Surg.*, 126, 198-200. doi:10.1001/archsurg/1991/01410260086012.

56. Turner, J.R. (2009). Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 9(11):799-809. doi: 10.1038/nri2653.

57. Elshaer, D., & Begun, J. (2017). The role of barrier function, autophagy, and cytokines in maintaining intestinal homeostasis. *Semin. Cell Dev. Biol.* 61,51-59. doi: 10.1016/j.semcdb.2016.08.018.
58. Magnotti, L.J., Deitch, E.A. (2005). Burns, bacterial translocation, gut barrier function, and failure. *Journal of Burn Care & Rehabilitation.* 26(5):383-391. doi: 10.1097/01.bcr.0000176878.79267.e8.
59. Arrieta, M. C., Madsen, K., Doyle, J., Meddings, J. (2009). Reducing small intestinal permeability attenuates colitis in the IL10 gene-deficient mouse. *BMJ journals*, 58, (1). doi: 10.1136/gut.2008.150888.
60. Chen, C., Wang, P., Su, Q., Wang, S., Wang, F. (2012) Myosin Light Chain Kinase Mediates Intestinal Barrier Disruption following Burn Injury. *PLoS ONE* 7(4): e34946. doi.10.1371/journal.pone.0034946.
61. Carter, S.R., Zahs, A., Palmer, J.L., Ramirez, L., Gamelli, R.L., et al. (2013). Intestinal barrier disruption as a cause of mortality in combined radiation and burn injury. *Shock*, 40,281-289. doi: 10.1097/SHK.0bo13e3182a2c5b5.
62. Clark, A., Imran, J., Madni, T., and Wolf, S.E. (2017). Nutrition and metabolism in burn patients. *Burns Trauma*, 5:11. doi: 10.1186/s41038-0170076-x.
63. Huang, Ya., Feng, Ya., Wang, Yu., Wang, Pei., Wang, Fe., & Ren, Hui. (2018). Severe burn-induced intestinal epithelial barrier dysfunction is associated with endoplasmic reticulum stress and autophagy in mice. *Front Physiol*, 9:441. doi: 10.3389/fphys.2018.00441.
64. Keck, M., Herdon, D. & Komolz, L.-P. (2009). Pathophysiology of burns. *Wien Med Wochenschr*, 159, 327-336.
65. Alam, M.S., Begum, S.H. (2010). Multiple organ dysfunction syndrome in major burns patients. *Medicine Today*, 22, 22, 75-79.
66. Kallinen, O., Kallinen, K. & Bohling, T. (2012). Multiple organ failure as a cause of death in patients with severe burns. *Burn Care and Research*, 33, 2, 206-211.
67. Авдеев, В.Г. (2010). Диабетическая энтеропатия. *Фарматека*, 3, 46-49.
68. Малиновская, Н.А. (2010). Поражения пищеварительного тракта при сахарном диабете. *Буковинський медичний вісник*, 14(1), 168-172.

69. Левин, О.С. (2011). Диабетическая вегетивная невропатия. *Врач*, 8, 5-11.
70. Филиппов, Ю. (2011). Гастроэнтерологические нарушения при диабетической нейропатии. *Врач*, 4, 96-101.
71. Boland, B.S., Edelman, S.V., Wolosin, J.D. (2013). Gastrointestinal complications of diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 42(4):809-32. doi: 10.1016/j.ecl.2013.07.006.
72. Thomas, H. (2015). Diabetes: Circulating factors implicated in diabetic enteropathy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*, 12(12):671. doi: 10.1038/nrgastro.2015.183.
73. Погромов, А.П., Батуров, В.Ю. (2011). Диабетическая автономная невропатия и органы пищеварения. *Фарматека*, 218 (5), 42-45.
74. Самигуллина, А.Э., Тельнизова, О.В. (2016). Современные аспекты развития диабетической автономной нейропатии (обзор литературы). *Наука, новой технологии и инновации Кыргызстана*, 2, 29-32.
75. Котова, О.В., Акарачева, Е.С. (2017). Диабетическая автономная полинейропатия. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*, 2 (117), 169-173. doi: 10.17116/jnevro201711721169-173.
76. Bansal, V., Kalita, J., Misra, U.K. (2006). Diabetic neuropathy. *BMJ journals.* 82, (964), 95-100. doi: 10.1136/pgmj.2005.036137.
77. Ярмоленко, О.А., Малаева, Е.Г., Худяков, И.А., Меньшакова, М.Н., Корбусева, Л.А. (2018). Диабетическая энтеропатия. *Проблемы здоровья и экологии*, 3 (57), 70-74.
78. Shakil, A., Church, R.J., Roa, S.S. (2008). Gastrointestinal complications of diabetes. *Am Fam Physician.* 77, 1697-1702.
79. Yorek, M., Calcutt, N.A., Vinik, A., Yagihashi, S. (2018). Diabetic Neuropathy: New Insights to Early Diagnosis and Treatments. *J Diabetes Res.* ID5378439. doi: 10.1155/2018/5378439.
80. Babizhayev, M.A., StokovValery, I.A., Nosikov, V.V., Savel'yeva, E.L., Sitnikov, V.F., Yegorov, Y.E., Lankin, V.Z. (2015). The Role of Oxidative Stress in

Diabetic Neuropathy: Generation of Free Radical Species in the Glycation Reaction and Gene Polymorphisms Encoding Antioxidant Enzymes to Genetic Susceptibility to Diabetic Neuropathy in Population of Type I Diabetic Patients. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 71 (3), 1425–1443. Doi: 10.1007/s12013-014-0365-y

81. Wahren, J. (2017). C-peptide and the pathophysiology of microvascular complications of diabetes. *281(1):3-6*. doi: 10.1111/joim.12541.

82. Vague, P., [Coste T.C](#) ., Jannot, M.F., Raccah, D., Tsimaratos, M. (2004). C-peptide, Na<sup>+</sup>, K<sup>(+)</sup>-ATPase, and diabetes. *Experimental Diabetes Research*, 5(1),37-50. doi: 10.1080/15438600490424514.

83. Lattimer, S.A., Sima, A.A., Greene, D.A. (1989). In vitro correction of impaired Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in diabetic nerve by protein kinase C agonists *Am J Physiol.*;256(2 Pt 1):E264-9. DOI: 10.1152/ajpendo.1989.256.2.E264.

84. Cameron, S. E., Eaton, M., Cotter, M. A., Tesfaye, S. (2001). Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia*, 44( 11), 1973–1988. doi: 10.1007/s001250100001.

85. Arun, V., Krishnan, Matthew C. Kiernan. (2005). Altered nerve excitability properties in established diabetic neuropathy. *Brain*, 128(5), 1178–1187. doi.org/10.1093/brain/awh476.

86. Østergaard, L., Finnerup, N.B., Terkelsen, A.J., Olesen, R.A., Drasbek, K.R., Knudsen, L., ...Thomsen, R.W. (2015). The effects of capillary dysfunction on oxygen and glucose extraction in diabetic neuropathy. *Diabetologia*, 58 (4), 666–677. doi: 10.1007/s00125-014-3461-z.

87. Frokjær, J.B., Anderse, S.D., Ejkskjær, N., Funch-Jensen, P., Drewes, A.M., Gregersen, H. (2007). Impaired contractility and remodeling of the upper gastrointestinal tract in diabetes mellitus type-1. *World J Gastroenterol*. 13(36), 4881-4890. doi: 10.3748/wjg.v13.i36.4881.

88. Zhao, J., Yang, J., Gregersen, H. (2003). Biomechanical and morphometric intestinal remodelling during experimental diabetes in rats. *Diabetologia*, 46,( 12),1688–1697. doi: 10.1007/s00125-003-1233-2.

89. Zhao, J., Frokjær, J.B., Drewes, A.M., Ejksjær, N. (2006). Upper gastrointestinal sensory-motor dysfunction in diabetes mellitus. *World J Gastroenterol*, 12(18): 2846-2857. doi: 10.3748/wjg.v12.i18.2846.
90. Zhao, J., Nakaguchi, T., Gregersen, H. Biomechanical and Histomorphometric Colon Remodelling in STZ-Induced Diabetic Rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 54,(8) , 1636–1642. doi: 10.1007/s10620-008-0540-3.
91. Zhao, M., Liao, D., Zhao, J. (2017). Diabetes-induced mechanophysiological changes in the small intestine and colon. *World J Diabetes*, 8(6): 249-269. doi: 10.4239/wjd.v8.i6.249.
92. Charlton, M., Ahlman, B., Nair, K.S. (2000). The effect of insulin on human small intestinal mucosal protein synthesis. *Gastroenterology* 118, Issue 2, Pages 299–306. doi: 10.1016/S0016-5085(00)70212-5.
93. Adeghate, E., Ponery, A. S., Sharma, A. K., El-Sharkawy, T., & Donáth, T. (2001). Diabetes Mellitus is Associated with a Decrease in Vasoactive Intestinal Polypeptide Content of Gastrointestinal Tract of Rat. *Diabetes Mellitus is Associated with a Decrease in Vasoactive Intestinal Polypeptide Content of Gastrointestinal Tract of Rat. Archives of Physiology and Biochemistry*. 109 (3), 246-251. doi.org/10.1076/apab.109.3.246.11587.
94. Miró-Queralt, M., Guinovart, J.J., Planas, J.M. (2008). Sodium tungstate decreases sucrase and Na<sup>+</sup>/D-glucose cotransporter in the jejunum of diabetic rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 295(3):G479-84. doi: 10.1152/ajpgi.00566.2007.
95. Spångéus, A., Forsgren, S., El-Salhy, M. (2001). Effect of diabetic state on co-localization of substance P and serotonin in the gut in animal models. *Histol Histopathol.*, 16(2):393-8. doi: 10.14670/HH-16.393.
96. Adeghate, E., al-Ramadi, B., Saleh, A.M., Vijayarasathy, C., Ponery, A.S., Arafat, K., ...El-Sharkawy, T. (2003). Increase in neuronal nitric oxide synthase content of the gastroduodenal tract of diabetic rats. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 60, (6), 1172–1179. doi: 10.1007/s00018-003-2298-2.

97. Noda, T., Iwakiri, R., Fujimoto, K., Yoshida, T., Utsumi, H., Sakata, H., ... Aw, T.Y. (2001). Suppression of apoptosis is responsible for increased thickness of intestinal mucosa in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism*, 50 (3), 259-264. doi: 10.1053/meta.2001.21030.
98. Tormo, M. A., Martínez, I. M., Romero de Tejada, A., Gil-Exojo, I., Campillo, J. E. (2002). Morphological and enzymatic changes of the small intestine in an n0-STZ diabetes rat model. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 110(3): 119-123 doi: 10.1055/s-2002-29088.
99. Adachi, T., Mori, C., Sakurai, K., Shihara, N., Tsuda, K., Yasuda, K. (2003). Morphological Changes and Increased Sucrase and Isomaltase Activity in Small Intestines of Insulin-Deficient and Type 2 Diabetic Rats. *Endocrine Journal*, 50 (3), 271-279. doi.org/10.1507/endocrj.50.271.
100. [Zhao, J .](#), [Chen, P .](#), [Gregersen, H .](#) (2013). Morpho-mechanical intestinal remodeling in type 2 diabetic GK rats--is it related to advanced glycation end product formation? *Journal of Biomechanics*, 46(6):1128-1134. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2013.01.010.
101. Sha, H., Zhao, J.B., Zhang, Z.Y., Zhou, S.P., Tong, X.L., Zhuang, R.Y., Gregersen, H. (2006). Effect of Kaiyu Qingwei Jianji on the morphometry and residual strain distribution of small intestine in experimental diabetic rats. *World J Gastroenterol.*, 12(44): 7149-7154. doi: 10.3748/wjg.v12.i44.7149.
102. Chen, P., Zhao., J. (2012). Up-Regulated Expression of Advanced Glycation End-Products and Their Receptor in the Small Intestine and Colon of Diabetic Rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 57, (1), 48–57. doi: 10.1007/s10620-011-1951-0.
103. Liu, G.F., Zhao, J.B., Zhen, Z., Sha, H., Chen, P.M., Li, M., ...Tong, X.L. (2012). Effect of Tangweian Jianji on upper gastrointestinal remodeling in streptozotocin-induced diabetic rats. *World J Gastroenterol*. Sep 21, 2012; 18(35): 4875-4884. doi: 10.3748/wjg.v18.i35.4875.

104. Siegman, M.J., Eto, M., Butler, T.M. (2016). Remodeling of the rat distal colon in diabetes: function and ultrastructure. *Am J Physiol Cell Physiol*, 310 (2), 151-160. doi.org/10.1152/ajpcell.00253.2015.
105. El-Salhy, M. (2001). Gastrointestinal transit in nonobese diabetic mouse: An animal model of human diabetes Type 1. *Journal of Diabetes and its Complications*, 15, (5), 277-284. doi: 10.1016/S1056-8727(01)00158-1.
106. El-Salhy, M. (2002). Gastrointestinal Transit in an Animal Model of Human Diabetes Type 2: Relationship to gut neuroendocrine peptide contents. *Upsala Journal of Medical Sciences* Volume 107 (2), 101-110. doi: 10.3109/2000-1967-133.
107. Anjaneyulu, M., Ramarao, P. (2002). Studies on gastrointestinal tract functional changes in diabetic animals. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*,24(2):71-5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12040885>.
108. Zhao, J., Chen, P., Gregersen, H. (2013). Stress-strain analysis of jejunal contractility in response to flow and ramp distension in type 2 diabetic GK rats: effect of carbachol stimulation. *J Biomech*, 27; 46 (14): 2469-76. doi: 10.1016/j.jbiomech.2013.07.019.
109. Zhao, J., Chen, P., Gregersen, H. (2013). Changes of phasic and tonic smooth muscle function of jejunum in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *World J Diabetes*, 4(6): 339-348 doi: 10.4239/wjd.v4.i6.339.
110. Zhao, J., Chen, P., Gregersen, H. (2015). Stress-strain analysis of contractility in the ileum in response to flow and ramp distension in streptozotocin-induced diabetic rats--association with advanced glycation end product formation. *Journal of Biomechanics*, 48(6):1075-1083. doi: 10.1016/j.jbiomech.2015.01.027.
111. Kashyap, P.C, Marcobal, A., Ursell, L.K., Larauche, M., Duboc, H., Earle, K.A., Sonnenburg, E.D., Ferreyra, J.A., Higginbottom, S.K., Million, M., Tache, Y., Pasricha, P.J., Knight, R., Farrugia, G., Sonnenburg, J.L. (2013). Complex interactions among diet, gastrointestinal transit, and gut microbiota in humanized mice. *Gastroenterology*, 144(5):967-77. doi: 10.1053/j.gastro.2013.01.047.
112. Tottey, W., Feria-Gervasio, D., Gaci, N., Laillet, B., Pujos, E., Martin, J.F., Sebedio, J.L., Sion, B., Jarrige, J.F., Alric, M., Brugère, J.F. (2017). Colonic



Transit Time Is a Driven Force of the Gut Microbiota Composition and Metabolism: In Vitro Evidence. *J Neurogastroenterol Motil*, 23(1):124-134. doi: 10.5056/jnm16042.

113. Wirth, R., Bódi, N., Maróti, G., Bagyánszki, M., Talapka, P., Fekete, E., Bagi, Z., Kovács, K.L. (2014). Regionally Distinct Alterations in the Composition of the Gut Microbiota in Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes. *PloS One*. doi: 10.1371/journal.pone.0110440.

114. Rhee, S.H., Pothoulakis, C., Mayer, E.A. (2009). Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 6(5):306-14. doi: 10.1038/nrgastro.2009.35.

115. Barbara, G., Stanghellini, V., Brandi, G., Cremon, C., Di Nardo, G., De Giorgio, R., Corinaldesi, R. (2005). Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 100(11):2560-2568. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.00230.x.

116. Tai, N., Wong, F.S., Wen, L. (2016). The role of gut microbiota in the development of type 1, type 2 diabetes mellitus and obesity. *Rev Endocr Metab Disord*, (1):55-65. doi: 10.1007/s11154-015-9309-0.

117. Allin, K.H., Nielsen, T., Pedersen, O. (2015). Mechanisms in endocrinology: Gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*, 172(4):R167-77. doi: 10.1530/EJE-14-0874.

118. Harmsen, H.J., de Goffa, M.C. (2016). The Human Gut Microbiota. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 902, 95-100. doi: 10.1007/978-3-319-31248-4.

119. Brown, E.M., Kenny, DJ., Xavier, R.J. (2019). Gut Microbiota Regulation of T Cells During Inflammation and Autoimmunity. *Annu Rev Immunol*, 26;37:599-624. doi: 10.1146/annurev-immunol-042718-041841.

120. Lin, L., Zhang, J. (2017). Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC Immunol*, 6;18(1):2. doi: 10.1186/s12865-016-0187-3.

121. Dominguez-Bello, M.G., Godoy-Vitorino, F., Knight, R., Blaser, M.J. (2019). Role of the microbiome in human development. *BMJ journals*, 68, (6). doi: 10.1136/gutjnl-2018-317503.
122. Кожевников, А.А., Раскина, К.В., Мартынова, Е.Ю., Тяхт, А.В., Перфильев, А.В., Драпкина, О.М., Сычев, Д.А., Фатхутдинов, И.Р., Мусиенко, С.В., Никогосов, Д.А., Жегулина, И.О., Бавыкина, Л.Г., Каршиева, А.В., Селезнева, К.С., Алексеев, Д.Г., Потешкин, Ю.Е. (2017). Кишечная микробиота: современные представления о видовом составе, функциях и методах исследования. *РМЖ - Русский медицинский журнал*, 17, 1244–1247.
123. Lazar, V., Ditu, L.M., Pircalabioru, G.G., Gheorghe, I., Curutiu, C., Holban, A.M., Picu, A., Petcu, L., Chifiriuc, M.C. (2018). Aspects of Gut Microbiota and Immune System Interactions in Infectious Diseases, Immunopathology, and Cancer. *Front Immunol*, 15;9:1830. doi: 10.3389/fimmu.2018.01830.
124. Neish, A.S. (2009). Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, 136(1):65-80. doi: 10.1053/j.gastro.2008.10.080.
125. Sonnenburg, J.L., Bäckhed, F. (2016). Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature.*, 7;535(7610):56-64. doi: 10.1038/nature18846.
126. Sekirov, I., Russell, S.L., Antunes, L.C., Finlay, B.B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*, 90(3):859-904. doi: 10.1152/physrev.00045.2009.
127. Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C., et al. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 4;464(7285):59-65. doi: 10.1038/nature08821.
128. Hugon, P., Dufour, J.C., Colson, P., Fournier, P.E., Sallah, K., Raoult, D. (2015). A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings. *Lancet Infect Dis*, 15(10):1211-1219. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00293-5.

129. Frank, D.N., St. Amand, A.L., Feldman, R.A., Boedeker, E.C., Harpaz, N., and Pace, N.R. (2007). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *PNAS*, 104 (34) 13780-13785; <https://doi.org/10.1073/pnas.0706625104>.
130. Human Microbiome Project Consortium. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 13;486(7402):207-14. doi: 10.1038/nature11234.
131. Ardisson, A.N., de la Cruz, D.M., Davis-Richardson, A.G., Rechcigl, K.T., Li, N., Drew, J.C., Murgas-Torrazza, R., Sharma, R., Hudak, M.L., Triplett, E.W., Neu, J. (2014). Meconium Microbiome Analysis Identifies Bacteria Correlated with Premature Birth. *PLoS One*, 10;9(3):e90784. doi: 10.1371/journal.pone.0090784.
132. Kantárová, D., Buc, M. (2007). Genetic susceptibility to type 1 diabetes mellitus in humans. *Physiol Res.*, 56(3):255-66.
133. Polychronakos, C., Li, Q. (2011). Understanding type 1 diabetes through genetics: advances and prospects. *Nat Rev Genet.*, 18;12(11):781-92. doi: 10.1038/nrg3069.
134. Alkanani, A.K., Hara, N., Gottlieb, P.A., Ir, D., Robertson, C.E., Wagner, B.D., Frank, D.N., Zipris, D. (2015). Alterations in Intestinal Microbiota Correlate With Susceptibility to Type 1 Diabetes. *Diabetes.*, 64(10):3510-20. doi: 10.2337/db14-1847.
135. Brown, C.T., Davis-Richardson, A.G., Giongo, A., Gano, K.A., Crabb, D.B., Mukherjee, N., Casella, G., Drew, J.C., Ilonen, J., Knip, M., Hyöty, H., Veijola, R., Simell, T., Simell, O., Neu, J., Wasserfall, C.H., Schatz, D., Atkinson, M.A., Triplett, EW. (2011). Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PLoS One.*, 6(10):e25792. doi: 10.1371/journal.pone.0025792.
136. Vaarala, O. (2012). Is the origin of type 1 diabetes in the gut? *Immunol Cell Biol.*, 90(3):271-6. doi: 10.1038/icb.2011.115.

137. [Rook, G.A.](#), [Brunet, L.R.](#) . (2005). Microbes, immunoregulation, and the gut. *Gut*, 54(3):317-320. doi: 10.1136/gut.2004.053785.
138. Bach, J.F., Chatenoud, L. (2012). The hygiene hypothesis: an explanation for the increased frequency of insulin-dependent diabetes. *Cold Spring Harb Perspect Med.*, 2(2):a007799. doi: 10.1101/cshperspect.a007799.
139. Maffei, C., Martina, A., Corradi, M., Quarella, S., Nori, N., Torriani, S., Plebani, M., Contreas, G., Felis, G.E. (2016). Association between intestinal permeability and faecal microbiota composition in Italian children with beta cell autoimmunity at risk for type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.*, [32\(7\)](#), 700-709. doi: 10.1002/dmrr.2790.
140. De Goffau, M.C., Luopajarvi, K., Knip, M., Ilonen, J., Ruohtula, T., Härkönen, T., et al. (2013). Fecal Microbiota Composition Differs Between Children With  $\beta$ -Cell Autoimmunity and Those Without. *Diabetes*, 62(4): 1238-1244. doi: 10.2337/db12-0526.
141. Kostic, A.D., Gevers, D., Siljander, H., Vatanen, T., Hyötyläinen, T., Hämäläinen, A.M., Peet, A., Tillmann, V., Pöhö, P., Mattila, I., Lähdesmäki, H., Franzosa, E.A., Vaarala, O., de Goffau, M., Harmsen, H., Ilonen, J., Virtanen, S.M., Clish, C.B., Orešič, M., Huttenhower, C., Knip, M. (2015). The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. *Cell Host Microbe.*, 11;17(2):260-73. doi: 10.1016/j.chom.2015.01.001.
142. Damasceno, D. C., Netto, A. O., Iessi, I. L., Gallego, F. Q., Corvino, S. B., Dallaqua, B., Sinzato, Y. K., Bueno, A., Calderon, I. M. P., and Rudge, M. V. C (2014). Streptozotocin-Induced Diabetes Models: Pathophysiological Mechanisms and Fetal Outcomes. *BioMed Research International*, 2014:819065. doi: 10.1155/2014/819065.
143. Goyal, S.N., Reddy, N.M., Patil, K.R., Nakhate, K.T., Ojha, S., Patil, C.R., Agrawal, Y.O. (2016). Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes - A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chem Biol Interact.*, 244:49-63. doi: 10.1016/j.cbi.2015.11.032.

144. Sah, S.P., Singh, B., Choudhary, S., Kumar, A. (2016). Animal models of insulin resistance: A review. *Pharmacol Rep.*, 68(6):1165-1177. doi: 10.1016/j.pharep.2016.07.010.
145. Von Herrath, M., Nepom, G.T. (2009). Animal models of human 1 diabetes. *Nature Immunol.*, 10(2): 129-132. doi: 10.1038/ni0209-129.
146. Etuk, E.U. (2010). Animal models for studying diadetes mellitus. *Agriculture and biology journal of North America.*, 1(2): 130-134.
147. Sharma, E.U., Dwivedi, J., Jha, A.K., Swapnil, S. (2010). Experimental models of diabetes. *Intern. J. Res. Ayur. Pharm.*, 1(2): 292-301.
148. King, A.J. (2012). The use of animal models in diabetes research. *Br. J. Pharmacol.*, 166 (3): 877-894.
149. Можейко, Л.А. (2013). Экспериментальные модель для изучения сахарного диабета. Часть II. Хирургический, стрептозотоциновый и дитинизоновый диабет. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*, 4:5-10.
150. Radenkovic, M., Stojanovic, M., Prostran, M. (2016). Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 78:13–31. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2015.11.004>.
151. Кривко, Ю.Я. (2003). Зміни ультраструктури синапсів і рухових нейронів передніх рогів спинного мозку у щурів з стрептозотоциновиніндукованим діабетом. *Практична медицина*, 9 (5), 91-95.
152. Кривко, Ю.Я. (2004). Ендогенез структурних змін складових частин простої рефлектоної дуги як головний компонент у розвитку стрептозотоциніндукованої діабетичної нейропатії і вплив на нього нікотинаміду. *Вісник морфології*, 10 (1), 83-87.
153. Борисюк, М.В. (2002). Зміни активності еластази та її інгібіторів у тканинах аорти та сироватці крові щурів із стрептозотоциновиніндукованим цукровим діабетом. *Фізіол.журнал*, 48 (4), 47-52.

154. Байдас, Г., Дондер, Е., Килибоз, М., [и др.]. (2004). Нейрозащита  $\alpha$ -липоевой кислотой при стрептозотозин-индуцированном диабете. Биохимия, 69 (9), 1233-1238.

155. Горбенко, Н.И. (2004). Влияние фенсукцинала на показатели оксидативного стресса в митохондриях печени диабетических крыс. Проблемы эндокринной патологии, 2, 91-95.

156. Покотило, П. Б. (2011). Ультраструктурні зміни фільтраційно-реабсорбційного бар'єру нирки щура на 28 добу перебігу стрептозотозиніндукованого цукрового діабету. Вісник морфології, 17 (2), 281-285.

157. Покотило, П. Б., Матешук-Вацеба, Л. Р. (2011). Морфологічні особливості організації ультраструктурних компонентів фільтраційного бар'єру нирки щура на 42 добу перебігу стрептозотозиніндукованого цукрового діабету. Вісник Вінницького національного медичного університету, 15 (2), 227-232.

158. Покотило, П. Б. (2012). Гістологічне дослідження нирки щура в нормі та на ранніх термінах стрептозотозиніндукованого цукрового діабету та в нормі. Світ медицини та біології, 4, 34-38.

159. Покотило, П. Б. (2012). Ультраструктурні зміни компонентів фільтраційного апарату нирки щура через 70 діб перебігу стрептозотозиніндукованого цукрового діабету. Науковий вісник Ужгородського університету. Сер. : Медицина, 2, 8-11.  
[http://nbuv.gov.ua/UJRN/UNUMED\\_2012\\_2\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/UNUMED_2012_2_4).

160. Покотило, П. Б. (2012). Ультраструктурне дослідження компонентів фільтраційного бар'єру нирки щура на 14 добу перебігу стрептозотозиніндукованого цукрового діабету. Галицький лікарський вісник, 19, (4), 58-61.

161. Покотило, П. Б. (2010). Електронномікроскопічне дослідження динаміки змін структурних компонентів кори нирки щура при стрептозотозиніндукованому цукровому діабеті. VI Міжнародні Пироговські

читання, присвячені 200-річчю з дня народження М. І. Пирогова. V зїзд АГЕТ України 2-5 червня 2010 р. м. Вінниця, с. 96.

162. Покотило, П. Б. (2009). Електронномікроскопічне дослідження динаміки змін структурних компонентів фільтраційного бар'єру нирки на ранніх стадіях стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. VI Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених "Сьогодні та майбутнє медицини", 9-10 квітня 2009 року, с. 67.

163. Борис, Р.Я., Танчин, І.А., Блищак, Р.Б., Дісковський, І. (2010). Електронномікроскопічне дослідження гемомікроциркуляторного русла різних шарів шкіри білого щура при експериментальному цукровому діабеті. Вісник морфології, 2 (2), 12-15.

164. Джалілова, Е.А., Головацький, Ю.С., Пальтов, Є.В. (2010). Ультраструктурна характеристика капілярної ланки лівих відділів серця щурів на пізніх етапах перебігу стрептозотоцинового діабету. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія, 2, 23-25.

165. Джалілова, Е.А., Пальтов, Є.В., Кривко, Ю.Я. (2009). Морфометрична характеристика гемомікроциркуляторного русла стінки серця щурів при експериментальному стрептозотоциновому цукровому діабеті. Вісник української медичної стоматологічної академії «Актуальні проблеми сучасної медицини», 9, 4(3), 134-137.

166. Кривко, Ю.Я., Матешук-Вацеба, Л.Р., Масна, З.З., Пальтов, Є.В. (2010). Ультраструктура ланок гемомікроциркуляторного русла в нормі та за умов експериментального цукрового діабету. Вісник морфології, 16, 397-401.

167. Матешук-Вацеба, Л.Р., Кирик, Х.А., Вільхова, І.В. (2009). Ультраструктурні особливості артеріальної ланки мікроциркуляторного русла судинної оболонки очного яблука в нормі та при цукровому діабеті (експериментальне дослідження). Вісник Сумського державного університету, 2 (1), 12-13.

168. Борис, Р.Я., Кривко, Ю.Я., Блищак, Н.Б., Цитовський, М.Н. (2009). Значення змін в слинних залозах при розвитку цукрового діабету. Матеріали

наук.-прак. конф. «Актуальні проблеми функціональної морфології та інтегративної антропології» та «Прикладні аспекти морфології». – Вінниця, 26-27.

169. Борис, Р.Я., Кривко, Ю.Я., Блищак, Н.Б., Цитовський, М.Н. (2009). Методи дослідження особливостей будови великих залоз при експериментальному цукровому діабеті. Тези доповідей 6-ої міжнар. наук. конф. Студентів та молодих вчених «Сьогодення та майбутнє медицини». – Вінниця, 35.

170. Галюк, І.М., Кривко, Ю.Я., Матешук-Вацеба, Л.Р., Султан, Р.Я. (2010). Морфометричний аналіз гемомікроциркуляторного русла язика при експериментальному цукровому діабеті. Матеріали 2-го наукового симпозиуму «Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології». – Чернівці, 60-61.

171. Кирик, Х.А., Матешук-Вацеба, Л.Р., Вільхова, І.В., Пальтов, Є.В. (2009). Ультраструктурні особливості венозної ланки гемомікроциркуляторного русла судинної оболонки очного яблука щура при стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті. Матеріали наук. практ. конф. «Актуальні проблеми функціональної морфології та інтегративної антропології» та Прикладні аспекти морфології». – Вінниця, 199-200.

172. Пальтов, Є.В., Онисько, Р.М. (2009). Гістологічне дослідження тканин різних відділів тонкої кишки в нормі та при цукровому діабеті. Матеріали VII науково-практичної конференції з міжнародною участю студентів та молодих вчених «Науковий потенціал молоді – прогрес медицини майбутнього». – Ужгород, 141.

173. Пальтов, Є.В., Онисько, Р.М. (2009). Динаміка морфометричних змін ланок гемомікроциркуляторного русла тонкої кишки щурів на різних термінах перебігу стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. Збірник конференції «Морфологічний стан тканини і органів систем організму в нормі та патології». – Тернопіль, 134-135.

174. Пальтов, Є.В., Онисько, Р.М., Кривко, Ю.Я. (2009). Особливості ультраструктурної організації відділів тонкої кишки та ланок



гемомікроциркуляторного русла в нормі і при стрептозотоциніндукованому експериментальному цукровому діабеті. Матеріали VI Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Сьогодення та майбутнє медицини». – Вінниця, 64-65.

175. Пальтов, Є.В., Матківський, Р.М., Головацький, А.С. (2009). Мікроструктурна організація в нормі та зміни провідникового апарату сідничного нерва щурів при експериментальному стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті. Вісник морфології, 15 (2), 360-365.

176. Покотило, П. Б., Борис, Р.Я. (2010). Електронномікроскопічне дослідження структурних компонентів кори нирки при стрептозотоциніндукованому діабеті. Матеріали наукового конгресу «IV Міжнародні Пироговські читання» присвяченого 200-річчю з дня народження М.І. Пирогова, V з'їзду анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України. – Вінниця, 39-43.

177. Султан, Р.Я., Матешук-Вацеба, Л.Р., Кривко, Ю.Я., та ін. (2010). Особливості будови язика щура при експериментальному стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті. XIII Конгрес Світової Федерації Українських Лікарських Товариств: тези доповідей. – Львів; К.; Чикаго, 672-673.

178. Борис, Р.Я. (2011). Якісно-кількісні зміни ланок гемомікроциркуляторного русла шкіри білого щура при експериментальному стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті. Клінічна анатомія та оперативна хірургія, 10 (6), 11-17.

179. Блищак, Н.Б., Дац, Р.І., Нехтегаєва, М.В. (2012). Удосконалення методики моделювання цукрового діабету I типу. Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Морфологія на сучасному етапі розвитку науки». – Тернопіль, 19-20.

180. Блищак, Н.Б., Котович, І.М., Борис, Р.Я. (2012). Морфологічні особливості ланок гемомікроциркуляторного русла вузла щура в нормі та в

динаміці перебігу експериментального цукрового діабету. Збірник матеріалів студентської науково-практичної конференції. – Львів, 17.

181. Джалілова, Е.А., Кривко, Ю.Я. (2012). Гістологічна будова міокарда, ендокарда гемомікроциркуляторного русла серця щура в нормі та на пізніх етапах стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. Практична медицина, 1, 93-99.

182. Савка, І.І., Матешук-Вацеба, Л.Р. (2012). Морфометричний аналіз ангіоархітектоніки яєчка за умов експериментального цукрового діабету. Матеріали XIV Конгресу Світової Федерації Українських Лікарських Товариств: тези доповідей. – Львів; К.; Чікаго, 4-8.

183. Матківський, Р.М. (2007). Ультаструктурна характеристика компонентів сідничного нерва щура при стрептозотоциновому цукровому діабеті в динаміці. Вісник морфології, 13 (1), 80-85.

184. Матківський, Р.М., Кривко, Ю.Я., Пальтов, Є.В., та ін. (2008). Гістологічна будова та кровопостачання тканин сідничного нерва білих щурів у нормі та динаміка їхніх змін протягом перебігу експериментального цукрового діабету. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Медицини, 33, 53-60.

185. Матківський, Р.М., Головацький, А.С., Пальтов, Є.В. (2009). Мікроструктурна організація в нормі та зміни провідникового апарату сідничного нерва щурів при експериментальному стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті. Вісник морфології, 15 (2), 360-365.

186. Матківський, Р.М., Пальтов, Є.В., Фік, В.Б. (2008). Гістологічне дослідження тканин сідничного нерва в нормі та в динаміці при цукровому діабеті. Хист., 10, 217-218.

187. Онисько, Р.М., Пальтов, Є.В., Брейдак, Ю.Г., Кривко, Ю.Я. (2011). Особливості змін мікроструктурної організації тканин та ланок гемомікроциркуляторного русла тонкої кишки щурів на різних термінах перебігу експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. Практична медицина, 17 (3), 42-58.

188. Онисько, Р.М., Пальтов, Є.В., Брейдак, Ю.Г., Фік, В.Б. (2011). Динаміка змін ультраструктурної організації стінки тонкої кишки та ланок її гемомікроциркуляторного русла на різних термінах перебігу експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету. *Biomedical and biosocial anthropology*, 17, 6.

189. Онисько, І. О., Фітькало, О. С., Онисько, Р.М., Пальтов, Є.В. (2012). Мікроструктура ясен в нормі та на ранніх стадіях розвитку інсулінозалежного цукрового діабету. *Новини стоматології*, 1, 51-56.

190. Покотило, П. Б. Матешук-Вацеба, Л. Р. (2011). Морфологічні особливості організації ультраструктурних компонентів фільтраційного бар'єру нирки щура на 42 добу перебігу стрептозотиніндукованого цукрового діабету. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 15 (2), 227-232.

191. Согуйко, Ю.Р., Кривко, Ю.Я. (2010). Ультраструктурні особливості печінки щура в нормі та при експериментальному цукровому діабеті на ранніх етапах його перебігу в динаміці. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*, 4, 12-19.

192. Согуйко, Ю.Р. (2012). Морфологічні особливості печінки щура в нормі та при експериментальному цукровому діабеті на ранніх етапах перебігу. *Український морфологічний альманах*, 10 (2), 137-142.

193. Согуйко, Ю.Р. (2010). Оцінка параметрів глюкози та ліпотоксичності в сироватці крові щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом на ранніх етапах перебігу. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*, 1, 41-46.

194. Ярмолинская, М.И., Андреев, Н.Ю., Абашова, Е.И., Мишарина, Е.В. (2019). Экспериментальные модели сахарного диабета 1-го типа. *Журнал акушерства и женских болезней*, 68 (2), 109–118. doi:10.17816/JOWD682109-118.

195. Грицюк, М. І., Бойчук, Т. М., Петришен, О. І. (2014). Порівняльна характеристика експериментальних моделей цукрового діабету. *Світ медицини та біології*, 2(44), 199-203.

196. Спасов, А.А., Воронкова, М.П., Снигур, Г. Л., Чепляева, Н. И., Чепурнова, М. В. (2011). Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2. Биомедицина, 3, 12-18.

197. Rees, D.A., Alcolado, J.C. (2005). Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med* 22(4):359-70. doi: 10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x

198. Islam, M.S., Wilson, R.D. (2012). Experimentally induced rodent models of type 2 diabetes. *Methods Mol Biol.*, 933:161-74. doi: 10.1007/978-1-62703-068-7\_10.

199. Байрашева, В.К., Бабенко, А.Ю., Дмитриев, Ю.В., Байрамов, А.А., Чефу С.Г., Шаталов, И.С., Пчелин, И. Ю., Иванова, А.Н., Гринева, Е.Н. (2016). Новая модель сахарного диабета 2-го типа и диабетической нефропатии у крыс. *Трансляционная медицина*, 3 (4): 44–55. doi: 10.18705/2311-4495-2016-3-4-44-55

200. Галенова, Т.І., Конопельнюк, В.В., Савчук, О.М., Остапченко, Л.І. (2010). Відтворення експериментальної стрептозотоксин-індукованої моделі цукрового діабету 2 типу у щурів. *Фізика живого*, 18(3), 50-54.

201. Natrus, L.V., Ryzhko, I.N., Kozak, A.I., Kryvosheieva, O.I., Stechenko, L.A. (2017). Ultrastructural base of the connective tissue skin' cells interactions at burn injury in the hyperglycemic white rats. *World of Medicine and Biology*, 4(62), 157-162. doi: 10.26724/2079-83342017-4-62-157-162

202. Колесова, Н. А., Натрус, Л. В., Литвиненко, В. І., Сухарева, Н. М., Рижко, І. М. (2016). Динаміка сполучнотканинних клітинних реакцій шкіри білих щурів за опікової травми і стійкої некорегованої гіперглікемії. *Медична наука України*, 12 (3-4), 4-10. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnmu\\_2016\\_12\\_3-4\\_3](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnmu_2016_12_3-4_3)

203. Scaldaferr,i F., Pizzoferrato, M., Gerardi, V., Lopetuso, L., Gasbarrini, A. (2012). The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *J Clin Gastroenterol.*, 46 Suppl:S12-7. doi: 10.1097/MCG.0b013e31826ae849

204. Lopetuso, L.R., Scaldaferr,i F., Bruno, G., Petito, V., Franceschi, F., Gasbarrini, A. (2015). The therapeutic management of gut barrier leaking: the emerging role for mucosal barrier protectors. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*, 19(6):1068-76.

205. Krivonosova, E.M. (2006). Morphological and functional mucous layer condition of stomach and duodenum in patients with diabetes mellitus. The Journal of VN Karazin Kharkiv National University, series «Medicine», 13 (738), 35-39.

206. Хворостінка, В.М., Кривоносова, О.М. (2009). Патогенетичні та терапевтичні аспекти хронічних захворювань гастродуоденальної системи у хворих на цукровий діабет. Пробл. ендокринної патології, 1, 18-24.

207. Радіонова, Т.О. (2017). [Особливості перебігу захворювань верхніх відділів шлунково-кишкового тракту у хворих на цукровий діабет 2 типу.](#) Актуальні проблеми сучасної медицини, 17; 4(2), 207-210. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/apsm\\_2017\\_17\\_4%282%29\\_\\_47](http://nbuv.gov.ua/UJRN/apsm_2017_17_4%282%29__47).

208. Tymoshenko, I.O., Cherkasov, E.V., Shepitko, K.V. (2020). Morphometric assessment of structural changes in the duodenal wall of rats caused by skin burn injury under conditions of experimental diabetes. World of Medicine and Biology, 3(73), 215-219. doi: 10.26724/2079-8334-2020-3-73-215-219.

209. Tymoshenko, I.O. (2019). Structural changes of the intestinal epithelial barrier of the duodenum of rats in burn injury of skin under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. Reports of Morphology, 25(2), 28-35. [https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(2\)-03](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(2)-03).

210. Тимошенко, І. (2019). Структурні особливості слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів при опіковій травмі шкіри за умов експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. Український науково-медичний молодіжний журнал, (1(109)), 35-47. [https://doi.org/10.32345/USMYJ.1\(109\).2019.35-47](https://doi.org/10.32345/USMYJ.1(109).2019.35-47).

211. Cherkasov, V., & Tymoshenko, I. (2019). Structural changes of duodenal mucosa enterocytes of rats in burn skin injury under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. Reports of Morphology, 25(1), 55-61. [https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(1\)-08](https://doi.org/https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(1)-08).

212. Tymoshenko, I.A., Sokurenko L.M., Yanchyshyn A.Ya., Pastuhova V.A. (2020). Comparative characteristics of the manifestations of damage and reparative processes in the mucous membrane of the duodenum of rats under the conditions of

skin burns and skin burns associated with diabetes. Reports of Morphology. 26 (2), 39-44.