

**Tetiana Lakhtadyr** <sup>1</sup>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0223-4866>  
 anatomi@ukr.net

**Victor Cherkasov** <sup>1</sup>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4645-4695>

**Ludmila Turbal** <sup>1</sup>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2381-7211>

**Snizhana Doroshchuk** <sup>1</sup>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4313-5883>

**Rostislav Kaminskiy** <sup>1</sup>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5744-7581>

<sup>1</sup> Bogomolets National Medical University (Ukraine, Kyiv)

## STRUCTURAL CHANGES IN RENAL CORTEX IN EXPERIMENTAL SKIN BURN INJURY AND UNDER THE CONDITIONS OF USE OF INFUSION SOLUTIONS <sup>1,2</sup>

DOI:

**Purpose.** The aim of the following article is to make comparative analysis of the effects of intravenous infusion of 9.0% NaCl solution and complex colloid-hyperosmolar solutions (lactoprotein with sorbitol and HAEL-LX-5%) on the cortical substance of the kidney.

<sup>1</sup> The article is a combined form of abstract and translation based on the following works: 1) Lachtadyr T.V. (2019). Structural changes of the rat kidney cortical substance in the long-term period after burn injury of the skin under conditions of HAES-LX 5% infusion. *Emergency Medicine*, 5(100), 96–100. 2) Lachtadyr T.V. (2017). Structural changes of rats renal cortex in late period of skin burn injury under the conditions of the infusion by lactoprotein with sorbitol. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 28, 81–87. Available at: <https://bba-journal.com/index.php/journal/article/view/237>. 3) Kaminsky R., Lachtadyr T., Kovalchuk O. (2019). History of museum in human and histology and embryology departments of national medical university. "In the International congress of anatomia clinica (EACA 2019) held in Madrid" 24-26 June 2019. Madrid, pp. 156-157. 4) Cherkasov V.G., Lachtadyr T.V., Turbal L.V., Doroshchuk S.M., (2020). Strukturni proyavy ER-stresu, apoptozu i nekrozu v endoteliotsytakh hemo kapilyariv nefroniv pry eksperymental'ne opikoviy khvorobi u schuriv za umov vplyviv infuziyi riznykh dezintoksykatsiynykh rozchyniv. "Dynamics of the development of world science". Abstracts of VI international scientific and practical conference 19-21 February 2020. Vancouver, Canada, pp. 718-732.

<sup>2</sup> The responsibility for reconciling legal issues related to the permission of publishing, copyright and and non-property rights to previously published materials rests with the authors.

**Materials and methods.** Under experimental modeling of burn disease in rats (by application of skin injury) 21-23% of the surface of the body) indicates that each solution has peculiarities of action on the course of reactive and destructive processes in cells.

**Research results.** Mitoptosis in epithelial cells of rat nephron tubules with experimental burn skin injury is carried out in two ways related to: 1) destruction of the outer mitochondrial membrane; 2) preservation of the outer mitochondrial membrane and involvement of autophagic (mitophagic) mechanisms for the release of cells from degraded mitochondrial material. In the first case, the mitochondria first condense, after which its matrix swells and the fragmentation of the cross occurs due to the destruction of the junction of the cross. In the second case, the mitochondria condense, vesicular fragmentation of the sac occurs, but no rupture of the outer mitochondrial membrane occurs and the mitochondria are absorbed by the autophagosome.

**Results.** The maximum membranoplastic effect of lactoprotein with sorbitol on mitochondria manifests itself 14 days after the experimental burn skin injury and gradually (after 21 and 30 days) disappears, which correlates with the improvement of the general clinical condition and the improvement of indicators of structural changes in the structural changes in animals.

**Keywords:** burn disease, detoxification solutions, reactive and destructive changes of the kidneys.

## СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В КІРКОВІЙ РЕЧОВИНІ НИРОК ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ОПІКОВІЙ ТРАВМІ ШКІРИ ТА ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІНФУЗІЙНИХ РОЗЧИНІВ

**Мета.** Мета наступної статті – зробити порівняльний аналіз впливу внутрішньовенної інфузії 9,0% розчину NaCl та комплексних колоїдно-гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітом та НАЕЛ-LX-5%) на кіркову речовину нирок.

**Матеріали та методи.** При експериментальному моделюванні опікової хвороби у щурів (шляхом нанесення травми шкіри на 21-23% поверхні тіла) вказує на те, що кожен розчин має особливу дію на перебіг реактивних та руйнівних процесів у клітинах.

**Результати дослідження.** Мітоптоз в епітеліальних клітинах нефронів каналців щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри здійснюється двома шляхами, пов'язаними з: 1) руйнуванням зовнішньої мітохондріальної мембрани; 2) збереженням зовнішньої мітохондріальної мембрани та залученням аутофагійних (мітофагійних) механізмів вивільнення клітин з зруйнованого мітохондріального матеріалу. У першому випадку мітохондрії спочатку конденсуються, після чого їх матриця набрякає і відбувається фрагментація крист через руйнування місця з'єднання крист. У другому випадку мітохондрії конденсуються, відбувається везикулярна фрагментація, але не відбувається розриву зовнішньої мітохондріальної мембрани і мітохондрії поглинаються аутофосою.

**Висновки.** Максимальний мембранопластичний ефект лактопротеїну з сорбітом на мітохондрії проявляється через 14 днів після експериментальної опікової травми шкіри та поступово

(через 21 і 30 днів) зникає, що збігається з поліпшенням загального клінічного стану та покращенням показників структурних змін у кірковій речовині нирок тварин.

**Ключові слова:** опікова хвороба, детоксикаційні розчини, реактивні та деструктивні зміни нирок.

## Вступ

Загальновізвано, що провідними чинниками опікової хвороби є ендогенна інтоксикація, дисциркуляторна гіпоксія та гістотоксична ішемія, тому при лікуванні опікової хвороби (викликаній важкими опіковими травмами) застосовують внутрішньовенну дезінтоксикаційну інфузію для запобігання розвитку тяжких токсичних, гіпоксичних та реперфузійних ушкоджень клітин і тканин, ефективність якої є предметом клінічних та експериментальних досліджень (Cherkasov et al. 2020: 718-719).

Великі за площею й тяжкі опіки шкіри завжди несуть структурні та функціональні патологічні зміни для всіх органів і систем опечених, що призводить до розвитку опікової хвороби (Lachtadyr 2019). На думку науковців та дослідників опікова хвороба вважається захворюванням, що має клінічні, морфологічні та біохімічні розлади у всіх органах і системах. Одним із провідних чинників цих розладів є безпосередньо опікове вогнище локального руйнування значних тканинних масивів, яке стає джерелом ендотоксинів та фактором утворення і поширення різноманітних біологічно активних речовин (Gavryluk et al. 2018). Потужним джерелом ендотоксинів та інших біологічно активних речовин є також тканинні складові органів, які первинно не підлягали термічній альтерації, але знаходилися впродовж певного часу в стані дисциркуляторної гіпоксії та гістотоксичної ішемії (Gunas et al. 2018).

Тривалий час для комбустіологів актуальним залишається наукове обґрунтування застосування вже існуючих інфузійних розчинів як для зменшення рівня токсинів в організмі, так і для нормалізації функції нирок, спрямованої на підтримку водно-сольового обміну (Cherkasov et al. 2012), а також розробка і впровадження новітніх нефропротекторних дезінтоксикаційних розчинів (Dzevulska et al. 2018).

Необхідно відмітити, що термічні ураження та постопікова ендогенна інтоксикація призводять до дисбалансу водно-солевого гомеостазу та підвищенню проникності гемокапілярів (Kovalchuk 2017). Головною метою при лікуванні опікової хвороби є забезпечення адекватного рівня тканинної перфузії на початкових етапах перебігу опікової хвороби; нормалізація тканинного метаболізму; запобігання розвитку тяжких токсичних, гіпоксичних та реперфузійних ушкоджень клітин і тканин (Mohanap 2019).

*Метою* роботи є порівняльний аналіз впливів різних дезінтоксикаційних розчинів (0,9% розчину NaCl та комплексних колоїдно-гіперосмолярних розчинів – лактопротеїну з сорбітолом та нещодавно розробленого розчину HAES-LX-5%) на структуру нирок при експериментальній опіковій хворобі у щурів.

## Матеріали та методи

Порівняльний аналіз структурних змін нирок щурів після експериментального опіку шкіри за умов внутрішньовенного введення інфузійних препаратів, а саме: ізотонічного розчину натрію хлориду (0,9% розчину NaCl) та колоїдно-гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%) було виконано на 105 білих щурах-самцях масою 155-160 грам.

Утримання у віварії та всі маніпуляції з щурами здійснювали у повній відповідності до положень “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, затверджених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), з неухильним дотриманням рекомендацій “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (European Convention... No. 123, 1986; Kaminsky et al. 2019: 156-157).

Піддослідні щури були розподілені на сім груп (по 15 тварин у кожній): перша група – інтактні щури; друга, третя й четверта групи – щури без відтворення експериментальної опікової хвороби, яким була здійснена окремо внутрішньовенна інфузія 0,9% розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% у дозі 10 мл/кг; п’ята, шоста та сьома групи – щури з експериментальною опіковою хворобою, яким за цією ж самою схемою була здійснена внутрішньовенна інфузія досліджуваних розчинів.

Для моделювання опікової хвороби був здійснений експериментальний опік шкіри шляхом притискання упродовж 10 секунд до поголених бічних поверхонь тулуба щура чотирьох нагрітих мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку, площа кожної 13,86 см<sup>2</sup>), які попередньо тримали протягом шести хвилин у воді з постійною температурою сто градусів за Цельсієм. Для визначення ступеня ураження при експериментальній опіковій травмі застосовували індекс тяжкості uszkodження, який враховує параметри площі і глибини опіків, а також загальну площу шкіри опеченого. Дані обрахунку свідчать, що експериментальна опікова травма охоплювала 21-23% поверхні тіла тварини, що є цілком достатнім для утворення опіку 2-3 ступеня, розвитку опікового шоку середнього ступеня важкості та ініціації опікової хвороби.

Інфузію розчинів у дозі 10 мл/кг проводили упродовж п'яти хвилин у каудальну порожнисту вену після її введення катетера в асептичних умовах через стегнову вену. Курс інфузійної терапії тривав сім діб (першу внутрішньовенну інфузію виконували через одну годину після нанесення експериментальної опікової травми, наступні введення здійснювали один раз на добу).

Нанесення експериментальної опікової травми, катетеризацію магістральних судин проводили за умов наркозу, викликаного внутрішньоочеревинним введенням пропофолу в дозі 60 мг/кг.

Вилучення матеріалу від щурів для морфологічного дослідження нирок проводилось за умов глибокого тіопенталового внутрішньоочеревинного наркозу через 14, 21 і 30 діб після нанесення експериментальної опікової травми шкіри. Для гістологічного дослідження одержані біоптати обробляли за загальноприйнятою методикою та забарвлювали гематоксиліном-еозином. Гістологічні препарати кіркової речовини нирок щурів вчили на мікроскопі Olympus BX51.

При одержанні матеріалу для електронномікроскопічного дослідження щурам під глибоким тіопенталовим внутрішньоочеревинним наркозом здійснювали розтин черевної порожнини. Біоптати з кіркової речовини нирок щурів подрібнювали на невеликі блоки та фіксували в розчині глютарового альдегіду. Після стандартної проводки матеріал заливали в суміш аралдиту з епоном.

Напівтонкі та ультратонкі зрізи виготовляли за допомогою ультрамікромому LKB-3 (Швеція). Одержані напівтонкі зрізи забарвлювали толуїди-

новим синім та метиленовим синім – азур 2. Ультратонкі зрізи контрастували на мідних опорних сіточках ураніацетатом і цитратом свинцю за Рейнольдсом. Електронномікроскопічне дослідження здійснювали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К.

Для об'єктивізації порівняльного аналізу перебігу реактивних та деструктивних процесів в кірковій речовині нирок опечених щурів було здійснене морфометричне дослідження. Оцінювали: площі судинних клубочків, площі сечового просвіту капсули ниркових тілець; площі ниркових каналців нефронів та площі їхніх просвітів, площі ниркових тілець, площі цитоплазми та ядер епітеліальних клітинканалців, а також їхнє ядерно-цитоплазматичне співвідношення.

Зображення з гістологічних препаратів, забарвлених гематоксилін-еозином, виводили на монітор комп'ютера з мікроскопу MICROmed SEOSCAN та за допомогою відеокамери Vision CCD Camera. Морфометричні вимірювання здійснювали за допомогою програм ВидеоТест-5.0, КАРА Image Base та Microsoft Excel на персональному комп'ютері.

Статистичний аналіз отриманих кількісних показників виконаний з використанням статистичного пакету IBM SPSS v. 22.0. for Windows. Для всіх досліджених показників розраховували значення середньої арифметичної ( $M$ ), похибки середньої арифметичної ( $m$ ) і визначали стандартне відхилення ( $\sigma$ ). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами розраховували за умов нормального розподілу (оцінку виду розподілу перевіряли за критерієм  $\chi^2$  – Пірсона) за t-критерієм Стюдента (при порівнянні більше двох груп застосовували поправку Бонферроні), а в інших випадках використовували U-критерій Мана-Уїтні. Порівняння якісних ознак здійснювали за допомогою критерія  $\chi^2$ . Достовірними вважали відмінності при  $p < 0,05$ .

## Результати

Проведені дослідження засвідчили безумовні позитивні переваги внутрішньовенної інфузії колоїдно-гіперосмолярних розчинів над інфузією 0,9% розчину NaCl, що додатково обґрунтоване статистичним аналізом даних, одержаних при морфометричних вимірюваннях. Є також відмінності впливу на структуру кіркової речовини нирок опечених щурів лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX5%.

Дане дослідження показало, що експериментальна опікова травма шкіри і викликана нею опікова хвороба призводять до значних структурних змін компонентів нирки через 14, 21 і 30 діб (в стадіях пізньої токсемії і септикотоксемії опікової хвороби, прояви яких були багато в чому нівельованими своєчасною інфузійною терапією). В часовому виразі процес деструкції та структурної перебудови в кірковій речовині нирки підослідних опечених щурів у досліджені терміни експерименту не загасає, а лише модифікується.

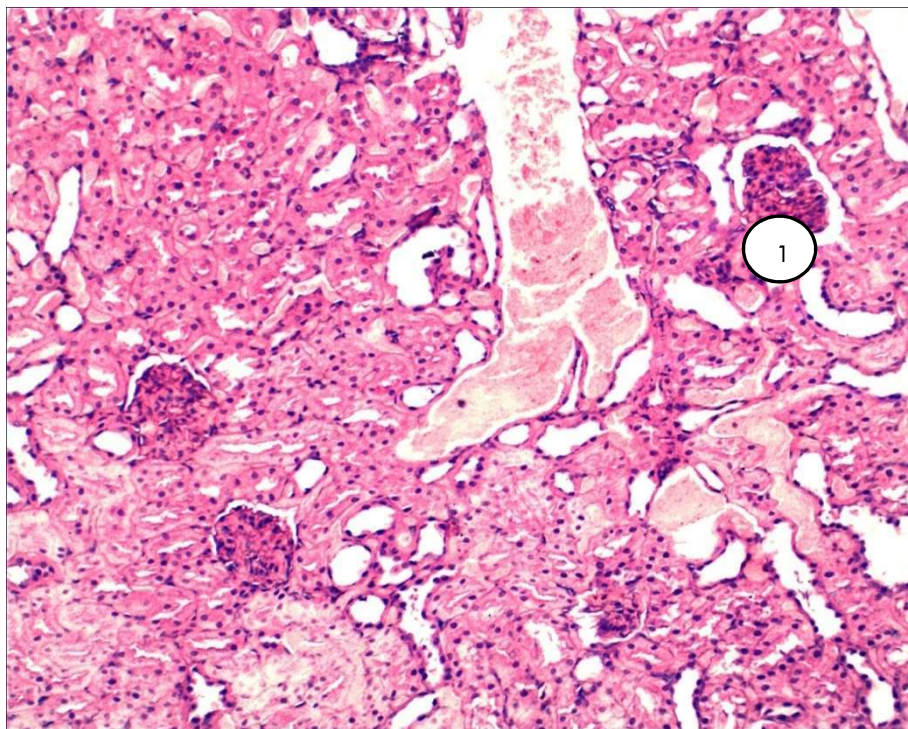
Через 14 діб (Рис.1) після експериментальної опікової травми шкіри за умов введення 0,9% розчину NaCl відбувається руйнація гемокapілярів, набряк і крововиливи в інтерстиції кіркової речовини нирок (цей процес є мозаїчним та розповсюдженим).

Через 21 добу та через 30 діб структурні зміни поглиблюються та набувають осередкового, обмеженого характеру: зони некрозу та зони крововиливів стають більшими за розміром, але їхня кількість зменшується. Характерною особливістю цих термінів перебігу опікової хвороби є долучення до процесу структурного ушкодження імунного компоненту, свідченням чого є поява осередків лімфоцитарного та плазмоцитарного інфільтратів в кірковій речовині нирок. Ефективність зареєстрованої лімфоцитарної та плазмоцитарної інфільтрації кіркової речовини нирок є сумнівною, тому що плазмоцити інфільтратів є суттєво структурно зміненими та підлягають апоптозним перетворенням.

Узагальнюючи результати дослідження структурних змін кіркової речовини нирок щурів з опіком шкіри, яким вводили 0,9% розчину NaCl, можна зробити висновок, що його інфузія не викликає чітко виражених нефропротекторних ефектів, а структури кіркової речовини нирок характеризуються наявністю морфологічних змін у складових клубочкового і каналцевого апаратів. До позитивних за сутністю компенсаторно-приспосувальних реакцій слід віднести структурні ознаки наявності функціонального потенціалу подоцитів за рахунок збереженості подоцитів та стабілізації товщини базальної мембрани. До реактивних проявів можна також віднести процес елімінації ушкоджених мітохондрій шляхом мітоптозу, але варто підкреслити дуалізм цього процесу. Мітоптоз здатен загальмувати апоптоз, але його поширення може призвести до макроаутофагії і до некротичної загибелі клітин.



Рис.1. Поєднання різкого розширення перитубулярних венул з утворенням складжених еритроцитарних конгломератів (1) та з ділянковою руйнацією судинної стінки в кірковій речовині нирки щура через 14 днів після експериментальної опікової травми за умов введення 0,9% розчину NaCl. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. 100.



Джерело: (Lachtadyr 2019).

Нами встановлено, що завдяки гіперосмолярності, лактопротеїн з сорбітолом і НАЕС-LX-5% забезпечують перехід надлишкової рідини (яка утворилась у результаті запальної відповіді на опікову травму) із міжклітинного сектора в судинне русло. Це оптимізує гемомікроциркуляцію і стабілізує перфузію в нирках, що морфологічно визначено та гісто-фізіологічно обґрунтовано при аналізі результатів даного дослідження.

Дані гістологічних, електронномікроскопічного та морфометричного досліджень вказують на те, що (на відміну від 0,9% розчину NaCl) лактопротеїн з сорбітолом і HAES-LX-5% чинять цитопротекторний вплив на структуру кіркової речовини нирок щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри, виявляючи таким чином нефропротекторні властивості. Аналіз морфометричних даних свідчить про статистично достовірні ( $p < 0,001$ ) зміни різних за розмірами ниркових тілець, які, умовно, можна поділити на дві групи: 1 – великі (гіпертрофовані) ниркові тільця; 2 – малі (атрофовані) ниркові тільця. Розміри та структурна організація зазначених ниркових тілець вказують на різний ступінь їхнього функціонального навантаження та потенційної можливості реалізації фільтраційної функції. Через 14 діб після експериментальної опікової травми шкіри їхня середня площа за умов інфузії 0,9% розчину NaCl дорівнює відповідно:  $8453 \pm 203$   $\mu\text{m}^2$  та  $4687 \pm 128$   $\mu\text{m}^2$ . Порівняння розмаху діапазону коливань розмірів середньої площі великих та малих ниркових тілець у різні терміни досліду після експериментальної опікової травми шкіри (через 14, 21 і 30 діб) свідчить про суттєве збільшення середньої площі великих ниркових тілець ( $p < 0,001$ ), розмірів середньої площі судинного клубочка ( $p < 0,01$ ) та середньої площі сечового простору капсули ниркового тільця ( $p < 0,01$ ) за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%, що свідчить про виразну (у порівнянні з впливом 0,9% розчину NaCl) позитивну дію колоїдно-гіперосмолярних розчинів на перебіг реактивних процесів в клітинах нирки опечених щурів.

Притаманна тільки лактопротеїну з сорбітолом мембранопластична дія щодо укріплення (посилення структуралізації) мітохондріальної оболонки у частини мітохондрій епітеліальних клітин каналців нефронів ультраструктурно проявляється підвищенням електронної щільності та товщини усіх складових мітохондріальної оболонки. Максимально зазначений мембранопластичний ефект дії лактопротеїну з сорбітолом щодо мітохондрій проявляється через 14 діб після експериментальної опікової травми шкіри і поступово (через 21 та через 30 діб) зникає, що корелює з покращенням загального клінічного стану і динамікою показників щодо структурних змін в нирках тварин з опіковою хворобою. Є усі підстави вважати, що посилення структуралізації мітохондрій є запобіжником поширення мітоптозу та мітофагії, надлишковий характер яких може призвести до клітинної загибелі. Цей ефект не є наслідком безпосередньої дії лактопротеїну

з сорбітолом, а є наслідком дії саме лактопротеїну з сорбітолом за умов розвитку опікової хвороби і є відсутнім за умов норми.

Узагальнюючи результати проведеного нами дослідження структурних змін кіркової речовини нирок щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри, яким вводили лактопротеїн з сорбітолом, можна зробити висновок, що внутрішньовенна інфузія цього розчину призводить до гальмування альтерації нефроцитів. Нирки у щурів цієї експериментальної групи відрізняються менш вираженими змінами структури і, відповідно, більш збереженими функціональними можливостями клітин нефронів, порівняно з такими у опечених щурів, яким вводили 0,9% розчин NaCl.

Наші дослідження свідчать про те, що низка взаємопов'язаних патологічних наслідків важкої експериментальної опікової травми шкіри здатна здійснювати пошкодження нирок на клітинному рівні, а застосування інфузії колоїдно-гіперосмолярного комбінованого розчину лактопротеїну з сорбітолом, що цілеспрямовано стимулює органели білок-синтезуючого апарату і коригує метаболічний субстрат клітин нефрону, суттєво обмежує проградієнтні морфофункціональні зміни в кірковій речовині нирок у опечених щурів.

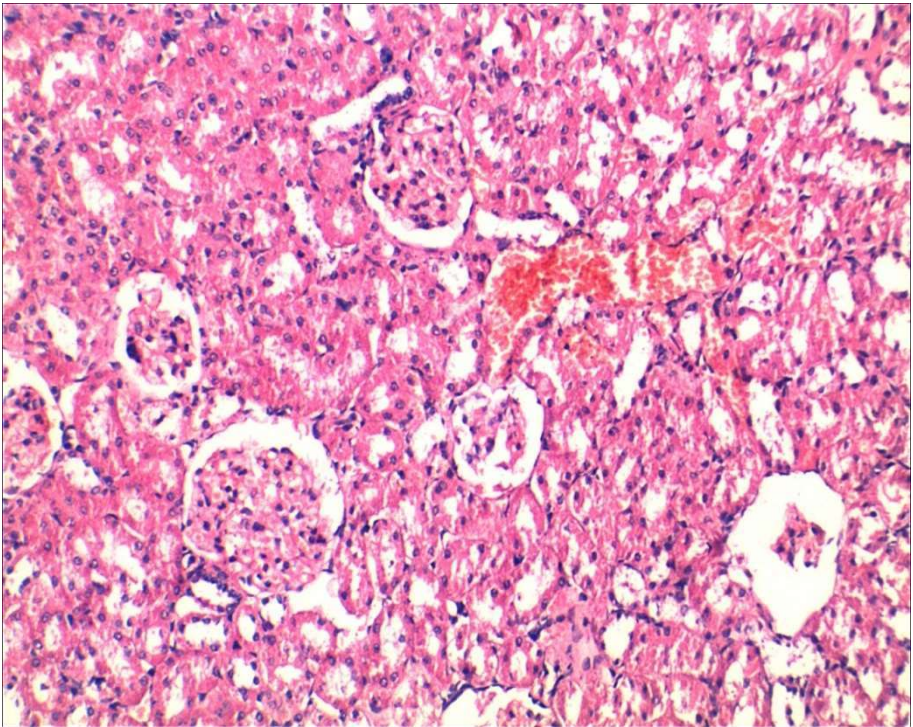
Порівнюючи ефекти позитивної дії застосованих гіперосмолярних розчинів слід зауважити, що інфузія НАЕС-LX-5% забезпечує більш гармонійний вплив на структуру кіркової речовини нирок щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри. Менш виразні прояви репарації у цьому випадку пов'язані з меншим ступенем деструкції в кірковій речовині нирок піддослідних тварин, що є свідченням нефропротекторних властивостей НАЕС-LX-5% (Рис. 2).

Нами встановлено, що найбільш активними органелами за умов норми та найбільш вразливими за умов експериментальної опікової травми шкіри є мітохондрії епітеліальних клітин. Підвищення функціонального навантаження призводить до прискорення старіння їхніх мітохондрій, а за гірших умов – до деструкції не тільки старих, але й дефектних зрілих та юних мітохондрій. Інфузія НАЕС-LX-5% сприяє упорядкуванню та унормуванню мітоптозу в епітеліальних клітинах каналців нефронів.

У щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри нами відмічений мітоптоз мітохондрій епітеліальних клітин каналців нефронів. Ці мітохондрії підлягають мікроаутофагійним змінам, що включають злиття лізосом із невеликими ушкодженими мітохондріями або з невеликими відокремленими фрагментами розгалужених мітохондрій. Утворені

таким чином аутофаголізосоми проходять шлях поетапного перетворення, що у просторовому вимірі може бути визначене як "базо-апикальна послідовність трансформації". За цією послідовністю трансформація аутофаголізосом відбувається в напрямку від електроннощільної аутофаголізосоми у базальній зоні цитоплазми епітеліальної клітини до вакуолі з електроннопрозорим вмістом в апикальній зоні цитоплазми. Інфузія НАЕС-LX-5% призводить до стабілізації зазначеної послідовності, що є віддзеркаленням протекторних властивостей розчину щодо мітохондрій.

Рис.2. Ділянка кіркової речовини нирки щура через 14 діб після експериментальної опікової травми за умов введення НАЕС-LX-5%. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксилін-созином. Зб. 100.



Джерело: (Lachtadyr 2019).

Узагальнюючи результати дослідження структурних змін кіркової речовини нирок щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри, яким вводили HAES-LX-5%, можна зробити висновок, що застосування інфузії HAES-LX-5% не призводить до швидкого повного відновлення структурної організації клітин складових нефрона. Проте позитивний ефект подібної інфузійної терапії сприяє активізації органел метаболічного плану, покращує гемомікроциркуляцію, а відповідно – фільтраційну та реабсорбційну функції. Такий нормалізуючий вплив дає можливість рекомендувати застосування нового колоїдно-гіперосмолярного розчину HAES-LX-5% для забезпечення своєчасної профілактики та оптимізації комплексного лікування шкідливих наслідків важких опікових травм шкіри.

Виявлена певна динаміка і вибірковість клітинної смерті в кірковій речовині нирок опечених піддослідних щурів. Нами встановлено, що за умов інфузії 0,9% розчин NaCl частина усіх клітин кіркової речовини нирок щурів гине шляхом некрозу; частина епітеліальних клітин канальців нефрону, епітеліальних клітин парієтального шару клубочкової капсули та ендотеліальних клітин кровеносних мікросудин гине шляхом апоптозу; частина мезангіоцитів гине шляхом апоптозу; в епітеліальних клітинах канальців нефрона відбувається мітоптоз. Застосування гіперосмолярних колоїдних розчинів гальмує некроз клітин і модифікує решту незворотніх змін клітин. Варто зауважити, що у всіх випадках найбільш стійкими клітинами щодо дії шкідливих наслідків опікової травми шкіри є подоцити. Подоцити підтримують структурну збереженість базальної мембрани і, завдяки цьому, стабілізують ендотеліальні клітини гемоканалів судинних клубочків, які виявляють більший ступень опірності у порівнянні з ендотеліальними клітинами стінки кровеносних судин перитубулярної сітки. Виразом реактивних перетворень подоцитів є варіабельність форми і розмірів цитотрабекул, цитоподій та підосів прикріплення цитоподій. Їх деформаційні модуляції, разом із змінами базальної мембрани, поєднуються із підвищенням структуралізації розташованих в цитоплазмі елементів цитоскелету (мікрофіламентів та мікротрубочок), що, в сукупності, зумовлює зміни розмірів і конфігурацій фільтраційних щілин та фільтраційних діафрагм, спричиняючи таким чином зміни умов фільтрації.

Нами відзначено, що в деяких клітинах кіркової речовини нирок щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри відбуваються структурні зміни мітохондрій за механізмом “out membrane mitoptosis”. У цьому

випадку мітохондрія спочатку конденсується, після чого відбувається набухання її матриксу і фрагментація крист за рахунок руйнації з'єднань крист. Нарешті, зовнішня мітохондріальна мембрана розривається і залишки крист (у вигляді пухирців) виходять у цитоплазму. Як правило, мітохондрії епітеліальних клітин каналців нефрона мають видовжену паличкоподібну форму, а при набуханні вони фрагментуються і набувають округлу (овоїдну або кулясту) форму. В більшості епітеліальних клітин каналців нефронів щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри наявний, зареєстрований змішаний тип мітоптозу. У цьому випадку, мітохондрія конденсується, відбувається пухирчаста фрагментація крист, але розриву зовнішньої мітохондріальної мембрани не відбувається і мітохондрія поглинається аутофаголізосою (або перетворюється на аутофаголізосому). Отже, кінцевим етапом трансформації аутофаголізосоми стає утворення вакуолі з прозорим вмістом (ефективне перетравлення вмісту аутофаголізосоми), яка шляхом екзоцитозу вивільнює свій вміст із клітини назовні. Таким чином, мітоптоз може здійснюватися як із залученням аутофагійних (мітофагійних) механізмів, так і без їхньої участі.

Визнано, що мітофагія ушкоджених мітохондрій епітеліальних клітинканалців нефронів гальмує мітохондріальний шлях активації апоптозу. З іншого боку, руйнація мітохондрій та інтенсивна мітофагія сприяє клітинній загибелі шляхом випадкового і нерегульованого або запрограмованого некрозу із залученням лізосомних ферментів. Морфологічно обидва типи такої клітинної смерті супроводжуються набряком клітини, руйнацією плазмолемі й вивільненням клітинного детриту в позаклітинний простір.

Стабільність форми мітохондрій в базальних відділах епітеліальних клітин проксимальних каналців нефронів щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри є втраченою, базальна посмутованість є деформованою. У цьому випадку мітохондрії щільно прилягають одна до одної. Цей процес можна трактувати як злиття мітохондрій і формування велетенських розгалужених або кільцеподібних мітохондрій. Не виключено, що, насправді, ми спостерігаємо як велетенські розгалужені мітохондрії фрагментуються, а їхні фрагменти зливаються своїми кінцями, утворюючи мітохондрії кільцеподібної форми. Тобто відбувається “mitochondrial fission and fusion” та “membranetethering”, наслідком яких стає утворення окремих та об'єднаних у мережу “мітохондріальних комплексів”.

У щурів з експериментальною травмою шкіри, яким вводили 0,9% розчин NaCl, відмічені суттєві зміни базальної мембрани в усіх без виключення компонентах кіркової речовини нирок: розпушення та локальна руйнація базальної мембрани; втрата її характерної структурованості та електронної щільності. Зазначені структурні зрушення відбуваються в базальній мембрані стінки кровоносних мікросудин, пристінкового і нутрощечевого шарів клубочкової капсули, каналців нефронів. Динаміка цих перетворень знаходиться у відповідності до виразності деструктивних змін клітин, для яких базальна мембрана є підлеглим позаклітинним матриксом. У зареєстрованих нами найгірших варіантах розвитку подій ушкоджені клітини злуцуються у відповідні простори, а базальна мембрана стає оголеною.

На тлі описаних змін найбільш яскраво виявляється мембрано пластичний ефект дії інфузії лактопротеїну з сорбітолом, структурний вираз якого полягає у стабілізації нормальної будови базальної мембрани, а також у гіперпластичній репарації пошкодженої базальної мембрани, яка має характер надлишкової і нерівномірної. Останнє, особливо, стосується базальної мембрани у стінці каналців проксимальних відділів (в окремих локусах товщина базальної мембрани збільшується у 3-6 разів). Продуцентом компонентів базальної мембрани є прилеглі клітини, в яких відмічені структурні ознаки активізації білок-синтезуючого апарату клітин (у першу чергу – розширення каналців гранулярної сітки, які є вщерть заповненими дрібнозернистим вмістом середньої електронної щільності).

Зазначені вище перетворення базальної мембрани (поява локальних дефектів та їхня невідповідна репарація) є відображенням істотних порушень матриксно-цитоплазматичних взаємин в нирці щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри. Втрата типових адгезивних зв'язків ділянках спотвореної базальної мембрани призводить до аутофагійних (за найгіршим сценарієм – некротичних) або апоптозних (аноїкісних) змін епітеліальних та ендотеліальних клітин та їхнього злуцвання у просвіті порожнистих утворів.

## Висновки

1. При внутрішньовенній інфузії застосованих дезінтоксикаційних розчинів найбільш стійкими клітинами щодо дії шкідливих наслідків екс-

периментальної опікової травми шкіри є подоцити. Подоцити підтримують структурну збереженість базальної мембрани і, завдяки цьому, стабілізують ендотеліальні клітини гемокапілярів судинних клубочків, які виявляють більший ступень опірності у порівнянні з ендотеліальними клітинами стінки судин перитубулярної сітки. Виразом реактивних перетворень подоцитів є варіабельність форми і розмірів цитотрабекула, цитоподій та підопшв прикріплення цитоподій. Їх деформаційні модуляції, разом із змінами базальної мембрани, поєднуються із підвищенням структуралізації розташованих в цитоплазмі елементів цитоскелету (мікрофіламентів та мікротрубочок), що, в сукупності, зумовлює зміни розмірів і конфігурацій фільтраційних щілин та фільтраційних діафрагм, спричиняючи таким чином зміни умов фільтрації.

2. Порівняльний аналіз впливів внутрішньовенної інфузії 9,0% розчину NaCl та комплексних колоїдно-гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом та HAEL-LX-5%) на структуру нирок за умов експериментального моделювання опікової хвороби у щурів (шляхом нанесення опікової травми шкіри площею 21-23% поверхні тіла) свідчить про притаманні кожному розчину особливості дії на перебіг реактивних і деструктивних процесів в клітинах. Функціонально різні клітини нефронів за умов інфузії дезінтоксикаційних розчинів при розвитку опікової хвороби гинуть шляхом некрозу, апоптозу та анокісу; в епітеліальних клітинах каналців нефронів відбуваються мітофагія та мітоптоз.

3. Притаманна тільки лактопротеїну з сорбітолом мембранопластична дія щодо укріплення (посилення структуралізації) мітохондріальної оболонки у частини мітохондрій епітеліальних клітин каналців нефронів ультраструктурно проявляється підвищенням електронної щільності та товщини усіх складових мітохондріальної оболонки. Максимально зазначений мембранопластичний ефект дії лактопротеїну з сорбітолом щодо мітохондрій проявляється через 14 діб після експериментальної опікової травми шкіри і поступово (через 21 та через 30 діб) зникає, що корелює з покращенням загального клінічного стану і показників щодо структурних змін в нирках тварин з опіковою хворобою. Є усі підстави вважати, що посилення структуралізації мітохондрій є запобіжником поширення мітоптозу та мітофагії, надлишковий характер яких може призвести до клітинної загибелі.

Перспективи подальших досліджень в даному напрямку полягають у вивченні нефротоксичних і нефропротекторних властивостей існуючих



і новітніх дезінтоксикаційних розчинів за умов їх застосування в комплексному лікуванні опікової хвороби.

4. Використані у дослідженні дезінтоксикаційні розчини обумовлюють різні варіанти перебігу реактивних та деструктивних змін в клітинах кіркової речовини нирок щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри. За умов внутрішньовенної інфузії 0,9% розчину NaCl відбуваються, головним чином, некротичні зміни клітини, які супроводжуються розвитком інтерстиціального набряку, появою крововиливів та лімфоцитарних інфільтратів. За умов внутрішньовенної інфузії лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5% поширення деструктивних змін в кірковій речовині нирок щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри є загальмованим та змістовно зміненим як у часовому, так і у просторовому вимірах. Внутрішньовенна інфузія застосованих колоїдно-гіперосмолярних розчинів забезпечує гальмування некрозу клітин, пригнічує таким чином запальну реакцію і сприяє обмеженому, локальному характеру мітоптичних та апоптозних змін. Обмежена селективна мікроаутофагія у вигляді мітофагії в клітинах кіркової речовини нирок щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри є проявом компенсаторно-приспосувальної реакції, баланс якої має певні межі. Якщо мікроаутофагія не адекватно поширюється, то це призводить до макроаутофагії і може закінчитися некрозоподібною загибеллю надлишково вакуолізованої клітини. Якщо поширення мікроаутофагії не адекватно обмежується, то це може призвести до апоптозних змін клітини.

5. Мітоптоз в епітеліальних клітинах каналців нефронів щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри, здійснюється двома шляхами що пов'язані з: 1) руйнацією зовнішньої мітохондріальної мембрани; 2) збереженням зовнішньої мітохондріальної мембрани та залученням аутофагійних (мітофагійних) механізмів для звільнення клітини від деградованого мітохондріального матеріалу. У першому випадку мітохондрія спочатку конденсується, після чого відбувається набухання її матриксу і фрагментація крист за рахунок руйнації з'єднань крист. Нарешті, зовнішня мітохондріальна мембрана розривається і залишки крист (у вигляді везикул) виходять у цитоплазму. У другому випадку мітохондрія конденсується, відбувається везикулярна фрагментація крист, але розриву зовнішньої мітохондріальної мембрани не відбувається і мітохондрія поглинається аутофагосомою (або перетворюється на аутофагосому). Далі відбувається злиття аутофагосом з лізосомами і утворення аутофаголізосом, які, за умов ефектив-

ного перетравлення вмісту, трансформуються у вакуолі. Останні випорожнюються шляхом екзоцитозу і забезпечують вивільнення клітини від деградованого матеріалу.

## References

- Bhalla-Kissova I., Camougrand N. (2010). Mitophagy in yeast: actors and physiological roles. *FEMS Yeast Res*, 10(8), 1023-1034. DOI: 10.1111/j.1567-1364.2010.00659
- Bunn F., Alderson P., Hawkins V. (2012). Colloid solutions for fluid resuscitation. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 7, 30-34. DOI: 10.1002/14651858.CD001319.pub5
- Cherkasov E.V., Gunas I.V., Cheresnyuk I.L., Lysenko D.A. (2012). Features of thymus cells cycle in rats after burn lesion of a skin. *Ukrainian morphological almanac*, T. 2, No. 3, 109-113. URI:<https://dspace.vnmu.edu.ua/123456789/580>
- Cherkasov V.G., Lachtadyr T.V., Turbal L.V., Doroshchuk S.M., (2020). Strukturni proyavy ER-stresu, apoptozu i nekrozu v endoteliotsytakh hemo kapilyariv nefroniv pry eksperymental'ne opikovy khvorobi u shchuriv za umov vplyviv infuziyi riznykh dezintoksykatsiynykh rozchyniv. "Dynamics of the development of world science". Abstracts of VI international scientific and practical conference 19-21 February 2020. Vancouver, Canada, pp. 718-732.
- Davidson I.J. (2011). Renal impact of fluid management with colloids: a comparative review. *EurJAnaesthesiol*, 23(9), 721-738. DOI:10.1017/S0265021506000639
- Dzevulska I.V., Kovalchuk O.I., Cherkasov E.V., Majewskiy O.Ye., Shevchuk Yu.G., Pastukhova V.A., Kyselova T.M. (2018). Influence of lactoproteinum solutoin with sorbitol on dna content of cells of endocrine glands on the background of skin burn in rats. *World of medicine and biology*, 2(64),033-039. DOI: 10.26724/2079-8334-2018-2-64-33-39
- European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. ETS No. 123. Strasbourg, 18/03/1986. <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/123>

- Gavryluk A.O., Galunko G.M., Chereszniuk I.I., 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-LX5%. *World of Medicine and Biology*, 1(63), 104-108. DOI: 10.26724/2079-8334-2017-4-62-104-108
- Gunas I.V., Guminskiy Yu.I., Ocheretna N.P., Lysenko D.A., Kovalchuk O.I., Dzevulska I.V., Cherkasov E.V. (2018). Indicators cell cycle and dna fragmentation of spleen cells in early terms after thermal burns of skin at the background of introduction 0.9% NaCl solution. *World of Medicine and Biology*, 1(63), 116-120. DOI: 10.26.724/2079-8334-2018-1-63-116-120
- Hartog C.S., Kohl M., Reinhart K. (2011). A systematic review of third-generation hydroxyethyl starch (HES 130/0.4) in resuscitation: safety not adequately addressed. *Anesth Analg*, 16, 635-645. DOI: 10.1213/ANE.0b013e31820ad607
- Jangamreddy J.R., Los M.J. (2012). Mitoptosis, a novel mitochondrial mechanism leading predominantly to activation of autophagy. *Hepat Mon*, 12(8), 6159-6163. DOI: 10.5812/hepatmon.6159
- Kaminsky R., Lachtadyr T., Kovalchuk O. (2019). History of museum in human and histology and embryology departments of national medical university. "In the International congress of anatomia clinica (EACA 2019) held in Madrid" 24-26 June 2019. Madrid, pp. 156-157.
- Kansir A.S., Johansen J.K., Pedersen E.B. (2015). The effect of 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 on renal function, arteriolar blood pressure, and vasoactive hormones during radical prostatectomy: a randomized controlled trial. *Anesth Analg*, 120(3), 608-618. DOI: 10.1213/ANE.0000000000000596
- Kaushal G.P., Shan S.V. (2016). Autophagy in acute kidney injury. *Kidney Int*, 89(4), 779-791. DOI: 10.1016/j.kint.2015.11.021
- Keck M., Herdon D., Komolz L.-P. (2009). Pathophysiology of burns. *Wien Med. Wochenschr*, 159, 327-336. DOI:10.1136/bmj.328.7453.1427
- Kovalchuk O., Cherkasov E., Dzevulska I., Raminsky R., Korsak A., Sokurenko L. (2017). Dynamics of morphological changes of rats' adenohypophysis in burn disease. *Georgian Medical News*, 01 Sep 2017(270), 104-108. PMID:28972493
- Lachtadyr T.V. (2019). Structural changes of the rat kidney cortical substance in the long-term period after burn injury of the skin under conditions

of HAES-LX\_5% infusion. *Emergency Medicine*, 5(100), 96-100. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0586.5.100.2019.177023>

Mohanam M., Rajan S., Kesavan R., Mohamed Z.U., Ramaiyar S.K., Kumar L. (2019). Evaluation of renal function with administration of 6% hydroxyethyl starch and 4% gelatin in major abdominal surgeries: a pilot study. *Anesth Essays Res.* 2019 Apr-Jun, 13(2), 219-224. DOI: 10.4103/aer.AER\_25\_