

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

МАТКІВСЬКА РУЖЕНА МИХАЙЛІВНА

УДК 611.428:57.012.4:611.344:616.5-001.17:57.085

**СТРУКТУРНІ ЗМІНИ СКУПЧЕНИХ ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ
КЛУБОВОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ
ОПІКОВІЙ ТРАВМІ ШКІРИ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ
ІНФУЗІЙНИХ РОЗЧИНІВ**

14.03.01 – нормальна анатомія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України, м. Київ.

Науковий керівник

заслужений діяч науки і техніки України,
доктор медичних наук, професор
Черкасов Віктор Гаврилович,
Національний медичний університет
імені О.О. Богомольця МОЗ України,
завідувач кафедри анатомії людини.

Офіційні опоненти:

заслужений працівник освіти України,
доктор медичних наук, професор
Головацький Андрій Степанович,
Ужгородський національний університет, професор кафедри
анатомії людини та гістології медичного факультету;

доктор медичних наук, професор
Масвський Олександр Євгенійович,
Вінницький національний медичний університет
імені М.І. Пирогова, завідувач кафедри гістології.

Захист відбудеться « ____ » _____ 2018 року о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.003.06 при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України (03680, Україна, м. Київ, проспект Перемоги, 34, морфологічний корпус, конференц-зал кафедри анатомії людини).

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України (03057, Україна, м. Київ, вул. Зоологічна, 1).

Автореферат розісланий « ____ » _____ 2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д. 26.003.06,
кандидат медичних наук, доцент

М.А. Безштанько

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В сучасних умовах зростання енергооснащеності виробництва та побуту, широкого використання вогнебезпечних речовин та газів значно збільшилась частота опіків, що стало глобальною проблемою (Smolle, Ch. et al., 2017). Глибокі поширені опіки характеризуються не лише пошкодженням покривних тканин, а й викликають тривалі поліорганні зміни в організмі опечених, які об'єднуються нозологічним поняттям «опікова хвороба» (Козинець, Г.П. та ін., 2008). Численні аспекти перебігу опікової хвороби у теперішній час підлягають інтенсивному вивченню на різноманітних експериментальних моделях (Abdulahi, A. et al., 2014), які дозволили виявити особливості реакції імунокомпетентних органів у опечених і привернути увагу до змін структури та функції скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки (бляшок Пейєра), які забезпечують «intestinal mucosal immunity» (Fan, J. et al., 2010), «oral tolerance» (Castro-Sanchez, P. et al., 2013) та є «the immune sensors of the intestine» (Jung, C. et al., 2010).

Варто зауважити, що на сьогодні в комбустіології для лікування важкоопечених широко застосовують внутрішньовенну інфузію різноманітних інфузійних розчинів (Коваленко, О.М., 2014; Черкасов, В.Г. та ін., 2014, 2015). Однак, до початку нашого дослідження, вплив інфузійної терапії на стан «інтестинального мукозального імунітету» та на структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки (бП) за умов важких опіків шкіри не був предметом спеціальних досліджень.

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

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

затверджена Вченою радою медичного факультету №1 НМУ імені О.О. Богомольця (протокол №4 від 08.12.2011) та Проблемною комісією МОЗ і НАМН України «Морфологія людини» (протокол №11 від 25.11.2011).

Мета дослідження: встановити структурні відмінності пошкодження та компенсаторно-пристосувальні зміни у бП білих щурів-самців у різні терміни після експериментальної термічної опікової травми шкіри (ОТ) за умов застосування внутрішньовенної інфузії ІР та комбінованих гіперосмолярних розчинів (рЛ та рГ).

Завдання дослідження:

1. Встановити особливості структурних змін бП щурів через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після ОТ II-III ступеня за умов застосування упродовж перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії ІР;

2. Визначити особливості структурних змін бП білих щурів-самців через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після ОТ II-III ступеня за умов застосування упродовж перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії рЛ;

3. З'ясувати особливості структурних змін бП щурів через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після ОТ II-III ступеня за умов застосування упродовж перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії рГ.

4. Оцінити та порівняти структурні прояви компенсаторно-пристосувальних змін в бП щурів після ОТ за умов внутрішньовенного введення різних інфузійних розчинів (ІР, рЛ та рГ).

Об'єкт дослідження – відмінності деструктивних, компенсаторно-пристосувальних та регенеративних зрушень в бП білих щурів-самців після ОТ в залежності від часу після опіку та здійсненої фармакотерапії різними інфузійними розчинами.

Предмет дослідження – показники гістологічних та ультраструктурних змін бП білих щурів-самців через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після ОТ за умов застосування внутрішньовенної інфузії ІР та комплексних гіперосмолярних розчинів (рЛ і рГ).

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

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

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

Практичне значення одержаних результатів. Уперше встановлені (залежні від застосованих інфузійних розчинів) фазні зміни гемо- та лімфомікроциркуляторного русла бП опечених щурів, судини якого забезпечують можливість виконання необхідної для реалізації імунної функції рециркуляції та трансмуральної міграції імунокомпетентних клітин. Визначено, що опік шкіри індукує некроз та/або апоптоз Л, а також клітин фолікуло-асоційованого епітелію та антигенпредставляючих клітин бП. Компенсація відзначених проявів альтерації обумовлена не тільки захистом клітин від тих ушкоджень, які призводять до клітинної смерті, або посиленням проліферації неушкоджених клітин, але й із залученням додаткових механізмів, які мають змінити умови і швидкість рециркуляції імунокомпетентних клітин. Уперше одержані результати свідчать про інтегральну реакцію імунної системи на опік, яка може бути оптимізована і стабілізована за умов своєчасної і адекватної інфузійної терапії із застосуванням комбінованих гіперосмолярних розчинів (рЛ та/або рГ).

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

№2 від 13.02.2018); патологічної анатомії ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет» (протокол №11 від 13.03.2018); гістології Вінницького НМУ ім. М.І. Пирогова (протокол №7 від 15.02.2018); анатомії людини Вінницького НМУ ім. М.І. Пирогова (протокол №10 від 07.02.2018); анатомії людини ім. М.Г. Туркевича ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет» (протокол №43 від 05.02.2018).

Особистий внесок здобувача. Дисертант сформулювала мету і завдання дослідження, самостійно провела інформаційний пошук та проаналізувала літературні джерела. Дисертант брала участь у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для світлової та електронної мікроскопії, їхній обробці, заливці та виготовленні препаратів. Здобувачем самостійно написані всі розділи дисертації. Висновки сформульовані разом із науковим керівником. У статтях, опублікованих у співавторстві, автору належать дані щодо дослідження бП.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації оприлюднені на XII Міжнародному конгресі з інтегративної антропології (Вінниця, 2013); науково-практичній інтернет-конференції «Актуальні проблеми функціональної морфології», присвяченій 110-річчю до дня народження професора Е.Д. Бромберг (Полтава, 2014); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Youth nanobiotech-2014. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» (Київ, 2014); XV конгресі СФУЛТ присвяченому 70-річчю Буковинського державного медичного університету (Чернівці, 2014); науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології» (Вінниця, 2017).

Апробація дисертаційної роботи проведена на спільному засіданні апробаційної ради «Морфологія», кафедр анатомії людини, гістології та ембріології, оперативної хірургії та топографічної анатомії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (протокол №4 від 30.03.18 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових робіт, з них 9 статей у фахових виданнях, які включені до переліку міжнародних наукометричних баз (з них 3 статті одноосібні) та 5 тез у матеріалах наукових конгресів і конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 249 сторінках і складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних результатів дослідження, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, переліку використаних джерел (221 найменування, з яких кирилицею 75, латиницею 146), додатків. Робота містить 2 таблиці та 103 рисунки.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Порівняльний аналіз структурних змін бП білих щурів при ОТ за умов інфузії ІР та гіперосмолярних розчинів рЛ та рГ був виконаний відповідно до угод «Про наукове співробітництво між Вінницьким НМУ ім. М.І. Пирогова і ДУ «Інститут патології крові та

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

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

У проведеному нами дослідженні ОТ викликали у відповідності до поширеної серед дослідників базовій моделі F.C. Regas, H.P. Ehrlich (1992), яка була дещо змінена і оптимізована I. Gunas et al. (1997). Для оцінки результативності ОТ та її відповідності поставленим у дослідженні завданням у рамках загальної частини комплексної НДР з'ясували рівень ендогенної інтоксикації у щурів з ОТ. Ступінь інтоксикації визначали за показниками молекул середньої маси (Габриєлян, Н.И. и др., 1985) та лейкоцитарним індексом інтоксикації, який вираховували за формулою Я. Кальф-Каліфа (Гусак, В.А.,

2000). Встановлено (Гунас, І.В. та ін., 2012), що такі показники ендогенної інтоксикації як рівень молекул середньої маси та лейкоцитарний індекс інтоксикації є статистично значуще нижчим у щурів без ОТ, ніж у щурів з ОТ впродовж усього періоду спостережень ($p < 0,05-0,001$) та є статистично значуще вищим ($p < 0,05$) у щурів з ОТ, яким вводили ІР, у порівнянні з тваринами, яким вводили розчин рЛ або рГ.

Інфузію розчинів проводили впродовж 5 хвилин у каудальну порожнисту вену після її катетеризації в асептичних умовах через стегнову вену. Першу інфузію виконували через 1 годину після нанесення ОТ, наступні введення виконували 1 раз на добу протягом перших 7 діб експерименту. Гоління тварин, нанесення ОТ та катетеризацію магістральних судин здійснювали в умовах прополового наркозу (60 мг/кг в/о). Забір матеріалу від щурів проводили за умов глибокого тіопентального внутрішньоочеревинного наркозу через 1, 3, 7, 14, 21 та через 30 діб після нанесення ОТ. Для гістологічного дослідження невеликі шматочки бП фіксували в 10% розчині нейтрального формальдегіду. Після фіксації матеріал промивали, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, проводили через хлороформ та заливали у парапласт. Зрізи тканин товщиною 7-8 мкм готували на ротаційному мікротомі, розміщували на склі, забарвлювали гематоксиліном-еозином і заливали в канадський бальзам. Гістологічне дослідження бП виконували на мікроскопі Olympus BX51. Для електронномікроскопічного дослідження шматочки бП розрізали на невеликі блоки та фіксували в розчині глютарового альдегіду з дофіксацією у розчині чотирьохокису осмію. Після стандартної проводки матеріал заливали в суміш аралдиту з епоксидними смолами (Уикли Б., 1975). Наступні етапи щодо електронномікроскопічного дослідження були виконані на базі лабораторії електронної мікроскопії (науковий керівник – професор Л.О. Стеченко) Інституту проблем патології НМУ імені О.О. Богомольця. Напівтонкі та ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція). Напівтонкі зрізи забарвлювали толуїдиновим синім та метиленовим синім-азур II. Ультратонкі зрізи контрастували на мідних опорних сіточках уранілацетатом і цитратом свинцю за Рейнольдсом. Фотографування під час проведення електронномікроскопічного дослідження здійснювали на електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

Для інтегральної об'єктивної оцінки перебігу компенсаторних, пристосувальних процесів в бП опечених щурів здійснене морфометричне дослідження змін середньої площі їхніх поперечних перерізів. Зображення з гістологічних препаратів забарвлених гематоксилін-еозином на монітор комп'ютера виводили з мікроскопу MICROmedSEOSCAN та за допомогою відеокамери VisionCCDCamera. Морфометричні дослідження проведені за допомогою програм ВидеоТест-5.0, КАРА Image Base та Microsoft Excel на персональному комп'ютері.

Статистична обробка отриманих кількісних даних проведена з використанням статистичного пакету IBM SPSS v. 22.0. for Windows. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної (М), похибки

середньої арифметичної (m) і стандартне відхилення (σ). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі (оцінку виду розподілу перевіряли за критерієм χ^2 – Пірсона) за t-критерієм Стюдента (при порівнянні більше двох груп використовували поправку Бонферроні), а в інших випадках – за допомогою U-критерія Мана-Уїтні. Для порівняння якісних ознак використано критерій χ^2 . Для аналізу ефективності різних видів фармакотерапії використовувався метод побудови кривих виживання (Каплана-Мейєра), порівняння яких проводилося за логранговим критерієм.

Результати дослідження та їх обговорення. Нами встановлено, що у досліджуваних щурів без ОТ в бП шляхом апоптозу асинхронно гинуть лише окремі Л; він характеризується усіма «класичними» структурними ознаками, не поєднується з некрозом, завершується ефективним фагоцитозом апоптозних тілець та клітин. За умов здійсненого експерименту відбувається не просто порушення експансії апоптозу, як складової системної апоптозної відповіді на опік, а некротичні зміни первинно апоптозно змінених Л та їхніх апоптозних тілець. Некроз і апоптоз у випадку дії на опечених ІР мають надлишковий характер і призводять не тільки (Devitt, A., Marschal, L.J., 2011) до невідповідності апоптозного кліренсу (швидкості очищення бП від апоптознодеградованих лімфоцитів), але й до неспроможності позбавлення від клітинного некротичного детриту, який слугує додатковим джерелом і чинником поширення запального процесу, а також розвитку типових для опікової хвороби внутрішньоклітинних і міжклітинних набряків. М у складі бП (за ультраструктурними ознаками) перебувають у стані фагоцитарного перенапруження, яке часто закінчується їхньою некротичною загибеллю.

Позитивні (компенсаторно-приспосувальні) ефекти впливу внутрішньовенної інфузії рЛ та рГ на структуру бП піддослідних опечених тварин включають: 1) гальмування некрозу як Л звичайної будови, так і апоптозних Л (та їхніх апоптозних тілець); 2) унормування апоптозного кліренсу; 3) забезпечення структурної збереженості (та підвищення структурної опірності) ДК та М, що уможливорює нормальний перебіг антигенпредставляючої та фагоцитарної функції. У бП опечених щурів, яким була здійснена внутрішньовенна інфузія ІР, починаючи з ранніх термінів експерименту, нами відзначений прогресивний розвиток навколосудинного та міжклітинного набряку та виявлені Л на усіх етапах апоптозних та некротичних перетворень. Ці перетворення ніби «розтягнуті» у просторі і часі. Так, в бП можна розрізнити Л на різних стадіях структурної деградації. Результатом некрозу апоптозно незмінених і апоптозно змінених Л, а також апоптозних тілець в бП є утворення клітинного детриту. Нами, за умов ОТ, відмічені структурні зміни та загибель окремих антигенпредставляючих клітин бП: ДК (апоптоз); М (некроз). Слід зазначити, що функції ДК і М відрізняються, але наслідки їхньої загибелі є істотними для перебігу імунних процесів.

Серед ДК бП нами виявлені ДК з підвищеною осміофілією цито- та нуклеоплазми (темні ДК), які чітко відрізняються від ДК з помірною осміофілією

(світлі ДК). Крім виявлених ультраструктурних відмінностей темних та світлих ДК окремої згадки заслуговує одночасне поєднання ознак гідrataції (вакуолізація) та дегідrataції (ущільнення) цитоплазми темних ДК бП опечених щурів, які закінчуються їхнім апоптозним блебінгом. Таке поєднання є свідченням зриву компенсаторно-приспосувальних процесів, проявом порушення клітинного балансу «дегідrataція/гідrataція» і ознакою наступних апоптозних змін. Оскільки ушкоджені ДК елімінувалися виключно шляхом апоптозу (некрозу ДК нами не виявлено), здійснену опеченим щурам інфузійну терапію у всьому спектрі (ІР, рЛ, рГ) варто визнати ефективною. У щурів з ОТ зареєстрований некроз усіх різновидів клітин фолікуло-асоційованого епітелію бП, руйнація щільних контактів та наявність міжклітинного набряку в епітелії, що уможлиблює парацелюлярне потрапляння антигенного матеріалу із інтестинального просвіту до антигенпредставляючих клітин. Це є ознакою порушення антигенної презентації в бП, яка, значною мірою, нівелюється за умов застосування інфузії рЛ і рГ. Судинні зміни в бП щурів з ОТ за умов інфузії ІР проявляються у: 1) звуженні просвіту артеріол; 2) порушенні структурної цілісності стінки розширених і заповнених еритроцитарними масами кровоносних капілярів і венул; 3) порушенні структурної цілісності стінки та різкому розширенні просвіту лімфатичних капілярів. Втрата цілісності стінки кровоносних капілярів і венул відбувається за рахунок: розширення міжендотеліальних щілин; локальної руйнації основної перетинки; некрозу окремих ендотеліоцитів. Ці зміни супроводжуються виразною реакцією паравазальних мастоцитів (бурхливою дегрануляцією; частковою або тотальною руйнацією плазмолемі), лейкоцитарною інфільтрацією утворених зон набряку, появою крововиливів та некрозу. За умов здійсненої в нашому дослідженні внутрішньовенної інфузії щурам з опіком шкіри рЛ або рГ, некротичних та супутніх до них запальних проявів у бП не відзначено.

На відміну від рГ, структурне віддзеркалення ангіо- та цитопротекторної дії рЛ є більш виразним, що було засвідчено співвиконавцями нашої комплексної НДР при вивченні різних органів опечених щурів з ОТ (Ковальчук, А.И. и др., 2014; Гунас, І.В. та ін., 2015). Що стосується бП, то проявом ініціації мембранопластичного ефекту дії рЛ є його просякнення через стінку кровоносних капілярів і венул, візуалізоване при електронномікроскопічному дослідженні. Свідченням просякнення і міжклітинного розповсюдження рЛ є поява різноманітних за формою і розмірами смужок електроннощільного матеріалу, який складається з: 1) гомогенного аморфного компонента; 2) гетероморфного компонента (дрібних фібрил і гранул). Візуалізований електроннощільний матеріал декорує не тільки доволі широкі міжклітинні проміжки, але, навіть, вузькі проміжки між інтердигітуючими відростками ДК. Навколо кровоносних капілярів і венул виявлені електроннощільні просякнення поширюються циркулярно, утворюючи колоподібний електроннощільний каркас для ендотеліоцитів та перицитів. Цей матеріал поступово (упродовж проміжку часу між 7 та 14 добою після опіку) трансформується у мембраноподібний комплекс. Узгодженою точкою зору щодо генезу розгалужених

мембраноподібних структур у міжклітинних просторах та колоподібних мембранних структур навколо кровоносних капілярів і венул є обґрунтоване припущення про те, що вони є результатом активної переробки та/або модифікації біохімічно трансформованих за умов ОТ компонентів рЛ, які відбуваються із залученням синтезуючої та фагоцитарної активності клітин їхнього мікрооточення у внутрішніх органах (Черкасов, В.Г. и др., 2015).

За умов інфузії опеченим щурам ІР стінка навколівузликів лімфатичних капілярів є потоншеною, а (за рахунок розширення міжендотеліальних щілин) контакт лімфи у просвіті лімфатичного капіляра з міжклітинною сполучнотканинною речовиною стає безпосереднім. Зазначені структурні зміни лімфатичних капілярів є компенсаторно-приспосувальними, з огляду на виразний ефект обмеження міжклітинного набряку, але вони, безумовно, мають негативні наслідки у вигляді можливого безконтрольного розповсюдження ендотоксинів, біологічно активних речовин, імунних комплексів тощо. Інфузія рЛ та рГ сприяє збереженню звичайної будови навколівузликів лімфатичних капілярів. Відмінністю навколівузликів лімфатичних капілярів у опечених щурів, яким була здійснена інфузія рЛ, є те, що вони доволі часто переповнені (феномен «переповнення») Л звичайної будови, ДК, клітинами у стані мітозу, апоптозними клітинами і апоптозними тільцями. Зважаючи на те, що лімфатичні капіляри лімфодних органів виконують не просто дренажну функцію, але є шляхами, що забезпечують рециркуляцію Л і міграцію в регіональні лімфатичні вузли ДК, такі їхні реактивні зміни є визначальними за наслідками.

Нами встановлені (залежні від застосованих інфузійних розчинів) структурні зміни клітин, а також гемо- та лімфомікроциркуляторного русла БП щурів з ОТ, які мають впливати на клінічний стан щурів. При проведенні порівняння виявлено відмінність виживання щурів в залежності від фармакотерапії ($p < 0,001$ за логранговим критерієм). Виявлено, що фармакоterapia з використанням рГ знижує ($p < 0,05$) летальність щурів з ОТ, HR=0,30 (95% ВІ 0,19-0,46) у порівнянні з ІР, фармакоterapia з використанням рЛ знижує ($p < 0,05$) летальність щурів з ОТ, HR=0,24 (95% ВІ 0,16-0,38) у порівнянні з використанням ІР. Статистично значущої відмінності виживання щурів з ОТ при використанні рЛ у порівнянні з використанням рГ не виявлено ($p > 0,05$), HR=0,82 (95% ВІ 0,51-1,31). Мембранопластичний ефект дії рЛ в БП проявляються у «виключенні» з системи гемомікроциркуляції низки кровоносних капілярів, що обумовлено утворенням щільних колоподібних мембранних структур, які діють як зашморг, сприяючи закриттю судинного просвіту. Колоподібні мембранні структури є настільки виразними, наскільки більш виразними є структурні ознаки збільшення проникності судинної стінки для компонентів рЛ. Таким чином, більш трансформованими є більш уражені кровоносні капіляри і саме вони «виключаються» першими. Це призводить до змін гемомікроциркуляції, які провокують зміни лімфомікроциркуляції і відповідні зміни вибіркової рециркуляції структурно неушкоджених Л. Виявлено статистично значиму зміну морфометричних показників кровоносних капілярів БП з ОТ за умов інфузії рЛ та рГ. За умов введення ІР, рЛ і рГ відмічена

тенденція до хвилеподібних змін середньої площі поперечного перерізу кровоносних капілярів бП щурів з ОТ. При цьому найбільш статистично значущими були зміни в групі щурів, які одержували ІР і рГ: площа поперечного перерізу кровоносних капілярів збільшилась відповідно на 16,0% і 12,0% ($p < 0,05$).

Результати нашого дослідження свідчать, що за умов здійсненого експерименту і застосованої дози та режиму введення інфузійних розчинів компенсація виявлених проявів альтерації за умов інфузії рЛ та рГ здійснюється не тільки за рахунок захисту клітин від тих ушкоджень, які призводять до клітинної смерті, або за рахунок підвищення проліферації неушкоджених клітин, але й із залученням додаткових механізмів, які мають змінити умови і швидкість рециркуляції імунокомпетентних клітин. Одержані нами результати свідчать про інтегральну реакцію імунної системи на опік, яка може бути оптимізована і стабілізована за умов своєчасної і адекватної інфузійної терапії.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання щодо встановлення структурних відмінностей пошкодження та компенсаторно-приспосувальних змін в скупчених лімфоїдних вузликах клубової кишки щурів у різні терміни після експериментального опіку шкіри II-III ступеня за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9% розчину хлориду натрію та комплексних гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом та гекотону).

1. Загальним проявом структурних зрушень в скупчених лімфоїдних вузликах клубової кишки щурів з експериментальною опіковою травмою шкіри є некроз і апоптоз функціонально різних клітин, які відбуваються на тлі виразних змін судин гемо- та лімфомікроциркуляторного русла. Особливу роль у цьому процесі відіграє динаміка клітинної загибелі лімфоцитів – основної імунокомпетентної клітини скупчених лімфоїдних вузликів. За умов норми, шляхом апоптозу асинхронно гинуть лише окремі лімфоцити; він характеризується усіма класичними структурними ознаками, не поєднується з некрозом, завершується ефективним фагоцитозом апоптозних тілець та клітин. За умов опіку, відбувається не просто порушення експансії апоптозу, а некротичні зміни первинно апоптозно змінених лімфоцитів та їхніх апоптозних тілець.

2. Позитивні (компенсаторно-приспосувальні за сутністю) ефекти впливу внутрішньовенної інфузії лактопротеїну з сорбітолом та гекотону на структуру скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки піддослідних опечених тварин включають: 1 – гальмування некрозу як лімфоцитів звичайної будови, так і апоптозних лімфоцитів (та їхніх апоптозних тілець); 2 – унормування апоптозного кліренсу; 3 – забезпечення структурної збереженості (та підвищення структурної опірності) дендритних клітин та макрофагоцитів, що уможливорює нормальний перебіг антигенпредставляючої та фагоцитарної функції. Відмічені

зміни лімфоцитів є проявом їхньої стресорної відповіді на опік, яка полягає: у початковій адекватній апоптозній елімінації ушкоджених лімфоцитів, в подальшому порушенні енергетичного забезпечення програми регенеративної проліферації, а за гірших умов (зриву адаптаційної відповіді) – у хаотичному і асинхронному некротичному руйнуванні апоптозно змінених і апоптозно незмінених клітин.

3. Дендритні клітини скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів без опіку та з опіком шкіри локалізовані в субепітеліальному куполі кожного вузлика. Морфологічно (за різним ступенем електронної щільності цитоплазматичного матриксу) дендритні клітини можна поділити на «світлі» та «темні». Світлі дендритні клітини мають відносно обмежену кількість органел (рибосоми, полісоми, трубочки гранулярної ендоплазматичної сітки, окремі або згруповані невеликі мітохондрії, поодинокі дрібні лізосоми), які розміщені у доволі рясній цитоплазмі. В цитоплазматичному матриксі темних дендритних клітин візуалізуються численні елементи цитоскелету (мікрофіламенти і мікротрубочки), виразна структуралізація яких є свідченням актуалізації міграційних потенцій дендритних клітин. В цитоплазмі темних дендритних клітин (крім звичайного набору нечисленних органел, які є типовими і для світлих дендритних клітин) локалізовані дрібні пухирці, первинні та вторинні лізосоми, а також невеликі фагосоми і фаголізосоми. Така ультраструктурна організація цих клітин є свідченням їхньої фагоцитарної активності, а також є структурним віддзеркаленням процесінгу антигенного матеріалу із залученням лізосом.

4. Темні дендритні клітини скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів є вразливими щодо дії шкідливих наслідків опікової травми шкіри і деякі з них підлягають апоптозному блеббінгу. Апоптозному блеббінгу передують підвищення осміофілії цито- та нуклеоплазми та вакуолізація цитоплазми, що асоційована з низкою супутніх ультраструктурних змін цитоскелету. Одночасні поєднання ознак гідратації (вакуолізація) та дегідратації (ущільнення) цитоплазми темних дендритних клітин є свідченням зриву компенсаторно-приспосувальних процесів, проявом порушення внутрішньоклітинного балансу «дегідратація/гідратація» і ознакою наступних апоптозних змін. З огляду на те, що ушкоджені дендритні клітини елімінуються виключно шляхом апоптозу (некрозу дендритних клітин нами не виявлено), здійснену опеченим щурам інфузійну терапію у всьому спектрі (0,9% розчин хлориду натрію, лактопротеїну з сорбітолом та гекотону) варто визнати хоч і обмеженою (певними властивостями певних розчинів), але ефективною.

5. За умов норми, у складі фолікуло-асоційованого епітелію (що забезпечує трансцелюлярне транспортування антигенного матеріалу з інтестинального просвіту до антигенпредставляючих клітин) ідентифіковані: стовпчасти ентоцити з щіточковою облямівкою (переважна більшість клітин); М-клітини з характерними численними заглибинами на апікальній поверхні; келихоподібні клітини. За умов опікової травми шкіри, зареєстрований некроз усіх різновидів клітин фолікуло-асоційованого епітелію, а також відзначена руйнація щільних

контактів та наявність міжклітинного набряку в епітелії, що уможливило появу парацелюлярного шляху потрапляння антигенного матеріалу із інтестинального просвіту до антигенпредставляючих клітин. Це є ще однією рисою порушення антигенної презентації в скупчених лімфоїдних вузликах, яка нівелюється за умов застосування інфузії лактопротеїну з сорбітолом та гекотону.

6. За умов інфузії 0,9% розчином хлориду натрію судинні зміни в скупчених лімфоїдних вузликах опечених щурів відбуваються у вигляді порушення цілісності судинної стінки кровоносних капілярів і венул, проявом яких є: розширення міжендотеліальних щілин; локальна руйнація основної перетинки; некроз окремих ендотеліоцитів. У просвіті судин гемомікроциркуляторного русла скупчених лімфоїдних вузликів відмічені явища еритроцитарного складжування та гемолітичні зміни еритроцитів. Ці зміни супроводжуються виразною реакцією паравазальних мастоцитів, лейкоцитарною інфільтрацією (переважно за рахунок базофільних лейкоцитів), утворенням зон набряку, появою крововиливів та зон некрозу. За умов внутрішньовенної інфузії щурам з опіком шкіри лактопротеїну з сорбітолом або гекотону некротичних та супутніх до них запальних проявів у скупчених лімфоїдних вузликах не відзначено; відсутньою є бурхлива дегрануляція та руйнація мастоцитів, а також виразна лейкоцитарна інфільтрація, діapedезні крововиливи, навколосудинні та міжклітинні набряки є відсутніми або обмеженими; руйнації стінки судин гемомікроциркуляторного русла або розширення в ній міжендотеліальних щілин (що мали б свідчити про підвищення судинної проникності) не встановлено.

7. На відміну від гекотону, структурне віддзеркалення ангіо- та цитопротекторної дії лактопротеїну з сорбітолом є більш виразним. Проявом ініціації мембранопластичного ефекту дії лактопротеїну з сорбітолом є його проникнення через стінку кровоносних капілярів і венул скупчених лімфоїдних вузликів щурів з опіком шкіри, яке візуалізується при електронномікроскопічному дослідженні у вигляді різноманітних за формою і розмірами смужок електроннощільного матеріалу. Цей матеріал поступово (упродовж проміжку часу між 7 та 14 добою після опіку) трансформується у мембраноподібний комплекс. Мембранопластичний ефект дії лактопротеїну з сорбітолом проявляється також у «виключенні» з системи гемомікроциркуляції низки кровоносних капілярів внаслідок утворення щільних колоподібних мембранних структур, що діють як зашморг, сприяючи закриттю судинного просвіту. Колоподібні мембранні структури є настільки виразними, наскільки більш виразно збільшується проникність судинної стінки для компонентів лактопротеїну з сорбітолом (яка, в свою чергу, залежить від рівня її ушкодження). Таким чином, більш трансформованими є більш уражені кровоносні капіляри і саме вони «виключаються» першими. Це призводить до змін гемомікроциркуляції, які провокують зміни лімфомікроциркуляції і відповідні зміни вибіркової рециркуляції структурно неушкоджених лімфоцитів.

8. За умов інфузії опеченим щурам 0,9% розчину хлориду натрію, стінка лімфатичних капілярів скупчених лімфоїдних вузликів, які оточують кожний лімфоїдний вузлик (навколовузликових лімфатичних капілярів) є настільки

потоншеною і настільки порозною (за рахунок розширення міжендотеліальних щілин), що контакт лімфи у просвіті лімфатичного капіляра з міжклітинною сполучнотканинною речовиною є безпосереднім і необмеженим. Зазначені структурні зміни лімфатичних капілярів є компенсаторно-приспосувальними, з огляду на виразний ефект обмеження міжклітинного набряку, але вони, безумовно, мають негативні наслідки у вигляді можливого безконтрольного розповсюдження ендотоксинів, біологічно активних речовин, імунних комплексів тощо. Інфузія досліджених гіперосмолярних розчинів сприяє збереженню звичайної будови навколівузликкових лімфатичних капілярів. Відмінністю навколівузликкових лімфатичних капілярів у опечених щурів, яким була здійснена інфузія лактопротеїну з сорбітолом, є те, що вони доволі часто переповнені (феномен «переповнення») дендритними клітинами, лімфоцитами звичайної будови, клітинами у стані мітозу, апоптозними клітинами і апоптозними тільцями. З огляду на неупорядковане скупчення в просвіті навколівузликкових лімфатичних капілярів різноманітних імунокомпетентних клітин, які перебувають у різному функціональному стані та на різних етапах реактивних і деструктивних перетворень, результати їхньої міграції в лімфатичні вузли мають бути негативними щодо адекватного виконання імунної функції. Інфузія опеченим щурам розчину гекотону не супроводжується феноменом «переповнення», що є ще одною позитивною перевагою його дії.

9. Отже, нами встановлені (залежні від застосованих інфузійних розчинів) фазні зміни гемо- та лімфомікроциркуляторного русла скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки опечених щурів, судини якого забезпечують можливість виконання необхідної для реалізації імунної функції рециркуляції та трансмуральної міграції імунокомпетентних клітин. Віддзеркаленням довготривалих гемодинамічних впливів інфузійних розчинів є статистично значима зміна морфометричних показників кровоносних капілярів скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів з опіком шкіри. Так, при введенні 0,9% розчину хлориду натрію, лактопротеїну з сорбітолом і гекотону відмічена тенденція до хвилеподібних змін середньої площі поперечного перерізу кровоносних капілярів. При цьому найбільш статистично значущими були зміни в групі опечених щурів, які одержували 0,9% розчин хлориду натрію і гекотон: площа поперечного перерізу кровоносних капілярів збільшилась відповідно на 16,0% і 12,0% ($p < 0,05$) через 30 діб після опіку. Про довготривалість позитивних ефектів інфузії розчинів свідчить те, що фармакотерапія з використанням гекотону знижує ($p < 0,05$) летальність щурів з опіковою травмою шкіри, HR дорівнює 0,30 та ВІ дорівнює 0,19-0,46 у порівнянні з використанням 0,9% розчину натрію хлориду; фармакотерапія з використанням лактопротеїну з сорбітолом знижує ($p < 0,05$) летальність щурів з опіковою травмою шкіри, HR дорівнює 0,24; (95% ВІ 0,16-0,38) у порівнянні з використанням 0,9% розчину натрію хлориду. Загалом визначено, що опік шкіри індукує некроз та/або апоптоз лімфоцитів, а також клітин фолікуло-асоційованого епітелію та антигенпредставляючих клітин скупчених лімфоїдних вузликів. Компенсація відзначених проявів альтерації за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом та

гекотону здійснюється не тільки за рахунок захисту клітин від тих ушкоджень, які призводять до клітинної смерті, але й із залученням додаткових механізмів, які мають змінити умови і швидкість рециркуляції імунокомпетентних клітин. Одержані нами результати свідчать про інтегральну реакцію імунної системи на опік, яка може бути оптимізована і стабілізована за умов своєчасної і адекватної інфузійної терапії.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Матківська Р.М. Структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом / Р.М. Матківська // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2017. – Т. 21(2). – С. 385-392.

2. Матківська Р.М. Структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов інфузії 0,9% розчину NaCl / Р.М. Матківська // Вісник морфології. – 2017. – Т. 23(2). – С. 231-240.

3. Матківська Р.М. Структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов інфузії розчину гекотону / Р.М. Матківська // Biomedical and biosocial anthropology. – 2017. – Т. 29. – С. 20-26.

4. Влияние комбинированных гиперосмолярных растворов на нанопроцессы в стенке кровеносных капилляров и в интерстициальном матриксе внутренних органов при ожоговой болезни / А.И. Ковальчук, Э.В. Черкасов, И.В. Дзевульская, В.Г. Черкасов, А.В. Маликов, В.Н. Титаренко, Т.В. Лахтадыр, Р.М. Маткивская // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2014. – №2(81). – С. 5-10. *(Здобувачем особисто проведено дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

5. Структурные механизмы цитопротекции во внутренних органах при инфузионной терапии ожоговой болезни / А.И. Ковальчук, Э.В. Черкасов, И.В. Дзевульская, В.Г. Черкасов, А.В. Маликов, В.Н. Титаренко, Т.В. Лахтадыр, Р.М. Маткивская // Biomedical and biosocial anthropology. – 2014. – №23. – С. 6-12. *(Здобувачем особисто проведено дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

6. Структурные особенности адаптации и компенсации нарушенных функций внутренних органов при инфузионной терапии ожоговой болезни / В.Г. Черкасов, А.И. Ковальчук, И.В. Дзевульская, Э.В. Черкасов, А.В. Маликов, В.Н. Титаренко, Т.В. Лахтадыр, Р.М. Маткивская // Світ медицини та біології. – 2014. – №4(46). – С. 165-170. *(Здобувачем особисто проведено дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

7. Ультраструктурные трансформации межклеточного вещества во внутренних органах при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперосмолярных растворов / В.Г. Черкасов, И.В. Гунас, А.И. Ковальчук, И.В. Дзевульська, Э.В. Черкасов, А.В. Маликов, Т.В. Лахтадыр, В.Н. Титаренко, Р.М. Маткивская // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2015. – Т.14, №1(51). – С. 37-44. *(Здобувачем особисто проведено дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

8. Ультраструктурные изменения эндотелия кровеносных капилляров во внутренних органах при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперосмолярных растворов / В.Г. Черкасов, И.В. Дзевульська, А.И. Ковальчук, Э.В. Черкасов, А.В. Маликов, Т.В. Лахтадыр, В.Н. Титаренко, Р.М. Маткивская // Вісник морфології. – 2015. – Т.21, №1. – С. 96-102. *(Здобувачем особисто проведено дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

9. Роль эндогенной интоксикации в морфогенезе изменений во внутренних органах при инфузионной терапии ожоговой болезни / В.Г. Черкасов, И.В. Гунас, А.И. Ковальчук, И.В. Дзевульська, Э.В. Черкасов, А.В. Маликов, Т.В. Лахтадыр, В.Н. Титаренко, Р.М. Маткивская // Biomedical and biosocial anthropology. – 2015. – №24. – С. 30-36. *(Здобувачем особисто проведено дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

10. Влияние внутривенной инфузии Лактопротеина с сорбитолом на структурные изменения в органах нейроиммуноэндокринной системы при экспериментальной ожоговой болезни у крыс / А.И. Ковальчук, И.В. Дзевульська, Р.М. Маткивская // Науково-практична конференція «Прикладні аспекти морфології», присвячена пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г.В., Роменського О.Ю., Когана Б.Й., Шапаренка П.П., Жученка С.П. за ред. М.А. Волошина та ін. – Вінниця, 2017. – С. 219-221. *(Здобувачем особисто проведено дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

11. Структурні особливості адаптації та компенсації порушених функцій внутрішніх органів при інфузійній терапії опікової хвороби / В.Г. Черкасов, О.І. Ковальчук, І.В. Дзевульська, Е.В. Черкасов, О.В. Маліков, В.М. Титаренко, Т.В. Лахтадыр, Р.М. Матківська // Науково-практична конференція «Медична наука в практику охорони здоров'я», присвячена 110 річниці з дня народження Е.Д. Бромберг. – Полтава, 2014. – С. 44. *(Здобувачем особисто проведено дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

12. Вплив інфузійної терапії на клінічний стан організму та структурні зміни внутрішніх органів при експериментальній опіковій хворобі у щурів / О.І. Ковальчук, І.В. Дзевульська, Е.В. Черкасов, О.В. Маліков, В.М. Титаренко, Т.В. Лахтадир, Р.М. Матківська // Матеріали VII Міжнародного конгресу з інтегративної антропології. – Вінниця, 2013. – С. 85-86. *(Здобувачем особисто проведене дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

13. Структурні прояви корегуючого впливу інфузійної терапії на зміни внутрішніх органів щурів при експериментальній опіковій травмі / О.І. Ковальчук, І.В. Гунас, І.В. Дзевульська, Е.В. Черкасов, О.В. Маліков, В.М. Титаренко, Т.В. Лахтадир, Р.М. Матківська // Тези доповідей VХ з'їзду СФУЛТ. – Чернівці, 2014. – С. 80-83. *(Здобувачем особисто проведене дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

14. Вплив лактопротеїну-С на перебіг природних нанопроцесів в стінці кровоносних капілярів внутрішніх органів при опіковій хворобі / О.І. Ковальчук, І.В. Дзевульська, Е.В. Черкасов, О.В. Маліков, В.М. Титаренко, Т.В. Лахтадир, Р.М. Матківська // Український науково-медичний молодіжний журнал. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «YOUTHNANOBIOTECH-2014. Молодіжний форум з нанобіотехнологій». – Київ, 2014. – Спец. вип. №3. – С. 56-57. *(Здобувачем особисто проведене дослідження структурних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів).*

АНОТАЦІЯ

Матківська Р.М. Структурні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузійних розчинів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – «Нормальна анатомія». – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2018.

Методами світлової та електронної мікроскопії, а також морфометрії встановлено, що з загальним проявом структурних зрушень в скупчених лімфоїдних вузликах клубової кишки білих щурів з експериментальною термічною опіковою травмою шкіри є некроз і апоптоз функціонально різних клітин, які відбуваються на тлі виразних змін гемомікроциркуляторного та лімфомікроциркуляторного русла. Особливу роль у цьому процесі відіграє динаміка клітинної загибелі лімфоцитів – основної імунокомпетентної клітини скупчених лімфоїдних вузликів. З'ясовано, що відбувається порушення експансії базового (фізіологічного) апоптозу, а також некротичні зміни первинно апоптозно змінених лімфоцитів (разом з їхніми апоптозними тільцями) та

апоптозно незмінених лімфоцитів. Результати дослідження свідчать про інтегральну реакцію скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки на опік, яка може бути оптимізована і стабілізована за умов своєчасної і адекватної інфузійної терапії із застосуванням комбінованих гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом та гекотону).

Ключові слова: опікова травма, інфузійні розчини, світлова та електронна мікроскопія, скупчені лімфоїдні вузлики.

АННОТАЦІЯ

Матківська Р.М. Структурные изменения групповых лимфоидных узелков подвздошной кишки крыс при экспериментальной ожоговой травме кожи в условиях применения инфузионных растворов. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 – «Нормальная анатомия». – Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца МЗ Украины, Киев, 2018.

Методами световой и электронной микроскопии, а также морфометрии установлено, что общим проявлением структурных сдвигов в групповых лимфоидных узелках подвздошной кишки белых крыс с экспериментальной ожоговой травмой кожи является некроз и апоптоз функционально различных клеток, которые происходят на фоне выраженных изменений гемомикроциркуляторного и лимфомикроциркуляторного русла. Особую роль в этом процессе играет динамика клеточной гибели лимфоцитов – основной иммунокомпетентной клетки групповых лимфоидных узелков. Выяснено, что происходит нарушение экспансии базисного (физиологического) апоптоза, а также некротические изменения первично апоптозно измененных лимфоцитов (вместе с их апоптозными тельцами) и апоптозно неизмененных лимфоцитов. Результаты исследования свидетельствуют об интегральной реакции групповых лимфоидных узелков подвздошной кишки на ожог, которая может быть оптимизирована и стабилизирована при условии своевременной и адекватной инфузионной терапии с применением комбинированных гиперосмолярных растворов (лактопротеина с сорбитолом и гекотона).

Ключевые слова: ожоговая травма, инфузионные растворы, световая и электронная микроскопия, групповые лимфоидные узелки.

ANNOTATION

Matkivska R.M. Structural changes of aggregated lymphoid nodules of ileum in an experimental burn injury of skin in rats under conditions of infusion solution use. – Qualification scientific work as the manuscript.

Thesis for the scientific degree of Candidate of Medical Sciences, specialty 14.03.01 – General Anatomy. – National Medical University named after O.O. Bogomolets of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2018.

The investigation on establishing the structural differences of the injury and compensatory adaptive changes in aggregated lymphoid nodules of ileum (Peyer's patches) in rats at different periods after the experimental thermal burn injury (in 1, 3, 7, 14, 21, 30 days after the burn) under conditions of intravenous infusion of 0.9% NaCl and hyperosmolar solutions (lactoprotein with sorbitol and gekoton) was performed on 126 white male rats. The experimental thermal burn was performed according to widespread among researchers basic model of I. Gunas et al. (1997). The test animals were divided into 7 groups (each group of 18 animals): I – intact animals; II, III, IV – rats without thermal injury intravenously infused with the single-dose of 0.9% NaCl, gekoton and lactoprotein with sorbitol for the first 7 days at the dose of 10 ml/kg; V, VI, VII – animals with burn injury that were infused according to the same schedule with the separate administration of the investigated substances.

With the help of light and electron microscopy it was determined that the general signs of structural changes in Peyer's patches in rats with the burn injury are necrosis and apoptosis of functionally different cells which occur against the background of significant changes of haemo and lymphatic microvasculature. It is established that basic (physiological) apoptosis enlargement disorder occurs as well as necrotic changes of the initial apoptotically modified lymphocytes (with their apoptotic bodies) and lymphocytes which are not apoptotically modified. It is first found that in case of infusion of 0.9% NaCl necrosis and apoptosis are excessive. They result not only in inadequate apoptotic cells clearance (speed of clearance of lymphoid nodules from apoptotically degraded lymphocytes) but also in inability to remove cell debris, which is the additional source and factor of inflammation extension, and in development of burn disease related vacuolar and intercellular swelling. Within such conditions macrophages undergo phagocytic strain which often causes their necrotic death. Positive effects of intravenous infusion of lactoprotein with sorbitol and gekoton on structure of Peyer's patches in the test animals involve: 1) necrosis suppression of both lymphocytes and apoptotic lymphocytes (and their apoptotic bodies); 2) regulation of apoptotic clearance; 3) insuring structural integrity (and improving structural resistance) of follicle-associated epithelial cells (columnar, enterocytes with brush border, M cells, goblet cells), dendritic cells and macrophages, which makes normal course of antigen-presenting and phagocytic function possible.

Burn injury causes some structural changes in such antigen-presenting cells of the Peyer's patches as dendritic cells (apoptosis) and macrophages (necrosis). There is detected extensive and local necrosis of all types of follicle-associated epithelial cells, destruction of tight junctions as well as epithelial intercellular swelling, which allows the paracellular route appear for antigenic material to get from the intestinal lumen to antigen-presenting cells. This is another trait of the antigen presentation disorder in Peyer's patches which is mainly neutralized due to lactoprotein with sorbitol and gekoton that show their angioprotective and cytoprotective action. Evidence of initiation of membranoplastic effect of lactoprotein with sorbitol is its permeation through the damaged haemocapillary wall and venules of Peyer's patches in rats with the skin burn which is visualized with the help of electron microscopic observation. Membranoplastic effect of lactoprotein with sorbitol has traits which present in

“exclusion” of range of haemocapillaries from haemomicrocirculatory system due to appearance of circular membrane structure acting as ansa and contributing to vascular lumen closure. It is proved that most damaged haemocapillaries are more transformed and are “excluded” first. It leads to changes in haemomicrocirculation that induce changes in lymphatic microcirculation and relevant changes of selective recirculation of lymphocytes that are not structurally damaged. Infusion of the investigated hyperosmolar solutions leads to saving of typical structure of juxta nodules lymph capillaries. The distinguishing feature of juxta nodules lymph capillaries in the rats with burn injury that were infused with lactoprotein with sorbitol is being overfilled with the lymphocytes of typical structure, cells undergoing mitosis, dendritic cells, apoptotic cells and apoptotic bodies. Considering unsystematic cells aggregation of various immunocytes which are in different functional status and at different stages of responsive and destructive transformation (“overfill” phenomenon) in the lumen of juxta nodules lymph capillaries results in their migration to lymph nodule must be negative as for adequate performance of the immune function. Infusion of rats with burn injury with gekoton solution is not accompanied by the “overfill” phenomenon, which is another advantage of its use. Therefore, it is established that compensation of the mentioned evidence of alteration in Peyer’s patches is performed not only due to protection of cells from those cell damages which lead to the cell death or due to improvement of proliferation of undamaged cells but also due to engaging of additional mechanisms which are to change the conditions and speed of immunocytes recirculation. For the first time the results indicate the integral reaction of the immune system to the burn. That reaction can be optimized and stabilized upon condition of timely and adequate infusion therapy involving the use of the lactoprotein with sorbitol and gekoton.

Keywords: burn injury, infusion solutions, light and electron microscopy, aggregated lymphoid nodules.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БП	– скупчені лімфоїдні вузлики клубової кишки (бляшки Пейєра)
ДК	– дендритні клітини
ІР	– 0,9% розчин хлориду натрію (ізотонічний розчин)
Л	– лімфоцити
М	– макрофагоцити
НМУ	– Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
ОТ	– експериментальна опікова травма шкіри
рГ	– розчин гекотону
рЛ	– розчин лактопротеїну з сорбітолом
HR (Hazard Ratio)	– показник відносного ризику
ВІ (95% ВІ)	– 95% вірогідний інтервал