

головного мозгу плазмидним вектором, несущим ген апоЕ3, существенно уменьшала реактивный глиоз и количество микроглиоцитов как в коре, так и в гиппокампе, положительно влияла на количество нейронов, предотвращая их потерю у взрослых и, особенно, у старых крыс.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, генная терапия, кора, гиппокамп, структурные изменения, морфометрия, возрастные особенности.

liposome-mediated APOE3 transfer significantly decreased reactive gliosis and number of microglial cells both in the cortex and in the hippocampus, and had a positive effect on the number of neurons, preventing their loss in adult and especially in old rats.

**Key words:** traumatic brain injury, gene therapy, cortex, hippocampus, structural changes, morphometry, age characteristics.

Стаття надійшла 3.10.2014 р.

Рецензент Масловский С.Ю.

УДК:616-001.17-06:616.24-008.818-018-085.324:599.731.1-035.51]-076.4-092.9

З. М. Небесна, К. С. Волков, А. О. Котик  
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ  
України", м. Тернопіль

### УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ КОМПОНЕНТІВ АЕРОГЕМАТИЧНОГО БАР'ЄРУ РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ ТА ЗАСТОСУВАННІ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ

В експерименті на білих щурах проведено вивчення субмікроскопічного стану компонентів аерогематичного бар'єру респіраторного відділу легень в стадіях ранньої та пізньої токсемії, септикотоксемії після термічної травми в умовах проведення ранньої некретомії та застосування подрібненого субстрату ліофілізованої ксеношкіри. Встановлено, що використання даного препарату запобігає розвитку деструктивних змін в структурах аерогематичного бар'єру в ранній термін дослідження та позитивно впливає на перебіг регенераторних процесів і їх нормалізацію в пізні терміни дослідження.

**Ключові слова:** аерогематичний бар'єр, ультраструктурні зміни, термічна травма, ліофілізована ксеношкіра.

*Робота є фрагментом НДР "Ремодельовання кровоносних русел внутрішніх органів та тканин при різних патологічних станах в експерименті", номер державної реєстрації 0111U008026.*

Незважаючи на значні успіхи, досягнуті за останні роки в комбустіології, проблема опіків продовжує залишатись однією із найбільш актуальних в теоретичній і практичній медицині [3, 4]. Глибокі опіки, поряд з втратою шкіри, викликають значні структурно-метаболічні порушення всіх органів та систем опеченого організму, в тому числі і легень [2, 7, 8]. В патогенезі деструктивних змін ключову роль відіграє екзо- і ендогенна інтоксикація організму, джерелом якої є опікова рана. Одним із нових і ефективних чинників для тимчасового закриття опікової рани є подрібнений субстрат ліофілізованої ксеношкіри [5, 6]. Нанесення його на очищену від змертвілих тканин рану попереджає прогресуючу інтоксикацію з вогнища ураження і розвиток інфекції в ранах, зменшує прояви опікової хвороби і сприяє відновленню шкірного покриву в коротший термін, що, в свою чергу, позитивно впливає на морфофункціональний стан органів опеченого організму. Тому, важливим є встановлення ультраструктурного стану компонентів респіраторного відділу легень в динаміці перебігу опікової хвороби та застосуванні ліофілізованої ксеношкіри.

**Метою** роботи було встановлення ультраструктурної реорганізації компонентів аерогематичного бар'єру альвеол респіраторного відділу легень тварин в динаміці після термічного ураження та застосуванні подрібненого субстрату ліофілізованої ксеношкіри.

**Матеріал та методи дослідження.** Досліди проведені на 20 статевозрілих білих щурах - самцях. Опік III ступеня наносили під ефірним наркозом мідними пластинами нагрітими у кип'яченій воді до температури 97-1000С. Розміри ділянки ураження склали 18-20 % епільованої поверхні тіла щурів. Тварин декапітували на 7, 14 та 21 доби, що відповідає стадіям ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби. Для електронномікроскопічних досліджень забирали маленькі шматочки респіраторного відділу легень, фіксували у 2,5-3% розчині глютаральдегіду, постфіксували в 1 % розчині тетраоксиду осмію на фосфатному буфері рН 7,2-7,4, зневоднювали в спиртах і пропіленоксиді та заливали в суміш епоксидних смол із аралдитом. Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ- 125К [1].

Ранню некретомію уражених ділянок шкіри проводили через добу після нанесення опіку. Рану, яка утворилась, покривали подрібненим субстратом ліофілізованих ксенодермотрансплантатів. Подрібнений субстрат ліофілізованих ксенотрансплантатів з шкіри свині

виготовляються підприємством “Комбустіолог” і вони дозволені для клінічного застосування в Україні. Піддослідні тварини були розділені на такі групи: 1-а – інтактні тварини (5 особин), 2-а – тварини з опіковою травмою, яким була проведена рання некректомія і закриття рани ліофілізованою ксеношкірою (15 особин).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Попередньо проведені дослідження субмікроскопічного стану компонентів аерогематичного бар'єру респіраторного відділу легень при експериментальній термічній травмі встановили глибокі, деструктивні зміни респіраторних і секреторних альвеолоцитів, ендотеліоцитів і базальної мембрани гемокапілярів.

Електронномікроскопічні дослідження респіраторного відділу легень тварин яким після термічної травми застосовували подрібнений субстрат ліофілізованої ксеношкіри виявили, що вже на 7 добу досліду деструктивні зміни компонентів аерогематичного бар'єру менш виражені ніж у групі нелікованих тварин. Більшість гемокапілярів мають нерівномірний просвіт та кровонаповнені, в них переважають еритроцити та зустрічаються тромбоцити, нейтрофіли, лімфоцити (рис. 1). В складі їх стінки ендотеліоцити мають гіпертрофовані ядра з інвагінаціями каріолеми і чіткими контурами ядерних мембран. В каріоплазмі переважає еухроматин та спостерігається ядерце. У ендотеліальних клітинах наявні ділянки набряку і просвітлення цитоплазми. Невеликі мітохондрії округлої форми з просвітленим матриксом і частково редукованими кристами. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі, нерівномірно розширені та частково фрагментовані. В периферичних цитоплазматичних ділянках мало піноцитозних пухирців та кавеол. Люменальна частина плазмолемі клітин місцями нечітка. Базальна мембрана має вузькі і потовщені ділянки. Аерогематичний бар'єр в цей термін досліду нерівномірної товщини, що пов'язано з утворенням електроннопрозорих, набряклих випинань в просвіт альвеоли цитоплазматичних ділянок альвеолоцитів I типу (рис. 2). Їх ядра гіпертрофовані, з інвагінаціями каріолеми, та нечіткими їх контурами. Цитоплазма респіраторних альвеолоцитів містить незначну кількість деструктивно змінених органел, та поодинокі піноцитозні міхурці. Цілісність плазмолемі таких клітин на більшій протяжності збережена.

На 7 добу експерименту в альвеолоцитах II типу наявні зміни як у групі нелікованих тварин, проте у частини клітин відмічається розвиток пристосувально-компенсаторних змін. Для цитоплазми характерний менший набряк і просвітлення. Диктіосоми комплексу Гольджі, що мають парануклеарне розташування утворені розширеними цистернами та пухирцями. Канальці ендоплазматичної сітки розширені із невеликою кількістю рибосом на поверхні їх мембран. В цитоплазмі спостерігаються мітохондрії округлої форми із частково редукованими кристами та гомогенним, помірно осміофільним матриксом. В ядрах таких клітин каріоплазма містить переважно еухроматин, а каріолема нечітко контурована. Пластинчасті тілця в цитоплазмі мало, вони представлені молодими формами з поодинокими, осміофільними пластинками. Також наявна невелика кількість зрілих осміофільних тілць, які мають неправильну форму. Апікальна поверхня альвеолоцитів II типу має ділянки із значною кількістю мікроворсинок (рис. 3).

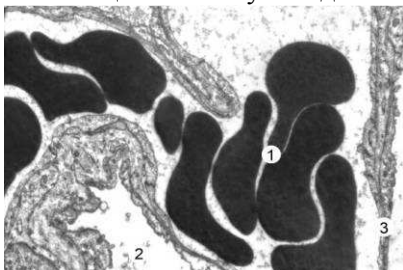


Рис. 1. Стінка альвеоли респіраторного відділу легень на 7 добу експерименту. Просвіт капіляра з еритроцитами (1), просвіт альвеоли (2), аерогематичний бар'єр (3). x 9 000.

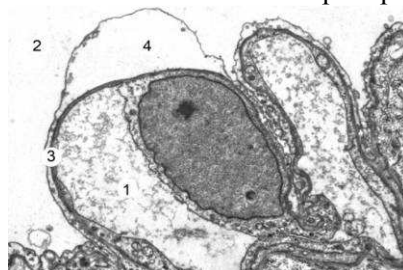


Рис. 2. Альвеолярна стінка респіраторного відділу легень на 7 добу експерименту. Просвіт капіляра (1), просвіт альвеоли (2), аерогематичний бар'єр (3), випинання цитоплазми альвеолоцита I типу (4). x 10 000.

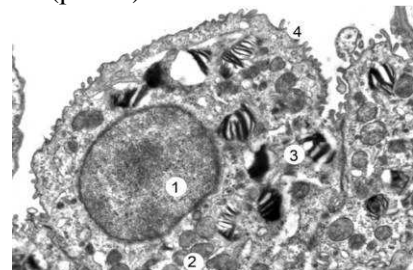


Рис. 3. Альвеолоцит II типу респіраторного відділу легень на 7 добу експерименту. Ядро (1), мітохондрії (2), пластинчасті тілця (3), мікроворсинки на апікальній поверхні (4). x 10 000.

В просвітах багатьох альвеол спостерігається підвищена кількість альвеолярних макрофагів. Їх плазмолема утворює багато тонких, цитоплазматичних випинань та інвагінацій. Цитоплазма містить первинні лізосоми, та великі осміофільні фагосоми, що включають фрагменти фагоцитованого матеріалу. Ядра клітин мають глибокі інвагінації, чіткі контури мембран каріолеми. Така ультраструктурна організація альвеолярних макрофагів свідчить про їх функціональну активність і участь у захисних реакціях.

На 14 та особливо 21 доби експерименту за умов застосування субстрату ксеношкіри субмікроскопічна організація компонентів аерогематичного бар'єру легень значно покращується

порівняно із групою нелікованих тварин. Виявляється менший ступінь пошкодження складових респіраторного відділу та активний перебіг регенераційних процесів з оновленням ультраструктури їх компонентів.

Більшість гемокапілярів в складі стінки альвеол мають помірно розширені просвіти в яких наявні еритроцити, також тромбоцити, лімфоцити, нейтрофіли. Ендотеліальні клітини містять видовженої форми ядра з чіткими контурами мембран каріолеми та незначними інвагінаціями. Гіалоплазма ендотеліоцитів помірної електронної щільності, цілісність мембранних органел збережена, в тонких периферичних ділянках наявні піноцитозні пухирці та кавеолі. Базальна мембрана в складі аерогематичного бар'єру відносно рівномірна, не потовщена, збережена її цілісність (рис. 4). Цитоплазматичні ділянки альвеолоцитів I типу в основному без ознак набряку та рівномірної товщини. В них спостерігається багато піноцитозних міхурців та кавеол. Ядра респіраторних альвеолоцитів овальної форми з чіткими контурами мембран, в каріоплазмі переважає еухроматин та наявні ядерця (рис. 5).

Субмікроскопічно за умов корекції термічної травми в більшості секреторних альвеолоцитів переважають ознаки оновлення структурної організації та підвищення їх функціональної активності. Їх ядра гіпертрофовані, кулястої форми із неглибокими інвагінаціями нуклеолеми, чіткими контурами ядерних мембран та місцями незначно розширеним перинуклеарним простором. Гранули хроматину розташовуються переважно рівномірно по каріоплазмі. У цитоплазмі міститься велика кількість мітохондрій різної величини і форми з частково дезорієнтованими кристами. Цистерни комплексу Гольджі та каналці ендоплазматичної сітки помірно розширені. У цитоплазмі відмічається підвищена кількість зрілих і молодих пластинчастих тілець в яких неупорядковано розташований осміофільний фосфоліпідний матеріал. Апікальна поверхня альвеолоцитів II типу містить добре виражені мікрворсинки (рис. 6).



Рис. 4. Альвеолярна стінка на 21 добу експерименту. Просвіт альвеоли (1), просвіт капіляра (2), альвеолоцит I типу (3), цитоплазматична ділянка ендотеліоцита (4). x 9 000.

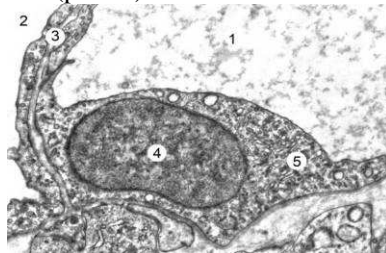


Рис. 5. Фрагмента альвеоли на 21 добу експерименту. Просвіт капіляра (1), просвіт альвеоли (2), аерогематичний бар'єр (3), ядро (4) ендотеліоцита та (5) цитоплазма. x 15 000.

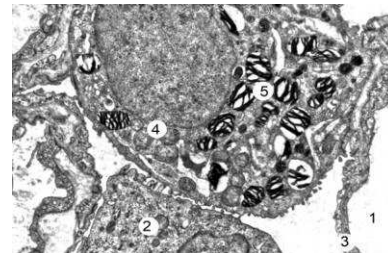


Рис. 6. Стінка альвеоли на 21 добу експерименту. Просвіт капіляра (1), фрагмент макрофага (2), аерогематичний бар'єр (3), секреторний альвеолоцит (4), пластинчасті тільця (5). x 13 000.

Біля стінки альвеол спостерігаються макрофаги, для яких характерна значна кількість цитоплазматичних випинань та інвагінацій плазмолемі. У їх цитоплазмі наявні первинні лізосоми та вторинні осміофільні фагосоми.

### Висновок

Таким чином, отримані результати субмікроскопічних досліджень свідчать, що раннє видалення некротичних ділянок шкіри після термічного ураження та закриття рани подрібненим субстратом ліофілізованої ксеношкіри запобігає дії патогенного фактора на легені та зменшує ступінь пошкодження структур респіраторного відділу. Застосований препарат створює умови для активного протікання репаративних регенераторних процесів в компонентах аерогематичного бар'єру, що забезпечує поступове покращення їх ультраструктури. Тому, в кінці дослідження встановлена відносна нормалізація гемокапілярів, секреторних альвеолоцитів та макрофагів, що позитивно впливає на газообмін.

*Перспективи подальших досліджень.* У подальших дослідженнях планується з'ясувати морфологічний стан структурних компонентів легень при термічній травмі з використанням інших коригуючих чинників в експерименті.

### Список літератури

1. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський // – Житомир: Полісся, - 2011. – 288 с.
2. Даценко Г. В. Динаміка ультраструктурних змін альвеоло-капілярного бар'єра легеневої тканини щурів після кріодеструкції шкіри / Г. В. Даценко // Вісник морфології. – 2001. – Т. 7, № 1. – С. 117–120.
3. Нагайчук, В. І. Сучасні підходи до надання допомоги хворим з опіками / В. І. Нагайчук // Мистецтво лікування. – 2010. – № 5. – С. 24–27.

4. Нетюхайло Л. Г. Патогенез опікової хвороби (в 2 частинах) / Л. Г. Нетюхайло, С. В. Харченко, А. Г. Костенко // Світ медицини та біології. – 2011. – № 1. – С. 127–131, 131–135.
5. П'ятницький, О. Ю. Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей субстрату кріоконсервованої шкіри свині / Ю. С. П'ятницький, Л. В. Яковлева, О. Ю. Кошова // Клінічна фармація. – 2013. – Т. 17 № 1. – С. 56–62.
6. Цимбалюк А. В. Використання подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата для місцевого лікування опікових хворих з інфікованими ранами III-IV ступенів / А. В. Цимбалюк, Н. В. Гуда, О. О. Кирик // Шпитальна хірургія. – 2013. – № 1. – С. 81–84.
7. Lepekha L. N. In vitro effects of pulmonary surfactant on macrophage morphology and function / L. N. Lepekha, E. A. Alexandrova, M. V. Erokhina // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2012. Vol. – 152. – P. 489–493.
8. Vtiurin B. V. The comparative characteristics of pulmonary and renal ultrastructural changes in burn sepsis / B. V. Vtiurin, I. A. Chekmareva, E. N. Gordienko [et al.] // Arh. Patol. – 2008. – Vol. 70, N 1. – P. 29–35.

### Реферати

#### УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ АЭРОГЕМАТИЧЕСКОГО БАРЬЕРА РЕСПИРАТОРНОГО ОТДЕЛА ЛЕГКИХ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ И ПРИМЕНЕНИИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТОВ

Небесна З. М., Волков К. С., Котик А. А.

В эксперименте на белых крысах проведено изучение субмикроскопического состояния компонентов аэрогематического барьера респираторного отдела легких в стадиях ранней и поздней токсемии, септикотоксемии после термической травмы в условиях проведения ранней некрэктомии и применении измельченного субстрата лиофилизированной ксенокожи. Установлено, что использование данного препарата предотвращает развитие деструктивных изменений в структурах аэрогематического барьера в ранний срок исследования и положительно влияет на протекание регенераторных процессов и их нормализацию в поздние сроки эксперимента.

**Ключевые слова:** аэрогематический барьер, ультраструктурные изменения, термическая травма, лиофилизированная ксенокожа.

Статья надійшла 9.10.2014 р.

#### ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF THE AERO-HEMATIC BARRIER COMPONENTS OF THE RESPIRATORY PORTION OF THE LUNGS IN THE DYNAMICS AFTER EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA AND USAGE OF THE LYOPHILIZED XENOGRAFT

Nebesna Z. M., Volkov K. S., Kotyk A. O.

In the experiment on white rats the condition of submicroscopic components of the aero-hematic barrier of the respiratory portion of the lung was studied in the early and late stages of toxemia, septicotoxemia after thermal trauma in terms of early necrectomy and usage morselized substrate of lyophilized xenograft. Established that the use xenograft prevents development of destructive changes in the structures of the aero-hematic barrier in the early stages of the experiment and a positive effect of regenerative processes and their normalization in the later stages of the experiment.

**Key words:** aero-hematic barrier, ultrastructural changes, thermal trauma, lyophilized xenograft.

Рецензент Єрошенко Г.А.

УДК 616-001.17:599.323.4;591.22;576.36

А. О. Очеретнюк, С. В. Прокопенко, І. Л. Черешнюк, Д. А. Лисенко  
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця

#### ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ КЛІТИН ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОПІКОВОГО УРАЖЕННЯ ШКІРИ

В статті представлено аналіз показників клітинного циклу клітин легень на фоні опіку шкіри та при корекції 0,9 % розчином NaCl, лактопротеїном з сорбітолом або HAES-LX 5% через 1, 3 та 7 добу після опікового ураження шкіри у щурів. Виявлено, що опікове uszkodження шкіри супроводжується суттєвим зниженням показників фази синтезу ДНК, нормалізація яких не відбувається на 7 добу після ураження. При застосуванні на фоні опікового ураження шкіри лактопротеїну з сорбітолом через 1 добу встановлено значне підвищення індексу проліферації (IP) та фази G2 + M, а також зменшення показників фази G0G1 порівняно із показниками групи Опік + 0,9 % NaCl. На фоні дії препарату HAES-LX 5% через 3 доби після опіку шкіри виявлена виражена тенденція до зменшення блоку проліферації (p=0,0927) та збільшення фази G2 + M (p=0,0547) в порівнянні із аналогічними показниками на 3 добу групи Опік + 0,9 % р-н NaCl. Застосування лактопротеїну з сорбітолом, або HAES-LX 5%, через 7 діб після опікового uszkodження шкіри, призводить до нормалізації показників клітинного циклу легень, яке характеризувалось зменшенням блоку проліферації, а також позитивним стимулюючим впливом на синтез ДНК при застосуванні HAES-LX 5%.

**Ключові слова:** опік шкіри, клітинний цикл, ДНК-цитометрія, легені, HAES-LX 5%, лактопротеїн з сорбітолом.

Робота є фрагментом НДР «Структурні зміни в легенях в умовах ендогенної інтоксикації, що викликана опіком шкіри, та її корекції вітчизняними інфузійними препаратами лактопротеїном з сорбітолом та HAES-LX-5% (експериментальне дослідження)», номер держреєстрації: 0112U004187.

Проблема терапії опікової хвороби (ОХ) на фоні термічного ураження шкіри залишається актуальною в сучасній медицині не зважаючи на значні успіхи в лікуванні даної патології. Однією з основних причин недостатньої ефективності запропонованих засобів терапії є недостатність знань щодо патогенезу даного uszkodження, його поліморфність. Одним із таких проявів є