

Мартинова Ю.В., Невзоров В.П., Бабійчук В.Г.,
Чернявська О.А., Кулик В.В.

Проведено електронномікроскопічні дослідження ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда щурів в динаміці їх старіння на тлі введення розмороженого кріоконсервованого препарату ядровмісних клітин кордової крові, що містить гемопоетичні стовбурові клітини. Показано, що у 6 і 12 місячних тварин зберігалася типова будова ендотеліоцитів, в той час як у 18 і 24 місячних щурів відбувалося різке збільшення кількості мікропіноцитозних пухирців, а також рибосом і полісом. Спостерігалася активація метаболічної та синтетичної активності ендотеліоцитів щурів, що старіють. Результати даної роботи можуть бути використані для зіставлення з показниками біохімічних, електрофізіологічних та інших досліджень з метою створення загальної картини змін, що відбуваються в міокарді під час старіння на тлі застосування стовбурових клітин кордової крові.

Ключові слова: ядровмісні клітини кордової крові, мітохондрії, ендотеліоцити, щури.

Стаття надійшла 12.03.2015 р.

Martynova YU.V., Nevzorov V.P., Babiychuk V.G.,
Chernyavskaya E.A., Kulik V.V.

There were performed electron microscopy studies of rat myocardium's endothelial capillaries in the dynamics of aging on the background of the frozen-thawed cord blood nucleated cells preparation containing hematopoietic stem cells. A typical structure of endotheliocytes was shown to be kept in the 6 and 12 months old animals, while in the 18 and 24 months old rats a sharp increase in the number of micropinocytotic vesicles, ribosomes and polysomes took place. There was observed an activation of the metabolic and synthetic activity of the endothelial cells of aging rats. The results of this work can be used for comparison with the rates of biochemical, electrophysiological and other studies in order to create the overall picture of the myocardium's changes during aging on the background of application of cord blood stem cells.

Key words: cord blood nucleated cells, mitochondria, endothelial cells, rats.

Рецензент Шепітько В.І.

УДК 616.24-001.17-018-076]-092.9

З. М. Небесна, Г. А. Єрошенко
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України", м. Тернопіль, ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ГІСТОХІМІЧНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЬ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРМІЧНІЙ ТРАВМІ

В експерименті на статевозрілих білих щурах-самцях проведені гістологічні та гістохімічні дослідження легень після термічної травми. Встановлено, що ступінь структурних та гістохімічних змін компонентів органу залежить від терміну дослідження. Гострий період після опікового ураження (1-7 доби) характеризується пристосувально-компенсаторними та початковими деструктивними змінами. В пізні терміни експерименту (14-21 доби) виявлені значні судинні розлади, деструктивно-дегенеративні зміни бронхів та респіраторного відділу легень.

Ключові слова: легень, гістологічні і гістохімічні зміни, термічна травма.

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

Значна частота опіків в мирний час як і велике значення цього виду ураження в умовах сучасних війн роблять проблему термічної травми досить актуальною [3, 7, 8].

В ряді всього різноманіття проявів і ускладнень опікової хвороби легенева патологія до цього часу залишається самою частою в кожному з її періодів. Летальність при приєднанні легневих ускладнень досягає до 50 %, що робить питання ранньої діагностики та профілактики ушкоджень легень при опіковій хворобі важливою проблемою теоретичної і практичної медицини [2, 7, 9].

Однак на сьогодні не досягнуто цілковитого розуміння природи морфофункціональних змін в структурних компонентах легень і механізмів впливу на даний орган термічної травми [3, 4, 6].

Метою роботи було встановлення морфологічного та гістохімічного стану легень білих щурів в динаміці після експериментальної термічної травми.

Матеріал та методи дослідження. Експеримент проведено на 30 статевозрілих білих щурах-самцях. Тварин утримували у віварії ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України". Догляд за тваринами і всі маніпуляції проводили у відповідності з положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та з іншою науковою метою", (Страсбург, 1986 р.), а також у відповідності до положень "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.).

Опік III ступеня наносили під ефірним наркозом мідними пластинами нагрітими у кип'ячній воді до температури 97-1000С. Розміри ділянки ураження склали 18-20 % епільованої поверхні тіла щурів. Піддослідних тварин декапітували на 1, 7, 14 та 21 доби, що відповідає стадіям шоку, ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби.

Забір матеріалу для мікроскопічних досліджень проводили згідно загальноприйнятої методики [1, 5]. Шматочки легень фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну, проводили дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації, заливали у парафінові блоки. Виготовлені зрізи, товщиною 5-6 мкм, забарвлювали гематоксиліном-еозином, для дослідження стану сполучної тканини та її основної речовини проводили імпрегнацію сріблом за методом Гордона-Світса (для виявлення ретикулярних та незрілих колагенових волокон), здійснювали ШІК+“Хейл” реакцію за методом Моурі (для виявлення глікопротеїнів та глікозаміногліканів у міжклітинній речовині сполучної тканини) [5]. Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа MIKROmed SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів.

Результати дослідження та їх обговорення. При гістологічному дослідженні легень на першу добу після термічного ураження спостерігаються чисельні гемодинамічні розлади та прояви судинної проникності. Це проявляється розширенням просвітів і кровонаповненням судин великого калібру, утворенням стазів зі складжем еритроцитів і тромбів у дрібних судинах (рис. 1). Збільшення судинної проникності призводить до периваскулярного, перибронхіального, інтерстиційного та внутрішньоальвеолярного набряку та супроводжується дезорганізацією основної речовини і волокон сполучної тканини. Гістохімічно виявляється зростання глікопротеїнів та деструктуризація глікозаміногліканів, про що свідчать їх чітко виражені ШІК-позитивні властивості та помірне “Хейл”-позитивне забарвлення (рис. 2).

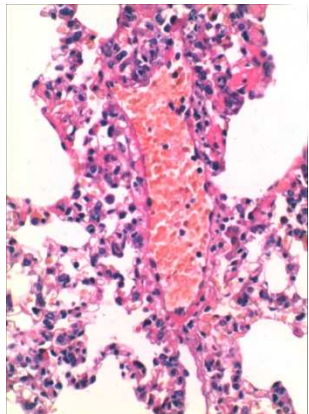


Рис. 1. Мікроскопічні зміни респіраторного відділу легень тварини на 1 добу після термічної травми. Кровонаповнена судина, набряк і інфільтрація міжальвеолярних септ. Заб. г.-е. x 300.

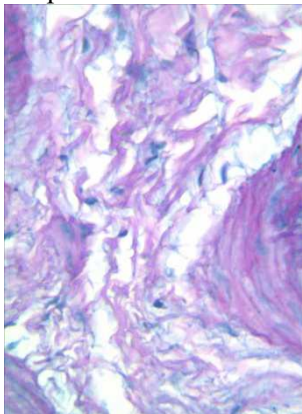


Рис. 2. Гістохімічний стан легень тварини на 1 добу після термічної травми. Периваскулярна сполучна тканина з помірно вираженими ШІК- та “Хейл”-позитивними властивостями. Заб. за методом Моурі. x 400.

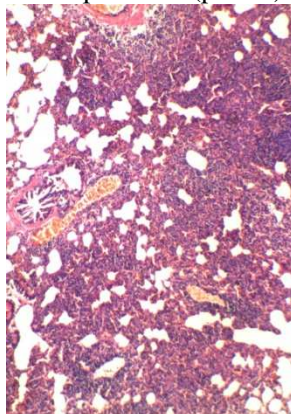


Рис. 3. Мікроскопічні зміни легень тварини на 7 добу після термічної травми. Кровонаповнені судини, ділянки ателектазів та лейкоцитарної інфільтрації. Заб. г.-е. x 100.

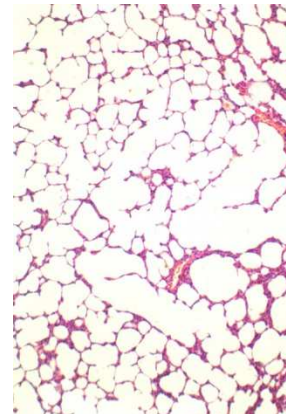


Рис. 4. Мікроскопічні зміни респіраторного відділу легень щурів на 7 добу після термічної травми. Витончені міжальвеолярні перегородки та розширені просвіти альвеол, дрібні кровонаповненні судини. Заб. г.-е. x 100.

Стінки великих і середніх бронхів набряклі, розширені. Втрачаються складки слизової оболонки за рахунок дистонії та деструкції м'язової оболонки, стінка набрякла та інфільтрована лейкоцитами, інтерстиційними макрофагами, а просвіти заповнені серозно-слизовим ексудатом. Термінальні бронхіоли та малі бронхи спазмовані, їх стінки набряклі та інфільтровані, а просвіт нечітко контурований, obturoваний. Вже в цей термін дослідження наявний перерозподіл перибронхіальної і периваскулярної лімфоїдної тканини в інтерстицій альвеолярних перегородок з подальшим розвитком запальних інфільтратів.

Міжальвеолярні септи потовщені як за рахунок набряку та кровонаповнення гемокапілярів так і за рахунок лейкоцитарної інфільтрації. Дифузно в паренхімі легень, поблизу термінальних бронхіол виявляються ателектази, в яких просвіти альвеол мають щілиноподібну форму, або взагалі відсутні. Поряд з цим спостерігаються неушкоджені ділянки легеневої тканини, а також значно витончені, емфізематозно розширені із збільшенням розмірів порожнин альвеол.

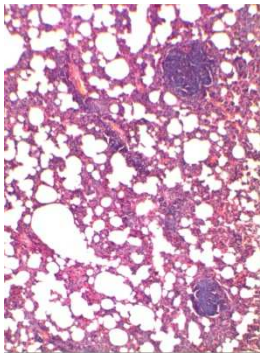


Рис. 5. Гістологічні зміни респіраторного відділу легень тварини на 7 добу після термічної травми. Кровнаповнені судини, осередкові скупчення лімфоцитів, набряклі та інфільтровані міжальвеолярні перегородки. Заб. г.-е. x 100.

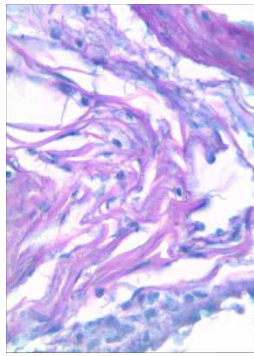


Рис. 6. Гістохімічні зміни легень тварини на 7 добу після термічної травми. Периваскулярна і перибронхіальна сполучна тканина з помірно вираженими ШІК- та "Хейл"-позитивними властивостями. Заб. за методом Моурі. x 400.

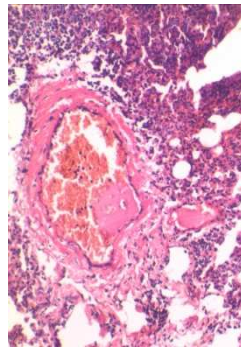


Рис. 7. Гістологічні зміни легень тварини на 14 добу після термічної травми. Кровнаповнена судина із складом еритроцитів та деструктивно зміненою стінкою. Периваскулярна та інтерстиціальна інфільтрація лімфоцитами. Заб. г.-е.. x 200.

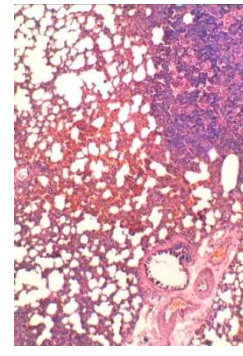


Рис. 8. Мікроскопічні зміни легень щурів на 14 добу після термічної травми. Ділянки ателектазів та їх лейкоцитарної інфільтрації. Вогнищеві крововиливи. Деструктивно змінені бронх та судини. Заб. г.-е.. x 100.

На сьому добу експерименту в легенях гістологічно виявлено наростання альтеративних змін, які проявляються набряком стінки бронхів, бронхіол та судин великого та малого калібрів, їх значною лейкоцитарною та гістіоцитарною інфільтрацією. Просвіти бронхіол заповнює серозно-слизовий вміст із десквамованими епітеліоцитами. Для судин, особливо мікроциркуляторного русла характерні гетерогенні зміни, що проявляються потовщенням, набряком та інфільтрацією оболонок із спадінням їх просвітів, або витонченням стінки, значним повнокрів'ям із складом еритроцитів та тромбоутворенням. В даний термін досліду виявляються сформовані артеріоло-венулярні анастомози, як підтвердження централізації кровообігу в гострий період після опікового ураження. Також наявні судини із явищем дистонії. Їх стінки нерівномірно потовщені за рахунок витончення або гіпертрофії м'язової оболонки, набряку та нагромадження макрофагів.

Для паренхіми легень характерна значна інфільтрація лейкоцитами, макрофагами, активними фібробластими, збільшення ділянок ателектазів, зон емфіземи, також зустрічаються дрібні крововиливи (рис. 3, 4). Дифузно в паренхімі легень та периваскулярно виявляються досить великі і чисельні осередкові запальні скупчення лімфоцитів (рис. 5). Також в просвітах альвеол виявляється значне скупчення альвеолярних макрофагів.

Порушення цілісності та підвищення проникності стінки судин призводить до збільшення в інтерстиції, стінках бронхів та судин глікопротеїнів, які мають виражені ШІК-позитивні властивості. Основна речовина периваскулярної і перибронхіальної сполучної тканини при забарвленні за методом Моурі володіє помірно "Хейл"-позитивними властивостями за рахунок збільшення кількості та перерозподілу в ній глікозаміногліканів. Ретикулярні та колагенові волокна при імпрегнації сріблом аргірофільні, потовщені, набряклі, втрачають впорядкованість свого розташування (рис. 6).

В стадії пізньої токсемії (14 доба досліду) в легенях тварин наростає ступінь деструктивних змін, що встановлені в попередні терміни дослідження. Зростає площа ателектазів в яких каркас представлений щільним скупченням пучків аргірофільних набряклих пучків ретикулярних та колагенових волокон. Вогнищеві спостерігаються естравазальні і дрібні інтерстиціальні крововиливи, а також ділянки ателектазів. Більшість судин кровнаповнені, тромбовані, також зустрічаються капіляри із спавшими просвітами і зруйнованою, гомогенною стінкою (рис. 7).

Стінки альвеол потовщені за рахунок набряку, кровонаповнення гемокапілярів, запальної клітинної інфільтрації, а в їх просвітах підвищений вміст зрілих і молодих альвеолярних макрофагів, які подекуди утворюють значні скупчення. Дифузно в паренхімі або субплеврально виявляються великі лімфоїдні скупчення запального характеру (рис. 8).

Просвіти багатьох бронхів спазмовані, заповнені десквамованим епітелієм або повністю obtуровані слизовим вмістом. Стінки малих бронхів та бронхіол набряклі, інфільтровані лейкоцитами, макрофагами. Для судин великого і середнього калібру характерний набряк та потовщення їх стінки із початковими ознаками склерозу, що пов'язано із проліферацією та підвищеною секреторною активністю фіброblastів. Вони активно синтезують складові компоненти волокон і основної речовини. Волокнисті структури, при імпрегнації нітратом срібла

різко аргірофільні, потовщені, набряклі, або фрагментовані та проявляють яскраво ШІК-позитивні властивості за методом Моурі (рис. 9).

Гістологічні зміни легень у пізній термін спостереження – 21 доба після термічної травми характеризуються значними деструктивними, запальними та склеротичними змінами структурних компонентів органу. Дослідження бронхіального дерева виявили, що в бронхах значної реорганізації зазнають всі оболонки. Деструктивно змінюється слизова оболонка, особливо епітелій і м'язова оболонка, а в результаті наявне їх значне склерозування (рис. 10). Ці зміни проявляються разом із проліферацією лімфоцитів, які формують дифузно-осередкові скупчення в стінці бронхів.

Спостерігаються судини малого калібру з гіпертрофованою м'язовою оболонкою, повним склерозом стінки та облітерацією просвіту. Також наявні дистонічні судини, які мають витончені або частково зруйновані ділянки м'язової оболонки, а їх адвентиція з ознаками склерозу.

Одночасно із змінами судин і бронхів змінюється і паренхіма легень. Збільшуються осередки ателектазів і дисателектазів з їх інфільтрацією лімфоцитами і проростанням аргірофільними колагеновими волокнами при імпрегнації солями срібла (рис. 11). Як і в попередні терміни в стінці альвеол наявна гістолойкоцитарна інфільтрація та чисельне зростання фіброblastів. В просвітах багатьох альвеол підвищений вміст зрілих та молодих альвеолярних макрофагів. Сублеврально збільшується величина ділянок емфізематозно розширених альвеол з пошкодженням їх стінки та виходом формених елементів крові в їх просвіт. Також спостерігаються обширні крововиливи в паренхіму легень, навколо яких виникає зона гіперемії і набряку, що виражається повнокрів'ям капілярів міжальвеолярних перегородок (рис. 12). Набряк захоплює групи альвеол і цілі часточки. При цьому міжчасточкова сполучна тканина також виявляється набрякливою – її колагенові волокна потовщені і роз'єднані між собою.

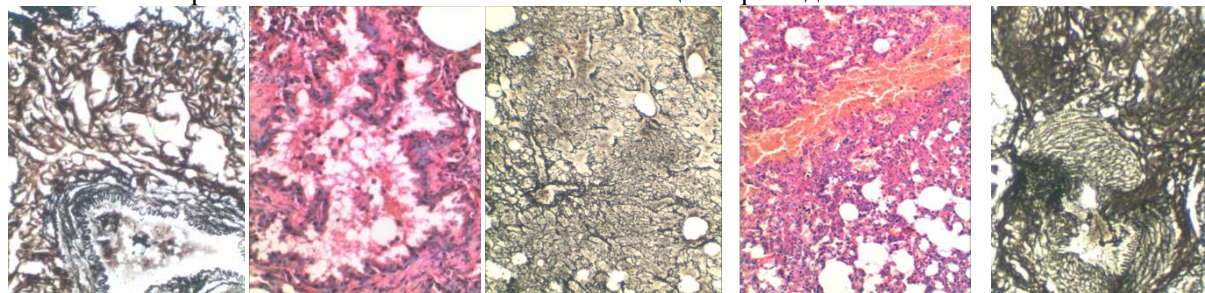


Рис. 9. Мікроскопічний стан легень тварини на 14 добу після термічної травми при імпрегнації нітратом срібла. Колагенові та ретикулярні волокна стінки судини аргірофільні, розволонені, нерівномірно потовщені. Метод Гордона-Світса. x 400.

Рис. 10. Гістологічні зміни легень тварини на 21 добу після термічної травми. Деструктивно змінений бронх із десквамованими епітеліоцитами та серозно-слизовим вмістом в його просвіті. Заб. г.-е.. x 400.

Рис. 11. Мікроскопічний стан легень шурів на 21 добу після термічної травми при імпрегнації нітратом срібла. Заростання альвеол та бронхіол респіраторного відділу дрібними аргірофільними ретикулярними та колагеновими волокнами. Метод Гордона-Світса. x 100.

Рис. 12. Мікроскопічні зміни легень шура на 21 добу після термічної травми. Обширна ділянка крововиливу в паренхіму легень. Заб. г.-е.. x 200.

Рис. 13. Мікроскопічний стан легень шура при імпрегнації нітратом срібла на 21 добу після термічної травми. Зростання, дезорганізація ретикулярних волокон стінки артерії з посиленою аргірофілією солями срібла. Метод Гордона-Світса. x 200.

При імпрегнації солями срібла спостерігається розростання волокнистих структур сполучнотканинного компоненту опорного апарату органу. В стінках судин та бронхів ретикулярні волокна нерівномірно потовщені, фрагментовані з нерівними контурами та підсиленням аргірофілії, що зумовлює значний мозаїчний фіброз стінок альвеол. Також значно виражений периваскулярний та перибронхіальний склероз (рис. 13).

Висновки

1. Проведені гістологічні і гістохімічні дослідження легень тварин на 1 і 7 доби досліду після експериментальної термічної травми встановили прояви феномену “шокової легені”, які характеризуються пристосувально-компенсаторними та початковими деструктивними змінами структурних компонентів органу. Порушення судинної системи органу супроводжується набряком та дезорганізацією компонентів сполучної тканини, що підтверджено гістохімічно.

2. В стадії пізньої токсемії і, особливо, септикотоксемії (14 і 21 доби досліду) в кровоносних судинах, бронхах та респіраторному відділі, розвиваються значні деструктивно-дегенеративні зміни. Це проявляється вираженими судинними розладами, запаленням, збільшенням осередків дис- і ателектазів та наявністю емфізематозно розширених альвеол. Гістохімічно це підтверджено деструкцією та дезорганізацією компонентів міжклітинної речовини сполучної тканини, значно вираженим інтерстиціальним, периваскулярним та перибронхіальним склерозом.

Список літератури

1. Goral's'kij L. P. Osnovi gistologichnoї tehniki i morfofunkcional'ni metodi doslidzhen' u normi ta pri patologії / L. P. Goral's'kij, V. T Homich, O. I. Konons'kij // – Zhitomir: Polissja, - 2011. – 288 s.
2. Gavriljuk-Skiba G. O. Gistologichni i gistohimichni zmini selezinki v dinamici eksperimentu pri termichnij travmi / G. O. Gavriljuk-Skiba, K. S. Volkov // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2011. – № 16. – S. 31–34.
3. Klimenko M. O. Opikova hvoroba (patogenez i likuvannja) / M. O. Klimenko, L. G. Netjuhajlo // – Poltava, - 2009. – 118 s.
4. Ocheretnjuk A. O. Gistologichni zmini v legenjah shhuriv protjagom 7 dib pislja opiku shkiri III-A stupenja, plohheju 21-23 % poverhni tila ta ih korekcija izotonichnim rozchinom / A. O. Ocheretnjuk // Visnik morfologії. – 2012. – T. 18, № 2. – S. 237–241.
5. Sarkisov S. Mikroskopicheskaja tehnika: rukovodstvo / S. Sarkisov, Ju. L. Perov // – M. : Medicina, - 1996. -544s.
6. Suhomlin T. A. Morfologichni zmini v legenjah shhuriv pri opikovij hvorobi ta ih korekcija preparatom "Lipin" / T. A. Suhomlin, L. G. Netjuhajlo, D. E. Nikolenko // Visnik problem biologії i medicini. – 2014. – T. 3, № 3 (112). – S. 196–199.
7. Hurani I. F. Patomorfologichni zmini u legenjah shhuriv pri diї ionizujuchoho viprominjuvannja i vvedennja ciklofosfamidu / I. F. Hurani // Problemi ekologії ta medicini. – 2011. – T. 15, № 3–4. S. 38–41.
8. Bala S. An autopsy study of morphological changes of lung in burn patients with duration of hospital stay and total body surface area burned / S. Bala, S. Das, D. Guha [et al.] // International Journal of Research in Health Sciences. – 2014. – Vol. 2, № 2. – R. 494–500.
9. Pham T. N. Risk factors for the development of pneumonia in older adults with burn injury / T. N. Pham, C. B. Kramer, M. B. Klein // J. Burn Care Res. – 2010. – Vol. 31, № 1. – R. 105–115.

Перспективи подальших досліджень. У подальших дослідженнях планується вивчити перебіг морфологічних змін структурних компонентів легень при термічній травмі в умовах застосування коригуючих чинників.

Реферати

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕГКИХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Небесная З. М., Ерошенко Г. А.

В эксперименте на половозрелых белых крысах-самцах проведены гистологические и гистохимические исследования легких после термической травмы. Установлено, что степень структурных и гистохимических изменений компонентов органа зависит от срока эксперимента. Острый период после ожогового повреждения (1-7 сутки) характеризуется приспособительно-компенсаторными и начальными деструктивными изменениями. В поздние сроки эксперимента (14-21 сутки) обнаружены значительные сосудистые расстройства, деструктивно-дегенеративные изменения бронхов и респираторного отдела легких.

Ключевые слова: легкие, гистологические и гистохимические изменения, термическая травма.

Статья надійшла 17.03.2015 р.

HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHANGES OF THE LUNGS AFTER EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA

Nebesna Z. M., Yeroshenko G. A.

In the experiment on mature white male rats performed histological and histochemical research of the lungs was studied after thermal trauma. It was established that the degree of structural and histochemical changes in components of organ depends on the term of experiment. Changes in the early stages after burn injury (1-7 days) are characterized by adaptative-compensatory and initial destructive changes. In the later stages of the experiment (14-21 days) significant vascular disorders were found, destructive-degenerative changes of bronchi and respiratory portion, lungs.

Key words: lungs, histological and histochemical changes, thermal trauma.

Рецензент Геращенко С.Б.

УДК 611. 843. 1 – 018: 611. 843. 1 – 018 – 019.

Е. В. Пальтов, Л. Р. Матешук-Ванеба, Ю. Я. Кривко
Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, м. Львів

СПІВСТАВЛЕННЯ МІКРОСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ШАРІВ СІТКІВКИ ЩУРА ТА ЛЮДИНИ В НОРМІ

У представленій нами роботі була поставлена мета проведення фундаментального вивчення питання, що стосується компонентного співставлення мікроструктурної організації шарів сітківки щура і людини в нормі. Поставлене нами завдання було досягнуто за допомогою використання гістологічної методики візуалізації шарів сітківки. Гістологічні препарати готували за загальноприйнятою методикою з використанням барвників, до яких відносять гематоксилін, еозин та (азан) по методиці Гайденгайна. Отримані дані в майбутньому дасть можливість сформувати морфологічну базу посмертної картини шарів сітківки щура в нормі з елементами топографічного