

Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет
імені М.І. Пирогова

БОНДАРЧУК ГАННА ОЛЕГІВНА

УДК: 616.341-08:615.277

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СТІНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ПІД ВПЛИВОМ
ЦИКЛОФОСФАМІДУ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ

(експериментальне дослідження)

14.03.01 – нормальна анатомія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця – 2014

Дисертацією є рукопис
Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті імені М.І.Пирогова МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Фоміна Людмила Василівна,
Вінницький національний медичний університет
імені М.І. Пирогова,
професор кафедри анатомії людини

Офіційні опоненти: - доктор медичних наук, професор
Герасимюк Ілля Євгенович,
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»,
завідувач кафедри анатомії людини

доктор медичних наук, професор
Матешук-Вацеба Леся Ростиславівна,
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького,
професор кафедри нормальної анатомії

Захист відбудеться «28» січня 2015 р. о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розіслано «___» грудня 2014 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради

І. М. Кириченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Тонка кишка відіграє значну роль у процесах, пов'язаних з травленням та загальним станом організму. Якість життя людини залежить від готовності до виконання нею своїх функцій. Частим ускладненням використання лікарських засобів є дисфункція травної трубки, що має широкий діапазон проявів (Луницина Ю. В. и др., 2008; Королева И. А. и др., 2010; Шапкин Ю. Г. и др., 2010; Назарова Л. Е., 2012; Soares P. M. et al., 2008).

Циклофосфамід входить до протоколів МОЗ України та застосовується при лікуванні як онкологічної патології, так і цілого ряду інших захворювань. Разом з тим, він проявляє і токсичні властивості. Науковці активно розробляють препарати, які мають властивості корегувати стани, що викликані побічними ефектами препарату (модифікатори токсичності) для покращення якості життя хворих (Сасов С.А. и др., 2010; Скопин П.И., 2012; Скопин П.И., 2013; Ray S. et al., 2010; Bokulić A. et al., 2011; Abraham P., Rabi S., 2011; Winkler I. Et al., 2012; Singh M. Et al., 2014). Для вирішення цієї проблеми головним напрямком пошуку є можливість впливу на причину ускладнення. Вивченню структурних змін у органах за умов дії циклофосфаміду приділена значна увага дослідників (Непомнящих Л.М. и др., 2010; Коваленко А.Л. и др., 2011; Королева И.А. и др., 2011; Лушникова Е.Л. и др., 2011; Непомнящих Л.М. и др., 2011; Назарова Л.Е., 2012; Ayhanci A. et al., 2010; Monach P.A. et al., 2010; Kim S. et al., 2012; Hance K. et al., 2013). Часто причиною погіршення якості життя хворих при застосуванні циклофосфаміду, яке у ряді випадків призводить до відмови від заздалегідь ефективних схем лікування, є морфологічні зміни стінки травної трубки (Мамотюк Е.М. и др., 2002; Казюлин А.Н. и др., 2007; Гайдамака Е. В. и др., 2007; Королева И.А. и др., 2010; Bryniarski K., 2012). Особливо чутлива до впливу циклофосфаміду слизова оболонка травної трубки, що має високий рівень проліферативної активності. Її пошкодження виділені в окрему групу – мукозити, саме вони призводять до порушень, що не обмежені тільки функцією травної системи (Rubenstein Eb. et al., 2004; Sonis S.T. et al., 2004; Кравець В.В., 2008; Королева И.А. и др., 2010; Daniels J.A. et al., 2008; Liu S. et al., 2014).

Бензофуурокаїн, який може бути віднесений до модифікаторів токсичності, відомий своєю різнонаправленістю дії, здатний до стимулювання репаративної регенерації і активації відновних процесів, посилює регенераторні процеси та епітелізацію в опіковій рані та виразкових дефектах, сприяє збільшенню функціональної активності ядер нейтрофільних лейкоцитів та епітеліальних клітин, активізує ранній регенераторний ангиогенез судин мікроциркуляторного русла у зоні дефекту шлунка, у слизовій оболонці відновлює будову залоз шлунка та їх функціональну здатність (Столярчук А.А., 1990; Томашевский А.В., Степанюк Г.І., 2004; Томашевский А.В., 2005; Леонтьев В.К., Галенко-Ярошевский П.А., 2013).

Метилурацил також застосовується для відновлення тканин, у тому числі й травної трубки, активує ферменти клітин, стимулюючи синтез піримідинових основ, чим прискорює ріст та ділення клітин, прискорює процеси клітинної регенерації (нормалізуючи нуклеїновий обмін), загоєння ран, стимулює клітинні та гуморальні фактори захисту, прискорює епітелізацію, в т.ч. у швидкопроліферуючих клітинах слизової оболонки травної трубки, має

протизапальну дію, стимулює еритро- та лейкоцитоз (призначається при рентген-, хіміо- та радіотерапії), застосовується при виразкових захворюваннях шлунку та 12-палої кишки (Плечева Д.В., 2005; Зупанец А.И. и др., 2007; Султанаева З.В., 2007; Бабак О.Я. и др., 2008; Бадеева Т.А., 2008).

Не зважаючи на те, що пошкоджуюча дія циклофосфаміду на стінку тонкої кишки відома давно, та ряд питань, зокрема, зміни кількості сполучної тканини, активності відновлення, вивчення структури порожньої кишки у термінах 7 і 30 діб, залишаються відкритими та потребують вирішення для коректного порівняння цих результатів з результатами дії модифікаторів токсичності. Тому і коректний підбір препарату для стимуляції відновлення структури стінки тонкої кишки є актуальною проблемою. Зміни стінки тонкої кишки в умовах дії циклофосфаміду та препаратів бензофуорокаїн та метилурацил, які корегують його вплив та стимулюють відновлення структури травної трубки, не досліджувалися, що і обумовило мету нашого дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у рамках планової науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії, судової медицини та права Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова «Патогенез та патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту, сечостатевої, нейроендокринної та імунної систем», державний реєстраційний номер 0111U010551. Здобувач є співвиконавцем зазначеної НДР. Тема дисертаційної роботи затверджена вченою радою медичних факультетів №1 та №2 ВНМУ ім. М.І. Пирогова МОЗ України (протокол №8 від 7 червня 2012 року) та проблемною комісією «Морфологія людини» АМН та МОЗ України 25 квітня 2012 року (протокол №15).

Мета дослідження. Встановити структурні зміни стінки тонкої кишки в умовах дії циклофосфаміду та після корекції їх бензофуорокаїном та метилурацилом.

Для досягнення поставленої мети вирішували такі завдання:

1. Дослідити гістологічні зміни у стінці тонкої кишки щурів за умов дії циклофосфаміду, комбінації його з бензофуорокаїном та з метилурацилом.
2. Дослідити особливості перебудови судин мікроциркуляторного русла стінки тонкої кишки щурів за умов дії циклофосфаміду, комбінації його з бензофуорокаїном та з метилурацилом.
3. Встановити особливості перебудови сполучної тканини тонкої кишки щурів за умов дії циклофосфаміду, комбінації його з бензофуорокаїном та з метилурацилом.
4. Встановити зміни апоптотичної та мітотичної активності у клітинах крипт слизової оболонки тонкої кишки щурів після введення одноразового циклофосфаміду, комбінації його з бензофуорокаїном та з метилурацилом у різні строки.
5. Дослідити вплив циклофосфаміду, комбінації його з бензофуорокаїном та з метилурацилом на активність відновлення клітин епітелію слизової оболонки тонкої кишки щурів.

Об'єкт дослідження – компенсаторно-приспосувальні морфологічні зміни стінки тонкої кишки щурів при дії циклофосфаміду та комбінації циклофосфаміду з бензофуурокаїном та з метилурацилом.

Предмет дослідження – морфологія стінки тонкої кишки у нормі і морфологічні зміни її після введення циклофосфаміду та комбінації циклофосфаміду з бензофуурокаїном та з метилурацилом.

Методи дослідження: морфологічні (мікроскопічний, морфометричний), які дозволяють встановити особливості будови та зміни розмірів структур стінки тонкої кишки; математичні – для порівняння цифрових даних з застосуванням методів варіаційної статистики та аналізу отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено аналіз змін структури, перебудови судин мікроциркуляторного русла та сполучної тканини тонкої кишки, активності відновлення клітин крипт тонкої кишки в умовах дії циклофосфаміду та його поєднання з бензофуурокаїном і з метилурацилом у різні строки. Отримані нові дані щодо структури стінки тонкої кишки, що перебувала в умовах дії циклофосфаміду, та при стимуляції відновлення її бензофуурокаїном та метилурацилом. Встановлено, що за умов дії циклофосфаміду товщина слизової оболонки, висота ворсинок, глибина крипт, висота стовпчастих епітеліоцитів, питома вага сполучної тканини, співвідношення питомої ваги складових (кровоносних та лімфатичних капілярів, інтерстиційних просторів) власної пластинки слизової оболонки та підслизового шару не відновлюються до тридцятої доби експерименту. Розширено уявлення про морфологічне підґрунтя впливу бензофуурокаїну та метилурацилу на тканини стінки тонкої кишки через стимуляцію репаративної регенерації. Вперше доведено, що структура стінки тонкої кишки, яка знаходилася в умовах дії одноразового введення циклофосфаміду, під дією бензофуурокаїну сягає контрольних значень швидше (більшість показників – до сьомої доби), ніж під дією метилурацилу (більшість показників - до тридцятої доби).

Практичне значення отриманих результатів. Результати дослідження щодо морфологічних змін тонкої кишки в умовах дії циклофосфаміду та більш швидкого відновлення її при умові комбінованого введення вказаного цитостатика з бензофуурокаїном, ніж з метилурацилом; активності відновлення ушкоджених циклофосфамідом тканин тонкої кишки, що зростає при комбінованому введенні цитостатика з бензофуурокаїном та з метилурацилом, є основою для нових підходів до розробки способів стимуляції відновлення тканин після впливу цитостатичних засобів та служить підґрунтям для клінічних досліджень бензофуурокаїну та метилурацилу у якості препаратів для стимуляції репаративної регенерації епітелію тонкої кишки після проведення хіміотерапевтичного лікування.

Основні положення та висновки дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри фармакології, кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; кафедри патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною, кафедри анатомії людини, кафедри фармакології та клінічної фармакології ДВНЗ «Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського МОЗ України»; кафедри

патоморфології, кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії, кафедри фармакології Донецького національного медичного університету імені М. Горького; кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, кафедри патологічної анатомії, судової медицини з основами права Запорізького державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, визначено мету та завдання дослідження, методичні підходи, опрацьовано модель впливу циклофосфаміду та комбінації його з бензофуурокаїном та з метилурацилом на структуру та активність відновлення стінки тонкої кишки. Особисто у повному об'ємі проведені всі експериментальні дослідження, морфологічний та статистичний аналіз отриманих результатів. Інтерпретація результатів дослідження, формулювання основних положень, що винесені на захист, і висновків дисертації проведено автором сумісно з науковим керівником. Морфологічні дослідження виконані здобувачем при консультативній допомозі співробітників Національного інституту хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова, Вінницького обласного патологоанатомічного бюро, Хмельницького обласного патологоанатомічного бюро. Дисертант висловлює щире подяку проф. Медведському Євгену Боліславовичу (м. Київ), Бевзі Денису Петровичу (м. Хмельницький) та Музиці Михайлу Микитовичу (м. Вінниця).

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації були представлені на Науково-практичній конференції «Морфологічні аспекти циркуляції в нормі та патології» (Тернопіль, 2011); Всеросійській науковій конференції «Регенеративная биология и медицина» (Москва, 2011); Науково-практичній конференції «Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології» (Тернопіль, 2011); Науково-практичній конференції «Морфологія на сучасному етапі розвитку науки» (Тернопіль, 2012); Міжнародній науковій конференції «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2014).

Публікації. Основні результати дисертації опубліковані у 9 наукових роботах, з них: 5 – у фахових наукових виданнях; 4 – у збірниках матеріалів конференцій та з'їздів; з них – 5 праць опубліковано одноосібно. Три статті та двоє тез опубліковані за кордоном.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, п'яти розділів, що включають в себе огляд літератури, загальну характеристику матеріалів та методів дослідження, отримані результати та їх обговорення і висновки. Робота викладена на 212 сторінках друкованого тексту (з них 132 залікових), включає 118 рисунків, 13 таблиць. Перелік літератури включає 245 джерел, з них 172 викладені кирилицею та 73 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проводили на 279 безпородних білих щурах обох статей вагою 230-350 г, що обумовлено рекомендаціями ряду авторів щодо використання цих тварин в експерименті: схожа будова тонкої кишки у людини та вищих хребетних, мікроскопічно епітеліоцити людини та щурів не мають принципових відмінностей (Ноздрачєв А.Д.,

Поляков Е.Л., 2001; Смирнов С.Н., 2002; Каркищенко Н.Н., 2003; Яковлева Л.М., 2012).

При дослідженні враховані рекомендації утримання лабораторних тварин та отриманий дозвіл комітету з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова (протокол № 15 від 01.12.2011 року), у якому затверджено, що при проведенні нами дослідження не було порушено етичних та морально-правових вимог наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000; дотриманий закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21 лютого 2006 року. Враховані методичні рекомендації ДФЦ МОЗ України "Доклінічні дослідження лікарських засобів".

Щурів до початку експерименту утримували в умовах карантину протягом двох тижнів у лабораторії експериментальних тварин НДЦ ВНМУ ім. М.І. Пирогова на стандартному раціоні з вільним доступом до води при 12-тигодинному штучному освітленні та вводили в експеримент після ретельного огляду. Застосовані препарати: циклофосфамід («Київмедпрепарат» ОАО, Україна), бензофуурокаїн («Аллерген ФГУП», Росія), вінбластин («Gedeon Richter», Угорщина), метилурацил («Монофарм», Україна). Для розрахунку ізоефективної дози для щурів застосовували формулу: $D1 = D2 \times R1 : R2$, де $D1$ – доза для щура (мг/кг); $D2$ – доза для людини (мг/кг); $R1 = 3,62$ – коефіцієнт видової витривалості для щурів; $R2 = 0,57$ – коефіцієнт видової витривалості для людини (Рыболовлев Ю.Р., 1979).

Тварин поділили на контрольну та сім дослідних груп: у першій групі (9 щурів) за 8 годин до виведення з експерименту тваринам внутрішньоочеревинно вводили вінбластин з розрахунку 0,19 мг/кг. Щурам наступних груп внутрішньоочеревинно одноразово вводили циклофосфамід із розрахунку 1270 мг/кг. На препаратах щурів другої групи (45 щурів) проведено морфологічне та морфометричне дослідження тонкої кишки за умов впливу циклофосфаміду на її структуру. Щурам третьої групи (45 тварин) за 8 годин до виведення з експерименту внутрішньоочеревинно вводили вінбластин 0,19 мг/кг для морфологічного та морфометричного дослідження впливу циклофосфаміду на кількість мітозів у криптах тонкої кишки. Щурам четвертої групи (45 тварин) через 6 годин після введення циклофосфаміду внутрішньоочеревинно вводили бензофуурокаїн з розрахунку 63,5 мг/кг та досліджували вплив комбінації циклофосфаміду та бензофуурокаїну на структуру стінки тонкої кишки. Щурам п'ятої групи (45 тварин) через 6 годин після введення циклофосфаміду внутрішньоочеревинно вводили бензофуурокаїн з розрахунку 63,5 мг/кг та за 8 годин до виведення з експерименту внутрішньоочеревинно вводили вінбластин з розрахунку 0,19 мг/кг (досліджували вплив комбінації циклофосфаміду та бензофуурокаїну на кількість мітозів в криптах тонкої кишки). 45-тьом щурам шостої групи через 6 годин після введення циклофосфаміду внутрішньошлунково через полімерну трубку вводили метилурацил у водному розчині з розрахунку 10 мг/кг. Процедуру повторювали щодоби 4 рази. У даній серії досліджували вплив комбінації циклофосфаміду та метилурацилу на структуру стінки тонкої кишки. Щурам сьомої групи (45 щурів) через 6 годин після введення циклофосфаміду через полімерну трубку вводили метилурацил у водному розчині з розрахунку 63,5 мг/кг (процедуру повторювали щодоби 4 рази) та за 8 годин до виведення з

експерименту тваринам внутрішньоочередовно вводили вінбластин з розрахунку 0,19 мг/кг. В даній серії досліджували вплив комбінації циклофосфаміду та метилурацилу на кількість мітозів у криптах тонкої кишки.

В кожній серії досліджень враховували зміни стану хутряного та шкірних покривів, поведінки, рухливості, ваги, частоти та консистенції випорожнень тварин.

Тварин всіх груп крім першої виводили з експерименту по 9 щурів через 1, 2, 3, 7 та 30 діб. Щурів виводили з експерименту з дотриманням основних вимог до евтаназії передозуванням наркозу (фенобарбіталу) (Асташкин Е.И., 2010).

Вінбластин вводили за 6 годин до виведення тварин з експерименту, оскільки цей термін дорівнює мітотичному циклу епітеліальних клітин тонкої кишки щурів. Застосований метод надав можливість оцінити проліферативну активність не тільки клітин, що перебували у стадії метафази у момент виведення тварин з експерименту, але й клітин, що поділялися впродовж мітотичного циклу, що дало змогу коректного порівняння показника мітотичної активності у групах.

Вибір для дослідження порожньої кишки пояснюється її найбільшою площею всмоктування, зручністю для забору матеріалу у достовірно однаковому місці – початку брижового відділу тонкої кишки. Для уникнення потрапляння частин дванадцятипалої кишки у препарати матеріал забирали відступивши 1,5 см від початку порожньої кишки (дванадцятипало-порожнього згину).

Експериментальний матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, промивали проточною водою, дегідрували у спиртах зростаючої концентрації та заключали у парафін. Зрізи товщиною 5-7 мкм забарвлювали гематоксилін-еозином для вивчення морфоцитоархітектоніки таза Ван-Гізона для встановлення змін питомої ваги сполучної тканини стінки тонкої кишки.

Для мікроскопічного вивчення та фотофіксації гістологічних препаратів застосовано цитофотометричний комплекс «Olympus CX-41». Обраховували товщину слизової оболонки, висоту стовпчастих епітеліоцитів та ворсинок, глибину поздовжнього перерізу крипти, висоту ентероцитів на різних рівнях ворсинки, кількість клітин нижньої третини ворсинки на 100 мкм довжини зрізу та клітин крипти на зрізі, площу та кількість келихоподібних екзокриноцитів у ворсинці, питому вагу мітозів та апоптозів у криптах, вираховували індекс активності відновлення. У власній пластинці слизової оболонки, підслизовій основі та м'язовій оболонці встановлювали питому вагу кровоносних та лімфатичних судин, інтерстиційних просторів, клітин та міжклітинної речовини та питому вагу сполучної тканини.

Для визначення активності відновлення тканини вираховували відношення індексу мітозу (кількість мітозів у досліджених клітинах / кількість клітин, що досліджувалися $\times 100$) до індексу апоптозу (кількість апоптозів у досліджених клітинах / кількість клітин, що досліджувалися $\times 100$). Кількість досліджених клітин була не менше 1000 (Арешидзе Д.А. та ін., 2012).

Морфометричний аналіз проводили із застосуванням пакету програм «Promorph Paradise» (Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова). Статистична обробка результатів проведена в пакеті «STATISTICA 5.5» (належить ЦНІТ ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний

№AXXR910A374605FA) з використанням параметричних методів оцінки даних. На основі t -критерію Ст'юдента визначали достовірність різниці середніх величин. Увагу приділяли показникам, різниця величин яких була достовірною ($p < 0,05$).

Результати дослідження та їх обговорення

У щурів, що піддавалися впливу циклофосфаміду, хутрянний покрив перетворився на тьмянний, втратив свою щільність та блиск, подекуди крізь нього було видно шкіру у вигляді зливних осередків червоного кольору, на шкірі з'явилися сухі білі лусочки та ділянки з вологою м'якою поверхнею; на видимих слизових оболонках розм'якшені яскраво-червоні ділянки, іноді з виразками. Випорожнення були рідкої консистенції, часті. До кінця експерименту третина щурів загинула. Мінімальні значення ваги були на сьому добу ($187,5 \pm 18,3$ г).

За умов дії циклофосфаміду та бензофуурокаїну до кінця експерименту всі щури залишалися живими, а вищезазначені показники були ближчі до таких у контролі упродовж перших днів спостереження та відповідали їм вже на сьому добу. Вага тварин до закінчення експерименту була відновлена ($209 \pm 18,8$ г).

За умов дії циклофосфаміду та метилурацилу всі щури дожили до закінчення експерименту, однак та до сьомої доби були в'ялими, малорухомими, хворобливими, хутрянний покрив порідшав, набув брудно-сіруватого кольору, червоного кольору шкіра подекуди була вкрита лусочками, подекуди волога; були відмічені виразкові зміни у ділянці ротової порожнини та носа. До тридцятої доби інтенсивність таких проявів була зменшена, але вони ще залишалися. Вага тварин була мінімальною на сьому добу ($189,2 \pm 17,4$ г).

Слизова оболонка тонкої кишки щурів в умовах дії циклофосфаміду була потовщена з першої ($619,6 \pm 34,6$ мкм) до тридцятої ($691,8 \pm 35,52$ мкм) доби порівняно з такою у контрольній групі ($489,8 \pm 31,2$ мкм). Середня товщина її мала тенденцію до зростання до третьої доби ($783,0 \pm 42,89$ мкм) та на тридцяту добу залишалася більшою ($p < 0,05$), ніж у контролі на 41 %.

Під дією бензофуурокаїну слизова оболонка тонкої кишки мала тенденцію до стовщення та тільки у терміні трьох днів середня товщина її ($583,1 \pm 34,14$ мкм) достовірно ($p < 0,05$) була більшою на 19 %, ніж у контрольній групі щурів, з сьомої доби слизова оболонка відповідала такій у контрольній групі тварин.

Під дією циклофосфаміду та метилурацилу слизова оболонка тонкої кишки була потовщена з першої доби спостереження. Найбільші значення товщини її були на другу добу ($741,3 \pm 35,81$ мкм), після чого ми відмітили тенденцію до її зменшення та станом на тридцяту добу показник середньої товщини слизової оболонки ($567,7 \pm 30,26$ мкм) не мав достовірної різниці з таким у контролі.

Більшість ворсинок в умовах дії циклофосфаміду набували нехарактерної пальцеподібної форми (Гусейнова С.Т., 2010), з'являлися значно знижені та розширені патологічні форми ворсинок з перетинками між ними, частина ворсинок до третьої доби були позбавлені епітеліального шару за рахунок активної десквамації та неможливості адекватного відновлення. З сьомої доби у верхніх третинах частини ворсинок спостерігалися дистрофічні зміни. Найменші значення середньої висоти ворсинок мали місце на третю добу ($194,3 \pm 20,6$ мкм). Вищеописаний поліморфізм ворсинок та тенденція отриманих показників співпадає з результатами, отриманими при пошкодженні структури тонкої кишки

антибіотикотерапією (Борщев Ю.Ю. та ін., 2012). У віддалених термінах цей показник мав тенденцію до відновлення ($238,01 \pm 22,29$ мкм – на тридцять добу) та залишався меншим ($p < 0,05$) контролю на 20 %. Це узгоджується із даними про зміни структури тонкої кишки під впливом сірководневого газу (Бахтін А.А., 2012). Отримані нами результати відрізняються від даних, отриманих при ушкодженні слизової оболонки тонкої кишки у постреанімаційному періоді, де ворсинки збільшуються за шириною за рахунок набряку та не змінюються за висотою (Коняева Т.П., та ін., 2004).

При застосуванні бензофуорокаїну патологічні форми ворсинок зустрічалися у вигляді осередків впродовж трьох діб спостереження, після чого ми відмічали їх у поодиноких полях зору. На другу добу були відмічені найменші значення середньої висоти ворсинок ($251,6 \pm 19,34$ мкм), що на 16,3 % менше ($p < 0,05$), ніж у контролі, проте до закінчення експерименту ($304,5 \pm 21,82$ мкм) відмічена тенденція до відновлення.

Під впливом циклофосфаміду та метилурацилу патологічні форми ворсинок були відмічені впродовж трьох діб, як досить часте явище, на сьому добу пальцеподібні форми ворсинок були наявні у невеликій кількості полів зору. Середня висота ворсинок на третю добу ($202,4 \pm 22,32$ мкм) була мінімальною та на 19 % меншою ($p < 0,05$) значень контрольної групи, з сьомої доби цей показник ($230,4 \pm 24,43$ мкм) не мав достовірної різниці з контролем ($300,3 \pm 8,53$ мкм).

В умовах дії циклофосфаміду поздовжній переріз крипт з першої доби був глибокий та широкий у порівнянні з криптами у препаратах контрольної групи, найбільш видовженими вони виглядали на третю-сьому добу. Середня глибина крипт була найбільшою на сьому добу ($300,2 \pm 17,54$ мкм), що було у 2 рази більше ($p < 0,05$), ніж у контролі. Значення цього показника впродовж експерименту були однорідні у кожному терміні, що можна пояснити реакцією на блокування розмноження найбільш активнопроліферуючої популяції клітин слизової оболонки травної трубки та відсутністю нормальної кількості клітин крипти за рахунок апоптозу на тлі зменшення мітотичної активності.

Під впливом циклофосфаміду та бензофуорокаїну крипти протягом всього експерименту візуально були більші за довжиною та шириною, ніж у препаратах контрольної групи. На сьому та тридцять добу у більшості полів зору крипти були ідентичними до таких у контролі. Середня глибина їх мала найбільші значення на третю добу ($171,96 \pm 9,56$ мкм) та не мала достовірної різниці з показником контрольної групи ($148,5 \pm 10,9$ мкм) упродовж всіх термінів спостереження.

При застосуванні метилурацилу з першої доби крипти були широкі та глибокі. Середня глибина крипт була найбільшою на сьому добу ($257,8 \pm 11,03$ мкм). Слід відзначити, що на цей термін структура стінки порожньої кишки мала мозаїчний характер (нерідко зустрічалися ділянки з нормальними розмірами та цитоархітектонікою крипт). На тридцять добу цитоархітектоніка та розміри крипт не були відновлені та середня глибина їх ($196,0 \pm 9,83$ мкм) залишалася більшою ($p < 0,05$), ніж у контролі, на 32 %.

Стовпчасті епітеліоцити за умов дії циклофосфаміду набували форми близької до кубічної, були низькими та широкими. На сьому добу середня висота їх ($15,43 \pm 0,68$ мкм) була мінімальною та на тридцять добу залишалася меншою

($p < 0,05$) на 24,8 %, ніж у контрольній групі ($21,58 \pm 0,69$ мкм). Ми пояснюємо таке явище необхідністю заповнення сталої площі меншою кількістю клітин (у зв'язку з відсутністю «нормального постачання» клітин з крипти) – за рахунок цього клітини, які мають меншу щільність, збільшуються за шириною та, як наслідок, зменшуються за висотою. Кількість клітин нижньої третини ворсинки на 100 мкм довжини зрізу була меншою контролю на третю добу ($6,11 \pm 0,69$), впродовж наступних термінів спостереження цей показник мав тенденцію до відновлення та не мав достовірної різниці з показниками контролю на тридцять добу ($8,48 \pm 1,53$).

Враховуючи стабільність упродовж експерименту форми, середньої висоти та щільності стовпчастих ентероцитів у групах щурів, яким вводили бензофуракаїн, можна говорити про компенсацію відновних процесів, що обумовлене, на нашу думку, безперебійним постачанням «молодих» клітин у ворсинку.

При використанні метилурацилу прояви недостатнього відновлення кількості стовпчастих епітеліоцитів були найбільш помітними на третю добу експерименту, висота їх була мінімальною ($16,05 \pm 0,38$ мкм), форма була наближена до кубічної, середня кількість клітин нижньої третини ворсинки була найменшою ($6,7 \pm 1,11$ на 100 мкм). На тридцять добу середня висота стовпчастих епітеліоцитів ($18,85 \pm 0,48$ мкм) залишалася меншою ($p < 0,05$), ніж у контролі, на 12,8%.

Кількість та розміри келихоподібних екзокриноцитів у тонкій кишці за умов дії циклофосфаміду були меншими, ніж у контролі. Їх кількість у ворсинці була найнижчою на третю добу ($10,18 \pm 1,13$), що було на 44,7 % менше ($p < 0,05$) показника контролю. На тридцять добу середня кількість келихоподібних екзокриноцитів ($13,47 \pm 1,49$) була відновлена. Площа келихоподібних клітин на цьому добу була ($54,27 \pm 5,07$ мкм²) на 28 % меншою ($p < 0,05$), ніж у контролі, на тридцять – відновлена. Такі ж зміни відбуваються й при впливі свинцю на структуру тонкої кишки (Борщев Ю.Ю. та ін., 2012). Під впливом антибіотиків, як пошкоджуючого стінку тонкої кишки фактору, кількість келихоподібних клітин збільшується на відміну від отриманих нами результатів. Отримані нами дані також не співпадають з даними про збільшення кількості келихоподібних клітин під впливом хронічної інгаляції сірководеньмісного газу (Бахтін А.А., 2012).

Кількість та площа келихоподібних екзокриноцитів тонкої кишки щурів під впливом комбінації циклофосфаміду та бензофуракаїну варіювали незначно, дещо знижувалися (за рахунок затримки адекватного відновлення), але у межах близьких до контролю. Найменші показники середньої кількості таких клітин у ворсинці були на третю добу ($16,04 \pm 1,51$), найменшу площу келихоподібні екзокриноцити мали на цьому добу. Жодне з цих значень достовірно не відрізнялося від контролю.

Під дією циклофосфаміду та метилурацилу найменші значення кількості келихоподібних екзокриноцитів у ворсинці ($10,7 \pm 2,19$) були відмічені на третю добу, що було на 41,8 % меншим ($p < 0,05$) від такого показника у контролі, на тридцять добу відбулося його відновлення ($17,4 \pm 2,07$). Середня площа келихоподібних екзокриноцитів була найменшою (на 33 % менше ($p < 0,05$) контролю) на третю добу ($56,98 \pm 5,71$ мкм²), та до тридцятої доби значення її ($63,99 \pm 5,44$ мкм²) сягнули контрольних ($75,56 \pm 6,21$ мкм²).

Циклофосфамід різко пригнічує мітотичну активність (Кукес В.Г., 2008; Переводчикова Н.И., 2011). З першої доби відбулося зниження індексу мітозу – до

6,52±0,28 (при нормі – 17±2,28). Перші дві доби цей показник тримався у найнижчих межах. З третьої доби була відмічена тенденція до відновлення (8,07±1,29), яка збереглася до тридцятої доби, коли значення мітотичного індексу (16,51±3,17) достовірно не відрізнялися від таких у контролі. Збільшення апоптотичного індексу відбулося на першу добу (16,7±2,32), різке зменшення його на третю добу (4,5±0,44) та поступове подальше наближення до показників контролю (6,06±1,33 – на сьому добу). Це відповідає часу присутності у тканині тонкої кишки уражених циклофосфамідом клітин та відповіді тканини у вигляді апоптозу на їх наявність. Активність відновлення була мінімальною на першу добу (0,39±0,07), що у 5,6 разів менше від показника контролю. Показник активності відновлення встановився у межах контролю на сьому добу (2,12±0,17). Незначне зменшення активності відновлення до тридцятої доби (1,46±0,04) відбулося за рахунок значень апоптотичного індексу на цей термін (11,33±2,38), що перевищує значення контрольної групи. Ми вважаємо, що відтерміноване збільшення кількості апоптотичних тілець є закономірною реакцією тканини на присутність у ній задіяних у патологічних процесах клітин, які спричинені неспроможністю тканини до адекватної відповіді на наявність патогенної та умовно патогенної мікрофлори, приєднання грибкових інфекцій тощо. Ми пояснюємо це деструктивним впливом циклофосфаміду на структуру тонкої кишки, а саме – захисні функції пригнічуються за рахунок зменшення кількості секрету келихоподібних екзокриноцитів, екзокриноцитів з ацидофільною зернистістю, щільності епітеліальних клітин та пригнічення гемопоезу (недостатня кількість клітинного захисту) (Оганова М.А., 2008; Назарова Л.Е., 2010; Glaspy J.A., 2003; Bryniarski K., 2012). Шляхом апоптозу у цьому випадку підтримується чистота геному тканини та унеможливорюється потрапляння «нездорових» клітин до функціонально активної тканини. Індукція апоптозу та пригнічення мітотичної активності у крипах також описується при пошкодженнях тонкої кишки свинцем та сірководневим газом (Бахтін А.А., 2012).

Під впливом циклофосфаміду та бензофуурокаїну у першу добу спостереження мітотичний індекс (6,56±0,75) був менший ($p<0,05$) у 2,6 рази відносно показника контрольної групи. З другої доби відмічена тенденція до його відновлення, але вже на третю добу значення мітотичного індексу (14,95±0,45) достовірно не мали різниці з таким у контролі. Апоптотичний індекс набув найбільших значень (9,6±0,38) на першу добу, після чого значення його були відновлені. Показник активності відновлення на першу добу (0,68±0,03) був у 3,2 рази менший, ніж у контролі, на третю добу (2,15±0,05) та в усі подальші терміни – не мав достовірної різниці з показниками контрольної групи (2,2±0,19), що свідчить про відновлення захисних функцій, які описані вище, до цього строку.

У клітинах, що склали крипти тонкої кишки груп щурів, які перебували в умовах дії циклофосфаміду та метилурацилу, індекс мітозу на першу добу спостереження мав найнижчі значення – 6,69±0,24, що у 2,5 рази менше ($p<0,05$) такого у контролі та на сьому добу його значення встановилися в межах 14,09±2,38, що не мало достовірної різниці зі значеннями контрольної групи (17±2,28) та залишався таким до тридцятої доби (18,41±3,29). У перші дві доби відмічено неспроможність метилурацилу корегувати вплив циклофосфаміду, що проявлялося

значною кількістю апоптозів ($13,18 \pm 2,38$) на другу добу. На третю добу апоптотичний індекс склав $6,2 \pm 2,29$, що не мало достовірної різниці з контролем. Активність відновлення була мінімальною на першу добу ($0,52 \pm 0,03$), що менше ($p < 0,05$), ніж у контрольній групі у 4,1 рази. На третю добу показник активності відновлення ($1,45 \pm 0,56$) не мав достовірної різниці з таким у контролі. На відміну від груп дії цитостатика активність відновлення залишалася у межах контролю до тридцятої доби.

Про повне відновлення активності регенераторних процесів можна судити тільки оцінюючи чисельність популяції стовбурових клітин. Оскільки крипта є основним місцем поділу та диференціювання ентероцитів, кількість клітин саме в крипті слугувала підтвердженням активності регенераторних процесів. За умов дії циклофосфаміду кількість клітин крипти на зрізі була мінімальною на третю добу ($35,19 \pm 2,58$ шт.), що у 2,1 рази менше ($p < 0,05$), ніж у контролі ($74,53 \pm 2,74$ шт.), та на сьому добу відбулося відновлення кількості ($72,58 \pm 2,74$ шт.), яка і на тридцяту добу ($74,98 \pm 3,58$ шт.) не мала різниці з контролем ($74,53 \pm 2,74$ шт.).

Під впливом циклофосфаміду та бензофуурокаїну кількість клітин у крипті на зрізі на першу добу ($55,84 \pm 3,18$ шт.) була на 24,5 % меншою ($p < 0,05$), ніж у контролі, але більшою, ніж у групі дії тільки цитостатика. З другої доби кількість клітин крипти на зрізі ($69,91 \pm 2,85$ шт.) не мала різниці з показником у контрольній групі ($74,53 \pm 2,74$ шт.), яка зберігалася такою на подальших термінах. Можна зробити висновок, що під дією бензофуурокаїну з другої доби відновлюється постачання епітеліальних клітин у слизовій оболонці тонкої кишки, що дає можливість запобігти всім відтермінованим реакціям, які викликані цитостатиком.

При застосуванні метилурацилу кількість клітин крипти на зрізі була відновлена на сьому добу ($73,48 \pm 2,84$ шт.), та мінімальні значення цього показника відмічені на третю добу ($51,31 \pm 2,74$ шт.), що на 31 % менше ($p < 0,05$), ніж у контролі. Відмічено менше пошкодження тканини та, як наслідок, порушення функції, ніж при дії лише цитостатика, але менша корекція морфологічних змін, ніж при застосуванні бензофуурокаїну.

У власній пластинці слизової оболонки тонкої кишки за умов дії циклофосфаміду найменша питома вага кровоносних судин була відмічена на третю добу ($2,17 \pm 1,36$ %). Питома вага лімфатичних судин на сьому добу ($10,4 \pm 1,12$ %) була в 1,9 рази більша ($p < 0,05$), ніж у контролі. Питома вага інтерстиційних просторів була найбільшою на сьому добу ($6,91 \pm 0,87$ %), що у 2,1 рази більше ($p < 0,05$), ніж у контролі. Такі зміни у комплексі відповідають морфологічним проявам набряку. Відносна площа лімфатичних та кровоносних капілярів мала досить широкий діапазон значень, що підтверджувалося мозаїчністю морфологічної картини візуально (частина судин були звужені, інші – розширені). Ми пояснюємо такі зміни двома процесами. З одного боку тканина порожньої кишки щурів реагує на подразнення (яке викликане агресивними компонентами такими, як травні ферменти, мікроорганізми та продукти перетравлювання їжі, що потрапили через пошкоджений епітеліальний шар) проявами набряку та розширенням лімфатичних капілярів для доставки до місця втручання факторів захисту. З другого боку – система захисту за тривалий період впливу патогенних факторів виснажується скоріше на тлі дії засобу, що гальмує

оновлення її. Збіг цих обставин є «сприятливим» для прогресування патологічного процесу. Саме за рахунок вищезгаданих процесів питома вага клітин та міжклітинної речовини у власній пластинці слизової оболонки мала показники нижчі, ніж у контролі. Всі ці прояви набувають більшої інтенсивності на третю добу, на сьому добу – утримуються на високих значеннях. Через тридцять діб питома вага лімфатичних судин ($8,31 \pm 0,91$ %) залишилася на 50 % більшою ($p < 0,05$), ніж у контролі. Питома вага інтерстиційних просторів на тридцять добу ($5,17 \pm 0,91$ %) не відрізнялася від значень контрольної групи ($3,59 \pm 0,89$ %). Мозаїчність морфологічної картини можна також пояснити різним проявом дії цитостатичного засобу: у ділянках, де клітини некротизувалися, має місце запальна реакція та набряк (що супроводжувалося збільшенням площ поперечного перерізу судин та інтерстиційних просторів); а у ділянках апоптозу – відсутність набряку та ознак запалення.

Під впливом циклофосфаміду та бензофуурокаїну питома вага кровоносних судин власної пластинки слизової оболонки тонкої кишки була найменша на другу добу – $3,24 \pm 0,87$ %, але впродовж експерименту показник не мав достовірної різниці з контролем ($4,21 \pm 0,99$ %). Питома вага лімфатичних судин на третю добу була максимальною ($6,79 \pm 0,91$ %) та впродовж експерименту не мала достовірної різниці з показниками контролю ($5,53 \pm 0,81$ %), що підтвердилося візуально. Питома вага інтерстиційних просторів мала тенденцію до зростання у перші три доби, що візуально підтверджувалося значними площами їх поперечного перерізу, але не мало достовірної різниці з контролем.

Під впливом метилурацилу у власній пластинці слизової оболонки тонкої кишки шурів показники питомої ваги кровоносних судин не мали достовірної різниці з такими у контролі впродовж експерименту. Максимальні значення питомої ваги лімфатичних судин були на третю добу ($9,76 \pm 0,91$ %), що на 76 % більше ($p < 0,05$), ніж у контрольній групі, на тридцять добу показник був аналогічний до контрольних показників. Питома вага інтерстиційних просторів до третьої доби була більшою ($p < 0,05$) та на сьому добу ($6,71 \pm 1,64$ %) не відрізнялася від такої у контрольній групі ($3,29 \pm 0,89$ %).

Показник питомої ваги кровоносних судин підслизової основи тонкої кишки за умов дії циклофосфаміду з першої ($6,61 \pm 1,41$ %) до сьомої доби ($8,89 \pm 1,06$ %) був більшим, а на тридцять добу кровоносні судини виглядали такими, як у препаратах контрольної групи та відносна площа їх ($6,23 \pm 0,99$ %) також була відновлена. З першої доби лімфатичні судини були широкими та мали тенденцію до подальшого збільшення показника площ поперечних перерізів. Питома вага лімфатичних судин була максимальна на третю добу ($21,18 \pm 1,95$ %) та залишалася значною на сьому ($20,23 \pm 0,94$ %). Станом на тридцять добу відносна площа лімфатичних судин ($15,7 \pm 2,09$ %) була у 2,17 рази більшою за контроль. Візуально не відмічено такого значного розширення лімфатичних судин до цього терміну, але ми пояснюємо зсув відносних значень також меншою кількістю клітин, що складають підслизову основу внаслідок цитостатичної дії циклофосфаміду. Питома вага інтерстиційних просторів з першої доби була більшою, ніж у контролі та сягнула свого максимуму на третю добу ($18,3 \pm 2,12$ %). До тридцятої доби ($10,3 \pm 1,78$ %) показник був у 1,8 рази більший ($p < 0,05$), ніж у контрольній групі.

Помірний набряк підслизової основи тонкої кишки спостерігали також при дії іонізуючого випромінювання (при підвищенні дози до 10 Гр) були відмічені некротичні зміни слизової оболонки до оголення підслизового шару (Кравець В.В., 2008).

У підслизовій основі порожньої кишки у групах щурів, які перебували в умовах дії циклофосфаміду та бензофуурокаїну, відмічені як збільшені так і зменшені площі поперечного перерізу кровоносних судин впродовж експерименту. Найбільші показники питомої ваги їх були на другу добу ($6,04 \pm 0,97$ %), що достовірно не відрізнялося від контролю, до тридцятої доби цей показник залишався відновленим. Відносна площа лімфатичних судин набула максимальних значень ($11,51 \pm 1,27$ %) на третю добу спостереження та відповідала значенням контролю на сьому добу ($8,95 \pm 0,95$ %). Питома вага інтерстиційних просторів була максимальною на третю добу ($9,14 \pm 1,43$ %), що більше ($p < 0,05$) показника контролю на 62 %, але вже на сьому добу ($7,51 \pm 0,98$ %) була такою, як і в контрольній групі.

За умов дії циклофосфаміду та метилурацилу у підслизовій основі порожньої кишки щурів показники питомої ваги кровоносних судин сягнули максимуму на сьому добу ($7,93 \pm 0,97$ %), що на 61 % більше ($p < 0,05$), ніж у контролі ($4,91 \pm 0,91$ %), станом на тридцяту добу показник був відновлений. Лімфатичні судини мали найбільший діаметр на третю добу, що підтверджено максимальними значеннями їх питомої ваги ($19,70 \pm 1,94$ %), що у 2,7 рази більше ($p < 0,05$) ніж у контролі ($7,23 \pm 1,14$ %). На тридцяту добу значення цього показника ($10 \pm 1,17$ %) досягли показників контрольної групи. Питома вага інтерстиційних просторів набувала більших значень до третьої доби ($18,20 \pm 1,42$ %) та на тридцяту добу ($8,1 \pm 1,10$ %) достовірно не відрізнялася від контролю ($5,61 \pm 0,95$ %).

У м'язовій оболонці тонкої кишки щурів в умовах дії циклофосфаміду до третьої доби відносна площа кровоносних та лімфатичних судин набула максимальних значень ($3,28 \pm 0,86$ % та $4,75 \pm 1,31$ % – відповідно). Значення питомої ваги інтерстиційних просторів були максимальними на сьому добу ($5,67 \pm 1,24$ %). Впродовж експерименту ці показники не мали достовірної різниці з контролем.

У м'язовій оболонці тонкої кишки щурів групи, у якій застосовували бензофуурокаїн, питома вага кровоносних та лімфатичних судин була максимальною на другу добу ($2,38 \pm 0,85$ % та $2,81 \pm 0,78$ % – відповідно), інтерстиційних просторів – на третю добу ($3,68 \pm 0,86$ %). Впродовж експерименту жоден з цих показників не мав достовірної різниці з контролем. Такі дані співпадають з даними, отриманими при корекції ушкодженої цитостатиками тонкої кишки препаратами рослинного походження (Сакаєва Д.Д., 2004).

При дії циклофосфаміду та метилурацилу максимальні значення питомої ваги кровоносних та лімфатичних судин та інтерстиційних просторів були на третю добу ($3,14 \pm 1,24$ %; $4,58 \pm 1,74$ % та $5,51 \pm 2,53$ % – відповідно). Питома вага складових м'язової оболонки не мала достовірної різниці з контролем. Отримані дані близькі до таких при корекції морфологічних змін тонкої кишки, що викликані цитостатиками, препаратами рослинного походження (Сакаєва Д.Д., 2012).

Сполучна тканина у стінці тонкої кишки за умов дії циклофосфаміду у перший день спостереження має мінімальну питому вагу, на нашу думку, за рахунок набряку та збільшення питомої ваги інших компонентів тканини. На сьому добу відмічені максимальні значення питомої ваги сполучної тканини ($7,45 \pm 0,82$ %). На тридцять добу відносна кількість сполучної тканини була ближчою до показника контрольної групи та залишалася на 71 % більшою від нього.

При застосуванні бензофуракаїну помірно збільшена порівняно з контролем питома вага сполучної тканини зберігалася впродовж перших трьох днів дослідження ($4,64 \pm 0,40$ % на третю добу). На сьому добу цей показник ($2,28 \pm 0,52$ %) не мав достовірної різниці з таким у контрольній групі, що ми пояснили нормалізацією кількості сполучної тканини на тлі остаточних проявів набряку. Меншу кількість сполучної тканини ми пояснюємо меншою кількістю зруйнованих (некротизованих) цитостатиком клітин, що підтверджується результатами морфологічного дослідження.

Питома вага сполучної тканини у тонкій кишці в умовах дії циклофосфаміду та метилурацилу на сьому добу сягнула максимальних значень ($5,38 \pm 0,94$ %) та на тридцять добу ($4,18 \pm 0,90$ %) не мала достовірної різниці з показником контрольної групи ($3,13 \pm 0,41$ %).

Всі морфологічні зміни, стінки тонкої кишки, які ми спостерігали нами були умовно розділені на два етапи. Перший – дія власне метаболітів циклофосфаміду, що проявляється у різкому зниженні мітотичної активності та, як наслідок, неможливість нормального поділу клітин крипти, збільшенням кількості апоптотичних тілець, що викликає зміну кількості клітин ворсинки, недостатність постачання стовпчастих епітеліоцитів та екзокриноцитів для просування у ворсинку, оголення ворсинок, активну десквамацію епітеліоцитів. Неспроможність адекватного захисту через недостатню кількість та виснаженість келихоподібних екзокриноцитів та екзокриноцитів з ацидофільною зернистістю обумовлює доступність тканин тонкої кишки для пошкоджуючих факторів (зниження компенсаторно-приспосувальних процесів тканини порожньої кишки) – патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, хімічних подразників та навіть грубої їжі.

На другому етапі – ушкодження, що обумовлені вищезазначеними факторами, викликають відповідь тканини у вигляді запальної реакції, морфологічні прояви якої ми спостерігали і у віддалені терміни. Провокується запалення наявністю некротизованих клітин, що утворилися внаслідок дистрофічних процесів, викликаних порушенням живлення та прямого токсичного впливу циклофосфаміду на клітини. Морфологічні зміни розвиваються за принципом «замкненого кола» – запалення на тлі загальмованого цитостатиком відновлення викликає ще більш масивні ушкодження тканин порожньої кишки. Про ступінь тяжкості ушкоджень ми можемо говорити, враховуючи задіяність у запальній реакції глибоких шарів травної трубки – підслизової основи та м'язової оболонки.

Морфологічні докази повного відновлення структур тонкої кишки до закінчення експерименту отримані тільки при застосуванні бензофуракаїну. Причому вже на третю добу ми відмічали помітну різницю з показниками групи

щурів без дії протектора. Ми пов'язуємо такий вплив з виявленою здатністю бензофуурокаїну до стимуляції репаративної регенерації, яка проявлялася у швидкому відновленні мітотичної активності. Швидке відновлення пулу клітин крипти сприяє більш ранньому відновленню тканини та запобігає розвитку подальших патологічних змін, що виникають як ланцюгова реакція.

Нами створено морфологічне підґрунтя можливості корекції генотоксичної дії циклофосфаміду бензофуурокаїном за відсутності зростання кількості апоптозів на віддалених термінах дослідження як реакції на наявність генетично неповноцінних клітин. Таким чином, морфологічні зміни стінки тонкої кишки у щурів, викликані впливом циклофосфаміду, корегуються застосуванням бензофуурокаїну та метилурацилу, при застосуванні бензофуурокаїну швидкість процесів відновлення структури стінки тонкої кишки вища.

ВИСНОВКИ

В результаті проведеного експериментального дослідження вирішене актуальне наукове завдання: встановлені особливості морфологічних змін стінки тонкої кишки за умов дії циклофосфаміду та при їх корекції бензофуурокаїном та метилурацилом; морфологічні підтвердження стимуляції репаративної регенерації були відмічені при застосуванні як бензофуурокаїну, так і метилурацилу.

1. Під впливом циклофосфаміду у стінці тонкої кишки виникає масивна десквамація стовпчастих епітеліоцитів, руйнування та дистрофічні зміни верхівок ворсинок, набряк фіброваскулярних стрижнів, пальцеподібна форма ворсинок, клітинно-ядерний поліморфізм, некроз епітеліальних клітин, збіднені на гранули екзокриноцити з ацидофільною зернистістю, товщина слизової оболонки, висота ворсинок, ширина та глибина крипт, висота стовпчастих епітеліоцитів, які не відновлюються навіть до тридцятої доби.

При дії метилурацилу та бензофуурокаїну порушення структури стінки тонкої кишки менш інтенсивні та відновлення її відбувається у більш ранні строки. Під дією метилурацилу на тридцяту добу не відновлюються тільки глибина крипт (на 32 % менше ($p < 0,05$) контролю) та висота стовпчастих епітеліоцитів (на 12,7 % менше ($p < 0,05$) контролю). Всі решта досліджених показників відновлюються на тридцяту добу, за виключенням висоти ворсинок, що сягає значень контролю на сьому добу. Під впливом бензофуурокаїну морфологічні показники відновлюються на сьому добу, але морфометричні значення глибини крипт, висоти стовпчастих епітеліоцитів, щільності клітин нижньої третини ворсинки, площі та кількості келихоподібних екзокриноцитів у ворсинці не мають достовірної різниці з контролем впродовж експерименту.

2. При дії циклофосфаміду в усіх досліджених оболонках тонкої кишки відмічені розширені лімфатичні судини та інтерстиційні простори, мозаїчні площі кровоносних судин, перерозподіл крові у венулярну ланку. На тридцяту добу структура та обраховані показники власної пластинки слизової оболонки та підслизового шару не відновлюються. Під дією метилурацилу у власній пластинці слизової оболонки відновлення структур мікроциркуляторного русла відбувається на сьому добу, у підслизовій основі – на тридцяту добу, м'язова оболонка не була уражена. При дії циклофосфаміду та бензофуурокаїну питома вага компонентів

мікроциркуляторного русла власної пластинки слизової оболонки та м'язової оболонки достовірно не відрізнялися від контролю. У підслизовій основі питома вага лімфатичних судин була більшою ($p < 0,05$), ніж у контролі на другу та третю добу, інтерстиційних просторів – на третю.

3. При дії бензофуорокаїну та метилурацилу на тлі застосування циклофосфаміду заміщення структурних елементів тонкої кишки сполучною тканиною відбувається у менших обсягах. Після одноразового введення циклофосфаміду питома вага сполучної тканини на тридцять добу більша ($p < 0,05$) на 71 %, ніж у контролі. Під впливом метилурацилу питома вага сполучної тканини на тридцять добу є відновленою. Під впливом бензофуорокаїну питома вага сполучної тканини у стінці тонкої кишки щурів тільки на третю добу має достовірну ($p < 0,05$) різницю (на 48 % більша) з показниками контролю, на сьому добу показники питомої ваги сполучної тканини повертаються до значень контрольної групи.

4. При застосуванні у якості коректорів токсичності циклофосфаміду бензофуорокаїну та метилурацилу відновлення мітотичного та апоптотичного індексу у криптах тонкої кишки відбувається раніше, ніж без корекції. За умов дії циклофосфаміду значення мітотичного та апоптотичного індексів відновлюються на сьому добу. За умов дії бензофуорокаїну мітотичний індекс відновлюється на третю добу, апоптотичний – на другу. За умов дії метилурацилу мітотичний індекс не має достовірної різниці з контролем на сьому добу, апоптотичний – на третю.

5. Активність відновлення клітин крипти тонкої кишки за умов дії циклофосфаміду відновлюється раніше при корекції її бензофуорокаїном. За умов дії циклофосфаміду та метилурацилу активність відновлення та кількість клітин крипти на зрізі відновлюються на сьому добу. Активність відновлення в умовах дії циклофосфаміду на тридцять добу менша ($p < 0,05$), ніж у контролі, на 33,3 %. Активність відновлення за умов дії циклофосфаміду та бензофуорокаїну не має різниці зі значеннями контролю з третьої доби, кількість клітин крипти на зрізі – з другої.

6. Структура стінки тонкої кишки за умов дії циклофосфаміду та бензофуорокаїну була відновлена швидше (більшість показників – до сьомої доби), ніж за умов дії циклофосфаміду та метилурацилу (більшість показників – до тридцятої доби).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бондарчук Г. О. Морфологические изменения в тонкой кишке крыс под влиянием циклофосфамида и коррекция их применением комбинации циклофосфамида и бензофуорокаина / Г. О. Бондарчук // Вісник проблем біології і медицини. — 2011. – Вип. 2, Т. 2. – С. 36-37.

2. Фомина Л.В. Сучасні погляди на морфологічні зміни внутрішніх органів під впливом дії циклофосфаміду / Л. В. Фомина, Г. О. Бондарчук // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3, Т. 1 (94). – С. 23-27. (Здобувач особисто провів аналіз джерел літератури та сформулював висновки)

3. Фомина Л. В. Спектр действия бензофуорокаина и перспективы его расширения / Л. В. Фомина, А. О. Бондарчук // Журнал анатомии и

гистопатології. – 2013.– Т. 2, № 1. – С. 18-24. *(Фахове видання Росії. Здобувач особисто провів аналіз джерел літератури та сформулював висновки)*

4. Бондарчук Г. О. Морфологические аспекты протекторного действия бензофуурокаина на структуру тощей кишки крыс, измененную под действием циклофосфамида, в отдаленные сроки / Г. О. Бондарчук // Журнал анатомии и гистопатологии.–2013.–№ 2.– С. 51-55. *(Фахове видання Росії)*

5. Бондарчук А. О. Динамика восстановления эпителия слизистой оболочки тонкой кишки крыс после воздействия циклофосфамида и коррекции бензофуурокаином и метилурацилом / А. О. Бондарчук, Л. В. Фомина, А. А. Гаврилук // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2014. - № 3. – С. 24-30. *(Фахове видання Росії. Здобувач особисто проводив експериментальне дослідження та аналіз отриманих результатів.)*

6. Бондарчук А. О. Стимуляция процесов репаративной регенерации в тонкой кишке с применением бензофуурокаина / А. О. Бондарчук // Регенеративная биология и медицина : сб. науч. трудов всеросс. науч. конф. – Москва, 2011. – С. 24-25.

7. Бондарчук Г. О. Порівняльна характеристика морфологічних змін в тонкій кишці щурів при застосуванні циклофосфаміду та комбінації циклофосфаміду з бензофуурокаїном на віддалених термінах / Г. О. Бондарчук // Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології : мат. наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2011. – С. 23-24.

8. Фомина Л. В. Морфологічні зміни в стінці тонкої кишки щурів під впливом циклофосфаміду/ Л. В. Фомина, Г. О. Бондарчук // Морфологія на сучасному етапі розвитку науки : зб. мат. наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2012.- С. 199-201. *(Здобувач особисто проводив експериментальне дослідження, статистичні обчислення та аналіз отриманих результатів.)*

9. Бондарчук А. О. Влияние бензофуурокаина и метилурацила на регенераторные процессы тонкой кишки / А. О. Бондарчук // Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии: сб. науч. трудов междунар. науч. конф. – Москва. – 2014. – С. 41-43.

АНОТАЦІЯ

Бондарчук Г. О. Морфологічні зміни стінки тонкої кишки під впливом циклофосфаміду та їх корекція. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01. – нормальна анатомія. – Вінницькій національній медичній університет імені М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2014.

Дисертація присвячена встановленню морфологічних особливостей стінки тонкої кишки під впливом одноразового введення циклофосфаміду, комбінації циклофосфаміду та бензофуурокаїну та комбінації циклофосфаміду та метилурацилу. За допомогою морфологічних методів дослідження вивчені зміни у стінці тонкої кишки за умов дії циклофосфаміду та корекції цих змін одноразовим введенням бензофуурокаїну та для порівняння, щоденним триразовим введенням метилурацилу. Мікроскопічні зміни стінки тонкої кишки за умов дії циклофосфаміду були представлені у вигляді масивної десквамації епітелію,

зниження висоти ворсинок, зменшення щільності клітин крипти та нижньої третини ворсинки, видовження та розширення крипт, клітинно-ядерного поліморфізму, збіднення екзокриноцитів з ацидофільною зернистістю та келихоподібних екзокриноцитів, некрозу клітин, індукції апоптозу, зменшення кількості мітозів у глибині крипт, набряку власної пластинки слизової оболонки, підслизової основи, м'язового шару, збільшення питомої ваги сполучної тканини. Більшість перелічених ознак не відновлюються до тридцятої доби експерименту. При корекції цих змін бензофуурокаїном всі ознаки досягли значень контрольної групи до тридцятої доби та більшість з них – до сьомої. При використанні метилурацилу морфологічні зміни стінки тонкої кишки, викликані циклофосфамідом, мали меншу інтенсивність прояву, ніж без корекції, та швидше відновлювалися. Бензофуурокаїн проявив більшу здатність до стимуляції репаративної регенерації епітелію тонкої кишки, ніж метилурацил.

Ключові слова: тонка кишка, морфологія, регенерація, циклофосфамід, бензофуурокаїн, метилурацил.

АННОТАЦІЯ

Бондарчук А.О. Морфологические изменения стенки тонкой кишки под влиянием циклофосфамида и их коррекция. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01. – нормальная анатомия. – Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2014.

Исследование посвящено изучению морфологических особенностей стенки тонкой кишки под влиянием однократного введения циклофосфамида, комбинации циклофосфамида с бензофуурокаином и комбинации циклофосфамида с метилурацилом. Экспериментальное исследование проведено на 279 белых беспородных крысах, которые были разделены на семь групп. Используются препараты циклофосфамид (для повреждения стенки тонкой кишки), бензофуурокаин и метилурацил (для стимуляции восстановления тканей стенки тонкой кишки), винбластин (для остановки митозов и более удобного подсчета митотической активности). С помощью морфологических методов исследования изучены изменения в стенке тонкой кишки в условиях действия циклофосфамида и коррекции этих изменений однократным введением бензофуурокаина и, для сравнения, ежедневным трехразовым введением метилурацила. Микроскопические изменения стенки тонкой кишки под влиянием циклофосфамида проявлялись в виде массивной десквамации столбчатых эпителиоцитов, разрушения и дистрофических изменений верхушек ворсинок, отека фиброваскулярных стержней, пальцеобразной формы ворсинок, клеточно-ядерного полиморфизма, некроза эпителиальных клеток, снижения высоты ворсинок, уменьшения плотности клеток крипты и нижней трети ворсинки, удлинения и расширения крипт, обеднения экзокриноцитов с ацидофильной зернистостью и бокаловидных экзокриноцитов, утолщения слизистой оболочки, увеличения количества апоптотических телец, уменьшения количества митозов в глубине крипт, отека собственной пластинки слизистой оболочки, подслизистой основы, мышечного слоя, увеличения удельного веса соединительной ткани, перераспределения крови в

сторону венулярной составляющей. Большинство из перечисленных признаков невосстановились к тридцатым суткам эксперимента. При коррекции этих изменений бензофуурокаином все морфологические изменения восстановились к тридцатым суткам, большинство из них – к седьмым. При использовании метилурацила морфологические изменения стенки тонкой кишки, вызванные циклофосфамидом, были менее интенсивны, чем без коррекции, и быстрее восстановлены (большинство из них – к тридцатым суткам).

Бензофуурокаин, по сравнению с метилурацилом, имеет более выраженное стимулирующее влияние на репаративную регенерацию слизистой оболочки тонкой кишки, поврежденной циклофосфамидом. При применении бензофуурокаина активность восстановления возвращается к исходным значениям на третьи сутки, количество клеток крипты в разрезе – на вторые. При использовании метилурацила активность восстановления и количество клеток крипты в разрезе достигают значений контрольной группы крыс на седьмые сутки. Без применения препаратов коррекции к тридцатым суткам активность восстановления остается ниже значений контрольной группы на 33,3 %.

В условиях действия циклофосфамида в комбинации с бензофуурокаином и с метилурацилом замещение нормальных тканей соединительной происходит в меньших объемах. Под действием циклофосфамида количество соединительной ткани увеличивается и на тридцатые сутки ее удельный вес остается большим на 71 %, чем в контроле. При коррекции метилурацилом удельный вес соединительной ткани на тридцатые сутки не имеет достоверной разницы с показателем контроля, при коррекции бензофуурокаином – на седьмые сутки.

Структура стенки тонкой кишки при действии циклофосфамида и бензофуурокаина восстановилась быстрее, чем при действии циклофосфамида и метилурацила.

Ключевые слова: тонкая кишка, морфология, регенерация, циклофосфамид, бензофуурокаин, метилурацил.

SUMMARY

Bondarchuk H.O. Morphological changes in the wall of the small intestine under the influence of cyclophosphamide and correction of them. – The manuscript.

Dissertation to obtain a scientific degree of the Candidate of Medical Science in specialty 14.03.01 – Normal Anatomy. – Vinnytsya National Pirogov Memorial Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2014.

The thesis is devoted to the morphological features of the small intestine wall under the influence of cyclophosphamide, a combination of cyclophosphamide and benzofurokain and combination of cyclophosphamide and methyluracil. Using morphological methods changes in the small intestine wall were studied during the effect of cyclophosphamide and correction of these changes by benzofurokain injection and for comparison, thrice daily methyluracil using. Microscopic changes in the small intestine wall under the influence of cyclophosphamide manifested in massive desquamation of epithelium, reduced height of villus, reduction of the cell density in lower third of the villi and crypts, elongation of crypts, cell-nuclear polymorphism, depletion of Paneth cells and goblet cells, necrosis of cells,

induction of apoptosis, reduced the number of normal mitoses in crypt depth, edema of the lamina propria of the mucosa membrane, submucosa base, muscular layer, increasing the proportion of connective tissue.

Most of these signs are not normalized at the thirtieth day of the experiment.

When correcting this effect by

benzofurokain all morphological changes reached values of norm to thirty day and most of them to seven day.

When used as a

pattern methyluracil morphological changes of the small intestine caused by cyclophosphamide had significantly lower intensity of expression than without correction, and reached the values of norm sooner.

Benzofurokain showed greater capacity for protection of small intestine wall tissue and stimulation of reparative regeneration than methyluracilum.

Keywords: small intestine, morphology, regeneration, cyclophosphamide, benzofurokain, methyluracilum.

Підписано до друку 23.12.2014 р. Замовл. № 914.
Формат 60x90 1/16 Ум.друк. арк. 0,8 Друкофсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ імені М.І. Пирогова, Пирогова, 56.

