

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

БУЛЬКО Ірина Віталіївна

УДК:616-001.17: 599.323.4:612.416

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В СЕЛЕЗІНЦІ У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ  
ПІСЛЯ ЛОКАЛЬНОЇ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ШКІРИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ  
В ЕКСПЕРИМЕНТІ

14.03.01 - нормальна анатомія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Вінниця – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор  
**Гумінський Юрій Йосипович**, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, професор кафедри анатомії людини

**Офіційні опоненти:**

- заслужений діяч науки і техніки України, доктор медичних наук, професор **Черкасов Віктор Гаврилович**, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, завідувач кафедри анатомії людини;
- доктор медичних наук, професор **Слободян Олександр Миколайович**, Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", завідувач кафедри анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії.

Захист відбудеться "16"травня 2018 р. о 10-00 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

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

Автореферат розісланий "28" березня 2018 р.

**Учений секретар**  
спеціалізованої вченої ради

**І.М. Кириченко**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Летальність за періодами опікової хвороби коливається в залежності від її стадії. Найбільший відсоток (від 65 до 95 %) померлих припадає на періоди токсемії та септикотоксемії (Алексеев А.А., 2009; 2013). В останні роки відбувається значне зростання частоти локальних глибоких опіків, коли зона пошкодження не перевищує 10% поверхні тіла. Лікування таких хворих виявляється серйозною медико-соціальною проблемою (Mogoianu G.D., Grumezescu A.M., 2014).

Безпосередні причини смерті при опіковій хворобі постійні: сепсис, пневмонія і поліорганна недостатність на їх фоні (Сахаров С.П., Иванов В.В., 2010). Успіх лікування при опіковому шоці залежить від своєчасності та тривалості інтенсивної інфузійної терапії, складу рідин, що вводяться, фармакотерапії, направленої на попередження системної запальної реакції та поліорганної дисфункції (Волков К. С., Гетманюк І. Б., Небесна З. М., 2005; 2010; Черкасов В. Г. та ін., 2014; 2015). Колоїдні препарати, а головне - раннє їх використання, зменшують летальність у ранні та віддаленні періоди після опіку (Очеретнюк А.О., Гунас І. В., Небесна З. М., 2013; Макарова О. І., Чайковський Ю.Б., 2014).

За даними наукових досліджень при важких термічних ушкодженнях можливий зрив адаптаційних механізмів гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, виникають дегенеративні зміни аденогіпофіза (Kovalchuk O.I., Cherkasov V. G., 2014), зміни питомої площі та об'ємної щільності ядер спонгіоцитів (Кухар І. Д., Камінська Н.А., 2002), гіпертрофія ендокриноцитів пучкової зони кори надниркових залоз (Дзевульська І. В., 2015).

Недавні дослідження показали, що опіки шкіри (ОШ) викликають запальні процеси та імунну дисфункцію (Zhao, 2015). Опікова травма викликає складну реакцію в організмі хворого, порушує гомеостаз імунної системи та призводить до розвитку інфекційних і запальних ускладнень (Stoecklein, 2012). Зміни структури органів імуногенезу при опіковій хворобі (кістковий мозок, селезінка, лімфатичні вузли) мають певну динаміку. Описані особливості деструктивних та репаративних процесів при опіках шкіри у тимусі (Чайковський Ю.Б., Черкасов Е.В., 2016).

Для селезінки, як органу детоксикації й імунокорекції, включеного у велике коло кровообігу, характерні наступні функції: механічна фільтрація крові з поглинанням ксенобіотиків; клітинної матриці, що містить макрофаги, лімфоцити та натуральні кілери; синтез гуморальних чинників імунітету, опсонінів, тафтсину, фібронектину, інтерферону та інших чинників, стимулюючих імунні реакції (Gauglitz G.G. et al., 2008). При опіковій хворобі в селезінці виявлені редукція фолікулів, помірна гіперплазія лімфоцитів і ретикулярних клітин (Сахаров С.П., 2010; Гумінський Ю. Й., Очеретна Н. П., 2013).

Внаслідок своєї здатності елімінувати чужорідні антигени, власні мутантні та відмираючі клітини, селезінка виступає як могутній захисний орган імуногенезу. У ній, у першу чергу, синтезуються антитіла на первинно введений антиген і активізується захисна клітинна реакція на рівні лімфоцитів (Tschör J. et al., 2009). Екстракорпоральна перфузія донорської селезінки свині кров'ю пацієнта була основним методом дії, що санує при важких формах ендотоксикозу, при шоківних станах. У зв'язку з вищенаведеним, подальший прогрес у розробці проблеми боротьби з шоком потребує комплексного і більш глибокого підходу до виявлення

патогенезу системних і місцевих розладів, що виникають в організмі хворих на опікову травму внаслідок порушень гомеостазу у відповідь на дію термічного фактору. (Гаврилюк - Скиба Г. О., Волков К. С., Небесна З. М., 2013). Проведені субмікроскопічні дослідження селезінки встановили, що опікова травма вже на ранніх термінах свого розвитку призводить до глибоких змін всіх структурних компонентів селезінки (Гаврилюк - Скиба, Волков К.С., 2013). У ранніх термінах після опікової травми шкіри у щурів у селезінці відбуваються дистрофічні процеси в лімфоцитах та макрофагах, повнокров'я та пристінкові мікротромби в трабекулярних венах селезінки, повнокровні просвіти синусоїдних судин, набряк та макрофагальна інфільтрація периваскулярної сполучної тканини в трабекулах селезінки (Гумінський Ю.Й. 2012; Бебешко Н.П., 2013).

Відсутні дані, які б висвітлювали стан селезінки на пізніх стадіях термічного ураження різного ступеня важкості та в умовах застосування інфузії гіперосмотичних розчинів, що визначило мету дослідження: встановити динаміку морфологічних змін структури селезінки щурів через 14 - 30 добу після опікової травми шкіри, при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5%.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Тема дисертації затверджена на засіданні вченої ради стоматологічного та фармацевтичного факультетів Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (протокол № 2 від 17 листопада 2011 р.), на засіданні проблемної комісії МОЗ та АМН України Морфологія людини (протокол № 8 від 2 червня 2011 р.).

Дисертаційне дослідження виконане відповідно до основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук МОН і НАН України (п. 2.2.4.9 Молекулярні, біохімічні, морфологічні і фізіологічні основи розвитку хвороб людини і розробки методів їх лікування), є фрагментом наукової роботи "Експериментальне обґрунтування ефективності комплексних інфузійних препаратів на моделі опікової хвороби у тварин", що є фрагментом НДР на тему: "Створити нові комплексні колоїдні кровозамінники поліфункціональної дії та розчини для ресуспендування еритроцитів лабораторно – експериментальне обґрунтування їх застосування в трансфузіології", (КПКВ 6561040, № Державної реєстрації 0107U001132).

Дослідження є фрагментом НДР Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова "Морфогенез та патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту, сечостатевої, нейроендокринної та імунної системи" № державної реєстрації: 0111 U 010551

Авторка при виконанні роботи виявила та описала морфологічні особливості селезінки щурів через 14, 21, та 30 діб після опікової травми шкіри, при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5%.

**Мета дослідження:** Встановити динаміку морфологічних змін структури селезінки щурів через 14, 21, та 30 добу після опікової травми шкіри, при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5%.

**Завдання дослідження:**

1. Встановити особливості будови селезінки інтактних щурів, яким протягом

перших 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% на 14, 21 та 30 добу від початку експерименту.

2. Визначити динаміку морфологічних змін структури селезінки щурів, яким після опікової травми шкіри протягом перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl через 14, 21 та 30 добу.

3. Встановити особливості макроскопічних та мікроскопічних змін у селезінці щурів, яким після опікової травми шкіри протягом перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом на 14, 21 та 30 добу.

4. Визначити особливості макроскопічних та мікроскопічних змін у селезінці щурів яким після опікової травми шкіри протягом перших 7 діб експерименту вводили розчин HAES-LX-5% та лактопротеїну з сорбітолом на 14, 21 та 30 добу.

5. Визначити залежність між показниками концентрації молекул середньої маси, лейкоцитарного індексу інтоксикації та показниками розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки на пізніх стадіях опікової травми.

6. Встановити зміни показників клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні 0,9 % розчину NaCl.

7. Визначити особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%.

*Об'єкт дослідження* – зміни структурних компонентів селезінки щурів у віддалений період після ОШ II-III ступеня та корекції розчином лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%.

*Предмет дослідження* – макро -, мікро - та ультраструктурні зміни будови селезінки після опікової травми шкіри в умовах комплексного застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% в експерименті.

*Методи дослідження* – морфологічні: макроскопічний – для візуального вивчення стану, визначення маси та об'єму селезінки у віддалений період після ОШ; мікроскопічний – для вивчення мікроструктури складових структурних елементів селезінки у віддалений період після ОШ; електронно-мікроскопічний – для проведення ультраструктурного морфометричного аналізу популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки у віддалений період після ОШ та в умовах комплексного застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% ; лабораторні: визначення формули крові, МСМ за методом Габріелян та показника лейкоцитарного індексу інтоксикації за Кальф-Каліфом (ЛІІ) – для кількісної оцінки ендогенної інтоксикації; вміст ДНК в ядрах клітин селезінки щурів визначався методом проточної ДНК - цитометрії з метою визначення особливостей клітинного циклу досліджених груп; статистичний – для оцінки вірогідності відмін між групами порівняння застосовували параметричні та непараметричні методи оцінки отриманих результатів і визначали ступінь взаємозв'язків між показниками розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки та ендогенної інтоксикації.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Проведене дослідження дозволило з'ясувати зміни структурної організації селезінки на пізніх стадіях опікової травми за умов застосування внутрішньовенної інфузії нового препарату колоїдно-

гіперосмолярного розчину HAES-LX-5%, та референтного препарату – лактопротеїну з сорбітолом.

Проведене дослідження доповнює існуючі відомості про морфологічні зміни селезінки у пізні терміни після опікової травми шкіри. Доповнено та розширено існуючі уявлення про зміни розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки під впливом опіку на пізніх термінах опікової травми, які характеризувалися статистично значуще меншою кількістю вузькоцитоплазматичних лімфоцитів та широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю, а також більшою кількістю широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю ( $p < 0,05$ ), з плазмоцитарним диференціюванням ( $p < 0,05$ ) та більшою кількістю лімфобластів ( $p < 0,05$ ).

Уперше представлені ультраструктурні морфометричні дані лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки свідчать, що застосування лактопротеїну з сорбітолом впливало на розподіл і функціональну активність лімфоцитів селезінки, а саме: кількість широкоцитоплазматичних лімфоцитів (ШЛ) з низькою активністю на 14 та 21 добу була не достовірно більша, а на 30 добу достовірно ( $p < 0,05$ ) більша (у 1,4 рази порівняно з показниками у щурів, яким після ОШ внутрішньовенно вводили фізіологічний розчин на 30 добу, у 1,4 та 1,2 рази порівняно з показниками у щурів після опіку на 14, 21 добу, яким вводили лактопротеїн з сорбітолом). Разом з тим кількість ШЛ з високою неспецифічною активністю та ШЛ з фагоцитарною активністю на 14, 21 добу при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом на пізніх стадіях опікової травми була не достовірно менша, а на 30 добу їх кількість достовірно менша в 1,2 - 1,4 рази порівняно з 21 добою та 1,3 - 1,5 порівняно з 14 добою.

Уперше показано, що при застосуванні розчину HAES-LX-5% при опіковій травмі на пізніх стадіях розподіл лімфоцитів у білій пульпі селезінки теж змінювався. HAES-LX-5% сприяє нормалізації лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки. Встановлено практично повне відновлення структури лімфоцитів білої пульпи селезінки на 30 добу спостереження, зменшення на 5,15% кількості вузькоцитоплазматичних, та широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю і лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням та лімфобластів не відрізняється від контролю ( $p < 0,05$ ).

Автором уперше описані зміни структури селезінки у пізні терміни після опікової травми шкіри за умов застосування нового кровозамінника HAES-LX-5%, а також розчину лактопротеїну з сорбітолом. Уперше встановлено особливості активації та розподілу лімфоцитів білої пульпи селезінки у відповідь на застосування колоїдно-гіперосмолярного розчину HAES-LX-5%, та препарату порівняння – розчину лактопротеїну з сорбітолом, що є морфологічним проявом їх імуномодельючої дії.

Уперше встановлені зміни клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5%.

**Практичне значення одержаних результатів.** Виконане дослідження доповнює існуючі відомості про морфологічні зміни селезінки при опіковій травмі

шкіри та корекції післяопікового стану, окреслює шляхи подальшого удосконалення підходів до інтенсивної терапії та профілактики. Застосування лактопротеїну з сорбітолом і нового кровозамінника HAES – LX-5% при опіковій травмі шкіри для корекції післяопікового стану значно зменшило патологічні зміни у селезінці.

Матеріали дисертації використовуються у лекційному курсі та при проведенні практичних занять студентів на кафедрах: анатомії людини (акт впровадження від 22.11.2016), гістології та ембріології (акт впровадження від 03.10.2016) клінічної анатомії та оперативної хірургії (акт впровадження від 15.11.2016), Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; анатомії людини (акт впровадження від 04.01.2017), анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету (акт впровадження від 03.02.2017).

**Особистий внесок здобувача.** Автором здійснено розробку основних теоретичних і практичних положень дисертаційного дослідження, самостійно визначена мета та завдання даного дослідження, проаналізована наукова література. Здобувач провів самостійно всі експериментальні дослідження, особисто написано всі розділи дисертації. Аналіз та узагальнення одержаних результатів, обґрунтування висновків проведено разом з науковим керівником. Електронно-мікроскопічне дослідження проведено сумісно з проф. Медвецьким Є.Б. в Національному інституті хірургії та трансплантології АМН України ім. О.Шалімова. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, використаний фактичний матеріал, отриманий дисертантом у процесі виконання досліджень. Особисто дисертантом проведено статистичну обробку отриманих даних.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення роботи викладені та обговорені на II науково-практичній конференції з міжнародною участю Природничі читання (Чернівці, 2015); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 75 - річчю з дня народження професора Шутки Б. В. (Івано–Франківськ, 2015); науково-практичній конференції з міжнародною участю Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії, присвяченій 75 - річчю від дня народження професора В. І. Проняєва (Чернівці, 2016); науково-практичній конференції Індивідуальна анатомічна мінливість органів, систем, тканин людини і його значення для практичної медицини і стоматології, присвяченій 80 - річчю від дня народження професора М. С. Скрипнікова (Полтава, 2016); науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології», присвяченій пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г.В., Роменського О.Ю., Когана Б.Й., Шапаренка П.П., Жученка С.П. (м. Вінниця, 2017).

Апробація дисертаційної роботи проведена на спільному засіданні кафедр анатомії людини; оперативної хірургії та клінічної анатомії; гістології, цитології та ембріології; нормальної фізіології; патологічної анатомії; загальної гігієни та екології людини; науково - дослідного центру та Вінницького відділення наукового товариства АГЕТ і апробаційної ради Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (Вінниця, 2017).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 12 наукових праць, із них: 8 статей у наукових фахових виданнях України (п'ять статей вийшли у виданнях, що входять до переліку міжнародних наукометричних баз); 4 публікації – у матеріалах

науково-практичних конференцій з міжнародною участю.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена українською мовою на 177 сторінках машинописного тексту, з яких основний текст становить 140 сторінок; складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел (245 джерел: 181 викладених кирилицею, 64– латиницею). Робота ілюстрована 51 рисунком та 11 таблицями.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали і методи дослідження.** Експериментальні дослідження морфологічних змін селезінки при опіковій травмі були виконані на 200 білих статевозрілих щурах - самцях масою 160 - 200 г., отриманих із віварію Державної установи “Інститут фармакології та токсикології НАМН України”. Дослідження проводили на базі проблемної науково - дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку науково - дослідного центру Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, яка сертифікована МОЗ України (посвідчення № 003/10 від 11.01.2010 року) та лабораторії кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, яка сертифікована МОЗ України (посвідчення №000679 від 11.01.2008 року).

На проведення експерименту отриманий дозвіл комісії з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол №10 від 23 листопада 2017 року), якою встановлено, що проведені дослідження відповідають етичним та морально-правовим вимогам згідно наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались рекомендацій Європейської комісії щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин та методичними рекомендаціями Державного фармакологічного центру МОЗ України. Досліди проводили з урахуванням Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP), закону України № 3447 - IV Про захист тварин від жорстокого поводження від 21 лютого 2006 року.

У якості досліджуваного препарату був використаний колоїдно-гіперосмолярний препарат НАЕС-LX-5%, розроблений в ДУ “Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України” (Патент на винахід 93776).

Як препарат порівняння застосовували колоїдно-гіперосмолярний розчин лактопротеїну з сорбітолом, який серійно випускається Київським ЗАТ “Біофарма” (Сертифікат про державну реєстрацію МОЗ України № 464/09 - 300200000 від 12.03.2009 року)

Попередні дослідження виявили, що щури-самці без будь-якої фармакокорекції за умов опікової травми шкіри гинули всі до 9 - ї доби експерименту, не доживаючи до пізньої стадії опікової травми. Тому в експерименті ми застосовували внутрішньовенну інфузію в нижню порожнисту вену 0,9 % розчину NaCl та вищевказаних інфузійних препаратів.

Катетер встановлювали у стегнову вену та підшивали під шкіру, його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на



10 мл 0,9 % розчину NaCl) після кожного ведення речовин.

Перше введення розчинів здійснювали через 1 год. після моделювання патологічного стану, наступні інфузії виконували раз на добу. Гоління тварин, постановка опіків та катетеризацію магістральних судин здійснювали під пропофоловим наркозом 60 мг/кг внутрішньоочеревинно.

Тварин розподілили на контрольну та дослідну групи. У контрольній групі представлені інтактні щури (катетеризовані та депільовані). Тварин дослідної групи розподілили на шість підгруп.

До групи № 1 були віднесені щури без ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену 0,9 % розчину NaCl у дозі 10 мл/кг.

До групи № 2 були віднесені щури без ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену розчину лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл/кг.

До групи № 3 були віднесені щури без ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену розчину НАЕС-LX-5% у дозі 10 мл/кг.

До групи № 4 були віднесені щури після ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену 0,9 % розчину NaCl у дозі 10 мл/кг.

До групи № 5 були віднесені щури після ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену розчину лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл/кг (рис. 2.2).

До групи № 6 були віднесені щури після ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену розчину НАЕС-LX-5% у дозі 10 мл/кг.

Опіковий шок викликали шляхом прикладання 4-ох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом 6 - ти хв. у воді на дерев'яній підставці з постійною температурою 100°C. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складає 21 - 23% при експозиції 10 сек, що є достатнім для сформування опіку III - а ступеня та викликання шокового стану середнього ступеня важкості.

Забір матеріалу для дослідження інтактних та експериментальних тварин (табл.1) проводили згідно загальноприйнятими методиками та дотриманням вимог біоетики (Западнюк І. П., 1983; Лопухин Ю. М., 2003).

Евтаназію щурів проводили шляхом передозування пропофолу через 14, 21 та 30 добу після опіку. Ці терміни обрані відповідно до певних періодів опікової хвороби (Гунас І.В., 2003; Крылов К.М., 2006).

Для гістологічного дослідження фрагменти селезінки фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, промивали в проточній воді, зневоднювали в батареї спиртових розчинів зростаючої концентрації та заключали в парапласт. Зрізи товщиною 3 - 5 мкм виготовляли на ротаційному мікротомі, забарвлювали гематоксилін еозином та за Ван-Гізон (Улумбеков Э.Г., 1998). Мікроскопічні дослідження проводили на 14, 21 та 30 добу. Гістологічні препарати досліджували в

світловому мікроскопі OLYMPUS BH - 2 з використанням об'єктивів x10 та x40, окуляра x10.

Таблиця 1

**Розподіл тварин у контрольній та експериментальній групах за термінами забору гістологічного матеріалу**

Група тварин		Термін після опіку шкіри				Загальна кількість тварин
		До початку експерименту	14 діб	21 Діб	30 діб	
Контроль		2	2	2	2	8
Дослід	I	2	10	10	10	32
	II	2	10	10	10	32
	III	2	10	10	10	32
	IV	2	10 (2)	10 (2)	10(1)	32
	V	2	10 (1)	10	10	32
	VI	2	10 (1)	10 (1)	10	32
Всього		14	62 (4)	62 (3)	62 (1)	200

**Примітка.** у дужках – кількість тварин, що загинула.

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки селезінки фіксували в 2,5% - ому розчині глютаральдегіду на 0,1 г фосфатному буфері та дофіксували в 1% - ому розчині чотирьохокису осмію на фосфатному буфері, 1 % розчині танінової кислоти, зневоднювали у батареї спиртів зростаючої концентрації та ацетоні, проводили у сумішах ацетону та епону та заливали у суміш епону та аралдиту (Багрій М.М., 2016). Морфологічні структури контрастували у процесі зневоднення матеріалу насиченим розчином ураніацетата, а на зрізах - цитратом свинцю. Зрізи товщиною 40 - 60 нм, отримані на ультрамікроскопі УМТП - 7, вивчали в електронному мікроскопі ТЕСЛА БС - 500. Для проведення морфометричних досліджень на ультраструктурному рівні досліджували клітинний склад білої пульпи селезінки кожної тварини відповідного терміну експерименту і підраховували процентний вміст типів клітин.

Ступінь накопичення токсичних продуктів в організмі оцінювали за токсичністю сироватки крові експериментальних тварин, досліджуючи концентрацію молекул середньої маси (МСМ) за скринінговим методом Н.І. Габріелян та співавт. (Габриэлян Н.И., 1983). Визначення МСМ виконували наступним чином: сироватку крові обробляли 10 % розчином трихлороцтової кислоти у співвідношенні 1,0:0,5. Осад відділяли шляхом 30 - хвилинного центрифугування при 3000 об/хв. Супернатант розводили дистильованою водою у співвідношенні 1:10. Для кількісної оцінки рівня МСМ використовували показник абсорбції при довжині хвилі 254 нм. Рівень МСМ виражався в умовних одиницях (УО), рівних одиниць екстинції при спектрофотометрії. Визначення рівня МСМ

проводили шляхом колориметрування на спектрофотометрі СФ - 26. Додатково визначали коефіцієнт розподілу (К), який виражався співвідношенням рівня абсорбції при 280 нм до її рівня при 254 нм. Крім того визначався лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІ) за методикою Я.Я. Кальф-Калифа (Гусак В.К. и др., 2000; Кальф-Калиф Я.Я., 1941; Островский В.К. и др., 2006).

Вміст ДНК в ядрах клітин селезінки щурів визначали методом проточної ДНК - цитометрії, яку здійснювали на багатофункціональному проточному цитофлуориметрі PartecPAS (Німеччина) на базі НДЦ ВНМУ імені М.І. Пирогова (Bendall S. C. et al., 2012; N. Aghaеepour et al., 2013). Для визначення вмісту ДНК в ядрах клітин селезінки методом проточної цитофлуориметрії з органу вилучали під стерильною капсулою зразок тканини (0,5 см<sup>3</sup>), ретельно промивали фізіологічним розчином (0,9 % NaCl) з подальшим зануренням у фосфатно-сольовий буфер з рН 7,4 (Sigma, США).

Суспензії ядер з клітин селезінки отримували за допомогою розчину для дослідження ядерної ДНК CyStainDNA фірми (Partec, Німеччина), що дозволяє одночасно екстрагувати ядра та мітити ядерну ДНК, у відповідності з протоколом - інструкцією виробника. За допомогою програмного забезпечення FloMax (фірма Partec, Німеччина) визначали фрагментацію ядер ДНК клітин селезінки, шляхом підрахунку відсотку ядер у інтервалі RN1. З кожного зразка клітинної суспензії аналізували мінімум 20 тис. подій. Аналіз клітинного циклу виконували шляхом визначення: G0G1 – відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2с); S - відсоткове співвідношення клітин фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2с та < 4с.); G2 + M – відсоткове співвідношення фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4с, або поліплоїдні). Визначення фрагментації ДНК (апоптоз) виконано шляхом виділення SUB - G0G1 ділянки на ДНК - гістограмах – RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК < 2с.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за методом варіаційної статистики, визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою U - критерію Мана-Уїтні (Лапач С.Н. и др., 2001; 2002). Статистично значущими вважали результати при  $p < 0,05$ . Для визначення взаємозв'язків між показниками застосовували метод парної кореляції Пірсона та рангової кореляції Спірмена (Тюрин Ю.Н. и др., 1998). Визначали напрямок кореляційного зв'язку: прямий або зворотній і силу зв'язку. При аналізі вибіркового коефіцієнта кореляції (r) силу зв'язку оцінювали таким чином: при  $r = 0$  - зв'язок відсутній; при  $r =$  від 0,1 до 0,3 - слабкий зв'язок; 0,3 - 0,7 – зв'язок середньої сили; 0,7 - 1, 0 – сильний зв'язок (Автандилов Г.Г., 2002).

**Результати дослідження та їх обговорення.** В усіх термінах спостереження курсова інфузія щурам без ОШ 0,9 % розчину NaCl у дозі 10 мл на кг маси тіла не призводила до будь-яких структурних змін селезінки. У щурів без опіку шкіри, яким перших 7 діб проводили інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом, у дозі 10 мл на кг маси тіла в усі терміни дослідження виявляли повнокровні просвіти кровоносних судин у білій та червоній пульпі селезінки щурів. Збільшена чисельність макрофагів у червоній та білій пульпі селезінки. Макрофаги гіпертрофовані, а їх цитоплазма містила гетерофаголізосоми. Гіперплазія та

гіпертрофія макрофагів у білій та червоній пульпі селезінки є ознаками активації їх фагоцитарної функції у відповідь на дію лактопротеїну. Зважаючи на той факт, що макрофаги проявляють важливу роль у диференціюванні Т - та В-лімфоцитів у селезінці, а також в процесах фізіологічного руйнування еритроцитів та тромбоцитів, а при опіках фагоцитують та руйнують ендотоксини, нерозчинні компоненти клітинного детриту, слід було очікувати позитивний вплив лактопротеїну з сорбітолом в корекції проявів наслідків опікової травми.

У щурів без опіку шкіри, яким перших 7 діб проводили інфузію розчину НАЕС-LX-5% у дозі 10 мл на кг маси тіла на 14, 21 та 30 добу виявляли незначне повнокров'я судин кровоносного мікроциркуляторного русла червоної та білої пульпи селезінки. Ми не виявили активації Т - та В - залежних ділянок у лімфоїдних фолікулах та періартеріолярних піхвах білої пульпи, а також посилення фагоцитарної активності макрофагів, яке було виявлено у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту проводили інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом. Наші дані корелюють з отриманими Гумінським Ю. Й. та Очеретною Н. П. (2013) про вплив інфузії кровозамінника НАЕС-LX-5% на 1, 3 та 7 добу спостереження.

Наші дослідження токсичності сироватки крові щурів з ОШ підтверджують висновки інших авторів (Turrin N.P., 2004), що опікова травма обов'язково викликає ендогенну інтоксикацію, що обумовлює розвиток інтоксикаційного стресу. Також свідчать, що на пізніх стадіях опікової травми - стадії токсемії та септикопемії (14, 21 доба), концентрація молекул середньої маси висока, та потребує медикаментозного корегування.

Рівень молекул середньої маси та лейкоцитарного індексу інтоксикації у щурів з ОШ, яким вводили розчини НАЕС-LX-5%, або лактопротеїну з сорбітолом у віддалений період опікової травми досягав свого максимуму через 14 діб, а мінімуму на 30 добу після термічного ураження. На 14 добу (стадія пізньої токсемії) лейкоцитарний індекс був статистично значуще вищим (у 3,2 раза) у щурів яким після ОШ 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl, порівняно з таким у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl. На 21 добу (стадія септикотоксемії) лейкоцитарний індекс був статистично значуще вищим (у 2,2 раза). На 30 добу лейкоцитарний індекс не мав статистично значущої різниці у щурів з ОШ і без ОШ. У щурів з опіковою травмою розчин НАЕС – LX-5% сприяв зниженню лейкоцитарного індексу інтоксикації ( $p < 0,05$ ) на 14 добу в 1, 6 раза, на 21 добу – в 1,7 раза, на 30 добу - не мав статистично значущої різниці в порівнянні з таким у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту вводили розчин НАЕС – LX-5%.

При дослідженні молекул середньої маси виявили, що рівень ендогенної інтоксикації був статистично значуще нижчим у щурів без ОШ, ніж у щурів з опіком упродовж усього періоду спостережень ( $p < 0,05 - 0,001$ ) та статистично значуще вищим ( $p < 0,05$ ) у щурів з ОШ, яким вводили 0,9 % розчин NaCl, у порівнянні з таким у щурів, яким після ОШ проводили інфузію розчинів НАЕС-LX-5% та препарат порівняння ( реферес препарат) лактопротеїну з сорбітолом.

Отже, експериментальна опікова травма шкіри у щурів викликає характерну для опікової хвороби ендогенну інтоксикацію, рівень якої коригується і

нормалізується інфузією застосованих комбінованих гіперосмолярних розчинів НАЕС – LX-5% та референс препарата лактопротеїну з сорбітолом.

Однією з найважливіших форм пристосування, що розвиваються в умовах патології, є компенсація - сукупність реакцій організму, що виникають при опікових пошкодженнях, спрямованих на відновлення порушених функцій (Черкасов В.Г. та ін., 2014). В периферичних органах імунної системи лімфатичні вузли, селезінка і лімфоїдна тканина, що асоціюється із слизовими оболонками, відбувається вплив антигенів на імунокомпетентні клітини, розпізнавання антигенів і розвиток специфічної імунної відповіді, взаємодії імунокомпетентних клітин, їх проліферації, антигензалежного диференціювання та накопичення продуктів імунної відповіді.

Нами встановлені характер і ступінь вираженості пошкоджень, а також пристосувальних та компенсаторних процесів у структурних компонентах селезінки через 14, 21 та 30 добу після експериментальної опікової травми шкіри. На 14 добу експериментальної опікової травми шкіри в селезінці щурів яким вводили 0,9 % розчин NaCl виявили повнокров`я судин червоної та білої пульпи, крововиливи в судинних трабекулах. У червоній пульпі селезінки щурів, яким після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl, на 14 добу виявляли значні осередки мієлопоезу. У білій пульпі селезінки щурів, яким після ОШ перших 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl, виявили типові атрофічні або токсикогенні інволютивні зміни. У лімфоїдних вузликах білої пульпи селезінки значно були менші за розмірами гермінативні центри, в них менша кількість лімфобластів та макрофагів, менша кількість лімфоцитів та макрофагів у періартеріальних зонах, значно менша чисельність лімфоцитів та макрофагів у маргінальних зонах, однак в останніх виявляли поодинокі гіпертрофовані макрофаги. Встановлені нами зміни селезінки щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl, можна трактувати як зниження участі макрофагів у регуляції імунної відповіді. У червоній пульпі селезінки щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl, виявили звужені селезінкові тяжі. У них менша чисельність лімфоцитів, макрофагів, мегакаріоцитів у порівнянні з такими у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl.

На 21 добу у червоній пульпі було більше мегакаріоцитів, що є морфологічною ознакою активації екстрамедулярного тромбоцитопоезу, що слід розцінювати як компенсаторний процес на вірогідну загальмованість належного кістково-мозкового гемопоезу продуктами ендогенної інтоксикації з місця опіків (Біловол, 2011). Зменшена також кількість лімфоцитів у періартеріальних зонах, та в періартеріолярних лімфоїдних піхвах. На 21 добу в періартеріальних зонах лімфоїдних вузликів селезінки виявили більшу чисельність лімфоцитів та макрофагів цитоплазма яких містила чисельні гетерофаголізосоми, що є ознакою їх функціональної активності у порівнянні з такими у щурів, яким після ОШ 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl на 14 добу. На 21 добу дослідження і на 30 добу значно були розширені гермінативні центри лімфоїдних вузликів, в яких макрофаги містили фагоцитовані фрагменти лімфоцитів, також розширені маргінальні зони, однак вони містили незначну кількість лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів, що може свідчити про активацію транспорту клітин у червону пульпу. Таким чином ми можемо зробити висновок, що у селезінці щурів, яким після ОШ 7 діб вводили 0,9 %

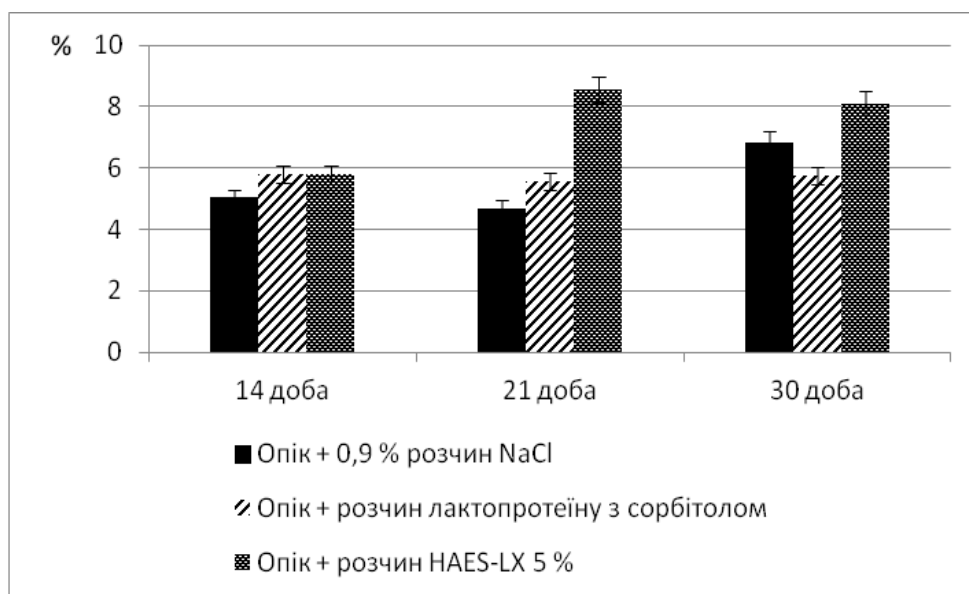
розчин NaCl на 30 добу спостереження не відбувається повного відновлення її структури та функції.

Необхідно відмітити, що виявлені нами морфологічні зміни у селезінці корелюють із структурними змінами у тимусі, виявлені Черкасовим Е.В. (Черкасов Е. В., 2011; 2012), у аденогіпофізі, описані О. І. Ковальчуком (55, 58, 59, 60 Ковальчук О.І. та ін., 2014; 2015; 2016), у надниркових залозах, знайдені І. В. Дзевульською (Дзевульська І.В., 2015). Ці зміни віддзеркалюють дисбаланс у нейроендокринній та імунній системі при опіковій хворобі (Гунас І.В. та ін., 2013; 2014) і відповідають сутності перебігу інтоксикаційного стресу (Арион В.Я. и др., 2008).

Вплив лактопротеїну на щурів з опіками в якості протишокового, детоксикаційного засобу і такого, що сприяє нейтралізації метаболічного ацидозу, на 14, 21 та 30 добу призводить до більшої кількості лімфоцитів та функціонально активних макрофагів Т - залежної зони, більшої кількості лімфобластів, лімфоцитів та плазмобластів у світлих гермінативних центрах та більшого числа Т - В-лімфоцитів, плазмоцитів у маргінальних зонах лімфоїдних вузликів, а також гіперплазії клітин періартеріолярних лімфоїдних піхв білої пульпи, у порівнянні з такими щурами, яким перших 7 днів після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl. Такі прояви опікової травми, як крововиливи в судинних трабекулах селезінки, тромби в трабекулярних венах селезінки характерні для цього терміну спостереження для щурів яким, після ОШ 7 днів вводили 0,9 % розчин NaCl, у щурів, яким перших 7 днів після ОШ вводили розчин лактопротеїну не виявляли. Повнокров'я синусоїдних судин червоної пульпи у щурів, яким перших 7 днів після ОШ вводили розчин лактопротеїну було менше виражене. У цілому, слід відзначити стимуляційний вплив лактопротеїну на лімфоїдні вузлики у селезінці з 14-ої до 30-ої доби. На 21 добу у періартеріолярних лімфоїдних піхвах виявляли гіперплазію В-лімфоцитів та плазмоцитів, що є морфологічною ознакою посилення гуморального імунітету. На 30 добу у лімфоїдних вузликах білої пульпи виявляли значно збільшені у розмірах періартеріальні зони, які містили чисельні лімфоцити та гіпертрофовані макрофаги, що вказувало на збільшення структурної частки клітинної ланки імунітету.

Оскільки при наявності різноманітних пошкоджень в організмі вірогідно збільшується синтетична активність селезінки, а патологічний вплив може реалізуватися шляхом активації апоптозу, на наш погляд, найбільш вираженими маркерами ушкодження селезінки серед показників клітинного циклу є саме показники S-фази та інтервалу SUB-G0G1.

Показники S-фази у клітинах селезінки у віддалений період після опікового ураження шкіри за умов використання розчинів лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% зростали порівняно з групою тварин після опікової травми, яким вводили 0,9 % розчин NaCl. Слід відмітити, що при дії лактопротеїну з сорбітолом кількість клітин у фазі S на 14, 21 та 30 добу була майже однаковою, в той час, коли при внутрішньовенному введенні HAES-LX-5% на 21 добу порівняно з 14 добою вона зросла у 1,48 раза, а на 30 добу – в 1,4 раза (рис. 1), що може інтерпретуватись як адаптивна реакція.



**Рис. 1.** Зміни кількості клітин у фазі S при застосуванні 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% у віддалений період після опікового ураження шкіри.

Отже, розчин HAES-LX-5% позитивно впливає на співвідношення показників клітинного циклу селезінки щурів у віддалений період після опікового ураження шкіри: підвищує кількість клітин у фазі проліферативної активності та зменшує кількість клітин з фрагментованою ДНК порівняно з аналогічними показниками у групі тварин після опікової травми, яким ввели 0,9 % розчин NaCl. Це підтверджує його цитопротекторні та антиапоптотичні властивості.

Опікове ураження шкіри упродовж 14 – 30 доби експерименту на фоні інфузії 0,9% розчину NaCl супроводжується суттєвим підвищенням показників інтервалу SUB-G0G1 клітин селезінки: через 14 діб у 2,85 рази, порівняно з аналогічною групою без опіку,  $p < 0,01$ ); через 21 та 30 добу відповідно у 2,1 рази та в 1,25 рази, порівняно з аналогічною групою без опіку,  $p < 0,01$  (рис. 2).

Застосування розчинів лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% значно зменшує показники фрагментації ДНК уже на 14 добу в 1,77 рази та у 2,77 рази відповідно, порівняно з групою щурів, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl. На 30 добу показники фрагментації ДНК були меншими у 2,97 рази та у 3,06 рази відповідно, порівняно з групою щурів, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl у даний термін.

Показники індексу проліферації та блоку проліферації є даними, що не належать до прямих показників клітинного циклу, але вони вказують на загальні тенденції розвитку внутрішньоклітинних подій та поділу клітин на фоні різноманітних патологічних станів та процесів. За даними ДНК-цитометрії опікове ураження шкіри щурів у віддалений період після опікового ураження шкіри на фоні інфузії 0,9 % розчином NaCl супроводжується змінами проліферативної активності селезінки у вигляді збільшення індексу проліферації ( $p < 0,05$ ). Застосування розчинів лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% збільшує показники індексу проліферації на 14 добу в 2,09 рази та у 2,43 рази відповідно, порівняно з групою

щурів, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl. На 30 добу показники індексу проліферації були більшими у 1,14 раза та у 2,98 раза відповідно, порівняно з групою щурів, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl у даний термін.

Таким чином, внутрішньовенна інфузія щурам без опіку шкіри протягом 7 діб 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX-5 % не змінює показники клітинного циклу селезінки (G0G1-фаза, S-фаза і G2+M-фаза) і фрагментації ДНК (інтервал SUB-G0G1) через, 14, 21 та 30 добу спостереження, що вказує на наявність певного балансу між процесами синтезу ядерної ДНК та апоптозу. Термічне ураження шкіри викликає збільшення кількості клітин селезінки, що перебували у фазі синтезу ДНК (S-фазі клітинного циклу) та показників фрагментації ДНК (активація апоптозу), що може засвідчувати наявність явищ активації репаративних процесів у селезінці.

Застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% статистично значуще змінює кількість клітин у всіх фазах клітинного циклу селезінки: відбувається збільшення клітин у фазі S та G2+M ( $p < 0.05$ ), що збільшує індекс проліферації, зменшення фрагментації ДНК.

Використання розчину лактопротеїну з сорбітолом та, особливо, розчину HAES-LX-5% позитивно впливає на характеристики клітинного циклу клітин селезінки і є перспективним для удосконалення існуючих підходів щодо корекції морфологічних змін селезінки на фоні опікової травми.

## **ВИСНОВКИ**

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання щодо визначення морфологічних змін селезінки у віддалений період після опікової травми та за умов корекції пошкоджень протягом перших 7 діб інфузійним розчином 0,9% NaCl та гіперосмолярними розчинами HAES-LX-5% і лактопротеїном з сорбітолом.

1. Інфузія інтактним щурам розчинів 0,9 % NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% в усіх термінах спостереження не впливала на макроморфометричні параметри: довжина селезінки дорівнювала –  $40,2 \pm 0,8$  мм; ширина –  $8,8 \pm 0,2$  мм; товщина –  $4,3 \pm 0,6$  мм, маса селезінки –  $1156 \pm 7,5$  мг. Введення розчину лактопротеїну з сорбітолом, на 14, 21 та 30 добу виявляли повнокрів'я, активацію T- та B-залежних ділянок у лімфоїдних вузликах та періартеріолярних піхвах білої пульпи, адгезію та діapedез лімфоцитів у венулах лімфоїдних вузликів селезінки, гіперплазію та гіпертрофію макрофагів у білій та червоній пульпі селезінки, а також збільшення їх фагоцитарної активності. Введення HAES-LX-5% призводило до незначного повнокрів'я судин гемомікроциркуляторного русла червоної та білої пульпи.

2. У щурів після опіку шкіри, яким протягом перших 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl, на 14, 21 та 30 добу виявляли повнокров'я, активацію T- та B-залежних ділянок у лімфоїдних вузликах та періартеріолярних піхвах білої пульпи, адгезію та діapedез лімфоцитів у венулах лімфоїдних вузликів селезінки, гіперплазію та гіпертрофію макрофагів у білій та червоній пульпі селезінки, а також збільшення їх фагоцитарної активності у відповідь на дію лактопротеїну. Довжина селезінки на 30 добу після опіку шкіри у порівнянні з контролем була більшою на



19,9% ( $p < 0,05$ ), ширина – на 19,3% більше ( $p < 0,05$ ), товщина та маса селезінки мали тенденцію до збільшення (відповідно на 4,7% та 8,3% при  $p > 0,05$ ). Кількість вузькоцитоплазматичних та широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю зменшена на 7,2% та 19,8%, відповідно. Кількість широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю збільшена на 38,7%, лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням на 45,2% та кількість лімфобластів на 38,2% ( $p < 0,05$ ).

3. Після опіку шкіри та внутрішньовенного введення впродовж перших 7 діб лактопротеїну з сорбітолом, виявлено морфологічні ознаки стимуляції активності гуморального та клітинного імунітету: гіпертрофію та гіперплазію макрофагів у білій та червоній пульпі, розширені гермінативні центри. На 14, 21, 30 добу спостереження у даних експериментальних тварин у порівнянні з групою, яка отримувала 0,9 % розчин NaCl, збільшена кількість вузькоцитоплазматичних лімфоцитів на 11,8 %, 5,4 %, 1,5% відповідно, та широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю на 1,5%, 1,4 % 2,9% відповідно ( $p < 0,05$ ).

4. Внутрішньовенне введення розчину НАЕС-LX-5 % після опіку шкіри протягом перших 7 діб експерименту, як і референтного препарату – лактопротеїну з сорбітолом, значно зменшує патологічні зміни у селезінці. Макрометричні параметри селезінки не мали суттєвих змін (не більше  $\pm 4$  %, при  $p > 0,05$ ) протягом усіх термінів спостереження. Чисельність лімфоцитів та макрофагів у гермінативних центрах, періартеріальній, мантийній та маргінальній зонах лімфоїдних вузликів та періартеріолярних піхвах білої пульпи, а також селезінкових тяжках червоної пульпи була більшою. У червоній пульпі збільшено число мегакаріоцитів. НАЕС-LX-5 % сприяє нормалізації лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки. На 14 добу кількість вузькоцитоплазматичних лімфоцитів зменшена на 5,15%. Встановлено практично повне відновлення структури лімфоцитів білої пульпи селезінки на 30 добу спостереження, кількість вузькоцитоплазматичних, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням та лімфобластів не відрізняється від контролю ( $p > 0,05$ ).

5. Клітинний склад білої пульпи статистично значуще залежить від рівня ендогенної інтоксикації. Серед клітин білої пульпи селезінки сильні прямі кореляційні зв'язки спостерігали між об'ємними частками широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, з плазмоцитарним диференціюванням та показниками лейкоцитарного індексу інтоксикації, концентрацією молекул середньої маси ( $r =$  від 0,77 до 0,92). Між об'ємними частками вузькоцитоплазматичних лімфоцитів, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю виявлені сильні зворотні кореляційні зв'язки з аналогічними показниками ( $r =$  від -0,78 до -0,93).

6. Протягом усього віддаленого періоду після опікової травми шкіри (14-30 доба) на фоні термічного ураження шкіри та застосування впродовж перших 7 діб після опіку 0,9% розчину NaCl у клітинах селезінки виявляли статистично значуще збільшення числа подій в інтервалі SUB-G0G1 (більше у 2,1-2,8 рази протягом усього періоду дослідження, у порівнянні з групою тварин без опіку), а також реєстрували суттєво більші значення показників блоку проліферації ( $p < 0,05$ )

порівняно з аналогічними показниками клітинного циклу клітин селезінки тварин без опіку шкіри. На останньому етапі дослідження (30 доба) порівняно з попереднім етапом (21 доба) відзначено статистично значуще зменшення кількості клітин селезінки, що перебували у фазі G0G1 ( $p < 0,05$ ), а також були зареєстровані суттєво більші значення показників S-фази ( $p < 0,05$ ), інтервалу SUB-G0G1 ( $p < 0,01$ ), індексу та блоку проліферації ( $p < 0,05$ ).

7. Застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% у порівнянні з 0,9% розчину NaCl у віддалених термінах статистично значуще змінює кількість клітин у всіх фазах клітинного циклу селезінки: збільшення клітин у фазі S та G2+M, що підсилює індекс проліферації, зменшення фрагментації ДНК на 14 добу у 1,77 та у 2,77 рази відповідно, на 30 добу – у 2,97 та у 3,06 рази, відповідно. Використання розчину лактопротеїну з сорбітолом, та, особливо, 5% HAES-LX-5% позитивно впливає на характеристики клітинного циклу клітин селезінки і є перспективним для удосконалення існуючих підходів щодо корекції ушкоджень селезінки.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Булько І. В. Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І. В. Булько, Ю. Й. Гумінський // Вісник морфології. – 2011. – Т. 17, № 2. – С. 227–230.

2. Динаміка змін рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів протягом місяця після ОШ II–III ступеня, площею 21–23% поверхні тіла та її корекція інфузійними розчинами лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% / І. В. Гунас, Б. О. Кондрацький, І. К. Нурметова, І. В. Дзевульська, О. І. Ковальчук, Е. В. Черкасов, Н. П. Бебешко, І. В. Булько, Т. К. Вітрук, Г. М. Галунко, О. І. Макарова, Є. В. Міронов, А. О. Очеретнюк, Т. В. Поліщук, Р. В. Радьога, О. М. Семененко, О. В. Ситнік // Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 29–34. *(Здобувачем особисто здійснений набір матеріалу, проведений аналіз та узагальнення результатів, сформульовані висновки).*

3. Гумінський Ю. Й. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції / Ю. Й. Гумінський, І. В. Булько // Вісник морфології. – 2012. – Т. 18, № 2. – С. 49–53. *(Здобувачем проведений експеримент, особисто зібраний матеріал, проведена його статистична обробка та узагальнення отриманих результатів).*

4. Булько І. В. Динаміка гістологічних змін селезінки щурів у віддалений період після опікової травми шкіри / І. В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2015. – Т. 14, № 2 (52). – С. 29–32. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

5. Булько І. В. Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротеїну з сорбітолом / І. В. Булько // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т. 22, число 3, ч. 1. – С. 36–38. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

6. Булько І. В. Структурні зміни в селезінці щурів у пізніх стадіях опікової травми після корекції інфузійним розчином HAES-LX-5% / І. В. Булько // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Вип. 2, Т. 1 – С. 360–363. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

до переліку міжнародних наукометричних баз).

7. Булько І. В. Структурні реакції пульпи селезінки на дію нового кровозамінника НАЕС-LX-5 % / І. В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2016. – Т. 15, № 1 (55). – С. 63–66. (Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).

8. Булько І. В. Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів / І. В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 76–80. (Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).

9. Булько І. В. Морфологія селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри / І. В. Булько // Природничі читання : II наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 14–17 трав. 2015 р. : матеріали конф. – Чернівці, 2015. – С. 92–93.

10. Булько І. В. Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротеїну з сорбітолом / І. В. Булько // Фундаментальні науки – практичній медицині: морфо-функціональні методи дослідження онтогенетичних перетворень, фізіологічних та метаболічних процесів, змодельованих патологічних станів, при захворюваннях внутрішніх органів : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 75-річчю з дня народження професора Шутки Богдана Васильовича, 30 верес. – 1 жовт. 2015 р. : матеріали конф. – Івано-Франківськ, 2015. – С. 19–20.

11. Булько І. В. Реакції пульпи селезінки на дію лактопротеїну з сорбітолом в умовах експерименту / І. В. Булько // Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 75-річчю від дня народження професора В. І. Проняєва, 24–25 берез. 2016 р. : матеріали конф. – Чернівці, 2016. – С. 67–69.

12. Булько І. В. Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні розчину лактопротеїну з сорбітолом та розчину НАЕС-LX-5 % / І. В. Булько // Прикладні аспекти морфології : наук.-практ. конф., присвячена пам'яті професорів-морфологів Терентьева Г. В., Роменського О. Ю., Когана Б. Й., Шапаренка П. П., Жученка С. П., 21–22 верес. 2017 р. : матеріали конф. – Вінниця : Друкарня «Тези», 2017. – С. 41–42.

## АНОТАЦІЯ

**Булько І.В. Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті.** - На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2018.

Дослідження присвячене встановленню особливостей структурних змін селезінки щурів у віддалені терміни після опікової травми шкіри за умов використання комбінованих гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом і НАЕС-LX-5%). Отримані нові дані щодо відновлення у віддалені терміни структурних компонентів селезінки після корекції опікової травми шкіри.

Встановлено, що використання розчину лактопротеїну з сорбітолом, та, особливо, HAES-LX-5% позитивно впливає на характеристики клітинного циклу (SUB-G0G1, S-фаза, G2+M фаза) клітин селезінки, супроводжується зниженням показників ендогенної інтоксикації і є перспективним для удосконалення існуючих підходів щодо корекції ушкоджень селезінки. Морфологічні зміни структури селезінки є підтвердженням стимуляції активності гуморального та клітинного імунітету при введенні гіперосмолярних розчинів.

**Ключові слова:** селезінка, структурні зміни, опікова травма шкіри, лактопротеїн з сорбітолом, HAES-LX-5 %.

### АННОТАЦІЯ

**Булько І.В. Морфологические изменения в селезенке в отдаленные сроки после локальной ожоговой травмы кожи и ее коррекции в эксперименте. - На правах рукописи.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия. – Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2018.

Исследование посвящено установлению особенностей структурных изменений селезенки крыс в отдаленные сроки после ожоговой травмы кожи при использовании комбинированных гиперосмолярных растворов (лактопротеина с сорбитолом и HAES-LX-5%). Получены новые данные о восстановлении в отдаленные сроки структурных компонентов селезенки после коррекции ожоговой травмы кожи. Установлено, что использование раствора лактопротеина с сорбитолом, и, особенно, HAES-LX-5% положительно влияет на характеристики клеточного цикла (SUB-G0G1, S-фаза, G2 + M фаза) клеток селезенки, сопровождается снижением показателей эндогенной интоксикации и является перспективным для совершенствования существующих подходов к коррекции повреждений селезенки. Морфологические изменения структуры селезенки являются подтверждением стимуляции активности гуморального и клеточного иммунитета при введении гиперосмолярных растворов.

Проведенное исследование дополняет существующие сведения о морфологических изменениях селезенки при термической травме кожи в поздние сроки после ожоговой травмы кожи. Дополнены и расширены существующие представления об изменениях распределения лимфоцитов в белой пульпе селезенки под влиянием ожога на поздних сроках ожоговой травмы.

В течение всего отдаленного периода после ожоговой травмы кожи (14-30 суток) на фоне термического поражения кожи и применения в течение первых 7 дней после ожога 0,9% раствора NaCl в клетках селезенки оказывалось статистически значимое увеличение числа событий в интервале SUB-G0G1 ( больше в 2,05-2,8 раза в течение всего периода исследования, по сравнению с группой животных без ожога), а также регистрировались существенно большие значения показателей блока пролиферации ( $p < 0,05$ ) по сравнению с аналогичными показателями клеточного цикла клеток селезенки животных без ожога кожи. На последнем этапе исследования (30 сутки) по сравнению с предыдущим этапом (21 сутки) отмечено статистически значимое уменьшение количества клеток селезенки,

которые находились в фазе G0G1 ( $p < 0,05$ ), а также регистрировались существенно большие значения показателей S-фазы ( $p < 0,05$ ), интервала SUB-G0G1 ( $p < 0,01$ ), индекса и блока пролиферации ( $p < 0,05$ ).

Морфологический анализ динамики структурных изменений селезенки крыс с ожогом кожи с коррекцией его последствий заключается в следующем. У крыс, которым после ожога кожи первых 7 суток эксперимента вводили в вену физиологический раствор, на 14, 21 и 30 сутки проявляли морфологические проявления дистрофических и деструктивных изменений структурных компонентов белой и красной пульпы селезенки. У крыс которым после ожога кожи первых 7 суток эксперимента вводили в вену раствор НАЕС-LX-5%, как и референт препарат лактопротеин с сорбитолом на 14, 21 и 30 сутки обнаружили статистически значимые изменения в количестве широкоплазменных лимфоцитов с высокой неспецифической активностью, с плазмоцитарным дифференцированием, количество которых уменьшалось в 1,6; 1,5; 1,4 раза, соответственно, по сравнению с показателями группы животных аналогичного срока после ожоговой травмы при применении физиологического раствора ( $p < 0,05$ ). При коррекции токсикогенных последствий ожога у крыс препарат НАЕС-LX-5%, как и референт препарат лактопротеин с сорбитолом способствовал поддержанию умеренного миелопоэза, росту активации макрофагов в Т- и В-зонах лимфоидных фолликулов и периартериолярных лимфоидных влагиалищ селезенки, их расширению во второй половине срока, что свидетельствовало о восстановлении баланса между звеньями гуморального и клеточного иммунитета.

Введение раствора лактопротеина с сорбитолом крысам с ожогом кожи в течение первых 7 дней макрометрические параметры селезенки на 14, 21 и 30 сутки не имели существенных изменений (не более  $\pm 4\%$ , при  $p > 0,05$ ). Во все сроки наблюдения численность лимфоцитов и макрофагов в периартериолярных зонах герминативных центрах, в мантийной и маргинальной зонах лимфоидных узелков и периартериолярных влагиалищах белой пульпы и селезеночных тяжах красной пульпы было больше по сравнению у крыс контрольной группы без лечения. Выявлено гипертрофию и гиперплазию макрофагов в белой, красной пульпе и расширенные герминативные центры. Установлено на 30 сутки наблюдения практически полное восстановление лимфоцитарного состав белой пульпы селезенки по сравнению с группой, получавшей 0,9% раствор NaCl, уменьшено количество узкоцитоплазменных лимфоцитов на 4,34%, увеличена на 8,9% широкоцитоплазменных лимфоцитов с низкой активностью, увеличена на 10,9% количество широкоцитоплазматичных лимфоцитов с высокой неспецифической активностью, на 4,76% лимфоцитов с плазмоцитарная дифференцировкой и на 2,94% больше количество лимфобластов ( $p > 0,05$ ). Данная морфологическая картина является подтверждением стимуляции активности гуморального и клеточного иммунитета при введении лактопротеина с сорбитолом.

Введение раствора НАЕС-LX-5% после ожога кожи в течение первых 7 дней эксперимента, значительно уменьшает патологические изменения в селезенке. Макрометрические параметры селезенки не имели существенных изменений (не более  $\pm 4\%$ , при  $p > 0,05$ ) на протяжении всех сроков наблюдения. Численность лимфоцитов и макрофагов в герминативных центрах, периартериолярной,

мантимальной и маргинальной зонах лимфоидных узелков и периартериолярных влагалищах белой пульпы, а также селезеночных тяжах красной пульпы была больше. В красной пульпе увеличено число мегакариоцитов. HAES-LX-5% способствует нормализации лимфоцитарного состава белой пульпы селезенки. Установлено практически полное восстановление лимфоцитарного состава белой пульпы селезенки на 30 сутки наблюдения, уменьшено на 5,15% количество узкоцитоплазматических лимфоцитов, количество широкоцитоплазматических лимфоцитов с низкой активностью, широкоцитоплазматических лимфоцитов с высокой неспецифической активностью, лимфоцитов с плазмоцитарным дифференцированием и лимфобластов не отличается от контроля ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** селезенка, структурные изменения, ожоговая травма кожи, лактопротеин с сорбитолом, HAES-LX-5%.

### ANNOTATION

**Bulko I.V Morphological changes in the spleen in the long term after the local burn injury of the skin and its correction in the experiment.** - The manuscript.

Dissertation to obtain a scientific of degree of the Candidate of Medical Sciences in specialty 14.03.01 – Normal Anatomy. – National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia of Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsia, 2018.

The research is devoted to the establishment of peculiarities of structural changes in the village-zinka of rats in the long term after the burn injury of the skin under conditions of use of combined hyperosmolyar solutions (lactobacillus with sorbitol and HAES-LX-5%). New data on long-term recovery of spleen's structural components after correction of burn injury to the skin were obtained. It has been established that the use of lactobacillus solution with sorbitol, and especially HAES-LX-5% solution, has a positive effect on the characteristics of the cell cycle (SUB-G0G1, S-phase, G2 + M phase) of the spleen cells, accompanied by a decrease in endogenous intoxication and is promising for the improvement of existing approaches to correction of the lesion of the spleen. Morphological changes in the structure of the spleen are a confirmation of stimulation of the activity of humoral and cellular immunity in the administration of hyperosmolyar solutions.

**Key words:** spleen, structural changes, burn injury skin, lactoprotein with sorbitol, HAES-LX-5%.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ОШ	- опік шкіри
ЛІ	- лейкоцитарий індекс інтоксикації
МСМ	- молекули середньої маси
ВЛ	- вузькоцитоплазматичний лімфоцит
ШЛ	- широкоцитоплазматичний лімфоцит
ЕІ	- ендогенна інтоксикація

---

Підписано до друку 23.03.2018 р. Замовл. № 052.  
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.  
Наклад 100 примірників.

---

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

