

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

ОЧЕРЕТНА НАТАЛІЯ ПЕТРІВНА

УДК 612.411:616-001.17:615.384:572.7:612.8

**МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СЕЛЕЗІНКИ У РАННІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ
ОПІКУ ШКІРИ ТА ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ ІНФУЗІЙНИХ
КОМБІНОВАНИХ ГІПЕРОСМОЛЯРНИХ РОЗЧИНІВ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

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 нормальної анатомії.

Офіційні опоненти:

– доктор медичних наук, професор **Пастухова Вікторія Анатоліївна**, Національний університет фізичного виховання і спорту України, завідувач кафедри медико-біологічних дисциплін;

– доктор медичних наук, професор **Куш Оксана Георгіївна**, Запорізький державний медичний університет, завідувач кафедри нормальної фізіології.

Захист відбудеться “04” грудня 2018 р. о 10⁰⁰ годині 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 “02” листопада 2018 р.

**Учений секретар
спеціалізованої вченої ради**

І. М. Кириченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. На сучасному етапі розвитку комбустіології досягнуті значні успіхи у лікуванні пацієнтів із опіками шкіри, що зумовлено застосуванням комплексу високотехнологічних методів інтенсивної терапії та розробкою алгоритмів хірургічного лікування (Шаповалов С. Г., 2014; Sánchez-Sánchez M., García-de-Lorenzo A., Asensio M. J., 2016). Однак в періоди гострої опікової токсемії і септикотоксемії зберігається висока летальність хворих, що безперечно пов'язано із поліорганною недостатністю та сепсисом (Визир В. А., Буряк В. В., 2015; King B. T., Peterson W. C., 2017; Tocco-Tussardi I., Presman B., Huss F., 2018).

У науковій літературі недостатньо висвітлено стан імунокомпетентних органів (включаючи селезінку) на тлі поліорганної недостатності внаслідок важких опіків (Гусейнова С. Т., Гусейнов Т. С., 2010; Гаврилюк-Скиба Г. О., Волков К. С., 2013; Nielson C. B. et al., 2017; Kao Y. et al., 2018).

У теперішній час спектр вивчення морфологічних процесів пошкодження після опікової травми шкіри та компенсаторно-приспосувальних змін у зазначених органах поряд з макрометричними перебудовами розширився до гістологічних, цитологічних та ультраструктурних змін (Гаврилюк-Скиба Г. О., Волков К. С., Небесна З. М., 2013; Гунас І. В. та ін., 2014, 2015; Макарова О. І., Чайковський Ю. Б., 2014; Черкасов В. Г. и др., 2015; Булько І. В., 2016, 2017; Галунко Г. М., 2017, 2018; Cherkasov V. G. et al., 2015, 2016; Kovalchuk O. I., 2015; Gavryluk A. O. et al., 2018). Оцінка морфо-функціонального стану імунокомпетентних органів є показником адекватності інфузійної терапії та профілактики ускладнень опікової травми шкіри. Інфузійна терапія полягає у компенсації та підтримці об'єму циркулюючої крові, зниженні утворення набряків, відновленні кількісного та якісного рівня білків, електролітів крові, покращенні перфузії тканин і органів (Козинец Г. П. и др., 2012; Литовченко А. Н. и др., 2012; Недашківський С. М. та ін., 2015; Daugherty T. H. F., Ross A., Neumeister M. W., 2017; Eljaiek R., Heylbroeck C., Dubois M. J., 2017). Окрім перерахованого надзвичайно важливим є ефективність, органопротекторні властивості, безпечність і доступність медикаментів, що достатньо важко реалізувати, використовуючи розчини лише закордонного виробництва і однокомпонентні препарати (Семененко А. І. та ін., 2011; Cancio L. C. et al., 2016).

Перспективним напрямком лікування наслідків опікової інтоксикації є застосування вітчизняних комбінованих органопротекторних колоїдно-кристалоїдних лікарських розчинів, які мають ряд переваг у порівнянні з монопрепаратами. У цьому плані нашу увагу привернули лактопротеїн із сорбітолом (ЛП) (Кондрацький Б. О., Новак В. Л., Кондрацький Я. Б., 2011) та НАЕС-LX-5 % – новий кровозамінник, розроблений в Інституті патології крові та трансфузійної медицини НАМН України (Кондрацький Б. О. та ін., 2004). Їх використання вимагає попереднього ретельного вивчення морфологічних змін на різних рівнях структурної організації селезінки, особливостей клітинного циклу і фрагментації ДНК при корекції наслідків термічної травми шкіри.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження проведено 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. Молекулярні, біохімічні, морфологічні і фізіологічні основи розвитку хвороб людини і розробки методів їх лікування).

Тема дисертації затверджена вченою радою медичних факультетів № 1 та № 2 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (ВНМУ ім. М.І. Пирогова) МОЗ України (протокол № 2 від 12 листопада 2015 року) та проблемною комісією МОЗ і НАМН України "Морфологія людини" (протокол № 20 від 22 листопада 2012 року). Дослідження зареєстровано як ініціативна наукова тематика, що виконується у ВНМУ ім. М.І. Пирогова "Морфологічні зміни селезінки у ранні терміни після опіку шкіри та за умов застосування інфузійних комбінованих гіперосмолярних розчинів (експериментальне дослідження)" (№ державної реєстрації: 0118U003456).

Мета дослідження. Визначення морфологічних проявів пошкодження та компенсаторних змін у селезінці щурів через 1, 3 та 7 діб після опікової травми шкіри та застосуванні інфузійних розчинів лактопротеїну з сорбітолом і НАЕС-LX-5 %.

Для реалізації поставленої мети були вирішені наступні основні **завдання**:

1. Визначити мікро- та ультраструктурні зміни в селезінці щурів без опікової травми шкіри при введенні розчинів 0,9 % NaCl, ЛП, НАЕС-LX-5 % у перші 7 діб експерименту.

2. Встановити структурні зміни в селезінці щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри 2-3 ступеня, площею 21-23 % поверхні тіла та застосуванні інфузійних розчинів.

3. Визначити на світлооптичному рівні стереологічні зміни в паренхімі селезінки щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри та застосуванні розчинів 0,9 % NaCl, ЛП, НАЕС-LX-5 %.

4. Встановити ультраструктурні зміни у селезінці щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри та застосуванні інфузійних розчинів.

5. Визначити показники клітинного циклу та фрагментації ДНК в клітинах селезінки щурів без опікової травми шкіри при введенні розчинів 0,9 % NaCl, ЛП, НАЕС-LX-5 % в перші 7 діб експерименту.

6. Встановити зміни показників клітинного циклу та фрагментації ДНК в клітинах селезінки щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри та застосуванні інфузійних розчинів.

Об'єкт дослідження – особливості пошкоджень та пристосувальних змін у селезінці щурів у ранні терміни після опіку шкіри та їх корекції.

Предмет дослідження – макро-, мікроскопічні і стереологічні зміни в селезінці щурів та особливості клітинного циклу і фрагментації ДНК у її клітинах через 1, 3 і 7 діб після опікового ураження шкіри та корекції його наслідків розчинами 0,9 % NaCl, ЛП і НАЕС-LX-5 %.

Методи дослідження: біохімічні і лабораторні – для оцінки рівня інтоксикації та ступеня важкості опікового пошкодження шкіри; макроскопічні – для візуальної оцінки стану селезінки; гістологічні – для вивчення мікроструктури селезінки; електронно-мікроскопічні – для вивчення ультраструктури селезінки; стереологічні – для кількісної оцінки особливостей змін об'ємної щільності структурних елементів селезінки; цитометричні – для оцінки клітинного циклу та фрагментації ДНК у

клітинах селезінки; статистичний аналіз – для визначення достовірності відмінностей показників між групами порівняння.

Наукова новизна отриманих результатів. Проведене дисертаційне дослідження вперше на підставі використання сучасних гістологічних, електронно-мікроскопічних, стереометричних, цитометричних і статистичних методів дозволило з'ясувати зміни структурної організації селезінки в ранні терміни після термічного опіку шкіри та встановити особливості їх змін за умов застосування інфузійних розчинів ЛП, НАЕС-LX-5 %.

Доповнено існуючі уявлення про гісто- (повнокрів'я та пристінкові мікротромби, дистрофічні та деструктивні процеси) та ультраструктурні (ознаки функціональної напруги імунокомпетентних клітин і напруженої функціональної активності субклітинних структур) зміни в селезінці щурів через 1, 3 та 7 діб після термічного опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23 % поверхні тіла після введення 0,9 % розчину NaCl.

Уперше при гістологічному дослідженні встановлено, що застосування інфузійних розчинів ЛП або НАЕС-LX-5 % в ранні терміни після термічного опіку шкіри призводить до зниження проявів альтерації лімфоцитів та атрофії білої пульпи; зменшення здатності тромбоцитів до агрегації; збільшення вмісту клітин у функціональних зонах селезінки в порівнянні з тваринами, яким після опіку вводили 0,9 % розчин NaCl за рахунок лімфоцитів, плазматичних клітин і макрофагоцитів в усі терміни спостереження. На ультраструктурному рівні – введення розчинів ЛП або НАЕС-LX-5 % значно зменшує дистрофічні та деструктивні зміни клітин строми та паренхіми селезінки.

Уперше при стереологічному дослідженні встановлені зміни відносних об'ємів білої та червоної пульпи селезінки через 1, 3 і 7 діб після опіку шкіри та на фоні введення інфузійних розчинів.

При цитологічному дослідженні клітин селезінки щурів без опікового ушкодження шкіри доведено, що при введенні інфузійних розчинів клітини перебувають в стані активної рівноваги відносно процесів синтезу ДНК (S-фаз) та апоптозу (інтервал SUB-G0G1), однак більша частина загального пулу клітин селезінки перебуває у фазі G0G1, що свідчить про наявність резервної популяції клітин, які можуть активуватись при пошкодженні організму.

Уперше встановлено, що опік шкіри на фоні введення 0,9 % розчину NaCl через 1 добу характеризується більшими середніми значеннями інтервалу SUB-G0G1 та фази G0G1 і, одночасно, меншими середніми значеннями показників фаз S, G2 + M та IP, що вказує на наявність патологічної індукції апоптозу та порушень синтетичних процесів. Через 3 доби після опіку встановлено збільшення показників фази G0G1, індексу проліферації та блоку проліферації і, одночасно, максимально високий рівень апоптозу, що вказує на активацію механізму компенсації патологічного впливу термічного ушкодження. Через 7 діб після опіку середні значення показників фази G0G1 та індексу проліферації наближаються до аналогічних показників групи тварин без опікового ушкодження шкіри, а максимальними за весь термін дослідження виявилися значення показника S-фази та інтервалу SUB-G0G1, що свідчить про недостатню компенсацію проліферативної активності клітин селезінки на фоні посиленого апоптозу.

Уперше, за допомогою проточної цитометрії, доведено, що застосування ЛП або НАЕС-LX-5 % на фоні опікового ушкодження шкіри сприяють більш ефективному процесу оновлення клітин селезінки шляхом стимуляції синтезу ДНК та зменшенню рівня апоптозу, особливо при застосуванні НАЕС-LX-5 %.

Практичне значення отриманих результатів. Результати комплексного морфологічного дослідження селезінки у ранній період після опікової травми шкіри, свідчать про розвиток негативних гісто- та ультраструктурних змін деструктивно-дистрофічного характеру структурних компонентів селезінки щурів, а також характеристик клітинного циклу і фрагментації ДНК у клітинах селезінки, що визначає необхідність застосування лікувальних заходів. Позитивні зміни в селезінці щурів після термічного опіку шкіри на фоні застосування інфузійних розчинів ЛП або НАЕС-LX-5 %, вказують на доцільність та перспективність їх використання у разі виникнення тяжких опіків шкіри.

Матеріали досліджень впроваджені у навчальний процес кафедр анатомії людини та гістології ВНМУ ім. М. І. Пирогова; кафедри нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедр анатомії людини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, Запорізького державного медичного університету, ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України".

Особистий внесок здобувача. Авторка взяла участь у постановці експерименту, заборі та виготовленні матеріалу для гістологічних і ультраструктурних досліджень. Дисертантом самостійно проведений аналіз наукової літератури за темою дослідження та написаний аналітичний огляд літератури, статистична обробка отриманих результатів, описані глави власних досліджень дисертаційної роботи. Разом з науковим керівником проведено аналіз результатів дослідження та сформульовані висновки. Електронно-мікроскопічні дослідження виконані за консультативною допомогою д. біол. н., проф. К. С. Волкова (кафедра гістології та ембріології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України"). Проточна цитометрія виконана за консультативною допомогою к.мед.н., с.н.с. І. Л. Черешнюка (науково-дослідний центр (НДЦ) ВНМУ ім. М. І. Пирогова). У сумісних з науковим керівником та колегами публікаціях автору належать основні ідеї і розробки стосовно структурних змін у селезінці щурів через 1, 3 та 7 діб після опіків шкіри та їх корекції інфузійними розчинами, а також при застосуванні даних розчинів в інтактних тварин. Результати змін рівня ендогенної інтоксикації у щурів після опіку шкіри та при корекції інфузійними розчинами, отримані з групою виконавців планової наукової роботи НДЦ ВНМУ ім. М. І. Пирогова "Структурні зміни в легенях в умовах ендогенної інтоксикації, що викликана опіком шкіри, та її корекції вітчизняними інфузійними препаратами лактопротеїном з сорбітолом та НАЕС-LX-5 % (експериментальне дослідження)" (№ державної реєстрації: 0112U004187), є сумісними із співавторами наукової статті і були використані в їх дисертаціях (Макарова О. І. "Морфологічні зміни в легенях щурів у віддалений період після опіку шкіри та за умов його корекції комплексними інфузійними препаратами" [Текст] : дис. ... к-та мед. наук : 14.03.09 / Макарова Ольга Ігорівна; ВНМУ ім.

М. І. Пирогова. – Вінниця, 2015. – 204 арк. : 9 табл.; Дзевульська І. В. "Морфологічні особливості кіркової речовини надниркових залоз щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри та за умов застосування інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів" [Текст] : дис. ... д-ра мед. наук : 14.03.01 / Дзевульська Ірина Вікторівна; Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. – Київ, 2016. – 389 арк. : 6 табл.; Ковальчук О. І. "Морфологічні особливості аденогіпофіза щурів при експериментальній опіковій травмі шкіри та за умов застосування інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів" [Текст] : дис. ... д-ра мед. наук : 14.03.01 / Ковальчук Олександр Іванович; Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. – Київ, 2016. – 353 арк. : 12 табл.; Черкасов Е. В. "Структурні зміни в тимусі за умов експериментальної опікової хвороби" [Текст] : дис. ... д-ра мед. наук : 14.03.09 / Черкасов Ельдар Іванович; Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. – Київ, 2016. – 412 арк. : 18 табл.; Очеретнюк А. О. "Експериментальне обґрунтування корекції колоїдно-гіперосмолярним розчином НАЕС-LX-5 % функціонального стану легень в умовах опікового шоку" [Текст] : дис. ... к-та фармац. наук : 14.03.05 / Очеретнюк Анна Олександрівна; ВНМУ ім. М. І. Пирогова. – Харків, 2016. – 185 арк. : 25 табл.; Семененко О. М. "Вплив НАЕС-LX-5% на процеси енергетичного метаболізму і вільнорадикального окислення в нирках в ранній період опікової хвороби" [Текст] : дис. ... к-та мед. наук : 14.03.05 / Семененко Оксана Миколаївна; ВНМУ ім. М. І. Пирогова. – Київ, 2016. – 184 арк. : 20 табл.; Булько І. В. "Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті" [Текст] : дис. ... к-та мед. наук : 14.03.01 / Булько Ірина Віталіївна; ВНМУ ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2018. – 186 арк. : 11 табл.; Галунко Г. М. "Морфологічні зміни в тонкій кишці у пізні стадії опікової хвороби та їх корекція інфузійними розчинами (експериментальне дослідження)" [Текст] : дис. ... к-та мед. наук : 14.03.09 / Галунко Ганна Михайлівна; ВНМУ ім. М. І. Пирогова. – Івано-Франківськ, 2018. – 216 арк. : 4 табл.).

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення роботи викладені та обговорені на: науково-практичній конференції "Современные методы исследования в морфологии" (Луганськ, 2011); VII Міжнародному конгресі з інтегративної антропології (Вінниця, 2013), науково-практичній конференції "Прикладні аспекти морфології" присвяченої пам'яті професорів-морфологів Г. В. Терентьева, О. Ю. Роменського, Б. Й. Когана, П. П. Шапаренка, С. П. Жученка (Вінниця, 2017); міжнародних науково-практичних конференціях "Перспективні напрями розвитку сучасних медичних та фармацевтичних наук" (Дніпро, 2018) та "Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства" (Одеса, 2018).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць (з них 6 самостійних), серед яких 9 статей опубліковано в фахових наукових журналах (з яких 3 включені до міжнародних наукометричних баз, 1 з них відноситься до бази Web of Science).

Обсяг та структура дисертації. Дисертація представлена українською мовою на 209 сторінках (з яких 122 сторінок основного тексту) і складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, символів, одиниць, скорочень та термінів,

вступу, огляду літератури, загальної методики й основних методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел, з яких 188 викладені кирилицею та 75 – латиницею, а також двох додатків. Дисертація ілюстрована 89 рисунками і 8 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. У рамках наукового співробітництва між Вінницьким національним медичним університетом ім. М. І. Пирогова і ДУ "Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України" (м. Львів) та Вінницьким національним медичним університетом ім. М. І. Пирогова і Національним медичним університетом імені О. О. Богомольця проведено експериментальне дослідження дії контрольного інфузійного препарату – 0,9 % розчину NaCl, референс-препарату – розчину ЛПІ та досліджуваного препарату – розчину HAES-LX-5 % на структуру селезінки інтактних білих щурів-самців, а також на ранніх термінах (1, 3 та 7 доба) після опікової травми шкіри. Усі досліди проводили з урахуванням рекомендацій Європейської комісії щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин і рекомендаціями Державного фармакологічного центру МОЗ України та "Правил до клінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)", а також правил гуманного ставлення до експериментальних тварин (затверджено Комітетом з біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова – протокол № 17 від 18.10.2012 та протокол № 5 від 03.07.2018).

180 щурів було розподілено в експерименті на 6 груп: 1-а, 2-а і 3-я групи – щури без термічної травми, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl, ЛПІ та HAES-LX-5 % у дозі 10 мл на кг. В 4-ій, 5-ій і 6-ій групах щурам проводили інфузію даних розчинів в аналогічній дозі після термічного опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23 % поверхні тіла (Gunas I., Dovgan I., Masur O., 1997), який за індексом тяжкості ушкодження відповідає опіковому шоку середнього ступеня важкості.

Ступінь інтоксикації при опіковій хворобі визначали за рівнем молекул середньої маси (Раєцька Я. Б., 2016; Chmielewski M. et al., 2014) та лейкоцитарним індексом інтоксикації, який розраховується за формулою Я. Кальф-Каліфа (Андрейчин М. А. та ін., 1998; Шинтаєв Т. К., Затеев Д. В., Полутова Н. В., 2014).

Гістологічне та ультраструктурне дослідження селезінки проводили за стандартними методиками (Волков К. С., 1999; Коржевский Д. Э., Гиляров А. В., 2010; Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І., 2011; Totowa N. J., 2014).

Стереологічні дослідження тканин селезінки проводили на демонстраційному екрані мікроскопа Laborlux S (Leitz) при збільшенні 40/1,25x10 за допомогою сітки Вейбеля (Афанасьєв Ю. И., Юрина Н. А., 2016). За наступною формулою була визначена об'ємна щільність (відносний об'єм, $\text{см}^3/\text{см}^3$) червоної і білої пульпи селезінки: $V_{vi} = P_i / P_T$, де V_{vi} – об'ємна щільність відповідних ділянок селезінки; P_i – число тестових точок, що припадають на відповідні структури; P_T – сукупне число тестових точок. На кожному з гістологічних препаратів (6 у кожній групі тварин) в різних зонах селезінки методом випадкового відбору відбирали по 5 полів зору в яких визначали стереологічні параметри.

Вміст ДНК в ядрах клітин селезінки щурів визначався методом проточної цитометрії на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі "Partec PAS" фірми Partec, Німеччина, в НДЦ ВНМУ ім. М. І. Пирогова. Циклічний аналіз клітин виконувався засобами програмного забезпечення FloMax (Partec, Німеччина) у повній цифровій відповідності згідно математичної моделі, де визначали: G0G1 – відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2с); S – відсоткове співвідношення 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); IP – індекс проліферації, який визначається за сумою показників S + G2 + M; BP – блок проліферації, який оцінюється по співвідношенню S/(G2 + M) (збільшення числа клітин в фазі G2 + M при низьких значеннях S-фази свідчить про затримку проліферації в стадії G2 + M). 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.

Статистична обробка отриманих результатів проводилась у пакеті "Statistica 6.1" із застосуванням непараметричних методів оцінки отриманих результатів.

Результати дослідження та їх аналіз. Встановлено, що на мікро- та ультраструктурному рівнях інфузія щурам без опіку шкіри 0,9 % розчину NaCl та HAES-LX-5 % не призводить до будь-яких структурних змін селезінки та співпадає з такою у інтактних щурів описаною іншими дослідниками (Ковешников В. Г., Стаценко Е. А., Нужная Е. К., 2010; Корысева А. М., Симонова Е. Ю., Макарова О. В., 2011; Симонова Е. Ю., 2012). При введенні ЛП лише через 7 діб від початку експерименту в селезінці на світлооптичному рівні встановлені повнокрів'я судин кровоносного русла в трабекулах селезінки, а також у білій та червоній пульпі, в полях зору в герминативних центрах спостерігається більша чисельність лімфобластів, а в усіх зонах білої пульпи виявлені макрофаги в цитоплазмі яких розташовані чисельні великі гетерофагосоми, що є проявом підвищеної функціональної активності імунокомпетентних клітин на даний термін спостереження (A J. et al., 2010); на ультраструктурному рівні – відмічаються ознаки функціональної напруги імунокомпетентних клітин, а також ознаки напруженої функціональної активності субклітинних структур. При стереологічному дослідженні встановлено, що при введенні ЛП щурам без опіку шкіри спостерігаються на 10-13 % більші значення відносного об'єму білої пульпи та на 7-11 % менші значення відносного об'єму червоної пульпи, ніж при введенні 0,9 % розчину NaCl або HAES-LX-5 %.

При гістологічному дослідженні через 1 добу після опікової травми шкіри у щурів, яким вводили 0,9 % розчин NaCl у селезінці відбуваються дистрофічні процеси в лімфоцитах та макрофагах, повнокрів'я та пристінкові мікротромби в трабекулярних венах селезінки повнокровні просвіти синусоїдних судин селезінки, набряк та макрофагальна інфільтрація периваскулярної сполучної тканини. Це вказує на функціональну напругу імунокомпетентних клітин, що співпадає з даними, які свідчать про послідовність структурно-функціональних перебудов селезінки після опікової травми шкіри (Sheppard N. N. et al., 2011; Szczepanek S. M. et al., 2012). Через 3 доби після опікової травми шкіри у щурів, яким вводили 0,9 % розчин NaCl

у селезінці відбуваються деструктивні зміни в періартеріальних зонах, гермінативних центрах і маргінальних зонах білої пульпи, що морфологічно проявляється значним зменшенням чисельності імунокомпетентних клітин в цих зонах. У кровоносних судинах селезінки відмічається повнокрів'я та утворення тромбів. Через 7 діб після опікової травми шкіри у щурів, яким вводили 0,9 % розчин NaCl у селезінці переважають деструктивні процеси. На ультраструктурному рівні інфузія 0,9 % розчину NaCl після опіку шкіри не протидіяла розвитку дистрофічних та деструктивних змін клітин строми та паренхіми селезінки, які прогресивно наростали від першої до сьомої доби спостереження. При стереологічному дослідженні встановлено, що через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри при введенні 0,9 % розчин NaCl, порівняно з щурами без опіку, відносний об'єм білої пульпи на 12,6 – 23,9 – 31,6 % менший, а червоної пульпи на 7,8 – 15,7 – 17,7 % більший. Наші спостереження підтверджують розвиток важкої імуноної депресії при термічній травмі (Wurzer P. et al., 2018). Процеси альтерації переважають у лімфоїдних фолікулах над іншими реакціями, тобто лімфоцитоліз в селезінці в значній мірі підтримується агресивними факторами та дією середньомолекулярних токсичних пептидів плазми крові. Це підтверджується даними про зниження ряду імунологічних тестів під впливом токсичних пептидів, а також даними про ураження органів імуногенезу при експериментальних опіках (Zhou J., Tu J.J., Huangetal Y., 2012).

Через 1, 3 та 7 діб після опікової травми шкіри у щурів, яким вводили розчини ЛП або HAES-LX-5 % на світлооптичному та ультраструктурному рівнях дослідження дистрофічні та деструктивні процеси в селезінці значно менше виражені, ніж у щурів яким після опіку шкіри проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl. При стереологічному дослідженні через 3 доби після опіку шкіри при застосуванні ЛП або HAES-LX-5 % встановлені відповідно більші на 18,0 та 14,4 % значення відносного об'єму білої пульпи та менші на 9,1 – 7,1 % значення відносного об'єму червоної пульпи порівняно з групою де вводили 0,9 % розчин NaCl; через 7 діб – при застосуванні ЛП менші на 7,9 % значення відносного об'єму червоної пульпи, а при застосуванні HAES-LX-5 % більші на 19,4 % значення відносного об'єму білої пульпи та менші на 5,8 % значення відносного об'єму червоної пульпи порівняно з групою, де вводили 0,9 % розчин NaCl.

Дослідження особливостей відповіді клітин селезінки на фоні опікового ушкодження проводяться давно, але отримані дані досить суперечливі (Sánchez-Sánchez M., García-de-Lorenzo A., Asensio M. J., 2016) і не дозволяють сформувати однозначні погляди на ураження даного органу на клітинному рівні, що гальмує розробку ефективних методів корекції імуносупресії при опікових ураженнях організму.

У результаті дослідження показників клітинного циклу та фрагментації ДНК встановлено, що у щурів без опікового ушкодження шкіри при введенні 0,9 % розчину NaCl, ЛП або HAES-LX-5 % клітини селезінки перебувають у стані активної рівноваги відносно процесів синтезу ДНК (S-фаз) та апоптозу (інтервал SUB-G0G1), однак більша частина клітин селезінки перебуває у фазі G0G1, що свідчить про наявність резервної популяції клітин, які можуть активуватись при пошкодженні організму. Отримані дані узгоджуються із такими, що отримані іншими

дослідниками відносно показників клітинного циклу та мітотичної активності в селезінці (Zhou J., Tu J. J., Huangetal Y., 2012; Sun Y. et al., 2013).

Термічний опік шкіри на фоні введення 0,9 % розчину NaCl через 1 добу характеризується більшими середніми значеннями інтервалу SUB-G0G1 та фази G0G1 і, одночасно, меншими середніми значеннями показників фаз S, G2 + M та індексу проліферації, що вказує на наявність патологічної індукції апоптозу та порушень синтетичних процесів у клітинному пулі селезінки не зважаючи на застосування даного препарату (табл. 1).

Таблиця 1

Показники клітинного циклу та фрагментації ДНК клітин селезінки після опікового пошкодження шкіри на фоні введення 0,9 % розчину NaCl (M±σ).

Доба	Групи тварин (n=5)	Показники клітинного циклу					
		G0G1	S	G2+M	IP	BP	SUB-G0G1
1	0,9 % розчин NaCl	74,38± 5,01	5,826± 1,095	19,79± 4,27	25,62± 5,01	0,302± 0,066	4,876± 1,201
	опік + 0,9 % розчин NaCl	91,08± 3,01	2,284± 0,753	6,638± 2,308	8,922± 3,007	0,356± 0,077	12,03± 3,27
	p	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	>0,05	<0,01
3	0,9 % розчин NaCl	74,74± 5,34	5,690± 1,193	19,57± 4,35	25,26± 5,34	0,290± 0,035	5,166± 1,374
	опік + 0,9 % розчин NaCl	85,49± 3,21	5,866± 1,606	8,646± 2,305	14,51± 3,20	0,718± 0,294	19,38± 2,24
	p	<0,05	>0,05	<0,01	<0,05	<0,01	<0,01
7	0,9 % розчин NaCl	72,45± 3,52	5,484± 1,215	22,06± 2,98	27,55± 3,53	0,252± 0,054	4,850± 1,860
	опік + 0,9 % розчин NaCl	69,74± 2,96	13,17± 2,17	17,09± 1,45	30,26± 2,96	0,774± 0,122	13,18± 3,34
	p	>0,05	<0,01	<0,05	>0,05	<0,01	<0,01
P(NaCl)1-3		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
P(NaCl)1-7		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
P(NaCl)3-7		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
P(опік+NaCl)1-3		<0,01	<0,01	>0,05	<0,01	<0,05	<0,05
P(опік+NaCl)1-7		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	>0,05
P(опік+NaCl)3-7		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	>0,05	<0,01

Примітки (тут і в подальшому): p – достовірність відмінностей показників між відповідними групами тварин із опіком та без опіку шкіри; p(...)₁₋₃ p(...)₁₋₇ p(...)₃₋₇ – достовірність відмінностей показників між відповідними групами тварин через 1 та 3, 1 та 7 або 3 та 7 діб від початку експерименту.

Отримані нами дані, в певній мірі, узгоджуються з іншими дослідженнями (Fazal N., Shelip A., Alzahrani A.J., 2013; Zhao G. et al., 2015), в яких встановлено різке зниження кількості клітин селезінки у перші години після термічного

ушкодження шкіри. Через 3 доби після опікового ураження шкіри на фоні застосування 0,9 % розчину NaCl встановлені більші середні значення показників фази G0G1, індексу проліферації та блоку проліферації і, одночасно, максимально високий рівень апоптозу порівняно із аналогічними показниками групи тварин через 1 добу після опіку із корекцією 0,9 % розчину NaCl, що може бути розцінене, як активація механізму компенсації патологічного впливу термічного ушкодження в даний термін (див. табл. 1). В науковій літературі зустрічаються лише поодинокі публікації, в яких вказується про початок відновлення лімфоїдної проліферації, зокрема в селезінці, через 48 годин після термічного ушкодження шкіри (Maekawa T. et al., 2002). Через 7 діб після моделювання опіку шкіри та застосування 0,9 % розчину NaCl середні значення показників фази G0G1 та індексу проліферації наближаються до аналогічних показників групи тварин без опікового ушкодження шкіри на фоні введення 0,9 % розчину NaCl, а максимальними за весь термін дослідження виявились значення показника S-фази (майже в 2,5 рази) і інтервалу SUB-G0G1 (в 2,7 рази), що свідчить про недостатню компенсацію проліферативної активності клітин селезінки на фоні посиленого апоптозу (див. табл. 1). Встановлені нами дані підтверджують думку цілої групи дослідників (Fazal N., Shelip A., Alzahrani A. J., 2013; Zhao G. et al., 2015) про формування супресії клітин селезінки саме у проміжку від 7 до 10 доби після опіку, на противагу даним про зниження синтезу клітин селезінки з 10 доби (A J. et al., 2010).

При застосуванні ЛП через 1 добу після опіку шкіри спостерігається лише більше середнє значення показнику S-фази (на 39,4 %) порівняно із середнім значенням аналогічного показника визначеного в групі тварин після опіку через 1 добу із корекцією 0,9% розчином NaCl, однак залишається значно меншим (на 35,4 %) відносно середнього значення даного показника встановленого в групі тварин без опікового ушкодження (табл. 2). У порівнянні із показниками групи 0,9 % розчину NaCl без опіку шкіри через 3 доби після опіку на фоні корекції препаратом ЛП більшими встановлені середні значення блоку проліферації (див. табл. 2).

Через 1 добу після опіку шкіри на фоні застосування HAES-LX-5 % меншими виявлені показники фаз G0G1 (на 4,8 %) та інтервалу SUB-G0G1 (на 34,9 %) і більшими показники S-фази (на 41,1 %) та індекс проліферації (на 32,7 %). Однак, індекс проліферації у даній групі був достовірно вищим порівняно із аналогічним показником в групі опік + 0,9 % розчин NaCl, а середнє значення показника інтервалу SUB-G0G1 – меншим порівняно із аналогічним показником встановленим у групі опік + лактопротеїн з сорбітолом (див. табл. 2), що свідчить про більш виразний корегуючий вплив даного препарату на процеси синтезу та апоптозу в клітинах селезінки. Через 3 доби після опіку шкіри на фоні корекції розчином HAES-LX-5 % більшими стали середні значення показників фази S, блоку проліферації та інтервалу SUB-G0G1 (див. табл. 2), що вказує на оновлення клітинної популяції шляхом стимуляції синтезу ДНК на тлі посиленого апоптозу.

Через 7 діб після опіку шкіри відмінностей між середніми значеннями показників клітинного циклу клітин селезінки у щурів на фоні застосування препаратів ЛП або HAES-LX-5 % не виявлено, однак, в обох вказаних групах встановлені більші середні значення показників S-фази та менші середні значення інтервалу SUB-G0G1 порівняно із аналогічними показниками в групі тварин опік

+ 0,9 % розчин NaCl (див. табл. 2), що свідчить про позитивний вплив даних препаратів на відновлення рівноваги між процесами проліферації та апоптозу клітин селезінки.

Таблиця 2

Показники клітинного циклу клітин селезінки у щурів після опіку шкіри та застосування 0,9 % розчину NaCl, розчинів ЛП або HAES-LX-5 % за даними проточної ДНК-цитометрії (M±σ).

Групи тварин	Показники клітинного циклу					
	G0G1	S	G2 + M	IP	BP	SUB-G0G1
Через 1 добу						
Опік + 0,9 % розчин NaCl	91,08± 3,01	2,284± 0,753	6,638± 2,308	8,922± 3,007	0,356± 0,077	12,03± 3,27
Опік + ЛП	85,34± 5,87	3,766± 0,977	10,77± 5,13	14,54± 6,00	0,372± 0,071	11,24± 2,10
Опік + HAES-LX-5 %	86,74± 3,05	3,878± 0,836	9,384± 2,322	13,26± 3,05	0,418± 0,050	7,830± 1,258
P(опік NaCl – опік ЛП)	>0,05	<0,05	>0,05	=0,076	>0,05	>0,05
P(опік NaCl – опік HAES-LX-5%)	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,01
P(опік ЛП – опік HAES-LX-5%)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
Через 3 доби						
Опік + 0,9 % розчин NaCl	85,49± 3,21	5,866± 1,606	8,646± 2,305	14,51± 3,20	0,718± 0,294	19,38± 2,24
Опік + ЛП	79,55± 8,48	6,210± 2,235	14,24± 6,29	20,45± 8,48	0,462± 0,101	13,74± 4,56
Опік + HAES-LX-5 %	71,41± 4,97	9,480± 2,618	19,83± 1,07	29,31± 3,57	0,476± 0,111	9,396± 1,651
P(опік NaCl – опік ЛП)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	=0,076
P(опік NaCl – опік HAES-LX-5%)	<0,01	<0,05	<0,01	<0,01	=0,076	<0,01
P(опік ЛП – опік HAES-LX-5%)	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	=0,076
Через 7 діб						
Опік + 0,9 % розчин NaCl	69,74± 2,96	13,17± 2,17	17,09± 1,45	30,26± 2,96	0,774± 0,122	13,18± 3,34
Опік + ЛП	66,84± 3,17	12,69± 2,63	20,47± 1,53	33,16± 3,17	0,622± 0,137	7,270± 0,815
Опік + HAES-LX-5 %	70,89± 3,66	9,498± 1,268	19,60± 2,83	29,10± 3,66	0,490± 0,070	6,952± 0,804
P(опік NaCl – опік ЛП)	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,01
P(опік NaCl – опік HAES-LX-5%)	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,01
P(опік ЛП – опік HAES-LX-5%)	=0,076	>0,05	>0,05	=0,076	>0,05	>0,05

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання щодо визначення структурних змін селезінки через 1, 3 та 7 діб після опікової травми шкіри та за умов корекції дистрофічних і деструктивних змін у селезінці інфузійними розчинами лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5 %.

1. Інфузія щурам без опіку шкіри 0,9 % розчину NaCl або НАЕС-LX-5 % не призводить до будь-яких гісто- та ультраструктурних змін селезінки. При введенні лактопротеїну з сорбітолом через 7 діб після опіку на світлооптичному рівні в гермінативних центрах спостерігається повнокров'я судин кровоносного русла в трабекулах, а також у білій та червоній пульпі; збільшення кількості лімфобластів у гермінативних центрах, плазмоцитів у червоній пульпі та макрофагів у цитоплазмі яких розташовані численні великі гетерофагосоми в усіх зонах білої пульпи; на ультраструктурному рівні – ознаки функціональної напруги імунокомпетентних клітин, а також напруженої функціональної активності субклітинних структур.

2. Через 1 добу після опікової травми шкіри у щурів яким вводили 0,9 % розчин NaCl в селезінці відбуваються дистрофічні зміни в лімфоцитах і макрофагах, повнокров'я та пристінкові мікротромби в трабекулярних венах, повнокровні просвіти синусоїдних судин селезінки, набряк і макрофагальна інфільтрація периваскулярної сполучної тканини. Через 3 доби – спостерігаються деструктивні зміни в періартеріальних зонах, гермінативних центрах і маргінальних зонах білої пульпи, що морфологічно проявляється значним зменшенням кількості імунокомпетентних клітин у цих зонах; у кровоносних судинах відмічається повнокров'я та утворення тромбів. Через 7 діб – в селезінці переважають деструктивні зміни.

Позитивний терапевтичний ефект розчинів лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5 % після опікової травми шкіри обумовлений зменшенням лімфоцитолізу та атрофічних змін з обмеженням токсичної та аутоімунної агресії, а також із стимуляцією компенсаторних процесів у білій пульпі селезінки. Спостерігається зниження проявів альтерації лімфоцитів та атрофії білої пульпи; зменшується здатність тромбоцитів до агрегації; вміст клітин у функціональних зонах селезінки суттєво вищий в порівнянні з тваринами, яким після опіку вводили 0,9 % розчин NaCl за рахунок лімфоцитів, плазматичних клітин і макрофагоцитів у всі терміни спостереження.

3. Через 1 добу після опіку шкіри при введенні 0,9 % розчин NaCl, порівняно з щурами без опіку, відносний об'єм білої пульпи на 12,6 % менший, а червоної пульпи на 7,8 % більший; через 3 доби – відносний об'єм білої пульпи на 23,9 % менший, а червоної пульпи на 15,7 % більший; через 7 діб – відносний об'єм білої пульпи на 31,6 % менший, а червоної пульпи на 17,7 % більший.

Після опіку шкіри при застосуванні розчинів лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5 %, порівняно з 0,9 % розчином NaCl, встановлені наступні відмінності: при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом – більші на 18,0 % значення відносного об'єму білої пульпи та менші на 9,1 % значення відносного об'єму червоної пульпи через 3 доби, а також менші на 7,9 % значення відносного об'єму червоної пульпи через 7 діб; при застосуванні НАЕС-LX-5 % – більші на 14,4 % значення відносного

об'єму білої пульпи та менші на 7,1 % значення відносного об'єму червоної пульпи через 3 доби, а також більші на 19,4 % значення відносного об'єму білої пульпи та менші на 5,8 % значення відносного об'єму червоної пульпи через 7 діб.

4. На ультраструктурному рівні інфузія 0,9 % розчину NaCl після опіку шкіри не протидіяла розвитку дистрофічних та деструктивних змін клітин строми та паренхіми селезінки, які прогресивно наростали від першої до сьомої доби спостереження. Застосування розчинів лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX-5 % значно зменшує дистрофічні та деструктивні зміни клітин строми та паренхіми селезінки. При цьому через добу після опіку шкіри спостерігаються ознаки функціональної напруги імунокомпетентних клітин і напружена функціональна активність субклітинних структур у макрофагах і плазмоцитах; через три доби – тісний кооперативний зв'язок макрофагів, лімфоцитів і плазмоцитів; через сім діб – в лімфоїдних вузликах селезінки зберігаються ознаки антигенної стимуляції у вигляді персистенції синусового гістіоцитозу, накопичення макрофагів і плазмоцитів у червоній пульпі селезінки.

5. Клітини селезінки щурів без опікового ушкодження шкіри при введенні інфузійних розчинів перебувають у стані активної рівноваги відносно процесів синтезу ДНК (S-фаз) та апоптозу (інтервал SUB-G0G1), однак більша частина клітин селезінки перебуває у фазі G0G1, що свідчить про наявність резервної популяції клітин.

6. Опік шкіри на фоні введення 0,9 % розчину NaCl через 1 добу характеризується більшими середніми значеннями інтервалу SUB-G0G1 та фази G0G1 і, одночасно, меншими середніми значеннями показників фаз S, G2 + M та IP, що вказує на наявність патологічної індукції апоптозу та порушень синтетичних процесів. Через 3 доби після опіку встановлено збільшення на 14,4% показників фази G0G1 ($p < 0,05$), індексу проліферації та блоку проліферації і, одночасно, максимально високий рівень апоптозу, що може бути розцінено, як активація механізму компенсації патологічного впливу термічного ушкодження. Через 7 діб після опіку середні значення показників фази G0G1 та індексу проліферації наближаються до аналогічних показників групи тварин без опікового ушкодження шкіри, а максимальними за весь термін дослідження виявились значення показника S-фази (майже в 2,5 рази, $p < 0,01$) і інтервалу SUB-G0G1 (в 2,7 рази, $p < 0,01$), що свідчить про недостатню компенсацію проліферативної активності клітин селезінки на фоні посиленого апоптозу.

Застосування лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX-5 % на фоні опікового ушкодження шкіри сприяють більш ефективному процесу оновлення клітин селезінки шляхом стимуляції синтезу ДНК та зменшенню рівня апоптозу, особливо при застосуванні HAES-LX-5 %.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гумінський Ю. Й. Ультраструктура селезінки щурів при інфузії колоїдно-гіперосмолярними розчинами / Ю. Й. Гумінський, Н. П. Бебешко // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. – 2012. – № 19. – С. 114-118. *(Здобувач провела аналіз літературних джерел, описала та проаналізувала отримані результати)*

2. Бебешко Н. П. Динаміка морфологічних змін в селезінці щурів у через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри при введенні фізіологічного розчину NaCl або «лактопротеїну з сорбітолом» / Н. П. Бебешко // Український медичний альманах. – 2013. – Т. 16, № 3. – С. 12-18.

3. Очеретна Н. П. Динаміка ультраструктурних змін в селезінці щурів у ранні терміни (1, 3, 7 доба) після опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23 % поверхні тіла та її корекція інфузійним розчином HAES-LX-5 % / Н. П. Очеретна // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2013. – Т. 17, № 2. – С. 460-464.

4. Гумінський Ю. Й. Динаміка морфологічних змін в селезінці щурів у ранні терміни після опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23 % поверхні шкіри та їх корекція інфузійним розчином HAES-LX-5 % / Ю. Й. Гумінський, Н. П. Очеретна // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2013. – № 21. – С. 93-97. *(Здобувач провела аналіз літературних джерел, описала та проаналізувала отримані результати)*

5. Очеретна Н. П. Ультраструктурні зміни в селезінці щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри та її корекція інфузійним розчином "Лактопротеїну з сорбітолом" / Н. П. Очеретна // Вісник морфології. – 2013. – Т. 19, № 2. – С. 425-430.

6. Micromorphometric changes in rats spleen in the first 7 days after skin burns and under application of infusion solutions / Yu. I. Guminskiy, I. V. Gunas, N. P. Ocheretna, O. I. Bashinska // Вісник морфології. – 2017. – Т. 23, № 2. – 240-244. *(Здобувач провела статистичну обробку, описала та проаналізувала отримані результати)*

7. Indicators cell cycle and dna fragmentation of spleen cells in early terms after thermal burns of skin at the background of introduction 0.9 % NaCl solution / I. V. Gunas, Yu. I. Guminskiy, N. P. Ocheretna, D. A. Lysenko, O. I. Kovalchuk, I. V. Dzevulska, E. V. Cherkasov // World of Medicine and Biology. – 2018. – 1(63). – P. 116-120. *(Видання включено до бази Web of Science; здобувач провела статистичну обробку, описала отримані результати, брала участь в аналізі результатів)*

8. Очеретна Н. П. Показники клітинного циклу і фрагментації ДНК клітин селезінки в ранні терміни після термічного опіку шкіри на фоні введення "лактопротеїну з сорбітолом" або HAES-LX-5 % / Н. П. Очеретна, Ю. Й. Гумінський, І. В. Гунас // Вісник наукових досліджень. – 2018. – № 1 (90). – 141-146. *(Видання включено до міжнародних наукометричних баз; здобувач провела аналіз літературних джерел, статистичну обробку, описала отримані результати, брала участь в аналізі результатів)*

9. Динаміка змін рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів протягом місяця після опіку шкіри II-III ступеня, площею 21-23 % поверхні тіла та її корекція інфузійними розчинами, лактопротеїном з сорбітолом та HAES-LX-5 % / І. В. Гунас, Б. О. Кондрацький, І. К. Нурметова, І. В. Дзевульська, О. І. Ковальчук, Є. В. Черкасов, Н. П. Бебешко, І. В. Булько, Т. К. Вітрук, Г. М. Галунко, Є. В. Міронов, О. І. Макарова, 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. *(Видання включено до міжнародних наукометричних баз; здобувач приймала участь в проведенні експериментальних досліджень, описі та узагальненні отриманих)*

результатів)

10. Бебешко Н. П. Морфологічні зміни в селезінці щурів у ранні терміни після опіку шкіри при введенні фізіологічного розчину / Н. П. Бебешко // VII Міжнародний конгрес з інтегративної антропології : матеріали конгресу (м. Вінниця, 17-18 жовтня 2013 року). – Вінниця : Друкарня ВНМУ ім. М. І. Пирогова. – С. 14-15.

11. Очеретна Н. П. Клітинний цикл і фрагментація ДНК в клітинах селезінки щурів протягом 7 діб після введення інфузійних розчинів / Н. П. Очеретна // Міжнародна науково-практична конференція "Перспективні напрями розвитку сучасних медичних та фармацевтичних наук" : матеріали конференції (м. Дніпро, 9-10 лютого 2018 року). – Дніпро : Організації наукових медичних досліджень "Salutem". – С. 87-89.

12. Очеретна Н. П. Особливості коригуючої дії "лактопротеїну з сорбітолом" та НАЕС-LX-5 % на ультраструктурні зміни в селезінці щурів у ранні терміни після опіку шкіри / Н. П. Очеретна // Міжнародна науково-практична конференція "Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства" : матеріали конференції (м. Одеса, 16-17 лютого 2018 року). – Одеса : Громадська організація "Південна фундація медицини". – С. 95-99.

АНОТАЦІЯ

Очеретна Н. П. Морфологічні зміни селезінки у ранні терміни після опіку шкіри та за умов застосування інфузійних комбінованих гіперосмолярних розчинів (експериментальне дослідження). – 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.

Вперше на підставі використання сучасних гістологічних, електронно-мікроскопічних, стереометричних, цитометричних і статистичних методів з'ясовані зміни структурної організації селезінки через 1, 3 і 7 діб після термічного опіку шкіри та встановлені особливості їх змін за умов застосування інфузійних розчинів лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5 %. Результати комплексного морфологічного дослідження селезінки у ранній період після опікової травми шкіри, свідчать про розвиток негативних гісто- та ультраструктурних змін деструктивно-дистрофічного характеру структурних компонентів селезінки щурів, а також характеристик клітинного циклу і фрагментації ДНК в клітинах селезінки, що визначає необхідність застосування лікувальних заходів. Позитивні зміни в селезінці щурів після термічного опіку шкіри на фоні застосування інфузійних розчинів лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5 %, вказують на перспективність їх використання у разі виникнення тяжких опіків шкіри.

Ключові слова: селезінка, морфологія, щурі, термічний опік шкіри, інфузійні розчини.

АННОТАЦИЯ

Очеретная Н. П. Морфологические изменения селезёнки в ранние сроки после ожога кожи и при использовании инфузионных комбинированных гиперосмолярных растворов (экспериментальное исследование). – 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.

Впервые на основе использования современных гистологических, электронно-микроскопических, стереометрических, цитометрических и статистических методов выявлены изменения структурной организации селезенки через 1, 3 и 7 суток после термического ожога кожи и установлены особенности их изменений в условиях применения инфузионных растворов лактопротеина с сорбитолом или HAES-LX-5 %. Результаты комплексного морфологического исследования селезенки в ранний период после ожоговой травмы кожи, свидетельствуют о развитии негативных гисто- и ультраструктурных изменений деструктивно-дистрофического характера структурных компонентов селезенки крыс, а также характеристик клеточного цикла и фрагментации ДНК в клеточном пуле селезенки, что определяет необходимость применения лечебных мероприятий. Положительные изменения в селезенке крыс после термического ожога кожи на фоне применения инфузионных растворов лактопротеина с сорбитолом или HAES-LX-5 % определяют перспективность их использования в случае возникновения тяжелых ожогов кожи.

Ключевые слова: селезёнка, морфология, крысы, термический ожог кожи, инфузионные растворы.

ANNOTATION

Ocheretna N. P. Morphological changes of the spleen in the early stages after burning of the skin and under the conditions of infusion by combined hyperosmolar solutions (experimental study). – The manuscript.

Dissertation for the candidate degree of medicine by specialty 14.03.01 "Normal anatomy". – National Pirogov Memorial Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2018.

180 rats were divided into 6 groups in the experiment: 1, 2 and 3 groups - rats without thermal trauma who were infused with 0.9 % NaCl solution lactoprotein with sorbitol and HAES-LX-5 % in dose 10 ml per kg. In the 4th, 5th and 6th groups, infusions of these solutions in an analogue dose after thermal burning of skin 2-3 degrees with the area of 21-23 % of the body surface (according to the severity index of injury corresponds to a burn shock of moderate severity) was performed on the rats. Macroscopic, histological, ultrastructural, stereological, cytological (using flow cytometry) and statistical research were performed.

For the first time, it has been found that infusion of 0.9 % NaCl solution and HAES-LX-5 % on rats without skin burn on the micro and ultrastructural levels does not lead to any structural changes in the spleen. In the introduction of lactoprotein with sorbitol, only 7

days after the beginning of the experiment in the spleen at the light-optical level, plethora of the blood vessels in the trabeculae of the spleen, as well as in the white and red pulp are established, in the fields of view there is a greater number of lymphoblasts in the germinal centers, and in all zones of white pulp, macrophages in the cytoplasm of which there are numerous large heterophagosomes are found; at the ultrastructural level - signs of functional stress of immunocompetent cells are marked, as well as signs of intense functional activity of sub-cell structures.

For the first time at micro and ultrastructural levels it was found that after 1, 3 and 7 days after skin burn injury in rats, which were injected with solutions of lactoprotein with sorbitol or HAES-LX-5 %, the degenerative and destructive processes in the spleen were significantly less pronounced than those after skin burns were infused with 0.9 % NaCl solution. In a stereological study after skin burns and infusion with lactoprotein with sorbitol or HAES-LX-5 % solutions, the following differences were found compare to the 0.9 % NaCl solution: when using lactoprotein with sorbitol, the value of the relative volume of white pulp is 18.0 % higher and the value of the relative volume of the red pulp is lower by 9.1 % after 3 days, as well as a lower by 7.9 % relative value of red pulp volume after 7 days; when applying HAES-LX-5 %, the values of the relative volume of white pulp are 14.4 % higher and the value of the relative red pulp volume is lower by 7.1 % after 3 days, as well as by 19.4% higher relative value volume of white pulp and smaller by 5.8 % value of the relative volume of red pulp after 7 days.

It has been established that spleen cells of rats without burning of skin when administering 0.9% solution of NaCl, lactoprotein with sorbitol or HAES-LX-5 % are in an active equilibrium state with respect to DNA synthesis (S-phases) and apoptosis (interval SUB-G0G1), however, a large proportion of splenocytes is in the G0G1 phase, indicating the presence of a reserve population of cells that can be activated when the body is damaged.

For the first time, it was found that the thermal burn of the skin in the background of the introduction of 0.9 % NaCl solution after 1 day is characterized by large mean values of the interval SUB-G0G1 and the phase G0G1 and, simultaneously, lower mean values of the parameters of phases S, G2 + M and the index of proliferation indicating the presence of pathological induction of apoptosis and violations of the synthetic processes of splenocytes regardless of the use of this drug. 3 days after the burn of skin and using 0.9 % NaCl solution in the background of higher mean values of the G0G1, proliferation block and proliferation index, at the same time, the highest level of apoptosis compared to similar groups of animals after 1 day after burning with correction by 0.9 % solution of NaCl, which can be evaluated as an activation of the mechanism of commentary on the pathological effects of thermal damage in the given period. 7 days after skin burn simulation and application of 0.9% NaCl solution, the mean values of the G0G1 and the proliferation index are close to the similar indices of a group of animals without burning skin damage in the background of the introduction of 0.9 % NaCl solution, while the values of the S-phase (almost 2.5 times) and the SUB-G0G1 interval (2.7 times) were the most significant over the entire study period, indicating insufficient compensation for the proliferative activity of the spleen cells against the background of increased apoptosis.

It has been proved for the first time that when using lactoprotein with sorbitol 1 day after skin burns, only a higher mean value of the S-phase (39.4 %) is observed compared to the mean value of a similar indicator in the group of animals after burning on 1 day with a

correction of 0, 9 % NaCl solution, however, it remains considerably smaller (by 35.4 %) relative to the average value of this indicator established in the group of animals without burn injury. Compared with the indicators of 0.9 % NaCl solution without skin burn in 3 days after burn, the average values of the block proliferation were set higher in the background of correction with lactoprotein with sorbitol.

For the first time, it was found that 1 day after skin burning, against the background of the application of HAES-LX-5 %, lower indexes are set for G0G1 phase (by 4.8 %), SUB-G0G1 (by 34.9 %) and higher indexes of S-phase (by 41,1 %) and the index of proliferation (by 32,7 %). However, the index of proliferation in this group was significantly higher compared to the same indicator in the group burn + 0.9 % NaCl solution, and the average value of the interval of the SUB-G0G1 - is lower than the similar indicator set in the group burn + lactoprotein with sorbitol, indicating about a more pronounced corrective effect of this drug on the processes of synthesis and apoptosis in the cells of the spleen. 3 days after skin burn, against the background of the application of HAES-LX-5 % increased the average values of the phase S, proliferation block and SUB-G0G1 intervals, indicating a renewal of the cell population by stimulating DNA synthesis against increased apoptosis.

It has been proved for the first time that after 7 days after skin burn, the differences between the average values of cell cycle of spleen cells in rats against the background of the use of drugs lactoprotein with sorbitol or HAES-LX-5 % were not found, however, in both of these groups, higher mean values were established for S-phases and smaller mean values for the interval SUB-G0G1 compared with similar indicators in the group of animals burn + 0.9 % NaCl solution, which indicates the positive effect of these products on the restoration of equilibrium between the processes of proliferation and apoptosis of splenocytes.

Keywords: spleen, morphology, rats, thermal burns of the skin, infusion solutions.

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

BP – блок проліферації, який оцінюється по співвідношенню $S/(G2 + M)$;

ВНМУ ім. М. І. Пирогова – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова;

ЛП – лактопротеїн із сорбітолом

НДЦ – науково-дослідний центр;

G0G1 – відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2с);

G2 + M – відсоткове співвідношення фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4с);

IP – індекс проліферації, який визначається за сумою показників S + G2 + M;

S – відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2с та < 4с.).

Підписано до друку 23.10.2018 р. Замовл. № 686.
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

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

