

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Кріобіологія в останні 20-25 років стала самостійною науковою дисципліною, що займається дослідженнями, які пов'язані з вивченням процесів, що протікають на різних рівнях структурної організації організму під дією наднизьких температур. Головним змістом прикладної кріобіології є консервація живих систем холодом, заморожування та ліофілізація біологічних об'єктів, а також проблеми кріомедицини [Пушкарь Н.С., Белоус А.М., 1981; Ebertz S.L., McGann L.E., 2002]. Кріобіологія і кріомедицина мають специфічний взаємозв'язок, обумовлений тим, що молекулярні і субклітинні перетворення, які протікають в тканинах, що підлягали дії холоду, лежать в основі холодової деструкції (кріодеструкції) [Woolley M.L. et al., 2002].

Аналіз наукової літератури показав, що на сучасному етапі методи низькотемпературного впливу, які застосовуються в медицині, ведуться в основному за двома напрямками. По-перше – це штучна гіпотермія та її різні різновиди, які передбачають розробку методів тотального охолодження тіла або окремих його частин, включаючи тканини та органи, нижче існуючих фізіологічних температур [Грищенко В.И., Сандомирский Б.П., 1985; Zemke J.E. et al., 1998]. По-друге – це використання методів локальної кріодії з метою кріодеструкції тканин та частин органа, або дозоване охолодження з метою стимуляції відновлювальних процесів в патологічно змінених зонах [Белоус А.М., Грищенко В.И., 1994; De La Taille A. et al., 2000; Malawer M.M. et al., 1999].

Необхідно відмітити, що чисто емпіричне використання цих температур в сучасній медицині випереджає експериментально-теоретичне обґрунтування їх застосування, оскільки довго вважалося, що наслідки використання кріогенного методу лікування не призводять до будь-яких серйозних ускладнень в організмі [Терновой К.С., Гассанов Л.Г., 1988; Hirvonen J., 2000; Marsigny V., 2001]. Однак фундаментальні дослідження останніх років [Гунас І.В., 1998; Пентюк О.О. з співавт., 1998; Кухар І.Д., 2000; Шаповал О.М., 1999] вказують на те, що наслідки кріодеструкції шкіри викликають значні морфофункціональні зміни в організмі експериментальних тварин. Тому потрібні подальші дослідження стосовно вивчення впливу наднизьких температур як на організм в цілому, так і на окремі органи (в тому числі і легені), тканини, клітини, які б дозволили виявити критерії їх адаптації до наслідків кріодеструкції шкіри.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації затверджена вченою радою медичного факультету Вінницького державного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (прото-

кол № 5 від 10 лютого 2000 року) і є фрагментом планової наукової роботи науково-дослідного центру Вінницького державного медичного університету ім. М.І.Пирогова «Вивчення впливу локальної гіпер- та гіпотермії на морфогенез шкіри, легень та печінки щурів» (номер державної реєстрації 0197V003343).

Мета і задачі дослідження. Виявити морфологічні критерії пошкодження і відповідних компенсаторно-приспосувальних реакцій на різних рівнях структурної організації легень щурів у відповідь на локальну холодову травму шкіри.

Для реалізації поставленої мети необхідно вирішити наступні основні задачі:

1. Вивчити макрометричні зміни, які виникають в легенях щурів через 1, 3, 7, 14 та 28 діб після кріодеструкції шкіри.
2. Дослідити динаміку пошкоджень та компенсаторно-приспосувальних змін у легенях щурів на світлооптичному рівні протягом місяця після холодової травми шкіри.
3. Вивчити ультраструктурні зміни, які виникають в респіраторних відділах легень у різні терміни після холодової деструкції шкіри.
4. Дослідити динаміку гісто- та стереометричних змін в легеневій тканині після кріодеструкції шкіри.

Об'єкт дослідження – наслідки впливу на організм кріодеструкції шкіри.

Предмет дослідження – морфологічні зміни в легенях щурів.

Методи дослідження – макро- та мікроморфометричний – для кількісної оцінки змін структурної рівноваги в легенях щурів; гістологічний та електронномікроскопічний – для вивчення морфологічних критеріїв пошкодження та компенсаторно-приспосувальних реакцій легень на різних рівнях структурної організації.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше дана комплексна оцінка пошкодження та компенсаторно-приспосувальних реакцій на різних рівнях структурної організації легень щурів протягом місяця після кріодеструкції шкіри, причому вираженість пошкоджень та відповідних компенсаторно-приспосувальних реакцій в легенях знаходиться в прямій залежності від часу, що пройшов після деструктивного процесу в шкірі.

Вперше встановлено, що після локальної холодової травми шкіри найбільш виражені деструктивно-дистрофічні зміни в легенях на світлооптичному та електронно-мікроскопічному рівнях виявлені через сім діб після почат-

ку експерименту, а максимальні прояви компенсаторно-приспосувальних реакцій – в проміжку від чотирнадцятої до двадцять восьмої доби.

Вперше на ультраструктурному рівні показано, що вже з першої доби після кріодеструкції шкіри в епітелії альвеол, незважаючи на внутрішньоклітинний набряк, спостерігаються ознаки репаративної регенерації клітин.

На основі проведених морфо- і стереометричних досліджень вперше розроблені кількісні критерії, що характеризують як пошкодження, так і відповідні компенсаторно-приспосувальні реакції легень на різних рівнях їх структурної організації після локальної холодової деструкції шкіри. Динаміка змін мікрометричних показників легень у ділянках пошкодження та компенсації експериментальних тварин співпадає з динамікою змін гістологічної картини в легенях.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати фундаментального морфологічного дослідження вказують на необхідність та є основою для подальшої експериментальної розробки профілактичних та лікувальних заходів що до запобігання порушень, спричинених в легенях наслідками холодової травми шкіри.

На даний час результати досліджень використовуються в лекційних курсах кафедр нормальної анатомії, гістології, цитології та ембріології, оперативної хірургії та топографічної анатомії, загальної та факультетської хірургії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; кафедри анатомії та фізіології Вінницького державного педагогічного університету ім. М. Коцюбинського; кафедри нормальної анатомії Івано-Франківської державної медичної академії; кафедри нормальної анатомії Львівського державного медичного університету ім. Д. Галицького; кафедр нормальної анатомії, гістології, цитології та ембріології Харківського державного медичного університету; кафедр нормальної анатомії, гістології, цитології та ембріології Тернопільської державної медичної академії ім. І.Я. Горбачевського.

Особистий внесок здобувача. Автором здійснено розробку основних теоретичних і практичних положень дисертаційного дослідження. Автором самостійно проведено забір матеріалу для світлової та електронної мікроскопії, описала гістологічні препарати та електроннограми, провела макро- і мікроморфометрію з наступною статистичною обробкою отриманих результатів. Автором проведено аналіз та узагальнення результатів дослідження, сформульовано усі положення і висновки. Автором самостійно написано 3 статті в наукових фахових виданнях. Особистий внесок здобувача в публікаціях, що написані у співавторстві з науковим керівником та колегами (згідно з переліком праць, опублікованих за темою дисертації та наведених наприкінці автореферату) – в 6 статтях та 5 тезах автору належать основні ідеї та розроб-

ки стосовно змін у легенях, які відбуваються після кріодеструкції шкіри. Частина результатів (не більше 5 %), які стосуються макро- та мікроморфометричних показників легень у інтактних тварин, отримана спільно з аспірантом НДЦ Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Ю.Й. Рудим і також використана ним у кандидатській дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладені та обговорені на 4-му міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2000); 3-му міжнародному конгресі з інтегративної антропології (Белгород, 2000); науковій конференції, присвяченій пам'яті академіка МАІА професора Б.Й. Когана “Актуальні питання медичної антропології та функціональної морфології” (Вінниця, 2001); 4-му міжнародному конгресі з інтегративної антропології (Санкт-Петербург, 2002); восьмій університетській науково-практичній конференції молодих учених та фахівців (Вінниця, 2002); III національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (Київ, 2002); дев'ятій університетській науково-практичній конференції молодих учених та фахівців (Вінниця, 2003); науково-практичній конференції з міжнародною участю „Сучасні методи наукових досліджень в морфології” (Полтава, 2003).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано чотирнадцять наукових праць (з них одинадцять в співавторстві), які повністю відображають зміст проведеного дослідження. Дев'ять праць опубліковано в фахових, рекомендованих ВАК України, наукових журналах та збірниках (з них три самостійних).

Обсяг та структура дисертації. Дисертація викладена державною мовою на 189 сторінках, з яких 112 сторінок залікового принтерного тексту, і складається із вступу, аналітичного огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, обговорення результатів дослідження, висновків, списку літературних джерел та додатку. Робота ілюстрована 105 рисунками та 35 таблицями. Літературні джерела містять 224 роботи, з яких 136 викладені кирилицею, 88 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ

Матеріали і методи дослідження. Відповідно до мети та задач дослідження нами був проведений експеримент на 110 білих трьохмісячних щурках-самцях з початковою масою тіла 190-215 г. Тварини протягом двох тижнів перед початком експерименту знаходились в умовах карантину, після чого були розділені на дві групи: 1 група – інтактні тварини, які утримувались в звичайних умовах віварію; 2 група – щурі, яким проводили холодову дестру-

кцію шкіри, площею 9-10 % поверхні тіла та глибиною відповідно опіку шкіри III А-Б ступеня. Протягом всього експерименту усі щури утримувались в умовах віварію згідно з «Правилами проведення робіт з використанням експериментальних тварин». За тваринами здійснювали систематичний догляд. Годування проводилось два рази на добу. Воду не обмежували. Температура в приміщенні постійно підтримувалась на рівні 24-25 °С.

Холодову деструкцію попередньо депільованої шкіри спини та лівого боку лабораторних тварин здійснювали шляхом прикладання до неї на шість секунд двох мідних пластин (площею 14,5 см² кожна), які попередньо тривалий час знаходились у рідкому азоті (t= -196 °С) [Gunas I. et al., 1997].

Після внутрішньочеревного наркозу тіопенталом натрію (з розрахунку 30-40 мг на 100 г маси тіла) тварин контрольної та експериментальної груп виводили з експерименту шляхом декапітації через 1, 3, 7, 14 та 28 діб після нанесення холодової травми шкіри. Для подальшого морфологічного дослідження були обрані легені щурів.

Масу тварин визначали за допомогою чашкової ваги з точністю до 1 г. Абсолютну масу легень визначали на торсіоних техніко-хімічних терезах I-го класу типу Т-200, з граничним навантаженням 200 г та з точністю при 10 % навантаженні ±25 мг. Розраховували відносну масу легень. Об'єм легень визначали за допомогою мірної колби (см³), яка була заповнена водою (ціна поділки складала 0,2 мл). Щільність тканини легень розраховували як відношення маси легень до їх об'єму (мг/см³).

Для гістологічного дослідження в усіх випадках брали праву легеню щурів. Вибір саме цієї легені був обумовлений можливістю в момент постановки експерименту прямого впливу холоду на ліву легеню, оскільки кріодеструкцію шкіри проводили саме з лівого боку. Шматочки тканини (товщиною не більше 0,5 см) фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну. Після фіксації матеріал промивали, зневоднювали в батареї спиртів зростаючої концентрації, проводили через хлороформ та заливали в парафін [Волкова О.В., Елецкий Ю.К., 1982]. На ротатійному мікротомі готували зрізи товщиною 7-8 мкм, які потім фарбували гематоксилін-еозином та вміщували на склі в канадський бальзам. Гістологічне дослідження паренхіми легень здійснювали на мікроскопі Laborlux S (Leitz) при збільшеннях: 10/0,25x10, 40/0,65x10 і 100/1,25x10.

Під глибоким тіопенталовим внутрішньочеревним наркозом проводили трахеотомію. Після двосторонніх розрізів по міжреберних проміжках легені спадалися, після чого в трахею зразу ж вводили приблизно 1,5 мл 2,5 % розчину глютарового альдегіду на фосфатному буфері. Після розтину грудної порожнини *in situ* праву легеню продовжували на протязі 15-20 хвилин поли-

вати 2,5 % розчином глютарового альдегіду. Шматочки легені вирізали лезом, розрізали на невеликі блоки та продовжували фіксувати в тому ж розчині протягом години. Потім матеріал проводили в 1 % розчині чотирьохокису осмію на фосфатному буфері, 1 % розчині танінової кислоти, зневоднювали в батареї спиртів зростаючої концентрації та ацетоні, проводили в сумішах ацетону та епону і заливали в капсулах чистим епоном [Уикли Б., 1975]. Напівтонкі та ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція). Напівтонкі зрізи розташовували на предметному склі та фарбували 1 % розчином метиленового синього. Ультратонкі зрізи вкладали на мідні опорні сіточки та контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. Фотографування проводили на електронних мікроскопах Hitachi-9A та Hitachi-12A (Японія).

Гістометричний аналіз проводили на демонстраційному екрані мікроскопа Laborlux S (Leitz) при збільшенні 40/1,25x10 за допомогою штангенциркуля на повздовжніх січеннях альвеол. Він включав в себе визначення ширини та глибини альвеол, а також товщини міжальвеолярної перегородки з її вузького і ширшого країв та в середній частині, після чого визначали середнє значення товщини міжальвеолярної перегородки. Глибина альвеоли вимірювалась від площини входу до найглибшої точки куполу альвеоли. Ширина альвеоли вимірювалась в її найширшому місці. Отримані штангенциркулем показники, за допомогою об'єкт-мікрометра, переводили в мкм. Стереологічний аналіз проводили на тому ж самому екрані за допомогою сітки Вейбеля. Він включав в себе визначення об'ємної густини (відносний об'єм, $\text{см}^3/\text{см}^3$) просвіту альвеол та строми респіраторної частини легень.

Оскільки в респіраторній зоні легень структури розподілені випадково, нами був застосований метод випадкового відбору препаратів та полів зору в ділянках пошкодження і компенсації правої легені [Вейбель Э.Р., 1970]. З кожної тварини методом випадкового відбору відбирали по п'ять гістологічних зрізів, на кожному з яких всі гістометричні та стереологічні параметри знімались в 30 полях зору.

Статистичну обробку числових даних проводили на персональному комп'ютері, за допомогою стандартного програмного пакету «Statistica 5.5» для Windows 95. Оцінювали правильність розподілення ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів (всі вивчені мікрометричні параметри мали нормальне розподілення), середні значення по кожній ознаці, що вивчається, стандартні помилки та стандартні відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними мікрометричними величинами визначали за критерієм Ст'юдента, а між незалежними макрометричними величинами – за допомогою U-критерія Мана-Уїтні. Крім того, для оцінки взаємозв'язку та рівня

впливу холодової деструкції шкіри на морфометричні показники, що вивчалися, проводили однофакторний регресійний аналіз [Автандилов Г.Г., 1990].

Результати дослідження та їх аналіз. Нами встановлено, що найбільш виражені зміни макрометричних показників обох легень найчастіше відмічаються в перші сім діб після холодового пошкодження шкіри (в більшості випадків достовірно зменшення абсолютної та відносної маси, об'єму та збільшення щільності легень), що в деякій мірі співпадає з результатами отриманими І.В. Гунасом [1998] та Б.Й. Коганом з співавт. [1997], які стосуються макрометричних показників печінки після холодової травми шкіри такої ж глибини та площини.

При порівнянні результатів дисперсійного аналізу впливу наслідків опікового та холодового пошкодження шкіри однакової глибини та площини на макрометричні показники легень щурів встановлена в більшості випадків також майже однакова динаміка змін [Даценко Г.В. з співавт., 2000]. Розбіжності заключаються в тому, що максимальний вплив наслідків опіку шкіри на зміну макрометричних параметрів легень спостерігаються через сім та чотирнадцять діб, а наслідків кріодеструкції шкіри – в перші сім діб.

Привертає увагу часто не співпадаюча між собою динаміка змін макрометричних показників правої і лівої легень, що можна пояснити нанесенням холодової травми шкіри з одного (лівого) боку тварин. Цим же можна пояснити часто більший відсоток впливу наслідків холодової травми шкіри в перші сім діб експерименту на макрометричні показники саме лівої легені щурів.

Достовірно збільшення об'єму правої легені та статистично значне зменшення її щільності наприкінці експерименту ($p < 0,05$), а також встановлений в цей термін достовірний вплив наслідків кріодеструкції шкіри на зміну об'єму і щільності правої легені ($p < 0,05-0,01$), напевне, відображають посилення компенсаторної аерації легені менш пошкодженої наслідками холодової травми шкіри.

При аналізі гістологічних змін встановлено, що в перші три доби після холодової деструкції шкіри в легенях на перший план виступають порушення в мікроциркуляторному руслі (набряк стінки та інфільтрація її макрофагами, явища стазу в просвітах судин), що співпадає з даними отриманими О.О. Оболенським з співавт. [1997]. Вже через добу після кріодеструкції шкіри в легенях відмічаються осередки дисателектазів, а через три доби – ателектазів. Звертає на себе увагу поява через три доби після початку експерименту ділянок легеневої тканини, в яких спостерігається витончення міжальвеолярних перегородок та збільшення розмірів альвеол без порушення їх структури. Згідно з даними Д.С. Саркісова [1987] ці зміни є проявом компенсаторно-

приспосувальних реакцій легень у відповідь на дію гострого стресового фактору.

Максимальний рівень пошкоджень в легеневій тканині відмічається через 7 діб після кріодеструкції шкіри, що співпадає з даними інших дослідників щодо впливу різних екстремальних факторів на легені [Голод Б.В., 1999; Wittwer T. et al., 1999; Cho K. et al., 2000; Woltmann A. et al., 1994; Watson P.F., Morris G.J., 1987]. В легеневій тканині з'являються ділянки дис- та ателектазів, які мають форму „зливних полів”. В цей же термін дослідження площа ділянок з витонченими міжальвеолярними перегородками значно зменшується, в них з'являються осередки з потовщеними міжальвеолярними перегородками, які інфільтровані макрофагами, лімфоцитами та просоченою набряковою рідиною. Тобто прояви компенсаторно-приспосувальних реакцій легень через 7 діб після холодової травми шкіри зменшуються.

Починаючи з 14 доби і до кінця експерименту, прояви пошкодження легеневої тканини значно зменшуються, а компенсаторно-приспосувальні реакції – навпаки, максимально виражені. Привертають увагу поодинокі прояви осередкового пневмосклерозу та відсутність повної компенсації патологічних змін в окремих ділянках легень навіть через 28 діб після нанесення холодової травми шкіри.

Порівнюючи гістологічні зміни в легенях після кріодеструкції шкіри з результатами, отриманими Ю.Й. Рудим [2000] стосовно впливу наслідків опіку шкіри такої ж глибини та площини, встановлено, що, на відміну від кріодеструкції після опіку, максимальний рівень пошкодження легеневої тканини спостерігається через 7 та 14 діб експерименту. Крім того, в перші 3 доби в легенях відмічаються прояви феномена „шокової легені”, що також співпадає з даними Б.В. Голода [1999; 2000], який спостерігав виникнення цього феномена при глибоких опіках шкіри площею більше 15 % поверхні тіла. Також звертає на себе увагу поява в перші 3 доби ділянок дис- та ателектазів, які на відміну від наслідків кріодеструкції шкіри вже мають форму „зливних полів”. Протягом всього експерименту після опіку на перший план виступає інтерстиціальне продуктивне запалення легеневої тканини з інфільтрацією макрофагами і лімфоцитами. Як після впливу наслідків кріодеструкції шкіри, так і після її опіку, починаючи з першої доби експерименту, поряд із зонами пошкодження паренхіми легень, відмічаються ділянки з витонченими міжальвеолярними перегородками без порушення їх будови. Через 28 діб після опіку шкіри пошкодження легеневої тканини призводить до розвитку більш виражених, ніж після кріодеструкції, склеротичних змін, які частіше спостерігаються в перибронхіальних і периваскулярних зонах. Одночасно відмічається відсутність повної компенсації патологічних змін в більшості ділянок легень.

На ультраструктурному рівні в перші 3 доби після кріодеструкції шкіри найбільш виражені зміни в ділянках аерогематичного бар'єра відмічаються у мікросудинах. Підвищена проникність судинної стінки призводить до набухання основної речовини сполучної тканини міжальвеолярної перегородки, порушення структури базальних мембран, пошкодження альвеолоцитів I типу.

Посилення явищ набряку та початкові дистрофічні зміни в альвеолоцитах II типу, що спостерігаються через 3 доби після початку експерименту, ще більше порушують структуру та функціонування аерогематичного бар'єра. Слід відмітити, що виявлені нами порушення в сурфактантній системі легень призводять до дефіциту поверхнево-активної речовини на альвеолярній поверхні та розвитку ателектазів, які ми спостерігали в попередньому розділі на гістологічному рівні дослідження.

Звертає на себе увагу той факт, що вже з першої доби після нанесення холодової травми шкіри в області пошкоджених ділянок аерогематичного бар'єра визначаються зони з різко збільшеною кількістю піноцитозних пухирців, що відображає збільшення транспорту структурних та енергетичних компонентів із судинного русла та ендоплазматичної сітки клітин до пошкодженого респіраторного епітелію. Репарація мембранних дефектів в плазмолемі альвеолоцитів та ендотеліоцитів відбувається внаслідок своєрідної „штопки” шляхом вбудовування мілких везикул, які накопичуються в зоні дефекту.

Максимальний рівень пошкоджень в легеневій тканині на ультраструктурному рівні, як і на гістологічному, відмічається через 7 діб після холодової деструкції шкіри. Деструктивні та дистрофічні зміни чітко виражені у всіх структурах, які утворюють аерогематичний бар'єр. В цей період привертає увагу значне збільшення в окремих ділянках інтерстиціального простору волокнистих елементів, які представлені переважно колагеновими волокнами та фібробластами, що призводить до зміцнення еластичного та колагенового каркасу міжальвеолярних перегородок і формування додаткового периваскулярного бар'єра на рівні мікроциркуляторного русла.

Починаючи з 14 доби після кріодеструкції шкіри, прояви пошкодження легеневої тканини на ультраструктурному рівні, як і на гістологічному, значно зменшуються. Звертають на себе увагу ділянки аерогематичного бар'єра з посиленням проліферативних процесів, які виявляються в цитоплазмі ендотеліоцитів та епітелії альвеолоцитів I типу. В цей же термін значно зменшуються прояви дистрофічних змін в альвеолоцитах II типу. Привертає увагу збереження в більшості пошкоджених ділянок аерогематичного бар'єра явищ посиленого колагеноутворення в інтерстиціальному просторі, яке зберігається до кінця експерименту.

Через 28 діб після кріодеструкції шкіри прояви пошкодження легеневої тканини на ультраструктурному рівні практично не відмічаються. Лише в деяких ділянках аерогематичного бар'єра відмічається пошкодження люмінальної поверхні ендотеліоцитів та епітелію альвеолоцитів I типу, незначне розширення базальної мембрани, слабо виражені прояви дистрофічних змін в альвеолоцитах II типу.

Порівнюючи ультраструктурні зміни в легенях після кріодеструкції шкіри з результатами отриманими Ю.Й. Рудим і І.В. Гунасом [2001] стосовно впливу наслідків опіку шкіри III А-Б ступеня, площею 9-10 % поверхні тіла, встановлено, що, як і на світлооптичному рівні, на відміну від кріодеструкції максимальний рівень пошкодження в області аерогематичного бар'єра спостерігається на 7 та 14 добу експерименту. Слід відзначити, що вже з першої доби після опіку шкіри спостерігається комплекс ультраструктурних змін, який включає в себе інтерстиціальний, а потім і клітинний набряк, різке потовщення аерогематичного бар'єра, пошкодження епітелію і ендотелію, порушення сурфактантної системи легень. Цей комплекс змін визначається як „стресорна легеня”. Звертає на себе увагу те, що через 28 діб після опіку шкіри в окремих ділянках аерогематичного бар'єра зберігаються ознаки пошкодження респіраторного епітелію. Частина альвеолоцитів II типу знаходиться в стані вираженої дистрофії. В деяких ділянках інтерстиціального простору відмічається надмірне розростання колагенових волокон. Однак, основні прояви пошкодження та відповідних компенсаторних реакцій в легенях на ультраструктурному рівні після опіку шкіри протягом усього експерименту співпадають з вище описаними наслідками кріодеструкції шкіри.

На сучасному етапі дослідження, присвячені фізіологічним аспектам адаптації організму до дії різних екзогенних факторів, що викликають пошкодження, значно випередили вирішення питань, що стосуються морфофункціональних основ адаптаційних реакцій організму. Зміни функціонального стану біологічної системи пов'язані з кількісними змінами її структурних елементів. Об'єктивний аналіз цих процесів, в тому числі і компенсаторно-приспосувальних, обумовлює використання кількісних методів морфологічних досліджень [Автандилов Г.Г. с соавт., 1984], що також необхідно для порівняння отриманих результатів з функціональними показниками організму.

В гістологічних дослідженнях прийнято брати матеріал із типових ділянок і проводити його ретельне дослідження. Однак такий метод не дає можливості достовірно оцінити частоту та розподілення структур, що досліджуються. Оскільки в респіраторній зоні легень структури розподілені випадково, нами був застосований метод випадкового відбору препаратів та полів зору в ділянках пошкодження і компенсації правої легені, який згідно з даними Е.Р. Вейбеля [1970] є найбільш ефективним і тому самим надійним. Окреме вивчення мікрометричних показників в ділянках пошкодження та компенсації

зумовлено мозаїчною картиною, яку ми спостерігали протягом всього експерименту при гістологічному дослідженні легень після кріодеструкції шкіри.

Проведені нами мікроморфометричні дослідження легень після кріодеструкції шкіри виявили значні зміни серед стерео- та гістометричних показників, які вивчалися. Встановлено, що ширина альвеол в ділянках пошкодження легень, починаючи з 3 доби до 14 доби після кріодеструкції шкіри, достовірно менша, ніж у інтактних тварин ($p < 0,001$), а наприкінці експерименту – статистично значимо більша, ніж в контролі ($p < 0,01$). В ділянках компенсації легень, починаючи з 3 доби і до кінця експерименту, ширина альвеол достовірно більша, ніж у інтактних тварин ($p < 0,001$). Привертає увагу різке збільшення ширини альвеол в ділянках компенсації експериментальних тварин з 14 по 28 добу, а також максимальне зменшення даного показника в ділянках пошкодження легень від 7 до 14 доби після холодової травми шкіри.

Динаміка зміни глибини альвеол в ділянках пошкодження та компенсації легень протягом всього експерименту майже не відрізняється від динаміки зміни ширини альвеол. При цьому в ділянках компенсації цей показник, починаючи з 3 доби і до кінця експерименту, достовірно ($p < 0,001$) більший контрольних показників, а в ділянках пошкодження – статистично значимо ($p < 0,001$) менший, ніж у інтактних щурів.

Динаміка змін товщини міжальвеолярної перегородки з ширшого, вужчого краю або в середній частині, в різних ділянках пошкодження та компенсації легень протягом усього експерименту практично не відрізняється. Тому стверджувати про зміни даного показника в різних ділянках міжальвеолярної перегородки можливо, використовуючи обчислену середню величину. Середня товщина міжальвеолярної перегородки в зонах пошкодження легень протягом усього експерименту достовірно більша ($p < 0,001$), ніж у інтактних щурів. Крім того виявлено максимальне збільшення цього показника в проміжку від 7 до 14 доби після холодової деструкції шкіри та його виражене зменшення наприкінці експерименту. Що стосується ділянок компенсації легень, то через 1, 14 та 28 діб після кріодеструкції шкіри середня товщина міжальвеолярної перегородки достовірно нижча контрольних значень ($p < 0,001$). Привертає увагу значне збільшення даного показника в ділянках компенсації через 7 діб після початку експерименту в порівнянні з інтактними тваринами ($p < 0,001$).

В ділянках пошкодження легень відносний об'єм просвіту альвеол достовірно нижчий контрольних значень протягом усього експерименту ($p < 0,001$). Встановлено зниження даного показника до 7 доби експерименту з подальшим постійним збільшенням до 28 доби експерименту. Відносний об'єм альвеол в ділянках компенсації легень протягом усього експерименту достовірно більший, ніж у інтактних щурів ($p < 0,001$). Привертає увагу пік

зниження даного показника через 7 діб після холодової травми шкіри та максимальне збільшення відносного об'єму альвеол через 14 діб. Зрозуміло, що зміна відносного об'єму строми респіраторного відділу легень в ділянках пошкодження та компенсації має цілком протилежний характер від змін відносного об'єму просвіту альвеол.

Разом з тим вже з першої доби після кріодеструкції шкіри встановлені достовірні розбіжності між більшістю гісто- та стереометричних показників в ділянках пошкодження та компенсації легень в порівнянні з показниками, встановленими у інтактних тварин.

Проведений однофакторний регресійний аналіз показав, що максимальний вплив наслідків холодової деструкції шкіри на зміну гістометричних показників в ділянках пошкодження легень відбувається від 7 до 14 доби після початку експерименту і складає для ширини альвеол 27,7-30,7 % ($p < 0,001$), для глибини альвеол – 16,4-28,1 % ($p < 0,001$), для середньої товщини міжальвеолярної перегородки – 95,1-98,1 % ($p < 0,001$). Максимальний вплив наслідків кріодеструкції шкіри на зміну гістометричних показників в ділянках компенсації легень відбувається на протязі від 14 до 28 доби після початку експерименту і складає для ширини альвеол 63,6-67,7 % ($p < 0,001$), для глибини альвеол – 52,9-22,7 % ($p < 0,001$), для середньої товщини міжальвеолярної перегородки – 13,7-56,7 % ($p < 0,001$). Привертає увагу дуже великий відсоток (більш ніж 90,0 %) впливу наслідків холодової травми шкіри на зміну товщини міжальвеолярної перегородки протягом усього експерименту в ділянках пошкодження легеневої тканини та пік негативного впливу наслідків холодової травми шкіри на середню товщину міжальвеолярної перегородки через 7 діб після початку експерименту в ділянках компенсації легень (55,0 %, $p < 0,001$).

Що стосується стереометричних показників, то однофакторний регресійний аналіз показав, що максимальний вплив наслідків кріодеструкції шкіри на зміну відносного об'єму просвіту альвеол та строми в ділянках пошкодження легень відбувається через 7 діб після початку експерименту (79,1 %, $p < 0,001$). Максимальний вплив наслідків локальної гіпотермії шкіри на зміну відносного об'єму просвіту альвеол та строми в ділянках компенсації легень відбувається в проміжку від 14 до 28 доби після початку експерименту (від 60,3 до 59,9 %, $p < 0,001$). Привертає увагу пік зниження впливу наслідків кріодеструкції шкіри на зміну відносного об'єму просвіту альвеол через 7 діб після початку експерименту.

Слід зазначити, що отримані нами гісто- та стереометричні результати майже співпадають з динамікою змін гістологічної картини в легенях, яку ми спостерігали протягом місяця після локальної гіпотермії шкіри, а проведені електронно-мікроскопічні дослідження пояснюють причини зміни товщини міжальвеолярної перегородки та відносного об'єму строми в респіраторних відділах легеневої тканини.

При порівнянні отриманих мікроморфометричних даних з результатами дослідження змін гісто- та стереометричних показників легень після опікової деструкції шкіри [Рудий Ю.Й., 2001] встановлено, що в більшості випадків опік шкіри призводить до більш виражених негативних змін гісто- та стереометричних показників в ділянках пошкодження легень протягом усього експерименту в порівнянні з наслідками впливу кріодеструкції шкіри. Крім того, встановлена невідповідність у динаміці виникнення максимальних змін в ділянках пошкодження та компенсації. Якщо при холодовій деструкції шкіри максимальні зміни більшості показників в ділянках пошкодження спостерігаються через 7 діб, мають тенденцію до зменшення через 14 діб і практично наближаються до норми через 28 діб, то при опіку шкіри пік максимальних змін припадає на 14 добу, а через 28 діб всі показники достовірно відрізняються від контролю. Встановлено, що після опіку шкіри через 7 та 14 діб спостерігається максимальне зменшення всіх показників в ділянках компенсації легень, що свідчить про порушення компенсаторних реакцій в легенях після опікового пошкодження шкіри.

Підводячи підсумок, слід відмітити, що локальна гіпотермічна травма шкіри викликає значні деструктивні зміни на різних рівнях структурної організації легень щурів, які максимально виражені через 7 діб після пошкодження шкіри. Використання сучасних методів: морфологічного, морфометричного та статистичного аналізів дозволяє нам в ранні терміни після холодового пошкодження шкіри виявити компенсаторно-приспосувальні зміни, що відбуваються в легенях експериментальних тварин. При співставленні отриманих нами експериментальних даних з даними інших авторів стосовно впливу на організм різних температурних факторів можна зробити висновок, що термічне пошкодження шкіри різної етіології викликає розвиток внутрішньо-органної патології, яка супроводжується принципово однотипними, неспецифічними та часто однаковими за часовою динамікою реакціями цих органів на дію гострих стрес-факторів.

На основі отриманих нами результатів можливе подальше обґрунтування необхідних профілактичних та лікувальних заходів (наприклад, використання мембанопротекторів), спрямованих на корекцію порушень, спричинених в легенях наслідками холодової травми шкіри.

ВИСНОВКИ

Локальна гіпотермічна травма шкіри викликає на різних рівнях структурної організації легень щурів значні негативні зміни, які максимально виражені через 7 діб після пошкодження шкіри. Починаючи з 14 доби і особливо наприкінці експерименту, прояви пошкодження легеневої тканини значно зменшуються, а прояви компенсаторно-приспосувальних реакцій, які спостерігались вже з першої доби після кріодеструкції шкіри, навпаки, зростають.

1. В більшості випадків достовірно зменшення абсолютної та відносної маси, об'єму та збільшення щільності обох легень встановлені в перші 7 діб після холодового пошкодження шкіри ($p < 0,05-0,01$). Часто не співпадаюча між собою динаміка змін макрометричних показників правої і лівої легень та більший відсоток впливу наслідків кріодеструкції шкіри в перші 7 діб експерименту на макрометричні показники лівої легені пов'язано з нанесенням холодової травми шкіри саме з лівого боку тварин.

2. На світлооптичному рівні в перші 3 доби після кріодеструкції шкіри в легнях на перший план виступають порушення в мікроциркуляторному руслі (набряк стінки та інфільтрація її макрофагами, явища стазу в просвітах судин). Через 3 доби після початку експерименту в окремих ділянках спостерігається витончення міжальвеолярних перегородок та збільшення розмірів альвеол без порушення їх структури, що є проявом компенсаторно-приспосувальних реакцій легень. Максимальний рівень пошкоджень у легневій тканині відмічається через 7 діб після кріодеструкції шкіри. В цей термін ділянки дис- та ателектазів приймають форму „зливних полів”. Починаючи з 14 доби і до кінця експерименту, прояви пошкодження легеневої тканини значно зменшуються, а компенсаторно-приспосувальних реакцій, навпаки, максимально виражені. Через 28 діб після кріодеструкції шкіри відмічаються поодинокі прояви осередкового пневмосклерозу.

3. На ультраструктурному рівні в перші 3 доби після кріодеструкції шкіри встановлені ознаки підвищення проникності ендотелію мікросудин, що призводить до набряку основної речовини сполучної тканини міжальвеолярної перегородки; порушення структури базальних мембран, пошкодження альвеолоцитів I типу, початкові дистрофічні зміни в альвеолоцитах II типу. Вже з першої доби в респіраторному епітелії, незважаючи на внутрішньоклітинний набряк, спостерігаються ознаки репаративної регенерації клітин – своєрідної „штопки” шляхом вбудовування дрібних везикул, які накопичуються в зоні дефекту.

4. Максимальні деструктивні зміни на ультраструктурному рівні спостерігаються через 7 діб після кріодеструкції шкіри. В цей же період відмічається зміцнення еластичного та колагенового каркасу міжальвеолярних перегородок, яке зберігається до кінця експерименту. Починаючи з 14 доби і особливо наприкінці експерименту, прояви пошкодження аерогематичного бар'єру значно зменшуються, часто виявляються ділянки з посиленням проліферативних процесів в цитоплазмі ендотеліоцитів та епітелії альвеолоцитів I типу.

5. У проміжку від 3 до 28 доби після кріодеструкції шкіри в ділянках пошкодження легень встановлено достовірно зменшення ширини (за винятком 28 доби) і глибини альвеол та збільшення середньої товщини міжальвеолярної перегородки ($p < 0,001$), а в ділянках компенсації легень, навпаки, в цей термін встановлено достовірно збільшення ширини і глибини альвеол

($p < 0,001$). Середня товщина міжальвеолярної перегородки в ділянках компенсації легень достовірно менша, ніж у інтактних тварин через 1, 14 і 28 діб після холодового пошкодження шкіри та достовірно більша через 7 діб після початку експерименту ($p < 0,001$). Протягом усього експерименту в ділянках пошкодження легень встановлено достовірне зменшення відносного об'єму просвіту альвеол та збільшення відносного об'єму строми ($p < 0,001$), а в ділянках компенсації легень, навпаки, встановлено достовірне збільшення відносного об'єму просвіту альвеол та зменшення відносного об'єму строми ($p < 0,001$).

Максимальні зміни більшості гісто- та стереометричних показників в ділянках пошкодження респіраторного відділу легень відбуваються в проміжку між 7 та 14 добою після холодової деструкції шкіри, а в ділянках компенсації легень – в проміжку від 14 до 28 доби.

6. Максимальний вплив наслідків кріодеструкції шкіри на зміну гістометричних показників в ділянках пошкодження легень відбувається в проміжку від 7 до 14 доби після початку експерименту і складає для ширини альвеол 27,7-30,7 % ($p < 0,001$), для глибини альвеол – 16,4-28,1 % ($p < 0,001$), для середньої товщини міжальвеолярної перегородки – 95,1-98,1 % ($p < 0,001$), а на зміну стереометричних показників (відносного об'єму просвіту альвеол та строми) – лише через 7 діб після холодової деструкції шкіри (79,1 %, $p < 0,001$).

7. В ділянках компенсації легень максимальний вплив наслідків кріодеструкції шкіри на зміну як гісто- так і стереометричних показників відбувається у проміжку від 14 до 28 доби після початку експерименту і складає для ширини альвеол 63,6-67,7 % ($p < 0,001$), для глибини альвеол – 52,9-22,7 % ($p < 0,001$), для середньої товщини міжальвеолярної перегородки – 13,7-56,7 % ($p < 0,001$), для відносного об'єму просвіту альвеол та строми – 60,3-59,9 % ($p < 0,001$).

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Математическое обоснование корректного использования низких температур в криотерапии и криохирургии //Довгань И.П., Даценко Г.В., Пентюк А.А. Байло М.М., Довгань Т.В., Гунас И.В. //Вісник морфології.- 1999.- Т.5, №1.- С.103-105.

2. Даценко Г.В., Гунас І.В. Динаміка макрометричних змін в легенях щурів після кріодеструкції шкіри //Вісник Вінницького державного медичного університету.- 1999.- Т.3, №2.- С.265-266.

3. Даценко Г.В. Динаміка гістологічних змін в легенях щурів після кріодеструкції шкіри //Вісник морфології.- 2000.- Т.6, №2.- С.284-286.

4. Даценко Г.В. Рудий Ю.Й. Гунас І.В. Оцінка впливу факторів локальної кріодеструкції та опіку шкіри на макрометричні зміни в легенях щурів

//Вісник Вінницького державного медичного університету.- 2000.- Т.4, №2.- С.393-395.

5. Даценко Г.В. Динаміка змін мікрометричних показників легень після кріодеструкції шкіри //Вісник Вінницького державного медичного університету.- 2001.- Т.5, №1.- С.14-17.

6. Даценко Г.В. Динаміка ультраструктурних змін альвеоло-капілярного бар'єра легеневої тканини щурів після кріодеструкції шкіри //Вісник морфології.- 2001.- Т.7, №1.- С.117-120.

7. Даценко Г.В., Шаповал О.М. Морфофункціональні зміни в організмі у відповідь на гіпотермічне пошкодження шкіри (огляд літератури) //Вісник морфології.- 2001.- Т.7, №2.- С.305-307.

8. Проявления принципа рекомбинации структур и функций в участках повреждения и компенсации легких и печени крыс в ответ на термическую травму кожи разного генеза /Гунас И.В., Рудый Ю.И., Даценко Г.В., Маевский А.Е., Шаповал Е.Н. //„Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения”: Труды Крымского государственного медицинского университета им. С.И.Георгиевского.- 2002.- Т. 138, Ч. 3.- С.25-28.

9. Морфологічні прояви пошкоджень та компенсаторно-приспосувальних реакцій в легенях та печінці щурів у відповідь на наслідки локальної гіпер- та гіпотермії шкіри /Гунас І.В., Рудий Ю.Й., Даценко Г.В., Маєвський О.Є., Шаповал О.М. //Вісник проблем біології і медицини.- 2003.- Вип. 4.- С. 73-75.

10. Даценко Г.В., Рудый Ю.Й. Морфологічні зміни в легенях щурів через добу після опіку та кріодеструкції шкіри //Тез. 4-го Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених.- Тернопіль, 2000.- С.262.

11. Морфологические изменения в легких крыс в ранние сроки после ожога и криодеструкции кожи /Гунас И.В., Даценко Г.В., Рудый Ю.И., Шаповал Е.Н., Максименко Е.В. //Материалы 3-го Международного конгресса по интегративной антропологии.- “Научные ведомости БелГУ”.- 2000.- Т.11, №2.- С.40-41.

12. Морфологические изменения в легких крыс после ожога и криодеструкции кожи /Даценко Г.В., Рудый Ю.И., Гунас И.В., Шаповал Е.Н., Башинская Е.И. //Морфология.- 2000.- Т.117, №3.- С.40.

13. Особенности повреждения и ответные компенсаторно-приспособительные реакции легких крыс после локальной гипер- и гипотермии кожи /Рудый Ю.И., Даценко Г.В., Кухар И.Д., Климас Л.А., Башинская Е.И. //Материалы IV Международного Конгресса по интегративной антропологии.- СПб.: Издательство СПбГМУ, 2002.- С.309-310.

14. Критерії пошкодження та відповідні компенсаторні реакції в легенях щурів після гіпер- та гіпотермії шкіри /Гунас І.В., Рудий Ю.Й., Даценко Г.В., Шніпор О.М., Кравчук О.М. //„Актуальні питання морфології”: Наукові

праці III Національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України.- Київ, 2002.- С.93-94.

АНОТАЦІЯ

Даценко Г.В. Морфологічні зміни в легенях щурів після кріодеструкції шкіри.- Рукопис.

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, 2003.

Дисертація присвячена комплексному вивченню на різних рівнях структурної організації динаміки пошкодження та компенсаторно-приспосувальних реакцій легень щурів протягом місяця після кріодеструкції шкіри. Автором вперше встановлено, що після локальної холодової травми шкіри найбільш виражені деструктивно-дистрофічні зміни в легенях на світлооптичному та електронномікроскопічному рівнях виявлені через 7 діб після початку експерименту, а максимальні прояви компенсаторно-приспосувальних реакцій – в проміжку від 14 до 28 доби. На основі проведених морфо- і стереометричних досліджень, вперше розроблені кількісні критерії, що характеризують як пошкодження, так і відповідні компенсаторно-приспосувальні реакції легень на різних рівнях їх структурної організації після холодової деструкції шкіри. Динаміка змін мікрометричних показників легень експериментальних тварин в ділянках пошкодження та компенсації співпадає з динамікою змін гістологічної картини в легенях.

Ключові слова: легені, морфологічні зміни, кріодеструкція шкіри, щури.

АННОТАЦИЯ

Даценко Г.В. Морфологические изменения в легких крыс после криодеструкции кожи.- Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия.- Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗО Украины, Винница, 2003.

Исследование проведено на 110 белых крысах-самцах. Животные были разделены на 2 группы: 1 – интактные крысы; 2 – крысы, которым при помощи охлажденных в жидком азоте медных пластин производили холодовую деструкцию кожи площадью 9-10 % поверхности тела и глубиной соответственно ожогам III А-Б степени. Животных, для последующих макро-, микрометрических, гистологических и ультраструктурных исследований, выводили из эксперимента путем декапитации под тиопенталовым наркозом через 1, 3,

7, 14 и 28 дней после криодеструкции кожи. Полученные данные обработаны в статистическом пакете «Statistica 5.5».

В большинстве случаев достоверное уменьшение абсолютной и относительной массы, объема и увеличение плотности обоих легких установлено в первые 7 дней эксперимента.

На гистологическом уровне в первые 3 дня после криодеструкции кожи в легких на первый план выступают нарушения в микроциркуляторном русле. В отдельных участках легких через 3 дня после начала эксперимента выявляются утонченные межальвеолярные перегородки и увеличение размеров альвеол без нарушения их структуры. Максимальный уровень повреждений в легочной ткани отмечается через 7 дней. В этот срок участки дис- и ателектазов принимают форму „сливных полей”. С 14 суток и до конца эксперимента проявления повреждений легочной ткани значительно уменьшаются, а компенсаторно-приспособительных реакций, наоборот, максимально выражены.

На ультраструктурном уровне в первые 3 дня после криодеструкции кожи установлены признаки повышения проницаемости эндотелия микрососудов, отек основного вещества соединительной ткани межальвеолярной перегородки, нарушение структуры базальных мембран, повреждения альвеолоцитов I типа, начальные проявления дистрофических изменений в альвеолоцитах II типа. Уже с первого дня в респираторном эпителии, несмотря на внутриклеточный отек, наблюдались признаки репаративной регенерации клеток. Через 7 дней после криодеструкции кожи отмечается укрепление эластического и коллагенового каркаса межальвеолярных перегородок, которое сохраняется до конца эксперимента. Максимальные деструктивные изменения выявлялись через 7 дней, с 14 суток проявления повреждения аэрогематического барьера значительно уменьшались, а к 28 суткам – практически не выявлялись.

Уже с первых суток после криодеструкции кожи установлены достоверные различия между большинством гисто- и стереометрических показателей в участках повреждения и компенсации легких при сравнении их с интактными животными. Максимальные изменения большинства микрометрических показателей в участках повреждения респираторного отдела легких отмечаются в промежутке между 7 и 14 днем после холодной деструкции кожи; а в участках компенсации легких – в промежутке от 14 до 28 дня. Обращает на себя внимание достоверное уменьшение через 7 дней после криодеструкции кожи проявлений компенсаторных процессов в участках компенсации легких с последующим пиком их увеличения на 14 день эксперимента. Динамика изменений микрометрических показателей легких в участках повреждения и компенсации коррелирует с динамикой изменения гистологической картины в легких крыс.

Ключевые слова: легкие, морфологические изменения, криодеструкция кожи, крысы.

ANNOTATION

Datsenko G.V. Morphological changes in lungs of the rats after skin cryodestruction.– Manuscript.

Dissertation for competition for scientific degree of Candidate of Medical Sciences on speciality 14.03.01 – normal anatomy. – Vinnytsia National M.I. Pyrogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsia, 2003.

The dissertation is devoted to complex investigation dynamics of injury and compensatory-adaptive reactions of lungs of the rats during one month after skin cryodestruction on different levels of structural organization. It was traced by the author for the first time that most denominated dystrophic and destructive changes in the lungs are marked on light microscopic and electron microscopic levels after 7 days from local skin cryodestruction and maximal manifestations of compensatory-adaptive reactions are marked between 14 and 28 days. Based on performed morpho- and stereometrical investigations quantitative criteria characterized both injury and adequate compensatory-adaptive reactions of lungs on different levels of their structural organization after skin cryodestruction were traced at first. Dynamics of changes in lungs micrometric readings of experimental animals in areas of injury and compensation ties up with dynamics of histological changes in lungs.

Key words: lungs, morphological changes, skin cryodestruction, rats.