

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

РАДЬОГА РУСЛАН ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК: 616.12:616-001.17:541.49:612.08

**МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ МІОКАРДА ЛІВОГО ШЛУНОЧКА У РАННІ
ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ШКІРИ ТА ЗА УМОВ
ЗАСТОСУВАННЯ ІНФУЗІЙНИХ 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
Фоміна Людмила Василівна, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, професор кафедри анатомії людини.

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, доцент **Нефьодова Олена Олександрівна**, ДЗ “Дніпропетровська медична академія МОЗ України”, завідувач кафедри клінічної анатомії, анатомії і оперативної хірургії;
- доктор медичних наук, професор **Федонюк Лариса Ярославівна**, ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”, завідувач кафедри медичної біології.

Захист відбудеться 5 грудня 2018 р. о 10-00 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 2 листопада 2018 р.

**Учений секретар
спеціалізованої вченої ради**

І.М. Кириченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Термічні ураження є однією з найактуальніших медико-соціальних проблем сучасної медицини як у всьому світі, так і зокрема в Україні (Глумчер Ф. С., 2014; Alintas M. A. et al., 2014). Дві третини всіх випадків опікової травми відбуваються у побуті (Багненко С. Ф. и др., 2006). За даними ВООЗ, в мирний час питома частка опікової травми складає від 2% до 12% і займає третє місце серед інших видів травм (Kallinen O. et al., 2012; Osterbur K., 2014).

Опікова травма – це не тільки ушкодження шкірних покривів, але й травматизація всіх органів і систем організму внаслідок стресової реакції судинної системи та впливу токсичних продуктів, які надходять із ділянки опікового пошкодження (Макарова О. І., 2015; Дзевульська І. В., 2016; Ковальчук О. І., 2016). Волков К. С. та співавтори вказують на провідну роль ендогенної інтоксикації у розвитку ультраструктурних змін у серці при експериментальній термічній травмі (Андрієшин О. П., 2000; Rivas E., 2018).

Однак, у науковій літературі практично не висвітлюється стан серця на тлі поліорганної недостатності, що спостерігається при важких опіках (O'Halloran E., 2016).

У першу чергу такі ушкодження впливають на кардіоміоцити та судини мікроциркуляторного русла серця. За даними колективу авторів дана ситуація посилюється через розвиток субмікроскопічних змін у гемокапілярах серця (Вітер В. С., 2013). Подальші зміни інших органів і систем можуть бути опосередкованими, – виникати у наслідок порушення роботи серця.

Сучасні підходи до лікування опікової травми складаються з компенсації та підтримки об'єму циркулюючої крові на сталому рівні, зниженні утворення набряків, відновлення електролітів і білків крові, збільшення перфузії органів і тканин. Для реалізації цих завдань основне місце відводиться інфузійно-трансфузійній терапії (Yeong E.K., 2018; Horst S., 2018; Liu N.T., 2018; Vivó C., 2016).

У цьому плані нашу увагу привернув НАЕС-LX-5 % – новий медикаментозний засіб, розроблений в Інституті патології крові та трансфузійної медицини АМН України і зареєстрований в Україні у 2013 році під торговою назвою «Гекотон». У ході доклінічних випробовувань препарату виявлена його спроможність підтримувати життєво важливі функції організму піддослідних тварин та органопротекторну дію в умовах експериментальної опікової травми (Макарова О. І., 2015; Дзевульська І. В., 2016, Семененко О. М., 2016). На даний момент накопичений великий об'єм інформації щодо змін багатьох внутрішніх органів після опікової травми (Волков К. С., 2015; Черкасов В. Г., Ковальчук О. І., 2016; Небесна З. М., 2016), однак невизначеними залишаються макрометричні, гістологічні та ДНК-цитометричні особливості змін міокарда щурів у ранні терміни після термічної травми середнього ступеню важкості та при корекції виявлених змін колоїдно-гіперосмолярними розчинами НАЕС-LX-5 % та лактопротеїну з сорбітолом (ЛС), що визначає актуальність даного дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконане відповідно до основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих,

технічних і гуманітарних наук МОН і НАН України (п. 2.2.4. Молекулярні, біохімічні, морфологічні і фізіологічні основи розвитку хвороб людини і розробки методів їх лікування). Робота зареєстрована як ініціативна наукова тематика, що виконується у Вінницькому національному медичному університеті (ВНМУ) ім. М. І. Пирогова “Морфологічні зміни серця у ранні терміни після опікової травми шкіри та за умов застосування колоїдно-гіперосмолярних розчинів (експериментальне дослідження)” (№ Державної реєстрації 0118U003941). Тема дисертації затверджена науково-методичною радою ВНМУ ім. М. І. Пирогова (протокол № 1 від 24.09.2012 року) та Проблемної комісії МОЗ і НАМН України “Морфологія людини” (протокол № 19 від 05.11.2012 року).

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

Для реалізації поставленої мети були вирішені наступні завдання:

1. Встановити на макро- та мікроскопічному рівнях особливості будови міокарда лівого шлуночка серця щурів контрольної групи, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl, ЛС і НАЕС-LX-5 %, через 1, 3 та 7 діб експерименту.

2. Встановити морфометричні зміни серця щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри III ступеня, площею 21-23 % поверхні тіла та застосуванні 0,9 % розчину NaCl, ЛС і НАЕС-LX-5 %.

3. Виявити на світлооптичному рівні якісні та кількісні особливості пошкоджень міокарда лівого шлуночка серця щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри та при застосуванні ЛС.

4. Визначити на світлооптичному рівні прояви компенсаторно-приспосувальних змін у міокарді лівого шлуночка серця щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри та при застосуванні розчину НАЕС-LX-5 %.

5. Дослідити клітинний цикл і фрагментацію ДНК в кардіоміоцитах щурів через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри та застосуванні 0,9 % розчину NaCl, ЛС і НАЕС-LX-5 %.

Об'єкт дослідження: морфологічні особливості проявів пошкодження та компенсаторно-приспосувальних змін у серці щурів у ранні строки після опіку шкіри та їх корекції інфузійними розчинами.

Предмет дослідження: макрометричні та гістологічні зміни серця щурів, ступінь інтоксикації, цитологічне дослідження вмісту ДНК у кардіоміоцитах лівого шлуночку через 1, 3 і 7 діб після опікової травми шкіри та її корекції 0,9 % розчином NaCl, ЛС та НАЕС-LX-5 %.

Методи дослідження: експериментальне моделювання; макроскопічний – для візуальної оцінки стану серця; гістологічний – для вивчення мікроскопічної будови структурних елементів серця; морфометричний – для вивчення макрометричних показників серця та кількісної оцінки пошкодження і компенсаторно-приспосувальних реакцій структурних елементів серця; лабораторні – для оцінки рівня інтоксикації та ступеня важкості опікового шоку (визначення молекул середньої маси за методом Габріелян і лейкоцитарного індексу інтоксикації за методом Кальф-Каліфа); цитофлуориметричний – для оцінки клітинного циклу та

фрагментації ДНК в клітинах серця; статистичний – для оцінки достовірності розбіжностей між різними групами порівняння.

Наукова новизна отриманих результатів. Проведене дослідження доповнює та розширює існуючі уявлення про морфологічні зміни міокарда у ранні терміни після опікової травми.

У дисертаційній роботі вперше за допомогою макро-, мікроскопічних і цитологічних методів досліджень встановлені морфологічні зміни в міокарді щурів на різних рівнях його структурної організації у ранні терміни після опікової травми шкіри та особливості їх змін за умови внутрішньовенного введення інфузійних розчинів ЛС та НАЕС-LX-5 %.

Вперше виявлено, що інфузія, проведена впродовж 7 діб інтактним щурам розчинів ЛС, НАЕС-LX-5 % та 0,9 % розчину NaCl не впливає на макроскопічні та мікроскопічні аспекти структурної організації міокарда, не змінює показники клітинного циклу (G0G1-фаза, S-фаза і G2+M-фаза) і фрагментації ДНК (інтервал SUB-G0G1) через 1, 3, 7 діб експерименту, що свідчить про відсутність негативного впливу даних розчинів на міокард лівого шлуночка.

Вперше виявлено, що на клітинному та субклітинному рівнях застосування розчинів ЛС або НАЕС-LX-5 % в умовах опікової травми сприяє покращенню показників інтервалу SUB-G0G1 та S-фази клітинного циклу серця: на сьому добу експерименту для SUBG0G1 на 10,11 % (розчин ЛС) і 12,79 % (розчин НАЕС-LX-5 %) менше ніж у групі тварин з опіком і застосуванні 0,9 % розчин NaCl, $p > 0,05$; показники S-фази у групах опік+ЛС та опік+0,9 % розчин NaCl не відрізнялись, у групі опік+ розчин НАЕС-LX-5 % відповідний показник був на 14 % вищим, $p > 0,05$.

Практичне значення отриманих результатів. Результати проведених досліджень впроваджені в наукову роботу та навчальний процес кафедр гістології, анатомії людини, оперативної хірургії і клінічної анатомії та патологічної анатомії і судової медицини з курсом основ медичного права ВНМУ ім. М. І. Пирогова; кафедри нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри анатомії людини ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Харківського національного медичного університету, ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», Луганського державного медичного університету, Одеського національного медичного університету; кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету; кафедри морфології медичного інституту Сумського державного медичного університету; кафедри анатомії людини та гістології медичного факультету Ужгородського національного університету; у практичну діяльність науково-дослідного центру (НДЦ) ВНМУ ім. М. І. Пирогова.

Результати виконаної роботи можуть стати основою для розробки нових методів інфузійної терапії наслідків тяжкого термічного враження шкіри.

Особистий внесок здобувача. Здобувач брав участь у постановці та проведенні експериментального дослідження. Автор самостійно провів забір, підготовку матеріалу для світлової мікроскопії. Особисто виконав аналіз наукової

літератури за темою дослідження, визначив програму виконання дисертаційної роботи, мету і завдання, обрав методики дослідження, вивчив особливості морфометричних та гістологічних змін міокарда щурів через 1, 3, 7 діб після опікової травми шкіри та при застосуванні інфузійних розчинів, виконав статистичну обробку даних, написав та проілюстрував всі розділи дисертації. Проточна цитометрія виконана за консультативною допомогою к.мед.н., с.н.с. Черешнюка І. Л. (НДЦ ВНМУ ім. М. І. Пирогова). Біохімічні дослідження виконані за консультативною допомогою д.мед.н., проф. Волощук Н. І. (кафедра фармакології ВНМУ ім. М. І. Пирогова). Автором самостійно написано 3 статті в фахових наукових виданнях, 5 друкованих праць у співавторстві з науковим керівником та іншими науковцями, де використаний фактичний матеріал, отриманий дисертантом у процесі дослідження. В роботах, опублікованих у співавторстві, здобувачу належать дані щодо особливостей гістологічних і морфометричних змін у серці щурів, результати щодо визначення змін клітинного циклу та фрагментації ДНК у клітинах серця через 1, 3 і 7 діб після опіку шкіри та при інфузії розчинів ЛС, 0,9 % розчину NaCl і HAES-LX-5 %. Частина даних щодо змін рівня ендогенної інтоксикації щурів протягом 30 днів після опікової травми шкіри та її корекції інфузійними розчинами, була отримана спільно з виконавцями 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 HAES-LX-5 % (експериментальне дослідження)» (№ державної реєстрації: 0112U004187), є колективною з співавторами наукової статті Дзевульської І. В., Черкасова Е. В., Ковальчука О. І., Очеретнюк А. О., Макарової О. І. та Семененко О. М. і також фігурувала в їх докторських та кандидатських дисертаціях (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.; 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.; 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.; Очеретнюк А. О. «Експериментальне обґрунтування корекції колоїдно-гіперосмолярним розчином HAES-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.; 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.; Семененко О. М. «Вплив HAES-LX-5 % на

процеси енергетичного метаболізму і вільнордикального 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.).

Визначення основних напрямків дослідження, інтерпретацію, аналіз і узагальнення отриманих наукових результатів дисертант здійснив спільно з науковим керівником.

Апробація матеріалів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи представлено та оприлюднено на: Науковому конгресі “VI Міжнародні Пироговські читання”, присвяченому 200-річчю з дня народження М. І. Пирогова (Вінниця, 2010), та V з’їзді анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (Вінниця, 2010), XIII Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2016» (Вінниця, 2016), Науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології» присвяченій пам’яті професорів-морфологів Терентьєва Г. В., Роменського О. Ю., Когана Б. Й., Шапаренка П. П., Жученка С. П. (Вінниця, 2017).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 8 наукових праць (з них 3 самостійних), серед яких 5 робіт представлені в наукових фахових виданнях України (з них 2 публікації у виданнях, які включені до переліку міжнародних наукометричних баз).

Структура та обсяг дисертації. Матеріали дисертації викладені українською мовою на 194 сторінках (основний обсяг становить 150 сторінок). Робота містить анотацію українською та англійською мовами, список опублікованих праць, вступ, аналітичний огляд літератури, розділ опису матеріалів і методів дослідження (містить 2 підрозділи), 2 розділи результатів власних досліджень (містять 5 підрозділів), їх аналіз та узагальнення, висновки, список використаних джерел літератури, який налічує 298 джерел (101 викладено кирилицею, 197 – латиницею) і 2 додатки. Дисертаційна робота ілюстрована 65 рисунками, містить 10 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дисертаційне дослідження щодо визначення особливостей морфологічних змін міокарда лівого шлуночка щурів без опіку шкіри, на тлі опікової травми шкіри, при введенні інфузійних препаратів: 0,9 % розчину NaCl, референс-препарату ЛС та препарату НАЕС-LX-5 % (без опіку) та особливостей відповідних структурних змін та показників клітинного циклу клітин міокарда у ранній період після опіку шкіри (відповідно, через 1, 3 та 7 діб), а також за умов його корекції комплексними гіперосмолярними інфузійними препаратами були виконані на 180 білих щурах-самцях масою 160-180 г, отриманих із віварію Державної установи “Інститут фармакології та токсикології НАМН України”.

Піддослідних щурів утримували в умовах віварію ВНМУ ім. М. І. Пирогова на стандартному харчовому раціоні, при вільному доступі до води. Харчування здійснювали у вигляді збалансованого комбікорму відповідно до встановлених норм. Тварин утримували у приміщенні з температурним режимом на рівні 24-25°C, вологість повітря – у межах 40-60 %, при 12-годинному світловому дні. Для експериментальних досліджень використовували цілком здорових тварин:

враховували стан шерстяного покриву, забарвлення шкіри, слизових оболонок та поведінку.

Всі маніпуляції з тваринами та їх утримання проводили відповідно до “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах“, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), також керувалися рекомендаціями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985) і положеннями “Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)” (Стефанов О. В., 2001), у повній мірі дотримувалися правил гуманного відношення до експериментальних тварин, що підтверджено комітетом з біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова (протокол № 1 від 14.01.2010 року; протокол № 4 від 11.06.2018 року).

Дисертаційне дослідження було проведене на базі проблемної науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку НДЦ ВНМУ ім. М. І. Пирогова, що сертифікована ДФЦ МОЗ України (посвідчення № 003/10 від 11.01.2010 року) та хімічної наукової лабораторії кафедри фармакології ВНМУ ім. М. І. Пирогова, сертифікованої ДФЦ МОЗУ (посвідчення №000679 від 11.01.2008 року).

Відповідно до завдань дослідження тварин поділили на контрольну (інтактну) та шість піддослідних груп, в яких було виділено по 3 підгрупи згідно строкам виведення щурів з експерименту: перша група – контрольна (катетеризовані та депільовані щури); друга група – щури без опіку, яким проводили внутрішньовенну інфузію 0,9 % розчину NaCl; третя група – щури без опіку, яким проводили інфузію розчину ЛС; четверта група – щури без опіку, яким проводили інфузію розчину НАЕС-LX-5 %; п’ята група – щури після опіку шкіри, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl; шоста група – щури після опіку шкіри, яким проводили інфузію розчину ЛС; сьома група – щури після опіку шкіри, яким проводили інфузію розчину НАЕС-LX-5 %.

Опікову травму викликали шляхом прикладання до поголених поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку, кожна пластинка площею 13,86 см²), які попередньо були підігріті до 100°C у воді з відповідною температурою протягом 6 хвилин (Regas F. C., Ehrlich H. P., 1992; Gunas I. et al., 1997). Експозиція нанесення опікової травми була 10 с. При створених умовах загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складала 21-23 %, що є достатнім для формування опіку II-III ступеня та розвитку шокового стану середнього ступеня важкості (Гусак В. К. и др., 2000; Шано В. П. и др., 2002; Козинець Г. П. та ін., 2008; Мусселиус С. Г., 2008). Гоління тварин, катетеризацію магістральних судин, створення опіків та декапітацію тварин здійснювали під дією внутрішньовенного пропофолового наркозу, із розрахунку 60 мг/кг маси тварини.

Після виведення тварин із експерименту вилучали серце з наступним визначенням: повздовжнього розміру (висота), поперечного розміру (ширина), передньо-заднього розміру (товщина), об’єму та ваги.

Масу піддослідних щурів визначали за допомогою використання чашкової ваги з точністю до 1 г. Абсолютну масу серця визначали на торсійних техніко-хімічних терезах першого класу типу Т-200 з граничним навантаженням 200 г та з

точністю при 10 % навантаженні ± 25 мг.

Матеріалом для гістологічного дослідження в усіх випадках слугував міокард лівого шлуночка щурів. Отримані препарати фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну протягом 48 годин, промивали, зневоднювали шляхом проведення через батарею спиртів зростаючої концентрації, проводили через хлороформ та готували з них парафінові блоки. Зрізи лівого шлуночка товщиною 5-7 мкм готували на ротаційному мікротомі (серії НМ 340Е), розміщували на склі. Для вивчення морфоцитархітектоніки лівого шлуночка забарвлювали зрізи гематоксилін-еозином та за Ван-Гізон (для встановлення змін питомої ваги сполучної тканини міокарда). Гістологічне дослідження міокарда здійснювали на мікроскопі Laborlux S (Leitz) при збільшеннях у 40, 100, 200 і 400 разів.

Гістоморфометричне дослідження проводили за допомогою цитофотометричного комплексу «Olimpus BX-41» (програмне забезпечення «Quick PHOTO MICRO 2.3»). Визначали наступні показники: товщина (діаметр) кардіоміоцитів, площа поперечного їх перетину, площа поперечного перетину ядер, ширина зони перимізію та ендомізію, питома вага сполучної тканини (у забарвленні за Ван-Гізон). Також визначали індекс Керногана для артеріол та вен у судинах кровоносного мікроциркуляторного русла міокарда лівого шлуночка серця.

Спільно з виконавцями 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 лактопротейном з сорбітолом та НАЕС-LX-5 % (експериментальне дослідження)» проводили дослідження ступеня інтоксикації за рівнем молекул середньої маси (Габриэлян Н. И и др., 1995; Корякина К. В., 2004) та показник лейкоцитарного індексу інтоксикації (ЛІІ), який розраховували за формулою Я. Кальф-Каліфа (Андрейчин М. А. та ін., 1998; Гусак В. К. и др., 2000; Мусселиус С. Г., 2008).

Проточну ДНК-цитофлуорометрію виконували у НДЦ ВНМУ ім. М. І. Пирогова на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитофлуорометрі "Partec PAS" фірми Partec (Німеччина). Для збудження флуоресценції DAPI застосовували УФ-випромінювання. З кожного зразка ядерної суспензії аналізу підлягало 10 тис. подій. Розподіл ДНК, що відображає клітинний цикл і фрагментацію ДНК, представлено на рис. 1 гістограмою з використанням лінійної шкали. Обрахунки, побудова графіків, циклічний аналіз клітин виконували за допомогою прикладного програмного забезпечення FloMax (Partec, Німеччина), яке було надано фірмою-виробником до апаратури, 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 клітин у фазі синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2с та < 4с); G2 + M – відсоткове співвідношення клітин у фазі G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4с), або клітини з вмістом ДНК=4с; визначення фрагментації ДНК виконано шляхом виділення SUB-G0G1 ділянки на ДНК-гістограмах – RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК < 2с (це відсоток ядер клітин в стані апоптозу); IP – показник проліферації (проліферативний індекс), який визначається за сумою показників S + G2 + M (чим більші його значення, тим інтенсивніша проліферація і навпаки – чим менше

значення, тим менша проліферативна активність); ВР – блок проліферації (оцінюється за співвідношенням: $S / (G2 + M)$ – збільшення числа клітин в фазі G2 + M при низьких значеннях S-фази свідчить про затримку (блок проліферації) клітинного циклу в стадії G2 + M.

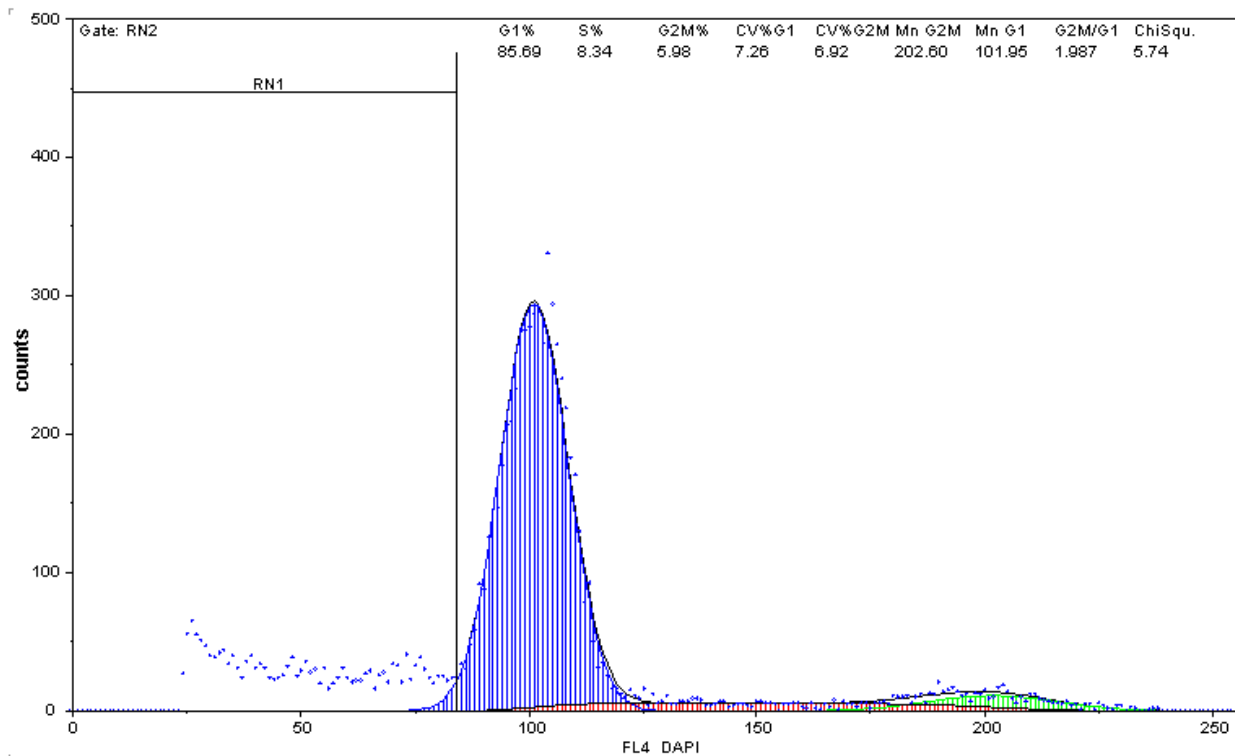


Рис. 1. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин міокарда щура через 7 діб після опіку шкіри на фоні застосування НАЕС-LX 5%. RN1 (Фрагментація ДНК, SUB-G0G1) – 22,80 %.

Статистична обробка результатів проведена в пакеті «STATISTICA 5.5» (належить ЦНІТ ВНМУ ім. М. І. Пирогова, ліцензійний №АХХR910А374605FA).

Результати дослідження та їх аналіз. Введення тваринам без опікової травми фізіологічного розчину не призвело до будь-яких патологічних змін у міокарді лівого шлуночка на тканинному (світлооптичному) рівні.

У міокарді лівого шлуночка експериментальних тварин без опікової травми, після введення їм колоїдних гіперосмолярних розчинів – ЛС та НАЕС-LX-5 %, на гістологічному рівні також не виявлено структурних порушень та змін кровопостачання, які б свідчили про негативний вплив цих препаратів на міокард лівого шлуночка. Так, товщина кардіоміоцитів, площа поперечного перетину ядер, ширина перимізію та ендомізію, а також індекс Керногана для артеріол та венул не мали статистично значущих або тенденцій відмінностей з відповідними показниками у групі тварин, яким проводили внутрішньовенне введення 0,9 % розчину NaCl. Отримані результати узгоджуються з даними, які отримали у віддалені строки при аналогічному дослідженні інших органів (Макарова О. І., 2015; Дзевульська І. В., 2016).

Більшість змін макрометричних показників серця після опіку шкіри встановлені при застосуванні, у якості протектора, фізіологічного розчину або

розчину ЛС через 3 та 7 діб експерименту (табл. 1).

Таблиця 1

Маса щурів, маса серця та об'єм серця щурів без опікової травми, і у ранній період після опіку шкіри та його корекції інфузійними розчинами (M±σ).

	Маса щурів (г)			Маса серця (г)			Об'єм серця (ml)		
	1 доба	3 доба	7 доба	1 доба	3 доба	7 доба	1 доба	3 доба	7 доба
Контрольна група	165,2± 4,2	176,4± 4,2	191,5± 3,9	0,662± 0,061	0,680± 0,062	0,711± 0,067	0,620± 0,056	0,670± 0,060	0,758± 0,078
NaCl БО	164,8± 3,6	172,0± 4,3	181,6± 4,9	0,641± 0,050	0,657± 0,046	0,688± 0,034	0,717± 0,063	0,730± 0,032	0,752± 0,053
ЛС БО	164,5± 3,8	174,3± 4,2	186,8± 4,2	0,608± 0,054	0,640± 0,050	0,648± 0,048	0,608± 0,046	0,600± 0,051	0,650± 0,056
HAES БО	163,3± 4,2	170,3± 5,8	179,8± 4,4	0,581± 0,048	0,598± 0,052	0,578± 0,052 ^{#,*}	0,641± 0,039	0,667± 0,047	0,583± 0,043 ^{#,*}
NaCl + опік	151,0± 4,1 ^{#,*}	153,6± 3,8 ^{#,*}	154,6± 3,0 ^{#,*}	0,560± 0,043 [*]	0,621± 0,054	0,558± 0,051 ^{#,*}	0,625± 0,042	0,675± 0,037	0,600± 0,039 ^{#,*}
ЛС + опік	159,5± 3,5 ^{**}	163,1± 4,1 ^{*,*} ^{**}	164,6± 3,2 ^{#,*} ^{**}	0,630± 0,054 ^{**}	0,656± 0,060	0,686± 0,058 ^{**}	0,550± 0,050 ^{#,*} ^{**}	0,717± 0,063 [#] ^{**}	0,725± 0,067 ^{**}
HAES+ опік	156,8± 2,1 ^{**}	160,5± 3,5 ^{#,*}	163,8± 4,1 ^{#,*} ^{**}	0,585± 0,054	0,645± 0,059	0,605± 0,052 [#]	0,625± 0,043	0,658± 0,053	0,575± 0,029 ^{#,*} ^{**}

Примітки: тут і в подальшому р – достовірність різниці значень відповідних показників; [#] – р<0,05 порівняно з показниками контрольної групи; * – р<0,05 порівняно з показниками групи 0,9 % NaCl без опіку шкіри; ** – р<0,05 порівняно з показниками групи 0,9 % розчин NaCl + опік.

У щурів із опіком шкіри при інфузії 0,9 % розчину NaCl у міокарді лівого шлуночка були відмічені дрібно-вогнищеві та поширені (через 3 та 7 діб) діapedезні крововиливи у перимізій, а також помірне розширення зони пери- і ендомізю, що оцінено як наявність інтерстиціального набряку міокарда, обмежений субендокардіальний набряк строми міокарда лівого шлуночка. При цьому, через 3 та 7 діб спостерігається фрагментація поодиноких кардіоміоцитів, зони міофібрилярної дегенерації і ділянки з розволокненням і хвилеподібною звивистістю, як поодиноких, так і окремих груп кардіоміоцитів.

При застосуванні ЛС, на відміну від попередньої групи, ушкодження кардіоміоцитів були обмежені лише їх контрактурними змінами та дистрофією. Виразність гістологічних змін міокарда та мікросудин були меншими протягом експерименту, але вони зберігалися до його завершення.

На тлі застосування розчину HAES-LX-5 % у перші 3 доби у всіх полях зору поперечна посмугованість кардіоміоцитів чітко візуалізувалася. Фрагментації кардіоміоцитів на всій площі зрізів не визначалось, проте подекуди зустрічались

поодинокі хвилеподібні волокна. Також мали місце слабо виражені ознаки ушкодження кардіоміоцитів у вигляді їх дистрофії та набухання поодиноких клітин, набряку та розсіяної лімфо-гістіоцитарної інфільтрації строми з переважанням макрофагів, незначне порушення кровообігу у вигляді венулярно-капілярного повнокрів'я, переважно у субендокардіальній зоні. Проте, вже через 7 діб після опіку шкіри відбувалась практично повна нормалізація структурних елементів серцевого м'язу та його кровопостачання.

Результати аналізу морфометричних показників міокарда показали виражений протекторний ефект застосування колоїдних гіперосмолярних розчинів протягом 7 діб після опікової травми шкіри (табл. 2). Причому при використанні розчину НАЕС-LX- 5 % він був подібним до результату використання розчину ЛС, але більш вираженим через 7 діб експерименту. В аналогічні терміни експерименту, при інфузії 0,9 % розчину NaCl тваринам після опікової травми шкіри, відмічено не тільки менш виражений захисний ефект, але й у деяких випадках маже повну його відсутність.

Таблиця 2

Морфометричні показники міокарда щурів без опікової травми, і у ранній період після опіку шкіри та його корекції інфузійними розчинами (M±σ).

Препарат	Доба	Ширина перимізію, мкм	Ширина ендомізію, мкм	Площа перерізу кардіоміоцитів, мкм ²	Діаметр кардіоміоциті В, мкм
Контроль без опіку	1	28,1±1,4	4,6±0,2	121,5±5,7	12,1±0,5
	3	28,8±1,4	4,9±0,2	133,3±6,0	13,0±0,6
	7	28,6±1,4	4,8±0,2	134,2±6,1	13,3±0,6
0,9 % р-н NaCl	1	29,5±1,2	4,9±0,2	161,5±8,1 [#]	14,1 ± 0,4
	3	33,8±1,5	5,1±0,2	113,3±5,2	11,9±0,5
	7	25,3±1,0	4,6±0,2	174,2±8,3 [#]	15,3±0,7
ЛС	1	32,0±1,9	5,3±0,2	118,3±5,9*	12,5±0,5
	3	31,2±1,6	5,6±0,2	154,0±6,6*	14,2±0,7
	7	33,6±1,6	4,7±0,2	110,5±5,5*	11,8±0,5
НАЕС-LX-5 %	1	31,5±1,5	4,7±0,2	134,2±6,7*	13,1±0,7
	3	37,4±1,9	5,2±0,3	163,8±8,7*	14,4±0,7
	7	33,9±1,6	5,0±0,3	127,3±6,1*	12,6±0,6
Опік + 0,9 % р-н NaCl	1	39,8±2,0 ^{#,*}	13,5±0,6 ^{#,*}	122,1±4,2*	13,7±0,4
	3	42,1±2,1 ^{#,*}	16,4±0,8 ^{#,*}	220,6±8,6 ^{#,*}	16,8±0,3 [#]
	7	44,5±2,2 ^{#,*}	18,3±0,9 ^{#,*}	189,7±7,6 [#]	15,7±0,5 ^{#,*}
Опік + ЛС	1	37,7±1,6 ^{#,*}	9,6±0,4 ^{#,*}	160,8±8,0 ^{#,**}	14,1±0,6 [#]
	3	38,2±1,8 [#]	14,3±0,6 ^{#,*}	210,9±10,1 ^{#,*}	16,2±0,8 ^{#,*}
	7	36,6±1,5 ^{#,***}	13,3±0,5 ^{#,***}	202,3±10,1 ^{#,***}	16,0±0,8 [#]
Опік + НАЕС-LX %	1	35,7±1,6 ^{#,*}	10,2±0,5 ^{#,***}	158,7±6,3 ^{#,***}	14,2±0,5 [#]
	3	39,6±1,4 ^{#,*}	13,8±0,6 ^{#,*}	230,7±9,7 ^{#,*}	17,2±0,6 ^{#,*}
	7	28,5±0,9 ^{**}	5,8±0,2 ^{**}	117,5±5,4 ^{***}	13,8±0,6 ^{**}

За даними багатьох сучасних досліджень (Гунас І. В. і др., 2013; Прокопенко С. В. та ін., 2014; Черкасов В. Г. і др., 2014) про зміни впливу різних екстремальних факторів та їх нівелювання можна судити по змінах фаз клітинного циклу. Аналіз отриманих у ході виконання експерименту даних щодо показників клітинного циклу кардіоміоцитів показав стабільність показників міокарда у щурів з інфузією досліджуваних розчинів без опікової травми. Переважна кількість клітин перебували у фазах G0G1 та G2+M, а між показниками фрагментації ядерної ДНК та S-фази зберігався баланс.

При інфузії фізіологічного розчину на фоні опіку шкіри спостерігали посилення процесів апоптозу, що проявлялося більшим показником інтервалу SUB-G0G1 через 3 та 7 діб експерименту у 2,19 та 1,55 рази у порівнянні з тваринами без опіку і яким вводили 0,9 % розчин NaCl ($p < 0,05$). Таке значне зростання фрагментації ДНК ядер кардіоміоцитів, на нашу думку, є основним показником патогенно індукованого апоптозу, що, у подальшому, може призвести до розвитку незворотного ушкодження клітин, що узгоджується з результатами інших досліджень (Чайковський Ю. Б. та ін., 2014; Ocheretna N. P. et al., 2017). Також при інфузії 0,9 % розчину NaCl, спостерігали більший відсоток диплоїдних ядер у тварин з опіковою травмою та менший відсоток тетраплоїдних – майже вдвічі, що відобразилося на збільшенні співвідношення 2c/4c, яке становило $(10,97 \pm 1,21)$ проти $(6,22 \pm 0,57)$ у тварин відповідної групи без опіку шкіри. Зміна співвідношення між відсотком 2c та 4c ядер у даному випадку свідчила про посилення спроможності до регенерації ушкодженого органа. Все вищезначене вказує на тривале, некореговане порушення клітинного циклу та його недостатньо ефективну нормалізацію на фоні використання 0,9 % розчину NaCl у перші 7 діб після опіку шкіри.

Дослідження показників клітинного циклу ядер кардіоміоцитів щурів при корекції морфологічних змін, які виникли при опіковій травмі, колоїдними гіперосмолярними розчинами в експерименті показало, що при використанні ЛС відсоток ядер, які перебувають в інтервалі G0G1, через 1 добу був більшим на 5,8 % ($p < 0,05$) порівняно з тваринами, яким після опіку проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl. При цьому відсоток ядер у пресинтетичній фазі у кардіоміоцитах тварин, яким вводили НАЕС-LX-5 %, був наближеним до такого у тварин, яким вводили фізіологічний розчин. Через 3 доби після опіку цей показник у групах тварин, яким вводили фізіологічний розчин або ЛС суттєво не різнився, а у при введенні НАЕС-LX-5 % був вищим на 2,8 %. Можна припустити, що деяке відновлення показників клітинного циклу кардіоміоцитів через 3 доби після опіку виникає ще до прояву гістологічних ознак регенерації, які, за даними літератури, виявляються у строки 14-30 діб (Чайковський Ю. Б., 2014). Через 7 діб експерименту найвищий показник відсотка ядер кардіоміоцитів в інтервалі G0G1 ми спостерігали у групі тварин яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl (на 3,8 % більший, ніж при введенні ЛП або НАЕС-LX-5 %).

Відсоток клітин, які перебували у постсинтетичній та мітотичній фазах (інтервал G2M) клітинного циклу ядер кардіоміоцитів в умовах опікової травми та лікуванні колоїдними гіперосмолярними розчинами представлений таким чином: у групі опікова травма+НАЕС-LX-5 % цей показник через 1 та 7 діб був вищим від

такого у тварин групи порівняння на 14,6 % та 36,7 %, але через 3 доби експерименту був нижчим на 24,2 %, тоді як у тварин групи опікова травма+ЛС він був більшим, ніж у тварин після опіку шкіри, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl у всі строки експерименту. Ми вважаємо, що це може вказувати на незавершену репаративну регенерацію кардіоміоцитів на тлі лікувально-профілактичного введення ЛС.

При дослідженні фрагментації ДНК ядер кардіоміоцитів, яка є основним показником апоптозу та представлена на гістограмах інтервалом RN1, відсоток ядер з ознаками фрагментації ДНК був постійно вищим при використанні гіперосмолярних розчинів у якості протектора уражень внутрішніх органів, ніж у тварин яким проводили внутрішньовенну інфузію 0,9 % розчину NaCl без та на фоні опіку шкіри. Тільки через 7 діб експерименту цей показник знизився у групі тварин, яким вводили НАЕС-LX-5 % порівняно з щурами після опіку шкіри, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl на 12,8 %, але не досягав значень у групі щурів без опіку, яким проводили внутрішньовенну інфузію 0,9 % розчину NaCl, перевищуючи їх на 34,9 %. Таким чином використання НАЕС-LX-5 % у якості протектора тільки через 7 діб проявляє захисну дію на ядерний апарат клітин, зменшуючи показник апоптозу. Про це може свідчити збільшення і показника S-фази, виявлене через 7 діб після опікового ураження, що, у свою чергу, вказує на недостатні процеси репарації кардіоміоцитів у ранній період перебігу опікової травми.

Таким чином, нами встановлено, що опікова травма площею 21-23 % поверхні тіла викликає розвиток морфологічних змін міокарда на різних рівнях структурної організації, які обумовлені процесами ураження та відповідними компенсаторно-приспосувальними реакціями. Морфологічно доведено, що використання інфузійних колоїдно-гіперосмолярних розчинів ЛС і НАЕС-LX-5 % позитивно впливає на репаративну здатність міокарда, причому розчин НАЕС-LX-5 % здійснив потужнішу протекторну дію і є перспективним для корекції морфологічних змін міокарда на тлі опікової травми.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено нове вирішення науково-практичної задачі, яка полягає у встановленні морфологічних змін міокарда на різних рівнях структурної організації після термічного ушкодження шкіри II-III ступеня площею 21-23 % поверхні тіла щурів при застосуванні 0,9 % розчину NaCl, ЛП або НАЕС-LX-5 % через 1, 3 та 7 діб експерименту.

1. Введення інтактним тваринам фізіологічного розчину, ЛС та препарату НАЕС-LX-5 % не мало негативного впливу на морфологію міокарда лівого шлуночка, та не призвело, у визначені терміни, до значних морфологічних змін на тканинному рівні. Гістологічна будова міокарда лівого шлуночка, морфометричні показники у зазначених групах тварин достовірно не різнилися між собою.

2. Найбільш виражені зміни більшості макрометричних показників серця та вплив наслідків опіку на зміни цих показників були виявлені через 3 та 7 діб при застосуванні, у якості протектора, фізіологічного розчину та розчину ЛС. При інфузії 0,9 % р-н NaCl на 7 добу достовірно меншими ($p < 0,05$), у порівнянні з показниками

контрольної групи, були маса серця та об'єм серця, на 3 та 7 добу – маса щурів. При інфузії розчину ЛС достовірно меншою ($p < 0,05$) виявилась маса щурів на 7 добу, та достовірно більшим ($p < 0,05$) об'єм серця на 3 добу експерименту.

3. При застосуванні ЛС у міокарді виявлені ознаки набряку перимізію та ендомізію (до $(36,6 \pm 1,5)$ мкм та $(28,5 \pm 0,95)$ мкм відповідно), розлади кровообігу: стаз і еритропедез, перерозподіл крові з артеріолярної до венулярної ланки гемомікроциркуляторного русла, які були виражені на 3-ю та 7-у добу, мали місце осередки продуктивного запалення і достовірно значних ($p < 0,05$) дистрофічних змін кардіоміоцитів (діаметр кардіоміоцитів склав $(16,0 \pm 0,75)$ мкм, площа поперечного перетину кардіоміоцитів дорівнювала $(202,3 \pm 10,1)$ мкм²).

4. При використанні НАЕС-LX- 5% у перші три доби експерименту на світлооптичному рівні ми виявляли поодинокі хвилеподібні волокна, поодинокі кардіоміоцити з набуханням, гомогенізацією та еозинофілією цитоплазми у субендокардіальній зоні, розсіяні гістіоцитарні елементи у стромі, однак розлади кровообігу і явища набряку (як стромального, так і внутрішньоклітинного) були значно меншими. Вже на 7-му добу у тварин, які отримували НАЕС-LX- 5 %, зміни у міокарді (набухання поодиноких кардіоміоцитів з еозинофілією цитоплазми) мали мозаїчний характер, гістологічна будова серцевого м'яза була близькою до такої у групах тварин без термічного ушкодження.

5. Застосування розчинів ЛС та НАЕС-LX-5 % у порівнянні з фізіологічним розчином через 7 діб після опікової травми статистично значуще підвищує кількість клітин у фазі G2+M та S, що, відповідно, підсилює індекс проліферації. Показники інтервалу SUB-G0G1 при застосуванні комбінованих розчинів також були співставними та нижчими, ніж аналогічні показники при застосуванні 0,9 % розчину NaCl на 10 та 13 %, відповідно, що вказує на зниження рівня апоптичної активності при застосуванні даних препаратів.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Фоміна Л. В. Морфологічні зміни в серці щурів після локальної гіпертермії шкіри / Л. В. Фоміна, Р. В. Радьога // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – № 2 (2). – С. 277-279. *(Здобувач провів експериментальне дослідження, здійснив аналіз отриманих результатів, підготував статтю до друку).*
2. Фоміна Л. В. Морфологічні зміни у міокарді щурів в умовах інфузійної корекції експериментальної опікової хвороби / Л. В. Фоміна, Р. В. Радьога // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2017. – № 5 (7). – С. 69-73. *(Здобувач провів літературний пошук, виконав експериментальні дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).*
3. Фоміна Л. В. Структурні зміни міокарда щурів у ранньому періоді експериментальної опікової хвороби / Л. В. Фоміна, В. М. Андрійчук, Р. В. Радьога // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2017. – № 29. – С. 45-49. *(Здобувачем проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів, формулювання висновків).*
4. Radoga R. V. Indicators of the cardiomyocytes` cells cycle under infusion of blood substitutes and in the correction of experimental burn injury by 0,9% NaCl solution / R. V. Radoga // Reports of morphology. – 2018. – № 24 (1). – P. 62-68. *(Видання*

входить до переліку міжнародних наукометричних баз).

5. 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, ЛС та НАЕС-LX-5 % / Гунас І. В., Кондрацький Б. О., Нурметова І. К., Дзевульська І. В., Ковальчук О. І., Черкасов Є. В., Бебешко Н. П., Булько І. В., Вітрук Т. К., Галунко Г. Н., Міронов Є. В., Макарова О. І., Очеретнюк А. О., Поліщук Т. В., Радьога Р. В., Семененко О. М., Ситнік О. В. // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 29-34. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз. Здобувач приймав участь в проведенні експериментальних досліджень, описі та узагальненні отриманих результатів).*
6. Радьога Р. В. Зміни показників клітинного циклу кардіоміоцитів при експериментальній опіковій хворобі в умовах застосування кровозамінників / Р. В. Радьога // Молодий вчений. – 2017. – № 11 (51). – С. 100-104.
7. Зміни мікрметричних показників серця і легень у статевозрілих щурів-самців після глибоких опіків шкіри / О. І. Макарова, А. О. Очеретнюк, Т. В. Поліщук, Р. В. Радьога // Матеріали наукового конгресу «IV міжнародні Пироговські читання», присвяченого 200-річчю з дня народження М.І. Пирогова. V з'їзд анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України, 2-5 червня 2010 р., м. Вінниця. – Вінниця, 2010. – С. 88. *(Здобувач приймав участь у проведенні наукових досліджень, оцінці мікрметричних показників міокарда у ранній період після термічного опіку).*
8. Радьога Р. В. Динаміка морфологічних змін міокарда щурів в умовах експериментальної опікової хвороби / Р. В. Радьога // Науково-практична конференція «Прикладні аспекти морфології» присвячена пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г.В., Роменського О.Ю., Когана Б.Й., Шапаренка П.П., Жученка С.П., 21-22 вересня 2017 р., м. Вінниця. – Вінниця, 2017. – С. 133-135.

АНОТАЦІЯ

Радьога Р.В. Морфологічні зміни міокарда лівого шлуночка у ранні терміни після опікової травми шкіри та за умов застосування колоїдно-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.

Дисертаційна робота присвячена доклінічному вивченню морфологічних змін міокарда щурів у ранні терміни після опікової травми шкіри та застосуванні колоїдно-гіперосмолярних розчинів ЛС та НАЕС-LX-5 %. В ході дослідження встановлено, що макрометричні та гістологічні зміни міокарда щурів після опікової травми шкіри II-III ступеня та внутрішньовенної інфузії розчинів ЛС та НАЕС-LX-5 % проявлялись в значно меншій мірі, ніж у піддослідних тварин, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl. Також введення комбінованих гіперосмолярних розчинів призводить до покращення показників клітинного циклу (S-фаза, G2+M фаза, фаза G0G1) та фрагментації ДНК (інтервал SUB-G0G1) через 1, 3 та 7 діб після

початку експерименту. Внутрішньовенна ж інфузія розчинів ЛС та НАЕС-LX-5 % тваринам без опікової травми не призвела до виникнення морфологічних змін міокарда як на макро-, так і на мікроскопічному рівні структурної організації. Результати виконаної роботи можуть стати основою для розробки нових методів інфузійної терапії наслідків тяжкого термічного враження.

Ключові слова: опікова травма, серце, кардіоміоцити, морфологічні зміни, лактопротеїн з сорбітолом, НАЕС-LX-5 %.

АННОТАЦІЯ

Радёга Р.В. Морфологические изменения миокарда левого желудочка в ранние сроки после ожоговой травмы кожи и в условиях применения коллоидно-гиперосмолярных растворов (экспериментальное исследование) – На правах рукописи.

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

Диссертация посвящена доклиническому изучению морфологических изменений сердца крыс и особенностей клеточного цикла и фрагментации ДНК миокарда в ранние сроки после ожоговой травмы кожи и применении коллоидно-гиперосмолярных растворов лактопротеина с сорбитолом и НАЕС-LX-5 %.

В эксперименте на 180 белых крысах установлено, что инфузия растворов 0,9 % NaCl, лактопротеина с сорбитолом и НАЕС-LX-5 % на протяжении 7 суток животным без ожоговой травмы не влияла на уровень эндогенной интоксикации (лейкоцитарный индекс интоксикации и уровень молекул средней массы), также не привела к возникновению морфологических изменений миокарда как на макро-, так и на микроскопическом уровне структурной организации и не приводила к изменению показателей клеточного цикла (S-фаза, G2+M фаза, фаза G0G1) и фрагментации ДНК (интервал SUB-G0G1) через 1, 3 и 7 суток от начала эксперимента, что свидетельствует об отсутствии негативного влияния препаратов на соответствующие показатели миокарда подопытных животных.

Анализ гистологических изменений в миокарде на светооптическом уровне показал, что у всех животных после нанесения ожоговой травмы происходило повреждение кардиомиоцитов. Преобладали нарушения кровоснабжения сердечной мышцы на уровне сосудов гемомикроциркуляторного русла, прежде всего, - венолярно-капиллярное полнокровие. В то же время, обнаруженные патологические изменения имели разную степень выраженности и распространенности в зависимости от примененного для коррекции состояния фармакологического средства. Наиболее выраженные морфологические изменения наблюдали в миокарде животных с ожоговой травмой после введения 0,9 % раствора NaCl, что подтверждалось морфометрическими данными.

На первые сутки эксперимента встречали участки миокарда с выраженной дистрофией, отеком, некрозом отдельных кардиомиоцитов, образованием небольших очагов продуктивного воспаления, содержащих главным образом макрофаги и лимфоциты. Характер воспаления свидетельствует, что на 7 сутки после применения 0,9 % раствора NaCl, в миокарде крыс еще не закончилось

ремоделирование поврежденных участков миокарда. Применение комбинированных гиперосмолярных растворов уменьшило степень и распространенность структурных изменений в миокарде и сосудах его микроциркуляторного русла, вызванных экспериментальной ожоговой травмой. Уже на 7-е сутки у животных, получавших HAES-LX- 5 %, изменения в миокарде имели минимальный и мозаичный характер, гистологическое строение сердечной мышцы было близко к таковому в группах животных без ожогового повреждения. Признаки воспаления и выраженных расстройств кровообращения также практически отсутствовали.

Результаты проведенного исследования клеточного цикла кардиомиоцитов показали, что применение растворов лактопротеина с сорбитолом и HAES-LX- 5 % в ранние сроки после ожоговой травмы положительно влияет на показатели интервала SUB-G0G1, S-фазы и G2+M фазы ($p < 0,05$). Результаты выполненной работы могут стать основанием для разработки новых, патогенетически обоснованных, методов инфузионной терапии последствий тяжелой ожоговой травмы.

Ключевые слова: ожоговая травма, сердце, кардиомиоциты, морфологические изменения, лактопротеин с сорбитолом, HAES-LX-5 %.

ABSTRACT

Radoga R.V. Morphological changes of the left ventricular myocardium during the early terms after the skin burn injury and under conditions of colloid-hyperosmolar solutions (experimental study) - The manuscript.

The dissertation for a scientific degree of the Candidate of Medical Sciences on the specialty 14.03.01- Normal Anatomy-National Pyrogov Memorial Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2018.

The dissertation is devoted to the preclinical study of morphological changes in rats` myocardium during the early stages after burn injury of the skin and the use of colloid-hyperosmolar solutions of lactoproteinum with sorbitol and HAES-LX-5 %. During the study, it was found that macrometrical and histological changes in the rats` myocardium after the skin thermal injury (II-III degree) and intravenous infusion of lactoproteinum solution with sorbitol and HAES-LX- 5 % were manifested to a much lesser extent than the experimental animals infused with 0, 9 % NaCl solution. By the way, the introduction of combined hyperosmolar solutions leads to a decrease of endogenous intoxication, improvement of cell cycle (S-phase, G2 + M phase, phase G0G1) and DNA fragmentation (SUB-G0G1 interval) in the 1st, 3rd and 7th day after the beginning of the experiment. Intravenous infusion of the HAES-LX- 5 % solution to animals without burn injury did not affect the level of endogenous intoxication and did not lead to morphological changes in the myocardium both at the macro and microscopic level of the structural organization. The results of the work can become the theoretical basis for the development of new methods of infusion therapy against of severe thermal effects.

Key words: burn injury, heart, cardiomyocytes, morphological changes, lactoproteinum with sorbitol, HAES-LX- 5 %.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

BP	– блок проліферації, який оцінюється за співвідношенням: $S / (G2 + M)$;
BO	– без опіку;
ВНМУ	– Вінницький національний медичний університет;
ЛС	– лактопротеїн з сорбітолом;
НДЦ	– науково-дослідний центр.
G0G1	– відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2 с);
G2 + M	– відсоткове співвідношення фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4 с);
IP	– індекс проліферації, який визначається за сумою показників: $S + G2 + M$;
S	– відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2 с та < 4 с);

Підписано до друку 23.10.2018. Замовл. № 688 Формат 60x90 1/16.
Папір офсетний. Друк офсетний. Ум. друк. арк. 0,7. Гарнітура Times New.
Наклад 100 примірників.

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

