

Реферати

**ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ
ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА СОБСТВЕННОЙ
ПЛАСТИНКИ ДЕСНЫ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ**

Гунас И. В., Стеченко Л.О.

Собственная пластинка десны интенсивно васкуляризирована, за счет артерий, которые направлены параллельно поверхности эпителиального пласта. Наши исследования показывают три уровня микроциркуляторного русла собственной пластинки.

Ключевые слова: десна, эпителий, собственная пластинка, аностомозы.

Стаття надійшла 11.05.2015 р.

**STRUCTURAL FEATCHERING OF HMO
MICROVASCULAR ON PLATE OF GUM IN
NORMAL HUMAN GINGIVAL**

Gunas I. V., Stechenko L. A.

Lamina propria gum intensive vascular, by the artery which directed parallel to the structure of the epithelial layer. Our research shows three level of micro vascular of lamina propria of gum.

Key words: gum, pregnancy, the epithelium.

Рецензент Єрошенко Г.А.

УДК 616-071.3/091.8-02:616-001.17]-092.9

С. Б. Крамар

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ
України”, м. Тернопіль

**МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ КРАЙОВОЇ ТА ЦЕНТРАЛЬНОЇ
ДІЛЯНОК ОПІКОВОЇ РАНИ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ**

В експерименті на морських свинках проведені гістологічні та морфометричні дослідження ушкодженої ділянки шкіри в різні терміни після тяжкої термічної травми. Встановлено, що ступінь деструктивних змін епідермісу та дерми залежить від терміну після опіку. Значні судинні розлади та пошкодження структурних компонентів сполучної тканини шкіри сповільнюють регенераторні процеси як в центральній, так і в крайовій ділянці рани, про що свідчать як мікроскопічні спостереження, так і морфометричні показники.

Ключові слова: морфологічні та морфометричні зміни, рана, термічна травма.

Робота є фрагментом НДР “Встановлення особливостей морфофункціонального стану опікової рани і внутрішніх органів та клініко-патогенетичне обґрунтування застосування кріоліофілізованих ксенотканин при термічній травмі” (№ державної реєстрації 0115U001531).

Проблема загоєння ран різної природи залишається однією з найважливіших у теоретичній та практичній медицині [3, 6]. Опікова травма за морфологічними ознаками та клінічним перебігом відрізняється від ран іншої етіології значним за площею некрозом тканин, пролонгованим перебігом альтеративно-ексудативної фази запалення, вторинним поглибленням рани, мікробною контамінацією, затримкою в часі регенераторно-репаративних процесів, порушенням контракції та епітелізації [8, 9, 11]. Проте морфологічні аспекти загоєння такого виду травм залишаються ще мало вивченими. Важливе місце серед мікроскопічних досліджень посідають морфометричні та кількісні методи, які дають можливість більш об'єктивно оцінювати морфофункціональний стан гістологічних структур та виявляти в них закономірності перебігу компенсаторних, пристосувальних, деструктивних та регенераторних процесів [1, 3, 4, 7].

Метою роботи було встановлення морфологічних та морфометричних змін в крайовій та центральній ділянках опікової рани в динаміці після експериментальної термічної травми.

Матеріал та методи дослідження. Експериментальні дослідження виконано на 30 статевозрілих морських свинках. При проведенні досліджень дотримувалися міжнародних правил та принципів “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та з іншою науковою метою” (Страсбург, 1986) і “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах” (Київ, 2001).

Піддослідні тварини були розділені на дві групи: інтактні морські свинки; тварини з тяжкою термічною травмою.

Опік III ступеня на епільовану поверхню шкіри спини тварини наносили водяною парою при температурі 96–97 С протягом 60 секунд під загальним ефірним наркозом. Розміри ділянки ураження становили 18–20 % поверхні тіла.

Для дослідження особливостей морфологічних та морфометричних змін шкіри після опікової травми тварин декапітували за допомогою гільйотини під загальним ефірним наркозом на 1, 7, 14 та 21 доби досліді, що відповідає стадіям шоку, ранньої та пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби [2].

Забір матеріалу для мікроскопічних досліджень проводили згідно загальноприйнятої методики [5, 10]. Шматочки шкіри з центральної та крайової ділянки рани фіксували в 10 % розчині формаліну. Дегідратацію матеріалу здійснювали у спиртах зростаючої концентрації в автоматі для гістологічної обробки тканин АТ-4, заливали в парафінові блоки. Отримані на санному мікротомі МС-2 зрізи товщиною 5–6 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином. Для одержання напівтонких зрізів матеріал фіксували у 2,5% розчині глютаральдегіду з активною реакцією середовища рН 7,3-7,4, приготовленому на фосфатному буфері Міллоніга. Матеріал після 50-60 хвилин фіксації промивали буферним розчином і протягом 20-30 хвилин. Постфіксацію здійснювали 1 % розчином чотириокису осмію на буфері Міллоніга протягом 60 хвилин, після чого проводили його дегідратацію в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол [5, 10]. Напівтонкі зрізи товщиною 1–2 мкм виготовляли на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція), забарвлювали за методом Хайата (1986) [10].

Морфологічні та морфометричні дослідження здійснювали, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Зображення виводили на монітор комп'ютера з мікроскопу MICROmed SEO SCAN за допомогою відеокамери Vision CCD Camera. Морфометричні дослідження проводили за допомогою програм ВидеоТест-5.0, КААРА Image Base та Microsoft Excel на персональному комп'ютері. Дослідження здійснювали у визначені терміни досліду в препаратах забарвлених гематоксиліном і еозином та за методом Хайата. Морфометрично у крайовій та центральній ділянках рани визначали товщину епідермісу, кількість клітин фібробластичного ряду на одиницю площі, зовнішній та внутрішній діаметри капілярів.

Кількість клітин фібробластичного ряду на одиницю площі визначали за формулою: $N_{\phi} = \frac{\sum \phi}{S_d}$, де N_{ϕ} – кількість фібробластів на одиницю площі (1 мм²), $\sum \phi$ – загальне число фібробластів, S_d – площа дерми.

Статистичну обробку отриманих кількісних даних проводили за допомогою методів варіаційної статистики з визначенням середньої арифметичної величини та її похибки ($M \pm m$), критерію Стьюдента (t) та показника достовірності (p). Достовірними вважаються відмінності при $p \leq 0,05$ (95,5 %) [1, 4].

Результати дослідження та їх обговорення. Мікроскопічні дослідження уражених ділянок шкіри на 1 добу показали, що в експериментальних тварин у стадії шоку виникає коагуляційний некроз епідермісу, дерми та її придатків. Спостерігається набряк сосочкового та сітчастого шарів дерми та їх інфільтрація лейкоцитами. У епідермісі порушується пошарове розташування кератиноцитів, немає чітких меж між ними. Більшість клітин базального та остистого шарів мають пікнотичні, інтенсивно базофільно зафарбовані ядра та гомогенну оксифільну цитоплазму (рис. 1).

Морфометрично встановлено, що товщина епідермісу в центральній ділянці рани в цей термін досліду становить $(35,78 \pm 1,28)$ мкм, що менше показника тварин інтактної групи в 1,47 раза, а у крайовій зоні – перевищує даний показник в 1,25 раза та становить $(65,45 \pm 1,32)$ мкм, що пов'язано з набряком епітелію на периферії.

Судини мікроциркуляторного русла мають розширені кровонаповнені простори та витончену стінку. В окремих капілярах порушення цілісності їх структури супроводжується крововиливами (рис. 2).

Середнє значення діаметру гемокапілярів у центральній ділянці рани дорівнює $(14,07 \pm 0,21)$ мкм, а їх просвіту – $(10,58 \pm 0,26)$ мкм, що перевищують показники тварин інтактної групи в 1,75 раза. У крайовій зоні середнє значення діаметру гемокапілярів становить $(12,03 \pm 0,11)$ мкм, а їх просвіту – $(8,05 \pm 0,24)$ мкм (відповідно в 1,50 та в 1,33 раза більші за показники тварин інтактної групи).

У міжклітинній речовині сполучної тканини дерми наявний набряк і потовщення пучків колагенових волокон, їх гомогенізація, руйнування еластичних волокон. Більшість фібробластів мають інтенсивно базофільні, подовгастої форми ядра, витончені відростки. Кількість клітин фібробластичного ряду на 1 добу досліду у дермі ураженої ділянки шкіри становить (809 ± 21) кл./мм², а у дермі перифокальної зони рани – (1211 ± 22) кл./мм², що менше за відповідні показники тварин інтактної групи в 1,77 та в 1,18 раза.

У стадії ранньої токсемії (7 доба досліду) мікроскопічно чітко розрізняється межа між крайовими і центральними ділянками рани. Товщина епідермісу на периферії рани становить $(71,69 \pm 2,48)$ мкм, що в 1,36 раза перевищує показник тварин інтактної групи. Уражена опіком

ділянка шкіри закрита кірочкою струпа, що формується із зруйнованих епідермоцитів, клітин крові та фібрину. Під нею розташований щільний фібриноідно-некротичний шар. Відмічається також глибокий некроз дерми, який супроводжується значними структурними змінами волосяних фолікулів та сальних залоз, значно пошкоджуються волокнисті структури сосочкового і сітчастого шарів дерми шкіри (рис. 3).

Як і у стадії шоку, наявне пошкодження багатьох судин, їх просвіти тромбовані, стінки місцями зруйновані, що призводить до локальних крововиливів. Порушення проникності гемокапілярів викликає набряк дерми та лейкоцитарну інфільтрацію сполучної тканини (рис. 4).

Морфометрично встановлено, що зовнішній діаметр збережених кровоносних капілярів в ділянці ураження становить $(14,46 \pm 0,24)$ мкм, а діаметр їх просвіту $(11,84 \pm 0,16)$ мкм. Середні значення діаметрів кровоносних капілярів перифокальної зони складають: зовнішній дорівнює $(11,97 \pm 0,31)$ мкм, внутрішній діаметр – $(8,35 \pm 0,26)$ мкм. Ці значення достовірно відрізняються від показників інтактних тварин. У крайовій ділянці рани відмічається також наявність клітин фібробластичного ряду, щільність яких дорівнює (1035 ± 26) кл./мм², що менше у порівнянні з відповідним показником тварин інтактної групи в 1,38 раза, у центральній ділянці рани їх кількість складає (268 ± 18) кл./мм², що нижче показника тварин інтактної групи у 5,34 раза, що пов'язано з деструкцією цих клітин.

Проведені візуальні спостереження шкіри опечених тварин показали, що на 14 добу досліді (стадія пізньої токсемії) в ділянці опіку формується щільний струп, під яким виявляються місця нагноєння. Мікроскопічні дослідження встановили, що в центральних ділянках рани грануляційна тканина має незначну товщину, бідна на клітини фібробластичного ряду (кількість яких становить (439 ± 21) кл./мм²) та лейкоцити. На периферії рани щільність фібробластів складає (1607 ± 34) кл./мм², що перевищує показник тварин інтактної групи в 1,12 раза.

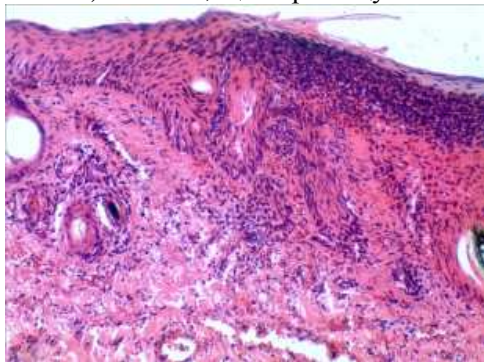


Рис. 1. Мікроскопічні зміни шкіри тварини на 1 добу після термічної травми. Некроз епідермісу та дерми, лейкоцитарна інфільтрація, крововиливи. Заб. г.-е. x 100.

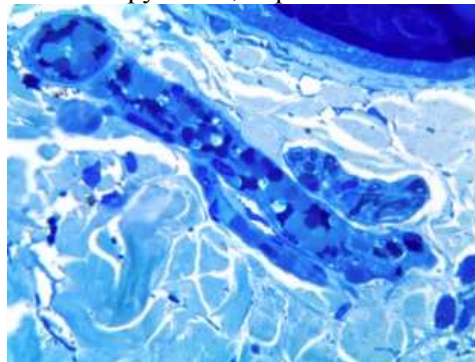


Рис. 2. Мікроскопічні зміни дерми шкіри тварини на 1 добу після термічної травми. Розширені, кровонаповнені судини, набряк міжклітинної речовини. Напівтонкий зріз. Заб. за методом Хайата. x 400.

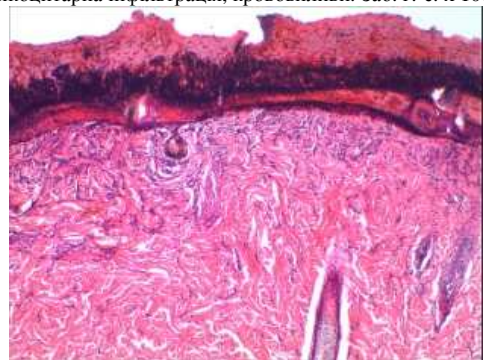


Рис. 3. Гістологічні зміни шкіри тварини на 7 добу після опікової травми. Струп, некроз дерми, пошкоджені волосяні фолікули. Заб. г.-е. x100.

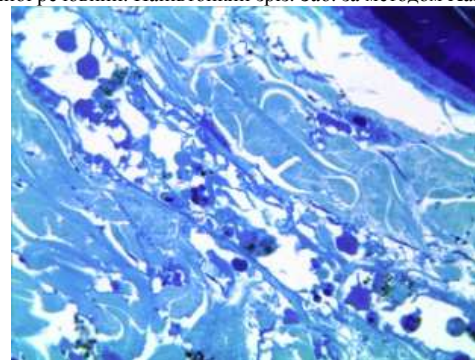


Рис. 4. Мікроскопічні зміни дерми шкіри тварини на 7 добу після термічної травми. Широкий, кровонаповнений просвіт та пошкоджена стінка судини, набряк дерми. Напівтонкий зріз. Заб. за методом Хайата. x 400.

В уражених ділянках дерми пошкоджені і погано структуровані судини мікроциркуляторного русла, проте виявляються новостворені з невеликими просвітами і тонкою стінкою гемокапіляри. Середнє значення їх зовнішнього діаметру становить $6,16 \pm 0,17$ мкм, а просвіту – $5,05 \pm 0,14$.

У периферійних зонах рани спостерігаються початкові ознаки крайової епітелізації. Кератиноцити, що покривають грануляційну тканину розміщуються у два-три ряди і мають направленість росту під струп. Проте такі епітеліоцити мають маленькі розміри, інтенсивно

базофільні ядра та оксифільну цитоплазму, а між ними відсутні чіткі границі. Середнє значення висоти такого регенерату складає $(18,52 \pm 2,33)$ мкм, а товщина епідермісу крайової ділянки рани від якої він відходить, становить $(80,45 \pm 3,07)$ мкм, що перевищує показник тварин інтактної групи в 1,53 раза. Недостатній розвиток та диференціація кератиноцитів в цей термін досліду пов'язаний з порушенням трофіки (рис. 5).

Мікроскопічно в перифокальній ділянці спостерігаються розширені гемокапіляри з пошкодженими стінками, наявний периваскулярний набряк. Середнє значення їх зовнішнього діаметру складає $(10,75 \pm 0,34)$ мкм, а просвіту – $(7,81 \pm 0,21)$ мкм, що відповідно перевищує показники тварин інтактної групи у 1,34 та у 1,29 раза.

У місцях, де спостерігається відшарування струпа, ранова поверхня на значних ділянках вкрита тонким шаром гною. Мікроскопічно у центральній ділянці рани наявні крововиливи, лейкоцитарна інфільтрація, фіброцити, мало фіброblastів (рис. 6).

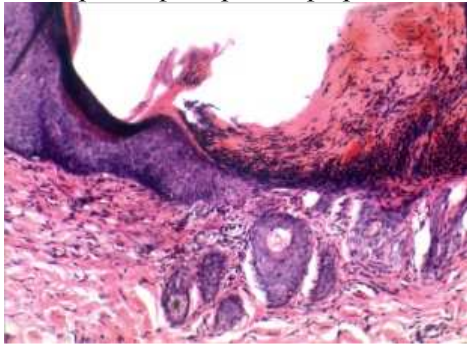


Рис. 5. Гістологічні зміни шкіри тварини на 14 добу після опікової травми. Струп, крайова епітелізація. Заб. г.-е. х 100.

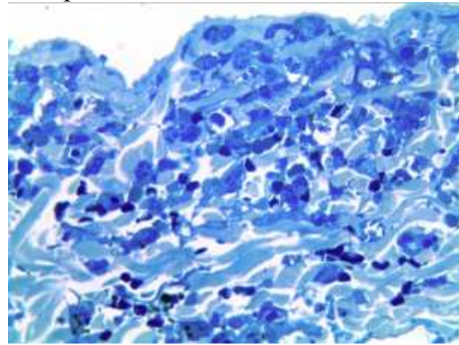


Рис. 6. Мікроскопічні зміни шкіри тварини на 14 добу після опікової травми. Ранова поверхня інфільтрована лейкоцитами, крововиливи в дермі. Напівтонкий зріз. Заб. за методом Хайата. х 400.

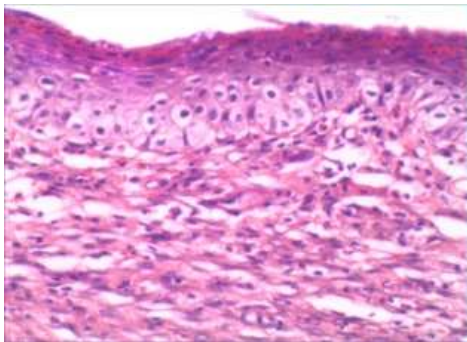


Рис. 7. Гістологічний стан шкіри тварини на 21 добу після опікової травми. Епітелізація рани, вакуолізовані кератиноцити, грануля-ційна тканина. Заб. г.-е. х 200.

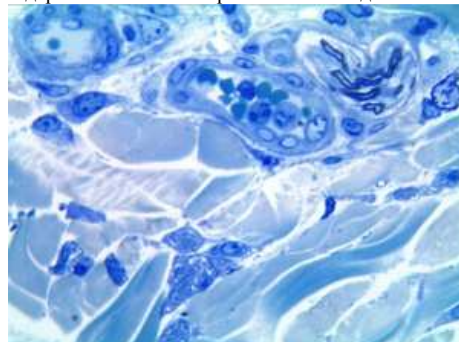


Рис. 8. Мікроскопічні зміни дерми шкіри крайової ділянки рани на 21 добу досліду. Незначний набряк міжклітинної речовини. Напівтонкий зріз. Заб. за методом Хайата. х 400.

Гістологічно встановлено, що на 21 добу досліду (стадія септикотоксемії) в крайових зонах опікової рани епітелізація слабо виражена. Морфометрично виявлено, що товщина епідермісу у цій ділянці складає $(85,38 \pm 2,69)$ мкм.

Тонкий епідермальний регенерат, висота якого становить $(25,45 \pm 2,08)$ мкм, розташовується на погано сформованій грануляційній тканині. Як і в попередній термін досліду, у ній відмічається мало кровоносних капілярів, а також клітин фіброblastичного ряду ((610 ± 23) кл./мм²) та лейкоцитів, не виявляються придатки шкіри. Плазмолемі клітин епітеліального регенерату погано контурюються, їх цитоплазма забарвлюється слабо оксифільно. Частина кератиноцитів має просвітлену вакуолеподібну цитоплазму. Проліферацію цих клітин гальмує відсутність добре розвинутої сполучної тканини та мікроциркуляторного русла (рис. 7).

У нижніх шарах дерми ділянки ураження відмічається незначна кількість новоутворених кровоносних капілярів, діаметр яких становить $(6,75 \pm 0,13)$ мкм, а середнє значення величини їх просвіту складає $(5,01 \pm 0,14)$ мкм.

У крайовій ділянці рани кількість фіброblastів на одиницю площі складає (1750 ± 34) кл./мм², що перевищує показник тварин інтактної групи в 1,22 раза, у міжклітинній речовині сполучної тканини дерми наявні колагенові та еластичні волокна. Морфометричні показники діаметрів кровоносних капілярів дорівнюють $(10,56 \pm 0,13)$ мкм для зовнішнього, та $(7,83 \pm 0,17)$ мкм – для внутрішнього. Судини мікроциркуляторного русла помірно кровонаповнені, їх стінка потовщена, а периваскулярна сполучна тканина набрякла (рис. 8).

Висновки

1. У ранні терміни після термічної травми (1, 7 доби дослідю) відбувається деструктуризація всіх компонентів шкіри. Наявні дисциркуляторні зміни, пошкодження клітин сполучної тканини, достовірно зменшується кількість клітин фібробластичного ряду, як у ділянці ураження, так і у перифокальній зоні. У крайовій ділянці рани товщина епідермісу збільшується в 1,25 раза, проте поширене розташування кератиноцитів порушується, виявлена їх деструкція.
2. У віддалені терміни після термічного ураження (14 і 21 доби експерименту) на тлі значних розладів мікроциркуляції дозрівання грануляційної тканини із формуванням волокнистих структур, а також крайова епітелізація відбуваються сповільнено. У центральних ділянках опікової рани на 21 добу дослідю товщина епідермального шару та щільність клітин фібробластичного ряду достовірно менші за показник тварин інтактної групи відповідно у 2,06 та у 2,35 раза.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку полягають у встановленні морфологічних та морфометричних змін структурних компонентів шкіри при термічній травмі за умов корекції.

Список літератури

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии : учеб. пособие для слушателей системы последиплом. образования / Г.Г. Автандилов // – М. : Медицина, - 2002. – 238 с.
2. Бігуняк В. В. Термічні ураження / В. В. Бігуняк, М. Ю. Повстаний // – Тернопіль: Укрмедкнига, - 2004. – 196 с.
3. Барінов Е. Ф. Критерії оцінки перебігу ранового процесу в шкірі інтактних шурів: від морфології рани до інтерпретації механізмів загонення / Е. Ф. Барінов, О. М. Сулаєва, М. Е. Барінова [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2010. – Т. 10, вип. 1 (29). – С. 4–6.
4. Гумецький Р. Я. Математичні методи в біології : теоретичні відомості, програмований практикум, комп'ютерні тести / Р. Я. Гумецький, Б. М. Паляниця, М. Є. Чабан // – Львів : Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, - 2004. – 122 с.
5. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський // – Житомир : Полісся, - 2005. – 284 с.
6. Еремін Н. В. Ультраструктурная оценка ангиогенеза и клеточного микроокружения в каждой ране под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения / Н. В. Еремін, М. В. Мнихович // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. XIX, № 2. – С. 316–319.
7. Звягинцева Т. В. Морфологические изменения кожи морских свинок после локального ультрафиолетового облучения при применении лекарственных средств с фотопротекторной активностью / Т. В. Звягинцева, В. В. Гринь, О. В. Наумова // Медицина сьогодні і завтра. – 2013. – № 1 (58). – С. 59–63.
8. Курамаєва У. К. Динамика изменений микроциркуляторного русла кожи при ожогах / У. К. Курамаєва // Вестник КРСУ. – 2008. – Т. 8, № 4. – С. 6–8.
9. Ковальчук А. О. Характер регенерації експериментальних опікових ран при проведенні ранньої некректомії з використанням ліофілізованих ксенодермотрансплантатів вторинного зрізу / А. О. Ковальчук // Вісник наукових досліджень. – 2011. – № 1. – С. 70–72.
10. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова // – М.: Медицина, - 1996. – 362 с.
11. Busuioc C. J. Angiogenesis assessment in experimental third degree skin burns: a histological and immunohistochemical study / C. J. Busuioc, F. C. Popescu, G. D. Mogoşanu [et al.] // Rom. J. Morphol. Embryol. – 2011. – Vol. 52, № 3. – P. 887–895.

Реферати

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И MORFOMETРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КРАЕВОГО И ЦЕНТРАЛЬНОГО УЧАСТКА ОЖОГОВОЙ РАНЫ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Крамар С. Б.

В експерименте на морських свинках проведені морфологічні і морфометричні дослідження пошкодженого участку шкіри в різні терміни після тяжкої термічної травми. Установлено, що ступінь деструктивних змін епідермісу і дерми залежить від терміну після опіку. Значні судинні порушення і пошкодження структурних компонентів сполучної тканини шкіри уповільнюють регенеративні процеси як в центральній, так і в крайовій області рани, о чому свідчать мікроскопічні спостереження, так і морфометричні показники.

Ключевые слова: морфологічні і морфометричні зміни, рана, термічна травма.

Стаття надійшла 19.04.2015 р.

MORPHOLOGICAL AND MORFOMETRIC CHANGES OF THE BOUNDARY AND CENTRAL AREAS OF BURN WOUND AFTER EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA

Kramar S. B.

In experiment on guinea pigs morphological and morphometric changes of the damaged area of the skin were studied at different times after severe thermal trauma. It was established that the degree of destructive changes of the epidermis and dermis depends on the period after the burn. Significant vascular disorders and damages of the structural components of skin connective tissue slow down regenerative processes both in the central and in the marginal area of the wound, as evidenced by microscopic observation and morphometric parameters.

Key words: morphological and morphometric changes, wound, thermal trauma.

Рецензент Єрошенко Г.А.