

© Небесна З.М.

УДК: 616.24-008.7-018-02:616-001.17-089.844:599.731.1-035.51]-092.9

*Небесна З.М.*

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України", кафедра гістології та ембріології (вул. Руська 12, м.Тернопіль, 46001, Україна)

## СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ АЛЬВЕОЛОЦИТІВ II ТИПУ РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ ТА ЗАСТОСУВАННІ ЛІОФІЛІЗОВАНОЇ КСЕНОШКІРИ

**Резюме.** В експерименті на білих щурах проведено вивчення субмікроскопічного стану секреторних альвеолоцитів респіраторного відділу легень після термічної травми III ступеня та в умовах застосування подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата. Встановлено, що використання ксеношкіри запобігає розвитку деструктивних змін в альвеолоцитах II типу в ранні терміни дослідження та позитивно впливає на протікання регенераторних процесів і нормалізацію ультраструктури клітин у пізні терміни дослідження та покращує секрецію сурфактанту.

**Ключові слова:** ультраструктурні зміни, альвеолоцити II типу, термічна травма, ліофілізована ксеношкіра.

### Вступ

За даними наукової літератури і згідно наших досліджень глибокі та великі за площею опіки викликають значні структурні зміни в органах усіх систем опеченого організму. Некротичні ураження шкіри при термічних травмах III ступеня, судинні розлади, екзогенна інтоксикація, порушення водно-сольового обміну та інші патогенні фактори є причинами, що викликають значні ураження внутрішніх органів при цій патології [Нагайчук, 2010; Нетюхайло та ін., 2011; Lepekha et al., 2012.; Vtiurin et al., 2008]. Тому перспективним при лікуванні опіків є використання чинників, які зменшують поступлення токсинів до організму з ділянки термічної травми та втрату води і електролітів. Попередньо проведені дослідження фізико-хімічних, біохімічних та біофізичних властивостей подрібненого субстрату із ліофілізованого ксенодермоімплантата характеризують його як новий високоефективний препарат із сорбційно-антитоксичним, пластичним, метаболічним та окисно-відновним потенціалом для закриття опікової рани [Цимбалюк та ін., 2013]. Нанесення даного субстрату на очищену від змертвілих тканин рану попереджує прогресуючу інтоксикацію з вогнища ураження і розвиток інфекції в ранах, зменшує важкість опікової хвороби і сприяє відновленню шкірного покриву в більш короткий термін, що в свою чергу, позитивно впливає на морфофункціональний стан внутрішніх органів опеченого організму, зокрема легень. Проте в науковій літературі мало даних про ультраструктурні зміни альвеолоцитів II типу альвеол легень при термічних ураженнях, а в умовах застосування подрібненого субстрату ліофілізованої ксеношкіри вони відсутні взагалі [Даченко, 2001].

Метою роботи було встановлення електронно-мікроскопічних змін альвеолоцитів II типу респіраторного відділу легень в умовах важкої термічної травми при проведенні ранньої некректомії та закритті рани подрібненим субстратом ліофілізованої ксеношкіри.

### Матеріали та методи

Досліди проведені на 20 статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях, котрих утримували у стандартних

умовах виварію. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили з дотриманням правил "Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними" [Кожем'якін та ін., 2002]. Опікову травму наносили під кетаміновим наркозом двома мідними пластинами площею 14,5 см<sup>2</sup> нагрітими у кип'яченій воді до температури 97-100оС на епільовану поверхню шкіри спини тварини протягом 15 секунд. Розміри ділянки ураження склали 18-20% поверхні тіла тварин. Результати гістологічних досліджень пошкодженої шкіри засвідчили глибину ураження, що відповідає опіку III ступеня.

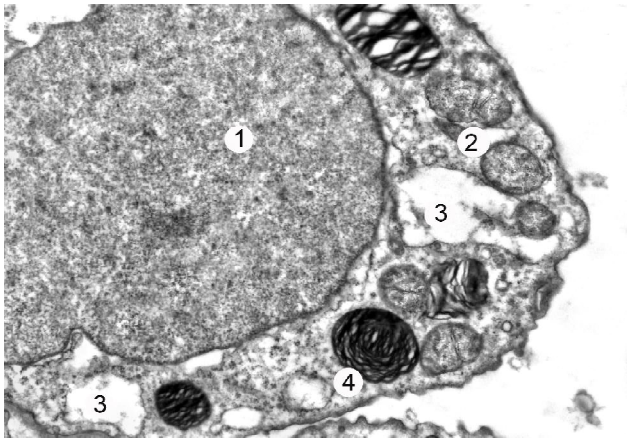
Ранню некректомію уражених ділянок шкіри проводили на 2 добу після нанесення опіку. Рану, яка утворилась, покривали подрібненим субстратом ліофілізованих ксенодермотрансплантатів. Подрібнений субстрат ліофілізованих ксенотрансплантатів з шкіри свині виготовляється підприємством "Комбустіолог" і вони дозволені для клінічного застосування в Україні.

Піддослідні тварини були розділені на такі групи : 1 - інтактні тварини (5 особин), 2 - тварини з опіковою травмою, яким була проведена рання некректомія і закриття рани ліофілізованою ксеношкірою (15 особин).

Тварин декапітували на 7, 14 та 21 доби, що відповідає стадіям ранньої та пізньої токсемії, септикотоксемії опікової хвороби. Для ультраструктурних досліджень забирали маленькі шматочки респіраторного відділу легень, фіксували у 2,5-3% розчині глютаральдегіду, постфіксували в 1% розчині тетраоксиду осмію на фосфатному буфері рН 7,2-7,4, зневоднювали в спиртах і пропіленоксиді та заливали в суміш епоксидних смол [Горальський, 2011]. Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

### Результати. Обговорення

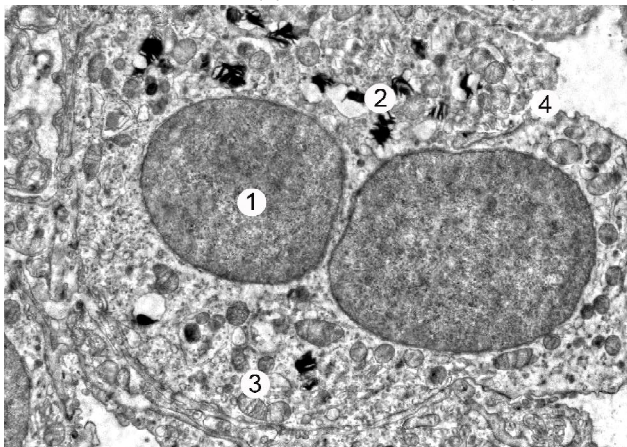
Попередньо проведені дослідження субмікроскопічного стану секреторних альвеолоцитів при експериментальній термічній травмі встановили глибокі, незворотні деструктивні їх зміни.



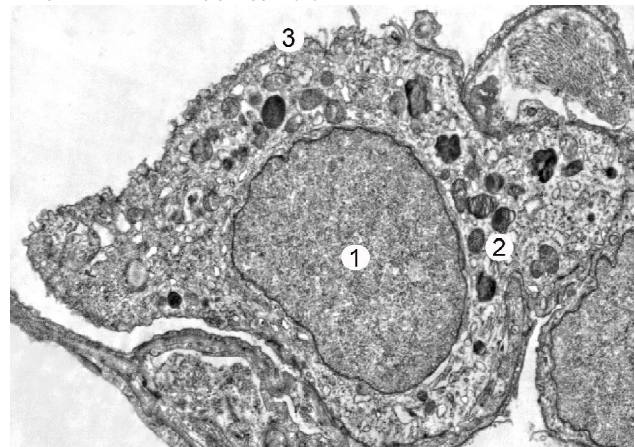
**Рис. 1.** Ультраструктурний стан секреторного альвеолоцита респіраторного відділу легень на 7 добу після термічної травми та застосуванні подрібненого субстрату ліофілізованої ксеноскіри. Ядро (1), мітохондрії (2), розширений каналець ендоплазматичної сітки (3), пластинчасте тільце (4). x24000.



**Рис. 2.** Субмікроскопічні зміни альвеолоцита II типу респіраторного відділу легень на 7 добу після термічної травми та застосуванні подрібненого субстрату ліофілізованої ксеноскіри. Ядро (1), мітохондрії (2), пластинчасті тільця (3), вакуолеподібна структура (4). x17000.



**Рис. 3.** Субмікроскопічна організація секреторного альвеолоцита респіраторного відділу легень на 14 добу після термічної травми та застосуванні подрібненого субстрату ліофілізованої ксеноскіри. Ядро (1), пластинчасті тільця (2), мітохондрії (3), апікальна поверхня клітини з нечисельними мікрворсинками (4). x12000.



**Рис. 4.** Ультраструктурні зміни альвеолоцита II типу респіраторного відділу легень на 21 добу після термічної травми та застосуванні подрібненого субстрату ліофілізованої ксеноскіри. Ядро (1), молоді пластинчасті тільця (2), чисельні мікрворсинки на апікальній поверхні клітини (3). x10000.

На 7 добу експерименту в секреторних альвеолоцитах наявні зміни як у групі нелікованих тварин, проте у частині клітин відмічається початок пристосувально-компенсаторних змін, які проявляються змінами ядра, та органел цитоплазми. Ядра таких клітин мають округлу форму, з неглибокими інвагінаціями каріолеми та нечіткими контурами. Перинуклеарний простір на окремих ділянках значно розширений. Їх каріоплазма містить переважно еухроматин. Поряд з цим зустрічаються секреторні альвеолоцити ядра яких низької електроннооптичної щільності, мають глибокі інвагінації каріолеми та маргінальне розташування хроматину. В наволядерній зоні розміщується комплекс Гольджі з розширеними цистернами та пухирцями. Канальці ендоплазматичної сітки значно розширені, мають нерівні контури, заповнені вмістом низької електронно-оптичної щільності (рис. 1). На зовнішній поверхні їх мем-

бран відмічається невелика кількість рибосом. В цитоплазмі наявні набряклі мітохондрії, кулястої форми, із фрагментованими кристами та гомогенним матриксом. Пластинчастих тілець в таких клітинах небагато вони великі, електроннопрозорі, з поодинокими осміюфільними пластинками. Також наявна невелика кількість зрілих осміюфільних тілець, які мають неправильну форму. Зустрічаються у цитоплазмі великі неправильної форми вакуолеподібні структури. Апікальна поверхня альвеолоцитів II типу містить незначну кількість мікрворсинок (рис. 2). Встановлені зміни ультраструктурної реорганізації альвеолоцитів II типу свідчать про порушення секреції сурфактанту.

На 14 добу експерименту за умов застосування субстрату ксеноскіри в секреторних альвеолоцитах альвеол легень виявляються деструктивні та ознаки початку внутрішньоклітинних, регенераційних процесів з

оновленням ультраструктури їх компонентів. Для альвеоцитів II типу в даний період досліджу характерний поліморфізм їх популяції. Різні зміни відмічаються з боку ядер. В одних клітинах ядра збільшені за розмірами, округло-овальної форми з каріоплазмою низької електронно-оптичної щільності, що надає їм неправильну форму. В інших - нуклеолема утворює глибокі інвагінації. Неоднорідність в ультраструктурі цих клітин проявляється в кількості і будові пластинчастих тілець. Цитоплазма частини клітин містить невелику кількість зрілих і молодих пластинчастих тілець. Різних розмірів секреторні тільця включають осміофільні пластинки і електронно прозорі ділянки, що свідчить про їх формування. Цитоплазма більшості клітин в цей термін досліджу має менш виражений внутрішньоклітинний набряк. В парануклеарній частині цитоплазми виявляються потовщені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, цистерни і вакуолі комплексу Гольджі. Відмічається поліморфізм стану мітохондрій, наявні як гіпертрофовані зі світлим матриксом так і невеликі в стані гіперплазії органели. В більшості мітохондрій чітко контуровані мембрани і кристи.

В цей термін досліджу також наявні молоді секреторні клітини, з двома ядрами, в каріоплазмі яких переважає еухроматин. Цитоплазма без вираженого внутрішньоклітинного набряку, цілісність мембранних органел збережена. Пластинчасті тільця переважно представлені молодими формами. Апікальна ділянка плазмолемми має невеликі мікрворсинки. Такий стан альвеоцитів II типу свідчить про оновлення їх секреторної активності (рис. 3).

Субмікроскопічно на 21 добу за умов корекції термічної травми досліджу в більшості секреторних альвеоцитів переважають ознаки оновлення та підвищення

їх функціональної активності. Ядра таких клітин кулястої або овальної форми із неглибокими інвагінаціями нуклеолеми, чіткими контурами ядерної мембрани та чисельними ядерними порами. Каріоплазма містить переважно еухроматин. У цитоплазмі визначається значна кількість мітохондрій різної величини і форми з матриксом помірної електронно-оптичної щільності. Апарат Гольджі представлений помірно розширеними цистернами, дрібними пухирцями та вакуолями. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки нерівномірно потовщені із чітко вираженими рибосомами на зовнішній поверхні їх мембран. У цитоплазмі відмічаються осміофільні, молоді пластинчасті тільця. На апікальній поверхні альвеоцитів II типу виявляється помірна кількість невисоких мікрворсинок (рис. 4).

### Висновки та перспективи подальших розробок

Отримані результати електронно-мікроскопічних досліджень свідчать, що висічення некротично змінених тканин шкіри з місця ураження та покриття опікової рани подрібненим субстратом ліофілізованих ксенодермотрансплантатів усуваючи джерело поступлення токсинів до організму та запобігаючи їх проникненню ззовні, сприяє зменшенню деструктивних змін та розвитку регенераторних процесів секреторних альвеоцитів респіраторного відділу легень. Збереженість та відносна нормалізація субмікроскопічної організації епітеліоцитів II типу на 21 добу експерименту свідчать про кращий стан секреції цих клітин.

У подальших дослідженнях планується з'ясувати морфологічний стан структурних компонентів легень при термічній травмі з використанням інших коригуючих чинників в експерименті.

### Список літератури

- Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології /Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І.- Житомир: Полісся, 2011.- 288с.
- Даценко Г.В. Динаміка ультраструктурних змін альвеоло-капілярного бар'єра легеневої тканини щурів після кріодеструкції шкіри /Г.В.Даценко /Вісник морфології.- 2001.- Т.7, №1.- С.117-120.
- Нагайчук В.І. Сучасні підходи до надання допомоги хворим з опіками /В.І.Нагайчук //Мистецтво лікування.- 2010.- №5.- С.24-27.
- Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними /[Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А. та ін.].- Київ: Авіцена, 2002.- 156с.
- Нетюхайло Л.Г. Патогенез опікової хвороби (в 2 ч.) /Л.Г.Нетюхайло, С.В.Харченко, А.Г.Костенко //Світ мед. та біол.- 2011.- №1.- С.127-131, 131-135.
- Цимбалюк А.В. Використання подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата для місцевого лікування опікових хворих з інфікованими ранами III-IV ступенів /А.В.Цимбалюк, Н.В.Гуда, О.О.Кирик //Шпитальна хірургія.- 2013.- №1.- С.81-84.
- Lepekha L.N. In vitro effects of pulmonary surfactant on macrophage morphology and function /L.N.Lepekha, E.A.Alexandrova, M.V.Erokhina //Bulletin of Experimental Biol. and Medicine.- 2012.- Vol.- 152.- P.489-493.
- Vtiurin B.V. The comparative characteristics of pulmonary and renal ultrastructural changes in burn sepsis /B.V.Vtiurin, I.A.Chekmareva, E.N.Gordienko [et al.] //Arh. Patol.- 2008.- Vol.70, №1.- P.29-35.

**Небесна З.М.**

### СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АЛЬВЕОЦИТОВ II ТИПА РЕСПИРАТОРНОГО ОТДЕЛА ЛЕГКИХ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ И ПРИМЕНЕНИИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ КСЕНОКОЖИ

**Резюме.** В эксперименте на белых крысах проведено изучение субмикроскопического состояния секреторных альвеоцитов респираторного отдела легких после термического повреждения III степени и в условиях применения измельченного субстрата лиофилизированной ксенокожи. Установлено, что использование ксенокожи предотвращает развитие деструктивных изменений в альвеоцитах II типа в ранние сроки исследования и положительно влияет на протекание регенераторных процессов и нормализацию ультраструктуры клеток в поздние сроки исследования и способствует секреции сурфактанта.

**Ключевые слова:** ультраструктурные изменения, альвеолоциты II типа, термическая травма, лиофилизированная ксенокожа.

**Nebesna Z.M.**

**SUBMICROSCOPIC CHANGES OF THE ALVEOLOCYTE TYPE II OF RESPIRATORY ALVEOLI OF THE LUNGS IN THE DYNAMICS AFTER EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA AND USAGE OF THE LYOPHILIZED XENOGRAFT**

**Summary.** In the experiment on white rats the secretory state of submicroscopic alveolocyte of the respiratory portion of lung was studied after thermal injury in the third degree and conditions of use morselized substrate of lyophilized xenograft. It was established that the use xenograft prevents the development of destructive changes in alveolocyte of type II in the early stages of the experiment and a positive effect on the course of regenerative processes and normalization of ultrastructure of cells in the later stages of the experiment and improves the secretion of surfactant.

**Key words:** ultrastructural changes, alveolocyte of type II, thermal injury, lyophilized xenograft.

Стаття надійшла до редакції 03.12.2013р.

Небесна Зоя Михайлівна - к. біол. н., доцент кафедри гістології та ембріології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України"; Zoyadacenko@gmail.com

© Горай М.А.

УДК: 616.31.612.08

**Горай М.А.**

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова, кафедра терапевтичної стоматології (вул. Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ МЕХАНІЧНОЇ ТРАВМИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА**

**Резюме.** Проведено експериментальне дослідження ефективності лікування хронічної механічної травми на моделі кератозу слизової оболонки порожнини рота у сірійських хом'яків-самців 2-3-місячного віку. Встановлено, що під дією 0,5% розчину ДМБА розвиваються кератотичні зміни в епітелії (гіперкератоз і акантоз) у власній пластинці слизової оболонки, що клінічно відповідало кератозу. Доведена висока ефективність запропонованого методу комплексної терапії хронічних механічних травм: усунення запального процесу на 3 добу лікування та повне відновлення структури епітелію і власно слизової оболонки на 7 добу.

**Ключові слова:** експериментальні дослідження, хронічна механічна травма слизової оболонки, епітелій.

**Вступ**

Проблема лікування хронічних уражень слизової оболонки порожнини рота травматичного походження на сьогоднішній день є невирішеною у зв'язку з поширеною розповсюдженістю та недостатньою ефективністю рекомендованих методів лікування [Данилевський и др., 2001].

Поверхневий епітелій є основною функціональною ланкою слизової оболонки порожнини рота, на якій, в першу чергу, відображається патологічний вплив патогенних чинників [Бородай, 2001]. Інтенсивний вплив хронічного механічного пошкодження на слизову оболонку порожнини рота може викликати її посилене ороговіння - гіперкератоз [Григорян, 1999], або утворення зон деструкції епітелію, з подальшим утворенням ерозій та виразок [Гемонов, Могильный, 1996].

Встановлені нами раніше [Кулигіна, Горай, 2010] зміни мукозального імунітету та ендокринного фону у хворих на хронічну механічну травму слизової оболонки порожнини рота, які впливають на перебіг хронічного запального процесу, що супроводжується глибокими деструктивними та кератотичними змінами в тканинах, стали основою для розробки методу лікування зазначених пошкоджень із ціленаправленим

впливом на місцеві захисні фактори організму хворих. У зв'язку з цим проведення експериментального дослідження на тваринах дозволяє дослідити морфофункціональні зміни поверхневих шарів епітелію, що виникають при гіперкератотичному процесі, - формі, яка найважче піддається клінічному лікуванню [Банченко и др., 2001], при дії хронічного механічного пошкодження слизової оболонки, визначити методику і тактику лікування, та його ефективність.

**Мета** дослідження - в експерименті на тваринах дослідити результати лікування тварин на моделі хронічної механічної травми слизової оболонки порожнини рота у сірійських хом'яків-самців.

**Матеріали та методи**

Дослідження проводили на моделі кератозу слизової оболонки порожнини рота у сірійських хом'яків-самців 2-3 місячного віку відповідно до методики [Годорожа и др., 1983]. З цією метою 45 самцям проводили змащування слизової оболонки лівого зацічного мішка 0,5% розчином 7,12-диметилбенз(а)антрацену (ДМБА) в ацетоні. Змащування слизової оболонки зацічного мішка проводили кісточкою, вивертаючи його,