

© Небесна З.М.

УДК: 616.411-001.7-018-085.324:599.731.1-035.51]-092.9

Небесна З.М.

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

МОРФОЛОГІЧНІ ТА ГІСТОХІМІЧНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЬ У ПІЗНІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ

Резюме. В експерименті на статевозрілих білих щурах-самцях проведені гістологічні та гістохімічні дослідження легень у стадії пізньої токсемії та септикотоксемії після термічної травми III ступеня. Встановлено, що в пізні терміни після опікового ураження (14 та 21 доби) відбуваються значні судинні розлади, деструктивно-дегенеративні зміни бронхів, респіраторного відділу легень та зміни їх гістохімічних показників.

Ключові слова: легені, гістологічні і гістохімічні зміни, термічна травма, пізня токсемія, септикотоксемія.

Вступ

В сучасних умовах інтенсивної індустріалізації, опіки виникають у побуті, на виробництві і досить часто мають летальні наслідки. Особливу небезпеку становлять термічні ураження запалюючими речовинами різного генезу в умовах сучасних війн та терористичних актів. За даними ВООЗ питома вага опікової травми складає до 12%, і займає третє місце серед інших видів травм. Термічна травма супроводжується розвитком структурно-метаболических порушень безпосередньо шкірного покриву та всіх органів і систем ураженого організму та призводить до розвитку складного симптомокомплексу - опікової хвороби [Нетюхайло, 2007; Клименко, Нетюхайло, 2009; Bala et al., 2014], у пізніх термінах якої на фоні різких порушень метаболізму розвивається поліорганна недостатність (ПОН). Найчастіше зустрічається в структурі синдрому ПОН недостатність органів дихання, яка розвивається у зв'язку з прямим термічним ураженням дихальних шляхів, дією токсичних продуктів горіння та екзо- і ендогенних токсинів [Очеретнюк, 2012; Макарова, 2013; Сухомлин та ін., 2014; Pham et al., 2010].

Метою даної роботи було встановлення морфологічного та гістохімічного стану легень тварин в стадії ток-

семії та септикотоксемії після експериментальної термічної травми.

Матеріали та методи

Експеримент проведено на 24 статевозрілих білих щурах-самцях. Тварин утримували у віварії ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України". Догляд за тваринами і всі маніпуляції проводили у відповідності з положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та з іншою науковою метою", (Страсбург, 1986 р.), а також у відповідності до положень "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.).

Опік III ступеня наносили під ефірним наркозом мідними пластинами нагрітими у кип'яченій воді до температури 97-100°C. Розміри ділянки ураження склали 18-20% епільованої поверхні тіла щурів. Піддослідних тварин декапітували на 14 та 21 доби, що відповідає стадіям пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби.

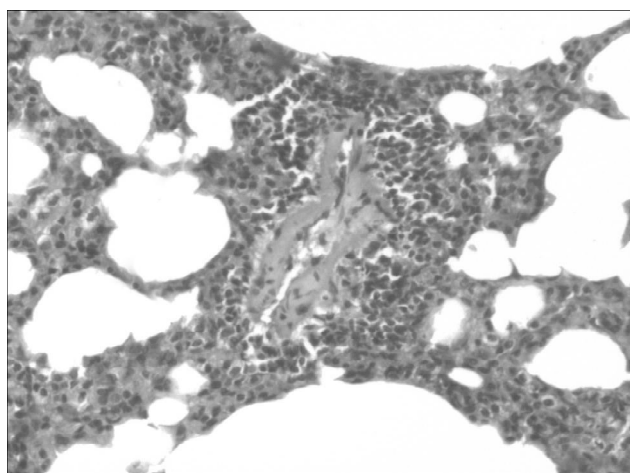


Рис. 1. Мікроскопічні зміни легень тварини на 14 добу після термічної травми. Скупчення лімфоцитів в адвентиційній оболонці спазмованої судини, інфільтрація міжальвеолярних перегородок. Гематоксилін-еозин. x200.

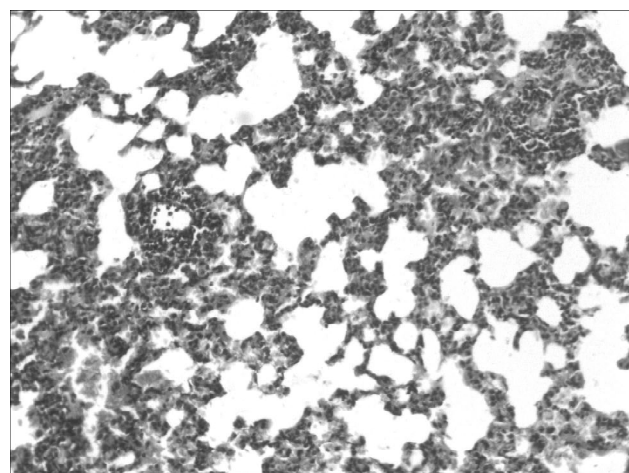


Рис. 2. Мікроскопічні зміни легень тварини на 14 добу після термічної травми. Судини малого калібру з перивазальною лімфоцитарною інфільтрацією, дрібні інтерстиційні крововиливи. Гематоксилін-еозин. x100.

Забір матеріалу для мікроскопічних досліджень проводили згідно загальноприйнятої методики [Саркисов, Перова, 1996; Горальський та ін., 2011]. Шматочки легень фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну, проводили дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації, заливали у парафінові блоки. Виготовлені зрізи, товщиною 5-6 мкм, забарвлювали гематоксиліном-еозином, для дослідження стану сполучної тканини та її основної речовини проводили імпрегнацію сріблом за методом Гордона-Світса (для виявлення ретикулярних та незрілих колагенових волокон), здійснювали ШЙК+"Хейл" реакцію за методом Моурі (для виявлення глікопротеїнів та глікозаміногліканів у міжклітинній речовині сполучної тканини) [Гаврилюк-Скиба, Волков, 2011; Целуйко и др., 2012]. Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа MICROMed SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів.

Результати. Обговорення

При гістологічному дослідженні легень на 14 добу після термічного ураження спостерігаються значні деструктивні зміни судинного русла, бронхіального дерева, строми та паренхіми. Підвищена проникність судинної стінки, зумовлена опіковою токсемією, призводить до периваскулярного, перибронхіального, інтерстиційного та внутрішньоальвеолярного набряку та супроводжується дезорганізацією основної речовини і волокон сполучної тканини. Гістохімічно виявляється зростання глікопротеїнів та деструктуризація глікозаміногліканів, про що свідчать їх чітко виражені ШЙК-позитивні властивості та помірне "Хейл"-позитивне забарвлення. Судини великого та малого калібру кровонаповнені, їх стінка потовщена, ендотелій інтими набряклий та місцями десквамований. У просвітах дрібних судин наявні змішані тромби та сладж-феномен еритроцитів, їх стінка виглядає гомогенною. В збільшеному периваскулярному просторі відмічається значне скупчення лімфоцитів у вигляді муфт (рис. 1).

Мікроскопічно спостерігається, що стінка більшості бронхів незначно набрякла проте наявна їх дифузна лейкоцитарна інфільтрація, а просвіти заповнені слизово-гнійним вмістом і чисельними десквамованими епітеліоцитами.

Для легеневої тканини в стадії пізньої токсемії після термічної травми характерні значні запальні зміни, що проявляються дрібними або великими перифокальними скупченнями лімфоцитів, які мають бронхіальне або судинне походження. Вогнищево спостерігаються екстравазальні та дрібні інтерстиційні крововиливи (рис. 2).

На даний термін досліду відмічається зростання клітинної проліферації в міжальвеолярних перегородках, адвентиції судин та бронхів. Спостерігається значна кількість лейкоцитів, інтерстиційних макрофагів, активних фібробластів.

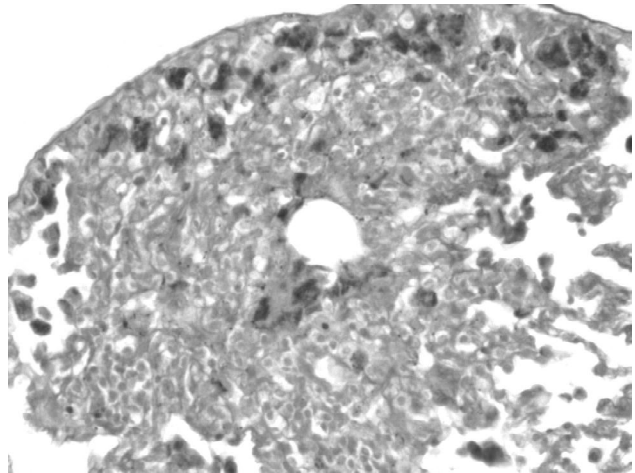


Рис. 3. Гістохімічна організація легень тварини на 14 добу після термічної травми. Сітка помірно ШЙК-позитивних ретикулярних волокон. Помірно ШЙК-позитивні тонкі ретикулярні волокна. Макрофаги з скупченням яскраво "Хейл"-позитивних зерен гемосидерину в сублевральній зоні. Забарвлення за методом Моурі. x200.

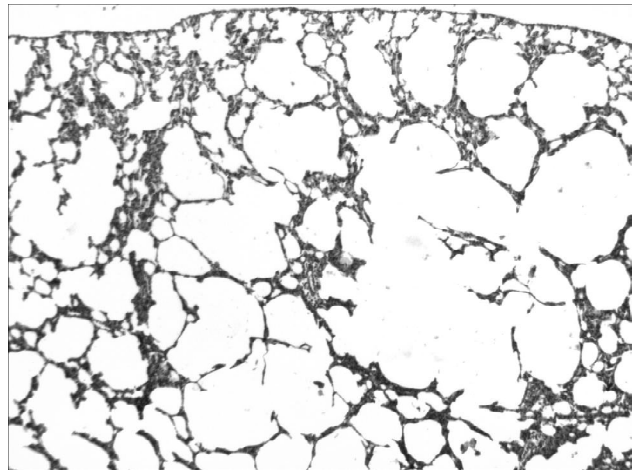


Рис. 4. Мікроскопічні зміни легень щура на 14 добу після термічної травми. Емфізематозно розширені альвеоли. Гематоксилін-еозин. x100.

У ділянках ателектазів, стінці дрібних бронхів, бронхіол, артеріол та венул відмічається чисельне зростання молодих та зрілих фібробластів, які активно синтезують ретикулярні та колагенові волокна та призводять до розвитку склеротичних змін. Волокнисті структури, при імпрегнації нітратом срібла різко аргірофільні, потовщені, набрякли, або фрагментовані та проявляють яскраво ШЙК-позитивні властивості за методом Моурі.

В легеневій тканині відмічається чисельне скупчення альвеолярних макрофагів в альвеолах, які подекуди їх повністю заповнюють та локалізовані навколо вогнищ запалення.

Гістохімічні дослідження при забарвленні за методом Моурі показали, що в легенях наявні помірно ШЙК-позитивні ретикулярні волокна та макрофаги з скупченням яскраво "Хейл"-позитивних зерен гемосидерину.

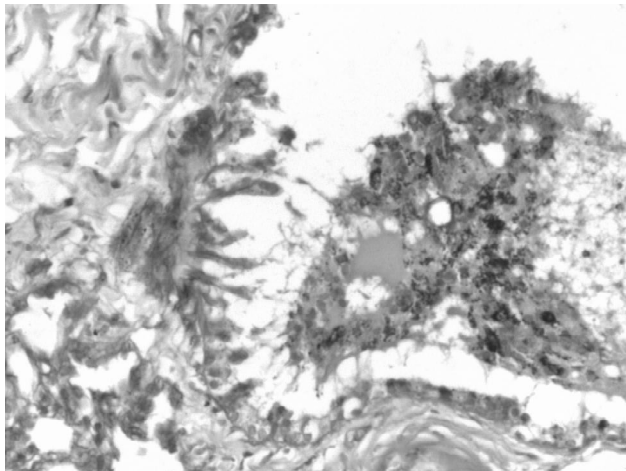


Рис. 5. Гістохімічний стан легені тварини на 21 добу після термічної травми. Дистрофічно змінений епітелій бронха з помірно вираженими ШІК- позитивними властивостями. Слизово-гнійний вміст в його просвіті. Забарвлення за методом Моурі. x200.

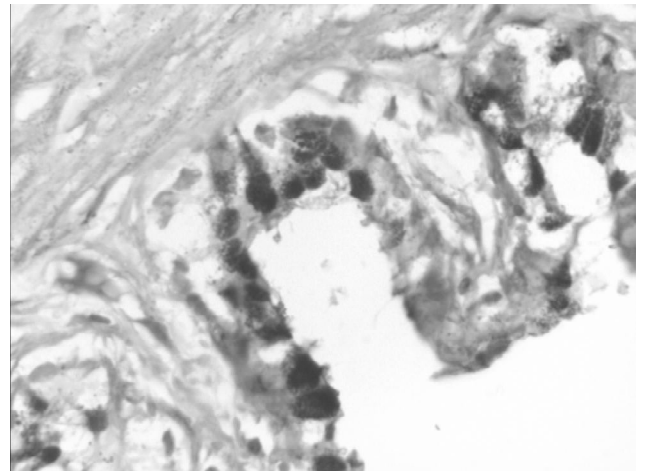


Рис. 6. Гістохімічні зміни легені тварини на 21 добу після термічної травми. Деструктивно змінені келихоподібні клітини епітеліальної пластинки слизової оболонки з вираженими ШІК- позитивними властивостями. Забарвлення за методом Моурі. x400.

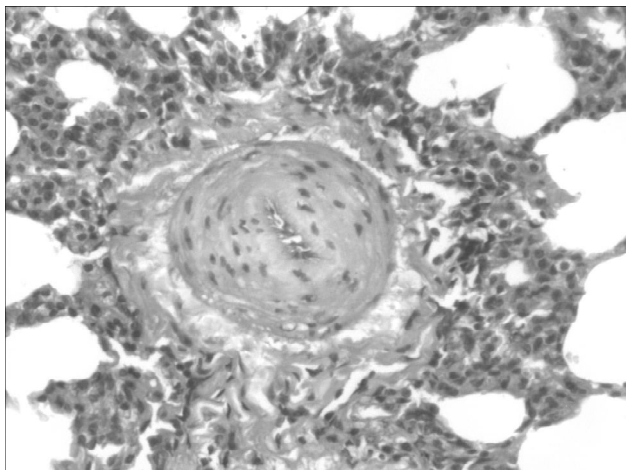


Рис. 7. Гістологічні зміни легені тварини на 21 добу після термічної травми. Артерія малого калібру з гіпертрофованою м'язовою оболонкою. Гематоксилін-еозин. x200.

дерину, які утворюються внаслідок розпаду еритроцитів та гемоглобіну та свідчить про наявність крововиливів. Гемосидерин утворює берлінську блакить (заліzosиньородисте залізо) (рис. 3).

Проведені гістологічні дослідження легень на 21 добу експерименту виявили наростання деструктивно-дегенеративних змін, що супроводжуються запальними та склеротичними змінами структурних компонентів органу. Різна ступінь структурної неоднорідності легеневої тканини виражається чергуванням вогнищевих дис- та ателектазів, зонами гострого емфізематозного здуття, перивазальними та вогнищевими інтерстиціальними крововиливами та ділянками відносно нормальної гістоструктури (рис. 4).

У період септикотоксемії бронхи зазнають найбільших змін, що, в першу чергу, проявляється значною дистрофією бронхіального епітелію, клітини якого ва-

куолізуються і частково відшаровуються. В їх просвітах спостерігається великі конгломерати слизово-гнійного вмісту (рис. 5). Поряд із цим відбувається часткова регенерація епітеліального покриву. Війчасті та келихоподібні клітини, що збереглися мають виражені ШІК-позитивності (рис. 6).

Базальна мембрана на окремих ділянках виглядає оголеною, або на ній розташовані тільки базальні клітини, тому епітеліальна пластика слизової бронхів нерівномірною за товщиною. Ці зміни супроводжуються разом із проліферацією лімфоцитів, які формують дифузно-осередкові скупчення в стінці бронхів.

Виражені зміни відмічаються в судинах малого калібру легень. У м'язовій оболонці їх стінки наявний набряк гладком'язових клітин, їх гомогенізація, атрофія. Також виявляються явища гіпертрофії м'язової оболонки (рис. 7).

Значні зміни спостерігаються і в ендотелії судин, частина клітин набрякла, а частина - десквамована. Така реорганізація супроводжується набряком та розволокненням авентиційної оболонки. Поряд з цим спостерігаються явища склерозу, які найбільш помітні в адвентиції судин, проте можуть зустрічатися і в інтимі, і в м'язовій оболонці (рис. 8).

У легеневій тканині в міжальвеолярних перегородках поряд із гістолейкоцитарною інфільтрацією наявні ділянки вогнищового склерозу з явищем розростання тяжів аргірофільних, при імпрегнації солями срібла, колагенових волокон в порожнинах альвеол, альвеолярних ходах і бронхіолах (рис. 9).

У період септикотоксемії найінтенсивніше виражена макрофагальна реакція, відмічаються альвеоли в яких вони утворюють цілі поля-скупчення або формують ланцюжки. Поліморфізм макрофагів представлений типовими великими клітинами неправильної форми з світлим округлим ядром, а також двоядерними та гіган-

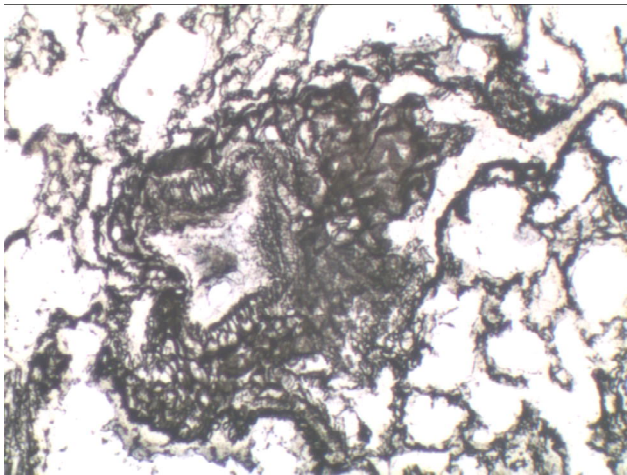


Рис. 8. Мікроскопічний стан легені тварини на 21 добу після термічної травми при імпрегнації нітратом срібла. Колагенові та ретикулярні волокна стінки судини аргірофільні, розволонені, нерівномірно потовщені. Метод Гордона-Світса. x200.

тськими багатоядерними альвеолярними макрофагами.

Висновки та перспективи подальших розробок

При тяжкій термічній травмі на 14 і 21 доби досліджу в легенях відбуваються виражені розлади судин та бронхів, запальні зміни органу, збільшення осередків дис- і ателектазів та емфізематозно розширені альве-

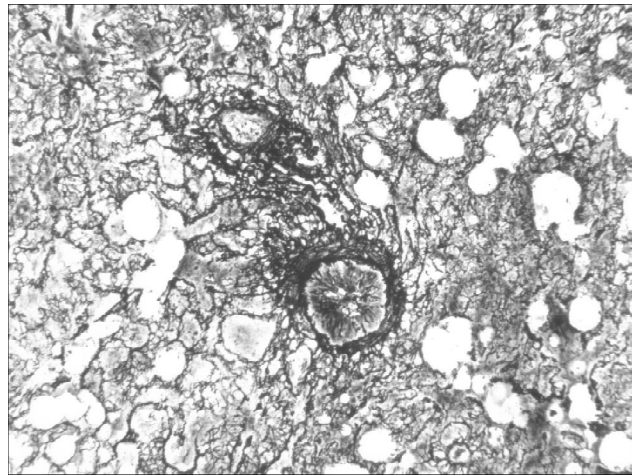


Рис. 9. Мікроскопічний стан легені щура при імпрегнації нітратом срібла на 21 добу після термічної травми. Зростання, дезорганізація (набряк, розволонення) ретикулярних волокон стінки артерії з посиленою аргірофілією солями срібла. Метод Гордона-Світса. x200.

оли. Гістохімічно виявлена деструкція та дезорганізація компонентів міжклітинної речовини сполучної тканини, що проявляється вираженим інтерстиціальним, периваскулярним та перибронхіальним склерозом.

У подальших дослідженнях планується вивчити перебіг морфологічних змін структурних компонентів легень при термічній травмі в умовах застосування коригуючих чинників.

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.
- Гаврилюк-Скиба Г.О. Гістологічні і гістохімічні зміни селезінки в динаміці експерименту при термічній травмі /Г.О.Гаврилюк-Скиба, К.С.Волков //Biomedical and Biosocial Anthropol.- 2011.- №16.- С.31-34.
- Мікроскопическая техника: руководство /под. ред. Д.С. и Ю.Л.Перова.- М.: Медицина, 1996.- 544с.
- Сухомлин Т.А. Морфологічні зміни в легенях щурів при опіковій хворобі та їх корекція препаратом "Ліпін" /Т.А.- Сухомлин, Л.Г.Нетюхайло, Д.Є.Ніколенко //Вісник проблем біол. і мед.- 2014.- Т.3, №3 (112).- С.196-199.
- Клименко М.О. Опікова хвороба (патогенез і лікування) /М.О.Клименко, Л.Г.Нетюхайло.- Полтава, 2009.- 118с.
- Очеретнюк А.О. Гістологічні зміни в легенях щурів протягом 7 діб після опіку шкіри III-A ступеня, площею 21-23% поверхні тіла та їх корекція ізотонічним розчином /А.О.Очеретнюк //Вісник морфології.- 2012.- Т.18, №2.- С.237-241.
- Нетюхайло Л.Г. Механізми опікової хвороби та обґрунтування застосування препарату "Кріохор" для її лікування: автореф. дис. ... д. мед. н.: спец. 14.03.04 "Патологічна фізіологія" /Л.Г.Нетюхайло.- Харків, 2007.- 34с.
- Макарова О.І. Гістологічна картина змін в легенях щурів на 14, 21 та 30 добу після термічного опіку шкіри /О.І.Макарова //Biomedical and Biosocial Anthropol.- 2013.- №21.- С.73-79.
- Гистохимическая характеристика углеводных соединений в воздухоносном отделе легких крыс под действием холодного воздуха /С.С.Целуйко, Н.П.Красавина, Д.А.Семенов [и др.] //Бюлл. физиологии и патологии дыхания.- 2012.- №46.- С.69-76.
- An autopsy study of morphological changes of lung in burn patients with duration of hospital stay and total body surface area burned /S.Bala, S.Das, D.Guha [et al.] //Intern. J. of Research in Health Sciences.- 2014.- Vol.2, №2.- P.494-500.
- Pham T.N. Risk factors for the development of pneumonia in older adults with burn injury /T.N.Pham, C.B.Kramer, M.B.Klein //J. Burn Care Res.- 2010.- Vol.31, №1.- P.105-115.

Небесна З.М.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕГКИХ В ПОЗДНИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Резюме. В эксперименте на половозрелых белых крысах-самцах проведены гистологические и гистохимические исследования легких в стадии поздней токсемии и септикотоксемии после термической травмы III степени. Установлено, что в поздние сроки после ожогового повреждения (14 и 21 сутки) осуществляются значительные сосудистые расстройства, деструктивно-дегенеративные изменения бронхов, респираторного отдела легких и изменения их гистохимических показателей.

Ключевые слова: легкие, гистологические и гистохимические изменения, термическая травма, поздняя токсемия, септикотоксемия.

Nebesna Z.M.

MORPHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHANGES OF THE LUNGS IN THE LATER STAGES AFTER EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA

Summary. *In the experiment on mature white rats histological and histochemical research of the lungs was studied in the stage of late toxemia and septicotoxemia after thermal trauma, III degree. It was established that in the later stages after burn injury (14 and 21 days), occur significant vascular disorders, destructive-degenerative changes of bronchi, respiratory portion of the lungs and changes in their histochemical parameters.*

Key words: *lungs, histological and histochemical changes, thermal trauma, late toxemia, septicotoxemia.*

Стаття надійшла до редакції 17.10.2014

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

© Семененко О.М., Яковлева О.О.

УДК: 591.461: 615. 451.1

Семененко О.М., Яковлева О.О.

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

ДОСЛІДЖЕННЯ БЕЗПЕКИ ЩОДО СТРУКТУРИ НИРОК ЩУРІВ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНОГО ІНФУЗІЙНОГО РОЗЧИНУ HAES-LX-5%

Резюме. *В експериментальному дослідженні вивчено результати ефективності та безпеки застосування вітчизняного поліфункціонального інфузійного розчину HAES-LX-5%, який призначали протягом 7 днів внутрішньовенно в дозі 10 мг/кг щоденно. Динаміка морфологічних змін у нирках щурів свідчить про відсутність негативного впливу інфузійного розчину HAES-LX-5% на структури клубочків, канальців та капілярів. Це дозволяє пропонувати подальше використання цього розчину в умовах невідкладних станів з ризиком ураження нирок як нефропротектора.*

Ключові слова: *опікова хвороба, морфологічні зміни нирок, розчин HAES-LX-5%, інфузійний розчин.*

Вступ

Застосування нових інфузійних розчинів на основі гідроксиетилкрохмалю - сучасний напрямок фармако-терапії невідкладних станів, який в останній час удосконалюється та отримує широкий спектр варіантів препаратів на цій основі. Тому він потребує всебічного наукового дослідження можливих змін в різних органах, перш за все, в експериментальних умовах.

При плануванні проведення експериментальних досліджень щодо можливого протекторного впливу поліфункціонального розчину HAES-LX-5% на моделі опікової хвороби у щурів, попередній аналіз його властивостей вимагав проведення дослідів у інтактних щурів, що дозволило би забезпечити впевненість у відсутності його токсичних або негативних проявів, при наступному використанні на тлі опікової травми шкіри.

Створений у Львові в лабораторії технології трансфузійних препаратів ДУ "Інституту патології крові та трансфузійної медицини АМН України", вітчизняний кровозамінник має властивості комплексного поєднання колоїдної основи гідроксиетильованого крохмалю (MM130000), ксилолу, натрію лактату та солей калію, кальцію, магнію, що дозволяє досягти високої осмолярності (890 мОсмоль/л), пропонувати його перспективне застосування при шоківих станах та розладах гомеостазу.

Метою роботи була оцінка динаміки морфологічних структур нирок під впливом застосування інфузійного розчину HAES-LX-5% протягом 7 днів спостереження в експерименті у щурів.

Матеріали та методи

Оцінка терапевтичної дії інфузійного розчину HAES-LX-5% була проведена на 40 білих щурах-самцях, вагою 160-170 г, вони були розподілені на групи, відповідно умовам досліді: інтактні щурі з катетеризацією стегнової вени (для інфузійної терапії) та щурі, яким проводили внутрішньовенну інфузію досліджуваного розчину, протягом 6-8 хв, в дозі 10 мл/кг маси, тривалістю 7 днів щоденно. Тварин виводили із досліді з виконанням етичних умов - на тлі пропофолового наркозу. Морфологічні дослідження в зразках нирок та морфометричну оцінку виконували згідно загально відомих методів, зрізи товщиною 5-6 мкм фарбували гематоксилін-еозином. Оцінку можливого впливу інфузійного розчину проводили на першу, третю та сьому добу досліді в динаміці.

Результати. Обговорення

Аналізуючи гістологічні препарати нирок тварин без опікової травми після застосування щурам розчину HAES-LX-5% на ПЕРШУ ДОБУ введення, можна співставити структуру ниркової функціональної одиниці до такої, як і у інтактних тварин. Відмежування між кірковою та мозковою речовина добре збережено, кровонаповнення звичайне, малокрів'я відсутнє. В клубочках добре виражений зовнішній лист капсули, він представлений одношаровим сплосченим епітелієм, в ядрах візуалізується невелика кількість гетерохроматину. В судинних клубочках ЄК, подоцити і мезангіальні клітини ма-