

© Крамар С.Б., Волков К.С., Литвинюк С.О.

УДК: 616.5-001.17-085.324:599.731.1-035.51-076.4]-092.9

Крамар С.Б., Волков К.С., Литвинюк С.О.

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

МІКРОСКОПІЧНІ ТА ГІСТОХІМІЧНІ ЗМІНИ ШКІРИ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ КРІОЛІОФІЛІЗОВАНОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО СУБСТРАТУ

Резюме. В експерименті на морських свинках проведені гістологічні та гістохімічні дослідження ушкодженої ділянки шкіри при застосуванні кріоліофілізованого ксенодермального субстрату в різні терміни після тяжкої термічної травми. Встановлено, що використання даного препарату позитивно впливає на перебіг репаративної регенерації структурних компонентів шкіри та прискорює процес загоєння рани.

Ключові слова: мікроскопічні та гістохімічні зміни, шкіра, термічна травма, кріоліофілізований ксенодермальний субстрат.

Вступ

Порушення цілісності шкірного покриву організму людини внаслідок різного виду травм веде до важких ускладнень і може мати летальний наслідок. Саме тому, проблема загоєння ран різного генезу залишається актуальною у всьому світі [Винник и др., 2011]. На сьогоднішній день однією з найбільш поширених причин втрати значних ділянок шкірного покриву залишається термічна травма. За даними статистики, щорічно в світі одна людина стає жертвою опіку [Гаин и др., 2011; Supp, Воусе, 2005]. Не дивлячись на те, що сучасна медицина використовує велику кількість методів для лікування опікових ран, зберігається високий відсоток незадовільних результатів відновлення цілісності шкірного покриву після глибоких термічних травм [Гончарук та ін., 2006]. Для лікування опіків III-IV ступеня широко використовують нові перев'язувальні матеріали, марлеві пов'язки з мазями й розчинами антисептиків, ранню некректомію, біологічні та синтетичні заміники шкіри для тимчасового закриття ран [Корнієнко, 2013; Цимбалюк та ін., 2013]. В останні роки в комбустіології перспективним у лікуванні опечених є використання ліофілізованої ксеношкіри та її подрібненого субстрату, який має високі адсорбційні та антимікробні властивості. Проте, морфологічних та гістохімічних досліджень застосування впливу цього препарату на перебіг загоєння опікової рани після ранньої некректомії ще недостатньо.

Метою роботи було встановлення гістологічного та гістохімічного стану епідермісу та дерми шкіри при застосуванні кріоліофілізованого ксенодермального субстрату в динаміці після експериментальної термічної травми.

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження виконані на 20 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).

Опік III ступеня на епільовану поверхню шкіри спини тварини наносили водяною парою при температурі 96-97°C протягом 60 секунд під загальним ефірним наркозом. Розміри ділянки ураження становили 18-20% поверхні тіла. Через 1 добу після нанесення термічної травми експериментальним тваринам проводили ранню некректомію пошкоджених ділянок шкіри. Рани, які утворились, покривали подрібненим субстратом кріоліофілізованої ксеношкіри.

Для дослідження особливостей мікроскопічних змін шкіри тварин декапітували за допомогою гільйотини під загальним ефірним наркозом на 7, 14, та 21 доби досліді.

Збір матеріалу для гістологічних та гістохімічних досліджень проводили згідно загальноприйнятої методики [Горальський та ін., 2005; Саркисов, Перов, 1996]. Шматочки шкіри фіксували в 10% розчині формаліну, при цьому тривалість експозиції не перевищувала 1-2 доби. Застосований фіксуючий розчин запобігає процесу аутолізу та стабілізує клітини та тканини для їх подальшої обробки та використання в процедурах забарвлення. Далі проводили дегідратацію шматочків у спиртах зростаючої концентрації в автоматі для гістологічної обробки тканин АТ-4, заливали в парафінові блоки. Отримані на санному мікротомі МС-2 зрізи товщиною 5-7 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином, фуксиліном за Вейгертом та дофарбовували пікрофуксином за методом Ван Гісона (для виявлення еластичних та колагенових волокон); проводили ШІК+"Хейл" реакцію за методом Моурі (виявлення глікопротеїнів та глікозаміногліканів у міжклітинній речовині сполучної тканини) [Саркисов, Перов, 1996].

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

Проведені морфологічні дослідження показали, що

вже в стадії ранньої токсемії після покриття раневої поверхні подрібненим субстратом ксеношкіри спостерігалось зменшення кількості серозно-гнійних виділень із рани. В центральній її ділянці утворювався струп із частинками субстрату, який легко видалявся з місця ураження при перев'язці.

На мікроскопічному рівні на 7 добу експерименту виявлено, що в ділянці опікової рани по всьому вогнищу ураження відбувалося рівномірне формування грануляційної тканини за участю лейкоцитів і макрофагів та за рахунок міграції та проліферації фібробластів і оновлення капілярної сітки. У просвітах мікросудин та у новоствореній сполучній тканині поміж тонкими колагеновими фібрилами спостерігалася значна кількість еритроцитів, різних видів лейкоцитів (рис. 1).

Гістохімічно встановлено, що у цей термін досліду грануляційна тканина була багата на глікопротеїни, про що свідчили її добре виражені ШИК-позитивні властивості. Спостерігали помірне "Хейл"-позитивне забарвлення сполучної тканини у ділянці опікової рани, зумовлене наявністю кислих глікозаміногліканів.

У ділянці, що оточувала рану, відмічався набряк сочкового та сітчастого шарів дерми та їх помірна інфільтрація лейкоцитами. Під впливом кріоліофілізованого ксенодермального субстрату у сполучній тканині зменшувалися прояви запальної реакції, відбувалося покращення кровопостачання.

У крайовій зоні відмічено суттєве потовщення епідермісу внаслідок наростання мітотичної активності клітин росткового шару. Як результат, у ньому збільшувалася кількість кератиноцитів, які ставали джерелом для епітелізації раневої поверхні.

При візуальному огляді ураженої ділянки на 14 добу досліду відмічена відсутність серозно-гнійних виділень. Мікроскопічно в цей термін експерименту в ділянці опікової рани була добре виражена молода грануляційна тканина, багата на клітини фібробластичного ряду. Спостерігались сформовані волокнисті структури та аморфний компонент міжклітинної речовини. Гістохімічно у ній відмічалось зростання вмісту кислих глікозаміногліканів, що проявлялось яскраво вираженим "Хейл"-позитивним забарвленням її структур. ШИК-позитивні властивості грануляційної тканини були менш виражені у порівнянні з попереднім терміном досліду (рис. 2).

У молодій сполучній тканині спостерігалася інтенсивна васкуляризація. По всій її площі тонкостінні судини та кровоносні капіляри розташовувались відносно рівномірно. У нижніх шарах дерми були наявні вже сформовані колагенові волокна.

У периферійних ділянках рани мікроскопічно відмічалася активна крайова епітелізація. Епідерміс у цій зоні був потовщений, з великою кількістю молодих кератиноцитів з інтенсивно базофільною цитоплазмою. Регенерація епідермісу відбувалася також за участю придатків шкіри, зокрема епітеліоцитів воло-

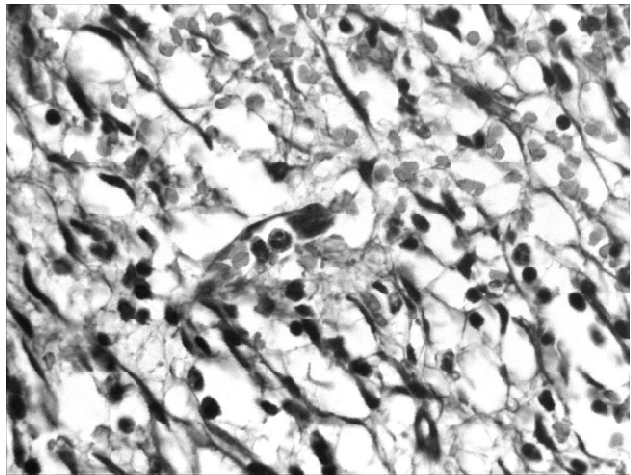


Рис. 1. Мікроскопічний стан грануляційної тканини ділянки рани шкіри експериментальної тварини через 7 днів після опікової травми за умов корекції. Гематоксилін-еозин. x400.

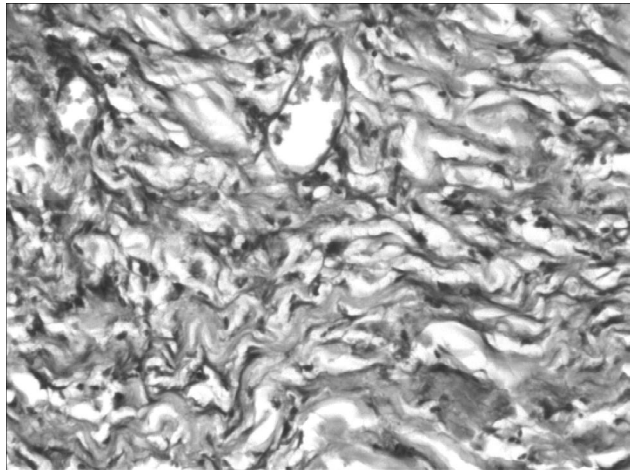


Рис. 2. Гістохімічний стан міжклітинної речовини шкіри тварини через 14 днів після термічної травми за умов корекції. Забарвлення за методом Мору. x200.

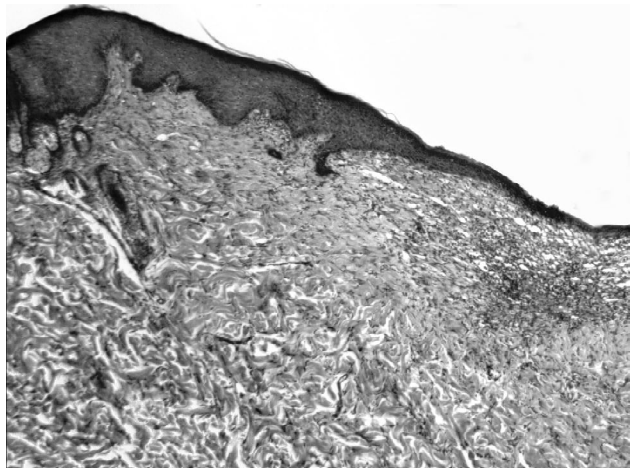


Рис. 3. Гістологічна організація крайової ділянки рани через 14 днів досліду. Гематоксилін-еозин. x80.

сяних фолікулів та камбіальних клітин сальних залоз. Тонкий епідермальний регенерат, який відходив від

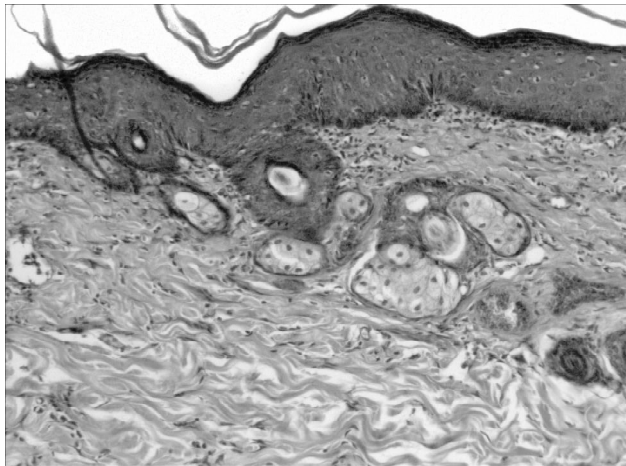


Рис. 4. Мікроскопічний стан шкіри тварини через 21 добу після опікової травми за умов корекції. Гематоксилін-еозин. x100.

потовщеного епідермісу збережених ділянок шкіри, покривав грануляційну тканину (рис. 3).

Візуальні спостереження показали, що на 21 добу досліду поверхня рани була повністю вкрита молодою шкірою. Гістологічно відмічено, що у регенеруючій тканині відбувалося проростання епітеліальних тяжів із збережених придатків шкіри до поверхні опікової рани і утворення епітеліальних острівців. Вони поєднувалися з проростаючим краєвим епідермальним регенератом, формуючи суцільний пласт. Подекуди сполучна тканина утворювала вп'ячування у вигляді сосочків з наявними у ній молодими гемокапілярами (рис. 4).

Мікроскопічно в цей термін досліду у сполучній тканині в ділянці опіку виявлялось багато волокнистих структур. У верхніх її шарах були наявні не лише колагеніві, але й тонкі еластичні волокна, що мали переважно горизонтальний напрямок (рис. 5).

У порівнянні з попереднім терміном експерименту гістохімічно серед компонентів міжклітинної речовини

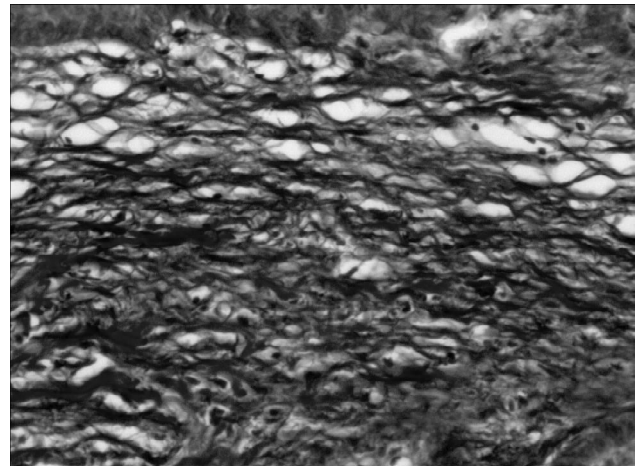


Рис. 5. Гістологічний стан дерми шкіри тварини через 21 добу після термічної травми за умов корекції. Забарвлення за методом Ван Гізон - Вейгерта. x400.

сполучної тканини виявлялося зменшення кількості кислих глікозаміногліканів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Гістологічно та гістохімічно встановлено, що застосування подрібненого субстрату кріоліофілізованого ксеноскіри, забезпечуючи адсорбцію токсинів з опікової рани, вже в ранні терміни покращує формування грануляційної тканини.

2. У віддалені терміни після експериментальної термічної травми застосування препарату сприяє пришвидшенню епітелізації, формуванню сполучної тканини, нормалізує гістохімічні показники її міжклітинної речовини та позитивно впливає на перебіг експериментального опікового раневого процесу.

Подальші дослідження у даному напрямку полягатимуть у встановленні субмікроскопічних змін структурних компонентів шкіри при термічній травмі за умов корекції.

Список літератури

- 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.- 284с.
- Корнієнко В.В. Планіметрія поверхні опікової рани при використанні хітозанових мембран /В.В.Корнієнко //Журнал клін. та експерим. медичних досліджень.- 2013.- Т.1, №4.- С.390-397.
- Клеточные технологии восстановления целостного кожного покрова при его обширных дефектах [Електронний ресурс] /Ю.М.Гаин, Е.П.Киселева, В.Г.Богдан [и др.] //Медицинский журнал.- 2011.- №2.- Режим доступу до журн.: <http://www.bsmu.by/medicaljournal/category36/>
- Клеточные технологии и тканевая инженерия в лечении длительно незаживающих ран /Ю.С.Винник, А.Б.Салмина, А.И.Дробушевская [и др.] //Вестник эксперим. и клин. хирургии.- 2011.- Т.IV, №2.- С.392-397.
- Лікування термічних опіків у експериментальних тварин за допомогою суспензії клітин хоріона /О.І.Гончарук, Н.О.Волкова, Т.П.Петренко [та ін.] //Вісник проблем біол. і мед.- 2006.- Вип.3.- С.54-58.
- Микроскопическая техника: руководство /под. ред. Д.С.Саркисова и Ю.Л.Перова.- М. : Медицина, 1996.- 544с.
- 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.
- Supp D. Engineered skin substitutes: practices and potentials /D. Supp, S. Boyce //Clin. Dermatol.- 2005.- Vol.23.- P.403-412.

Крамар С.Б., Волков К.С., Литвинюк С.А.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ КРИОЛИОФИЛИЗОВАННОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО СУБСТРАТА

Резюме. В эксперименте на морских свинках проведены гистологические и гистохимические исследования поврежден-

ного участка кожи при применении криолиофилизированного ксенодермального субстрата в разные сроки после тяжелой термической травмы. Установлено, что использование данного препарата положительно влияет на течение репаративной регенерации структурных компонентов кожи и ускоряет процесс заживления раны.

Ключевые слова: микроскопические и гистохимические изменения, кожа, термическая травма, криолиофилизированный ксенодермальный субстрат.

Kramar S. B., Volkov K. S., Lytvyniuk S. O.

MICROSCOPIC AND HISTOCHEMICAL CHANGES OF THE SKIN AFTER EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA AND APPLICATION OF CRIOLIOFILIZED XENOGRAFT-SKIN SUBSTRATE

Summary. In experiment on guinea pigs histological and histochemical changes in damaged area of the skin were studied at different times after severe thermal trauma and crioliofilized xenograft-skin substrate usage. It was established that the use of this drug impacts in the positive way on the reparative regeneration of structural components of the skin and accelerates the healing of the wound.

Key words: microscopic and histochemical changes, skin, thermal trauma, crioliofilized xenograft-skin substrate.

Стаття надійшла до редакції 26.11.2014 р.

Крамар Соломія Богданівна - ст. лаборант кафедри гістології та ембріології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України"; +38 096102-10-42

Волков Константин Степанович - д. біол. н., професор, завідувач кафедри гістології та ембріології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України"; +38 0322 25-17-80

Литвинюк Світлана Олександрівна - к. мед. н., доцент кафедри гістології та ембріології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України"; +38 0322 25-17-80

© Хмара Т.В., Галичанська О.М., Голубовський І.А.

УДК: 611.438.018-053.15

Хмара Т.В., Галичанська О.М., *Голубовський І.А.

Буковинський державний медичний університет, кафедра анатомії людини імені М.Г.Туркевича (вул. Ризька, 1, м. Чернівці, 58002, Україна), *Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова, кафедра оперативної хірургії і топографічної анатомії (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ЗАГРУДНИННОЇ ЗАЛОЗИ У ДРУГОМУ ТРИМЕСТРІ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ

Резюме. Досліджені особливості структурної організації загруднинної залози у плодів 4-6 місяців. Встановлено, що на початку плодового періоду онтогенезу розвиток мозкової речовини суттєво випереджає формування кіркової зони - площа мозкової речовини загруднинної залози значно більша, в ній візуалізуються численні епітеліоретикулярні клітини строми. Наприкінці 5 місяця внутрішньоутробного розвитку відбувається інтенсивний розвиток сполучнотканинної строми, яка проростає між часточками загруднинної залози; спостерігається інтенсивне формування кіркової речовини часточок загруднинної залози; покращується васкуляризація, що створює умови для формування гемато-тимусного бар'єра, подальшої диференціації клітин строми і практично повного розвитку диферону лімфоцитів.

Ключові слова: загруднинна залоза, морфогенез, плід, людина.

Вступ

Зростання останнім часом уродженої та набутої патології органів і структур верхнього середостіння, зокрема загруднинної залози (ЗЗ), визначає підвищену зацікавленість дослідників до подальшого вивчення її структурно-функціональної організації за умов норми та патології. Сучасні дані [El-Haeg et al., 2008; De Leon-Luis et al., 2009] дозволяють стверджувати значну роль ЗЗ в імунологічній реактивності. ЗЗ вважають першим органом імунологічної реактивності вже в пізні періоди інтранатального розвитку і в ранньому постнатальному періоді. За останні роки з'ясована важлива роль тілець Гассалья як в деяких фізіологічних процесах (дозрівання Т-регуляторів, синтез цитокинів тощо), так і в патогенезі ряду захворювань (ревматоїдний артрит, цукровий діабет I тощо) [Bodey, Siegel, 2004; Savchenko et al., 2006]. Вивченню особливостей морфогенезу різних субпопуляцій епітеліальних клітин мозкової речовини

ЗЗ, виявленню основних морфофункціональних характеристик їх диференціювання та участі в формуванні тілець Гассалья присвячені окремі дослідження [Беловешкин, 2012, Anderson et al., 2002].

Згідно з дослідженнями деяких авторів [Муқанов и др., 2005] до 22-го тижня внутрішньоутробного розвитку всі основні компоненти ЗЗ сформовані. У термін гестації 22-27 тижнів строма ЗЗ виражена слабше, що, ймовірно, пов'язано з активним ростом паренхіми органа. Щодо вмісту тілець Гассалья в часточці ЗЗ автори відзначили переважання випадків з малою їх кількістю (менше 5) як у терміні 16-21 тиждень, так і в терміні 22-27 тижні (66,67% і 53,85% спостережень відповідно). На центральну роль тілець Гассалья у формуванні специфічного мікрооточення у мозковій речовині ЗЗ вказують окремі дослідники [Savchenko et al., 2006; Nedjic, Aichinger, 2008].