

© Небесна З. М.

УДК 616.24-091.8-02:616-001.17-085.324]-092.9

Небесна З. М.

## СТРУКТУРНА РЕОРГАНІЗАЦІЯ АЛЬВЕОЛЯРНИХ МАКРОФАГІВ РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ ТА В УМОВАХ ЗАСТОСУВАННЯ ПОДРІБНЕНОГО СУБСТРАТУ ЛІОФІЛІЗОВАНОЇ КСЕНОШКІРИ

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського  
МОЗ України» (м. Тернопіль)

zoyadacenko@gmail.com

Робота виконана в рамках планової науково-дослідної теми кафедри гістології, цитології та ембріології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» «Встановлення особливостей репаративних процесів опікової рани і морфофункціональних змін внутрішніх органів та клініко-патогенетичне обґрунтування застосування кріоліофілізованих ксенотканин при термічній травмі», № державної реєстрації 0115U001531.

**Вступ.** Гостре пошкодження легень (ГПЛ) є частим ускладненням багатьох патологічних процесів і характеризується високою летальністю [1, 9]. Встановлення механізмів розвитку ГПЛ є важливим для розробки ефективних лікувальних заходів. Серед клітин легень особливе значення мають альвеолярні макрофаги, які здійснюють захисну функцію в нижніх дихальних шляхах та респіраторному відділі. Саме від їх морфофункціонального стану залежать прояви структурної і метаболічної перебудови легень при патології [5, 8, 11]. Незважаючи на численні роботи, у яких вивчені структурні зміни легеневої макрофагів при різних патологічних станах у літературі недостатньо даних про морфо-

функціональні особливості перебудови цих клітин при термічній травмі та в умовах корекції [1, 4, 6, 10].

Перспективним при лікуванні опіків є використання чинників, які зменшують поступлення токсинів в організм з ділянки термічної травми. Одним із біологічних засобів для закриття опікової рани є подрібнений субстрат із ліофілізованого ксенодермоімплантата, який є високоєфективним препаратом із сорбційно-антитоксичним, пластичним, метаболічним та окисно-відновним потенціалом [7]. 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.

**Метою** даної роботи було встановлення морфологічного стану альвеолярних макрофагів респіраторного відділу легень тварин після термічного ураження та в умовах застосування субстрату ліофілізованої ксенешкіри.

**Об'єкт і методи дослідження.** Досліди проведені на 30 статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях. Утримання тварин та експерименти проводилися

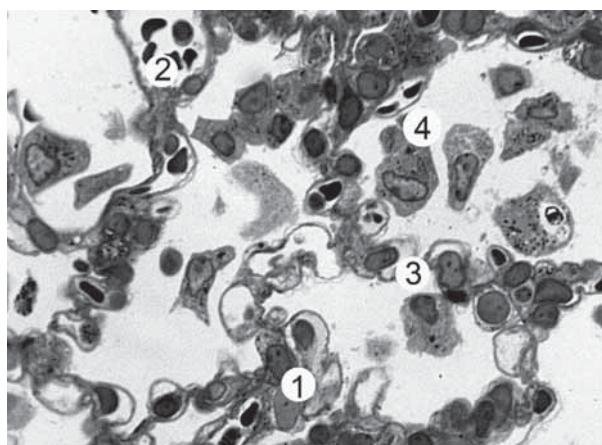


Рис. 1. Мікроскопічні зміни респіраторного відділу легень тварини на 1 добу після термічної травми. Деструктивно змінені міжальвеолярні перегородки респіраторного відділу (1), кровонаповнені (2) і спавші судини (3), альвеолярні макрофаги (4).  
Забарвлення толудіновим синім. х 600.

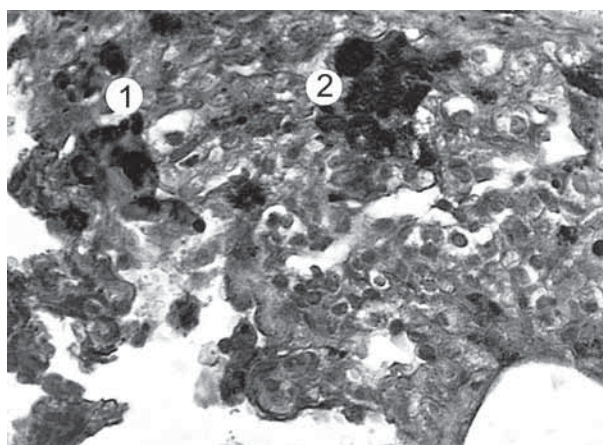


Рис. 2. Гістохімічна організація легень тварини на 14 добу після термічної травми. Макрофаги з скупченням яскраво «Хейл»-позитивних зерен гемосидерину (1) в інтерстиції та ділянках ателектазів (2).  
Забарвлення за методом Моурі. х 400

відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

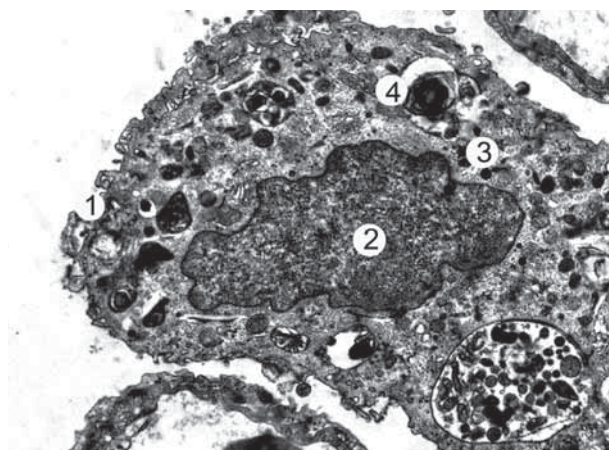
Опікову травму наносили під кетаміновим наркозом двома мідними пластинами площею 14,5 см<sup>2</sup> нагрітими у кип'яченій воді до температури 97-100 °С на епільовану поверхню шкіри спини тварини протягом 15 секунд. Розміри ділянки ураження складали 18-20% поверхні тіла тварин. Результати гістологічних досліджень пошкодженої шкіри засвідчили глибину ураження, що відповідає опіку III ступеня. Тварин декапітували на 1, 7, 14 та 21 доби. Забір матеріалу для мікроскопічних досліджень проводили згідно загальноприйнятої методики [2]. Шматочки легень фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну, проводили дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації, заливали у парафінові блоки. Виготовлені зрізи товщиною 5-6 мкм. фарбували за методом Муурі (ШЙК+“Хейл” реакція), де гемосидерин утворює берлінську блакить (заліzosиньорудисте залізо) під впливом заліzosиньорудистого калію і соляної кислоти [2, 3]. 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. Напівтонкі зрізи товщиною 1-2 мкм виготовляли на ультрамикротомі LKB-3 (Швеція) і забарвлювали толуїдиновим синім [3]. 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 [2]. Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ- 125 К.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Гістологічні дослідження легень тварин у ранні терміни

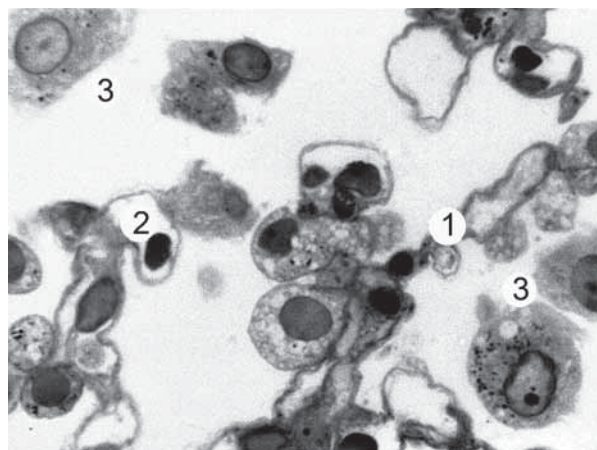
після експериментальної термічної травми (1, 7 доби досліді) встановили виражені розлади гемодинаміки та початкові деструктивні зміни всіх компонентів, особливо респіраторного відділу та мікросудин (**рис. 1**). В просвітах багатьох судин виявляються змішані тромби, агрегація та сладж-феномен еритроцитів. Це характеризує порушення гемокоагуляції у вигляді дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ). В просвітах альвеол та інтерстиції наявні макрофаги з скупченням яскраво «Хейл»-позитивних зерен гемосидерину, які утворюються внаслідок розпаду еритроцитів та гемоглобіну.

В пізні терміни (14, 21 доби) спостереження при гістохімічному дослідженні за методом Муурі в просвітах альвеол, дифузно в інтерстиції та ділянках крововиливів встановлено, що кількість макрофагів зі скупченням яскраво «Хейл»-позитивних зерен гемосидерину значно збільшується в порівнянні з попередніми термінами (**рис. 2**).

Субмікроскопічно на 1 та 7 доби після експериментальної термічної травми в просвітах альвеол легень піддослідних тварин спостерігається збільшення кількості альвеолярних макрофагів. Вони характеризуються поліморфізмом розмірів, ступенем зрілості та ознаками деструкції. Ядра активно функціонуючих клітин мають неправильну форму з рівномірним розміщенням еухроматином та одним або двома ядерцями. Мембрани каріолеми мають чіткі контури та інвагінації. В цитоплазмі спостерігаються дрібні, первинні лізосоми і осміофільні фагосоми. Переважно в парануклеарній зоні цитоплазми клітин розміщується комплекс Гольджі, який представлений дрібними пухирцями та вакуолями. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки не протяжні і потовщені, на їх мембранах виявляється незначна кількість рибосом. В цитоплазмі виявляються також невеликі, різної форми мітохондрії з матриксом помірної електронної щільності. Плазмолема макрофагів утворює значну кількість цитоплазматичних вип'ячувань.



**Рис. 3.** Субмікроскопічна організація альвеолярного макрофага на 14 добу після експериментальної термічної травми. Цитоплазматичні вирости плазмолема (1), ядро (2) з переважанням гетерохроматину, лізосоми (3), великі фагосоми (4). x 10 000.



**Рис. 4.** Мікроскопічні зміни респіраторного відділу легень тварини на 7 добу після термічної травми та в умовах корекції. Міжальвеолярні перегородки респіраторного відділу (1), помірно кровонаповнені капіляри (2), альвеолярні макрофаги (3). Забарвлення толуїдиновим синім. x 800.

на 14 та 21 доби досліді в просвіті альвеол легень тварин без корекції термічної травми популяційний склад альвеолярних макрофагів представлений нечисельними активно фагоцитуючими альвеолярними макрофагами, молодими формами та переважають клітини з деструктивно-дегенеративними змінами. На апікальній поверхні таких макрофагів виявляється небагато невеликих за розмірами мікрровиростів та інвагінацій плазмолем. Їх ядра осміюфільні, деформовані з глибокими інвагінаціями каріолеми. Цитоплазма також електроннощільна, з нечисельними деструктивно зміненими органелами. У ній спостерігаються поодинокі лізосоми та великі фагосоми, в яких наявний неоднорідної осміюфільності матеріал (рис. 3).

Мікроскопічні дослідження легень тварин після термічної травми та закриття рани субстратом ліофілізованої ксенощірки вже на 7 добу досліді встановили менший ступінь пошкодження всіх структурних компонентів органу. Крайній стан судинного русла та збереження цілісності стінки судин зумовлює менші прояви їх кровонаповнення і гіперкоагуляції та відповідно зменшення кількості альвеолярних макрофагів (рис. 4). В просвітах альвеол та інтерстиції виявляються поодинокі макрофаги з невеликою кількістю зерен гемосидерину.

В ранній термін після опіку в умовах застосування коригуючого чинника, субмікроскопічно в просвіті альвеол та інтерстиції спостерігається поліморфізм альвеолярних макрофагів, які відрізняються за ступенем зрілості, функціональною активністю та ультраструктурою. В цей термін переважають молоді макрофаги та клітини, з ознаками активного фагоцитозу. В їх ядрах переважає еухроматин, проте наявні грудки маргінально розміщеного гетерохроматину. Каріолема утворює глибокі інвагінації, наявні також вогнищево розширені перинуклеарні простори. Цитоплазма активно фагоцитуючих клітин має розвинений синтетичний апарат, який представлений добре вираженими цистернами комплексу Гольджі і каналцями ендоплазматичної сітки, на мембранах якої виявляється багато рибосом. Також наявні чисельні полісоми, вакуолі і мікропухирці. Спостерігаються мітохондрії з чіткими кристами та по-

мірно осміюфільним матриксом (рис. 5). В цитоплазмі містяться чисельні первинні лізосоми та наявні великі неправильної форми осміюфільні фагосоми. Плазмолема клітин утворює значні цитоплазматичні вирости та вп'ячування.

Частина альвеолярних макрофагів включає осміюфільні ядра та пошкоджені органели в цитоплазмі, що свідчить про низьку їх функціональну активність.

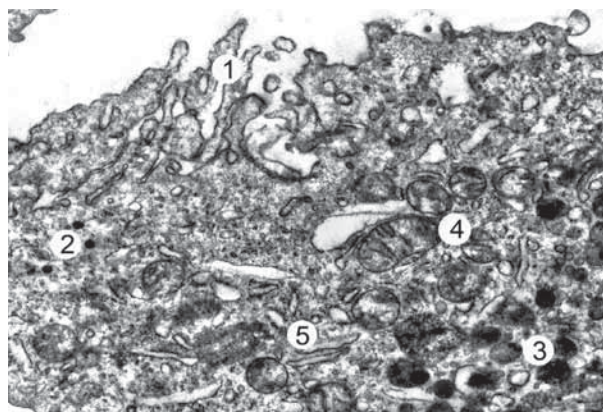
Субмікроскопічно в пізні терміни досліді (14 та 21 доби) за умов застосування субстрату ліофілізованої ксенощірки у просвіті альвеол також спостерігається помірна кількість альвеолярних макрофагів, в популяції яких переважають активно фагоцитуючі, біосинтезуючі та молоді клітини, і наявні поодинокі деструктивно змінені клітини.

Про участь макрофагів у місцевих, захисних механізмах легень свідчить також наявність молодих, двоядерних клітин, з помірно осміюфільною цитоплазмою, добре вираженими мембранними органелами, первинними лізосомами, поодинокими фагосомами. На їх апікальній поверхні виявляються чисельні мікрровип'ячування та інвагінації плазмолем (рис. 6).

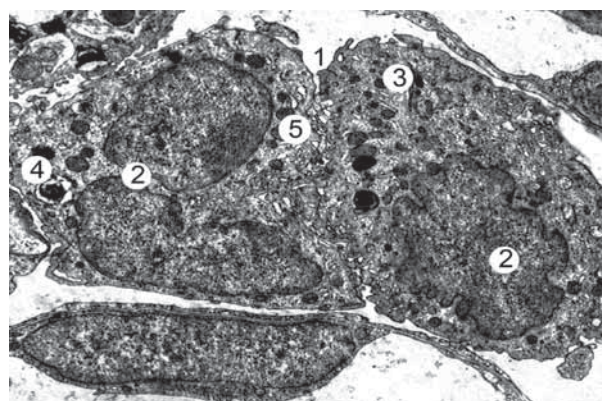
**Висновки.** Проведені дослідження структурної реорганізації альвеолярних макрофагів після експериментальної термічної травми встановили поліморфізм їх популяційного складу, серед яких особливо в пізні терміни досліді, переважають деструктивно-дегенеративно змінені клітини.

Застосування субстрату ліофілізованих ксенодермотрансплантатів в умовах ранньої некретомії уражених ділянок шкіри після термічної травми позитивно впливає на стан альвеолярних макрофагів альвеол легень, в їх популяційному складі переважають молоді та активно фагоцитуючі клітини. Це позитивно впливає на респіраторний відділ легень та підвищує резистентність легеневої тканини до ушкоджуючих агентів.

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



**Рис. 5.** Ультраструктурний стан фрагмента альвеолярного макрофага респіраторного відділу легень на 14 добу після термічної травми та в умовах корекції. Цитоплазматичні вирости плазмолем (1), лізосоми (2), фагосоми (3), мітохондрії (4), каналці ендоплазматичної сітки (5). x 21 000.



**Рис. 6.** Субмікроскопічна організація альвеолярних макрофагів на 21 добу після експериментальної термічної травми та в умовах корекції. Невеликі цитоплазматичні вирости плазмолем (1), ядро (2), поодинокі лізосоми (3), фагосоми (4), мітохондрії (5). x 7 000.

### Література

1. Герасимчук М.Р. Ультраструктура альвеолярних макрофагів при експериментальному розлитому перитоніті та за умов корекції ліпіном / М.Р. Герасимчук, Л.М. Заяць // Галицький лікарський вісник. – 2011. – № 1. – С. 17-20.
2. Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В.Т. Хомич, О.І. Кононський. – Житомир : Полісся, 2011. – 288 с.
3. Микроскопическая техника : руководство / Под. ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
4. Нетюхайло Л.Г. Патогенез опікової хвороби (в 2 частинах) / Л.Г. Нетюхайло, С.В. Харченко, А.Г. Костенко // Світ медицини та біології. – 2011. – №1. – С. 127-131, 131-135.
5. Олексинська О.О. Макрофагальна активність легеневої тканини при мультирезистентному фіброзно-кавезрному туберкульозі з морфологічними проявами різної активності запального процесу / О.О. Олексинська // Збірник тез доповідей міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених, м. Суми, 10-12 квітня 2013 р. – С. 61-62.
6. Опікова травма та її наслідки / [Козинець Г.П., Слесаренко С.В., Сорокіна О.Ю. та ін.]. – Дніпропетровськ : Преса України, 2008. – 216 с.
7. 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.
8. 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 Biology and Medicine. – 2012. – Vol. 152. – P. 489-493.
9. Perl M. Pathogenesis of indirect (secondary) acute lung injury / M. Perl, J. Lomas-Neira, F. Venet [et al.] // Expert Review of Respiratory Medicine – 2011. – Vol. 5, № 1. – P. 115-126.
10. Hugo Gagnon. Proprotein Convertase 1/3 (PC1/3) in the Rat Alveolar Macrophage Cell Line NR8383: Localization, Trafficking and Effects on Cytokine Secretion / Hugo Gagnon, Sarah Refaie1, Sandra Gagnon [et al.] // PLOS ONE – 2013. – Vol. 8, № 4. – P. 1-16.
11. Lin Zhu. Assessment of human lung macrophages after exposure to multi-walled carbon nanotubes part I. cytotoxicity / Lin Zhu, Amanda M. Schrand, Andrey A. Voevodin [et al.] // Nanoscience and Nanotechnology Letters. – 2011. – Vol. 3. – P. 88-93.

УДК 616.24-091.8-02:616-001.17-085.324]-092.9

#### **СТРУКТУРНА РЕОРГАНІЗАЦІЯ АЛЬВЕОЛЯРНИХ МАКРОФАГІВ РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ ТА В УМОВАХ ЗАСТОСУВАННЯ ПОДРІБНЕНОГО СУБСТРАТУ ЛІОФІЛІЗОВАНОЇ КСЕНОШКІРИ**

**Небесна З.М.**

**Резюме.** В експерименті на білих щурах вивчений морфологічний стан альвеолярних макрофагів респіраторного відділу легень на 1, 7, 14 та 21 доби після термічної травми III ступеня та в умовах застосування субстрату ліофілізованої ксеношкіри. Встановлена реорганізація макрофагів після опіків свідчить про наявність в їх популяційному складі як активно фагоцитуючих клітин так і деструктивно змінених. В умовах корекції термічної травми субстратом ліофілізованої ксеношкіри збільшується число молодих та активно фагоцитуючих макрофагів, які забезпечують місцеві неспецифічні захисні властивості легеневої тканини.

**Ключові слова:** альвеолярні макрофаги, структурна реорганізація, термічна травма, субстрат ліофілізованої ксеношкіри.

УДК 616.24-091.8-02:616-001.17-085.324]-092.9

#### **СТРУКТУРНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГОВ РЕСПІРАТОРНОГО ОТДЕЛА ЛЕГКИХ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ И В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗМЕЛЬЧЕННОГО СУБСТРАТА ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ КСЕНОКОЖИ**

**Небесная З. М.**

**Резюме.** В эксперименте на белых крысах изучено морфологическое состояние альвеолярных макрофагов респіраторного отдела легких на 1, 7, 14 и 21 сутки после термической травмы III степени и в условиях применения субстрата лиофилизированной ксенокожи. Установленная реорганизация макрофагов после ожогов свидетельствует о присутствии в их популяционном содержимом как активно фагоцитирующих клеток, так и деструктивно измененных. В условиях коррекции термической травмы субстратом лиофилизированной ксенокожи увеличивается число молодых и активно фагоцитирующих макрофагов, которые обеспечивают местные неспецифические защитные свойства легочной ткани.

**Ключевые слова:** альвеолярные макрофаги, структурная реорганизация, термическая травма, субстрат лиофилизированной ксенокожи.

UDC 616.24-091.8-02: 616-001.17-085.324] -092.9

#### **Structural Reorganization of the Lungs' Respiratory Alveolar Macrophages in Dynamics after Experimental Thermal Injury to the Terms of Crushed Substrate Lyophilized Xenoskin**

**Nebesna Z.M.**

**Abstract.** Acute lung injury is a frequent complication of many pathological processes and is characterized by high mortality. Establishing mechanisms of the disease is important for the development of effective treatment. Among lung cells are of particular importance alveolar macrophages, which carry a protective function in the lower respiratory tract and respiratory department. It is on their functional state dependent expression of the structural and metabolic adjustment lung pathology. Promising in the treatment of burns is to use factors that reduce the flow of toxins in the body from

the site of thermal injury. One biological agent for burn wound closure is crushed substrate of lyophilized xenodermoinplantate that are highly effective medicines with sorption antitoxic, plastic, metabolic and redox potential.

*Object and methods.* Experiments conducted on 30 white male rats. Burn injury inflicted during anesthesia ketamine by two copper plates measuring 14.5 cm<sup>2</sup> heated in boiling water to a temperature of 97-100°C on the back surface of the epilated skin of the animal for 15 seconds. Lot size lesions accounted for 18-20% of the body surface of animals. The animals were decapitated at 1, 7, 14 and 21 days. Pieces lungs were fixed in 10% neutral formalin solution and embedded in paraffin blocks. Histological preparations were studied using light microscope MISROmed SEO SCAN. Ultrathin sections were studied in the electron microscope PEM- 125 K.

*Results.* Histologically lungs of animals in the early stages after experimental thermal injury (1, 7 day experiment) found pronounced hemodynamic disorders and primary destructive changes of all components, especially the respiratory department and microvessels. In later periods (14, 21 days) histochemical observation in a study by Mouri in the lumen of the alveoli, in the interstices diffuse areas of hemorrhage and found that the number of macrophages with bright cluster "Hale"-positive grain of hemosiderine significantly increased compared to previous terms.

Microscopic examination of the lungs of animals after thermal injury and wound closure lyophilized substrate of xenoskin already on day 7 of the experiment set lower degree of damage all structural components of the body. The best condition of the vascular bed and maintaining the integrity of blood vessel walls leads to smaller displays of their blood supply and hypercoagulable and thus reduce the number of alveolar macrophages. In the lumen of the alveoli and the interstices are isolated macrophages with a little grain of hemosiderin.

*Conclusion.* The research of the structural reorganization of alveolar macrophages after experimental thermal injury established polymorphism of their population, including particularly in the later stages of the experiment, dominated by destructive-degenerative modified cells.

Application of lyophilized substrate xenodermotransplantates in terms of early necrosectomy affected skin areas after thermal injury positively influences on lung alveoli alveolar macrophages in their population composition is dominated by youth and actively phagocytic cells. This positively affects the respiratory department of lungs and increases the resistance to lung tissue damaging agents.

**Keywords:** alveolar macrophages, structural reorganization, thermal injury, lyophilized substrate of xenoskin.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г.А.*

*Стаття надійшла 28.07.2015 р.*