

**СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ГЕМОКАПІЛЯРІВ КОРИ МОЗОЧКА
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРМІЧНІЙ ТРАВМІ ТА ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ
ЛІОФІЛІЗОВАНОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО СУБСТРАТУ****Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль)**

ohinska@tdmu.edu.ua

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є частиною науково-дослідної роботи кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України «Особливості структурної реорганізації нервової, травної, ендокринної систем, органів кровотворення та імунного захисту за умов термічної травми та застосування коригуючих чинників», № державної реєстрації 0120U104152.

Вступ. Наукові експериментальні дослідження впливу наслідків термічної травми на організм підтверджують той факт, що у результаті виникнення метаболічних порушень відбуваються структурна перебудова органів [1, 2, 3, 4]. Нервова система одна із перших включається у механізм реакції таких, як стрес та надмірні больові імпульси [5, 6]. Ключовим моментом при термічних травмах із глибокими опіками є токсиноутворення. Виникають порушення мікроциркуляції, адже з кров'ю до всіх органів розносяться токсини мікробного, специфічного та неспецифічного характеру [7, 8, 9]. Мозочок одна із важливих структур головного мозку, яка бере участь у прийнятті чинників екзогенного походження. Морфофункціональна перебудова кори мозочка відбувається на фоні нейротоксичної дії екзо- або ендогенних чинників та порушення структури гематоенцефалічного бар'єру. Проте ступінь субмікроскопічних змін їх структурних компонентів на сьогодні не мають достатнього вивчення. Дані знання необхідні для розробки дієвих методів і способів корекції ураженої ділянки шкіри для зменшення дії ендогенної інтоксикації на організм. На сьогодні поряд із класичним закриттям поверхні опікової рани, застосовують сучасний коригуючий чинник – субстрат ліофілізованої ксеношкіри, який володіє високою пластичністю, сорбційними властивостями, забезпечує регенерацію уражених ділянок. Водночас покращується морфофункціональний стан органів та систем організму, зокрема мозочка [10, 11].

Мета дослідження – визначити ультраструктурні зміни кровоносних капілярів кори мозочка у динаміці експериментальної травми та за умов використання коригуючого чинника, а саме субстрату ліофілізованої ксеношкіри.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведено на 30 статевозрілих білих щурах-самцях. Тварин утримували у стандартних умовах віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України на загальному харчовому раціоні. Догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили із дотриманням правил "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що викорис-

товуються для дослідних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), а також у відповідності до положень "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Тварин поділили на 2 групи: перша – тварини з опіковою травмою (15 особин), друга – тварини з опіковою травмою, яким провели ранню некректомію з подальшим закриттям ран субстратом ліофілізованої ксеношкіри (15 особин). Опік III ступеня наносили під тіопентал натрієвим наркозом мідними пластинами нагрітими у кип'яченій воді до температури 97-100°C на епіловану поверхню шкіри спини тварини. Розміри ураження складали 18-20% поверхні тіла щурів. Ранню некректомію пошкоджених ділянок шкіри проводили через 1 добу після нанесення термічної опіку. Рани, що утворились, покривали ліофілізованим ксенодермальним субстратом. Піддослідних тварин декапітували на 7, 14 та 21 доби, що відповідає стадіям ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби. Об'єктом дослідження був мозочок.

Забір матеріалу для електронномікроскопічних досліджень проводили відповідно до загальноприйнятої методики. Маленькі шматочки органу фіксували у 2,5% розчині глютаральдегіду, який приготовлений на основі фосфатного буферу із рН середовищем 7,2-7,4. Постфіксацію здійснювали у 1% розчині тетраоксиду осмію, після проводили його дегідратацію у пропіленоксиді та заливали в суміш епоксидних смол. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромтомі LKB-3 контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю відповідно до методу Рейнольдса і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125K [12].

Результати дослідження та їх обговорення.

Проведені електронномікроскопічні дослідження кори мозочка після нанесення термічної травми встановили, що на 7 добу експерименту виявляються гетерогенні зміни гемокapілярів. Просвіти більшості з них розширені, кровонаповненні, із формуванням стазів і сладжів, виявляється набряк стінки. Базальна мембрана нерівномірно потовщена або витончена, з нечіткими контурами. Визначається набряк цитоплазми ендотеліоцитів, їх ядра гіпертрофовані, мають інвагінації та нечіткі контури мембран каріолеми, у каріоплазмі конденсований гетерохроматин зосереджений переважно біля внутрішньої мембрани каріолеми, виявляються зони розширення перинуклеарного простору (**рис. 1**). У цитоплазмі ендотеліальних клітин наявні розширені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі. Мітохондрії мають просвітлений матрикс, їх кристи частково фрагментовані. Цито-

плазма периферійних ділянок ендотеліоцитів помірно набрякла, виявлялося зменшення кількості кавеол та мікропіноцитозних пухирців. На люменальній поверхні визначалося мало мікроворсинок.

Ультраструктурно було встановлено, що на 14 добу більшість гемокапілярів кровонаповненні. Ендотеліоцити збільшені, набряклі, мають локальне просвітлення і ущільнення цитоплазми. Ядра ендотеліоцитів неправильної форми, пікнотично змінені. Каріолема утворює випини та глибокі інвагінації. В їх каріоплазмі переважає маргінально конденсований гетерохроматин. У цитоплазмі клітин виявляються деструктивно змінені органели. Мітохондрії гіпертрофовані, з частково зруйнованими кристами та просвітленим матриксом. Цистерни комплексу Гольджі та каналці гранулярної ендоплазматичної сітки частково фрагментовані, розширені. Мікропіноцитозних міхурців небагато, розміщуються біля люменальної частини плазмолемі. Базальна мембрана на деяких ділянках нерівномірно потовщена і набрякла (рис 2).

На 21 добу експерименту субмікроскопічно встановлено, що просвіт гемокапілярів звужений як за рахунок набряку цитоплазми ендотеліоцитів так і периваскулярного набряку. Спостерігалось ущільнення ядер, в каріоплазмі яких переважає гетерохроматин. Канальці ендоплазматичної сітки деструктивно змінені розширені, фрагментовані деякі з них зруйновані. Змінені мітохондрії мають просвітлений матрикс і місцями деструктивно змінену зовнішню мембрану. Люменальна поверхня позбавлена мікроворсинок, нечітка, розмита. Електронна щільність базальної мембрани нерівномірна, вона стоншена або нерівномірно потовщена (рис. 3).

Результати дослідження гемокапілярів кори мозочка групи тварин, яким після ранньої некретомії рани покривали субстратом ліофілізованої ксеноскіри вже на 7 добу експерименту встановили менший ступінь ураження їх структурних компонентів, а також покращення функціональної активності деяких кровонесних капілярів, порівняно із групою тварин без корекції. Це підтверджується тим, що спостерігалось зростання піноцитозних міхурців та кавеол у цитоплазмі ендотеліоцитів. У розширених просвітах наявні еритроцити, проте явище стазу не спостерігається. Базальна мембрана була відносно рівномірна, електроннощільна, має більш чіткі контури (рис. 4). Ядра ендотеліоцитів гіпертрофовані, мають неглибокі інвагінації каріолемі. На люменальній поверхні, яка обернена до току крові виявлялося збільшення числа мікроворсинок. У помірно просвітленій цитоплазмі спостерігалось краще збереження органел. Мітохондрії невеликі, матрикс просвітлений, наявні рибосоми на гранулярній ендоплазматичній сітці.

Ультраструктурно на 14 добу досліду в корі мозочка встановлено активний трансендотеліальний обмін. Ядра багатьох ендотеліоцитів мають видовжену форму та гіпертрофовані. В каріоплазмі спостерігається переважання еухроматину над гетерохроматином. У цитоплазмі виявлялося небагато коротких, нешироких каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, на мембрані яких було зростання числа рибосом. У деяких мітохондрій кристи частково фрагментовані, матрикс просвітлений місцями. Люменальна поверхня звивиста, містила мікроворсинки різного

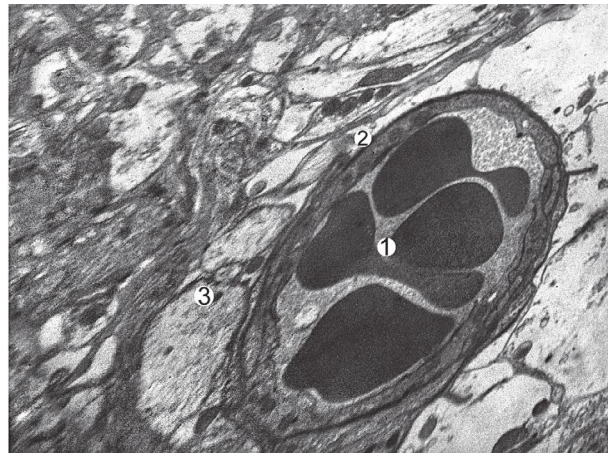


Рисунок 1 – Ультраструктурні зміни гемокапіляра кори мозочка через 7 днів після експериментальної термічної травми. Електроннограма. 36.: x 7000. Позначення: 1 – агрегація еритроцитів в просвіті капіляра; 2 – базальна мембрана; 3 – набряклий, деструктивно змінений нейропілія.



Рисунок 2 – Ультраструктурні зміни гемокапіляра кори мозочка через 14 днів після експериментальної термічної травми. Електроннограма. 36.: x 8000. Позначення: 1 – вузький просвіт; 2 – деформоване ядро; 3 – значний периваскулярний набряк.

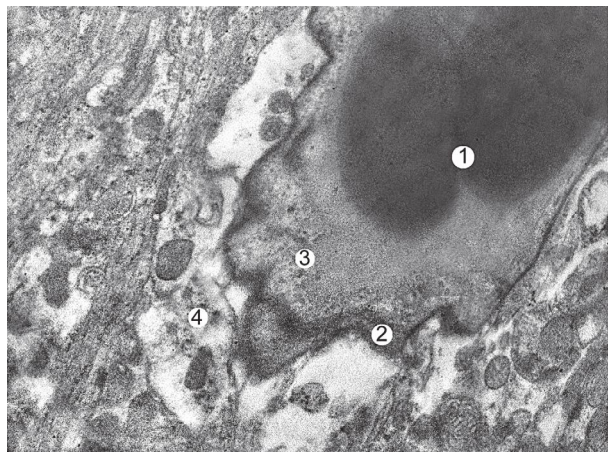


Рисунок 3 – Ультраструктурні зміни гемокапіляра кори мозочка через 21 добу після експериментальної термічної травми. Електроннограма. 36.: x 9000. Позначення: 1 – еритроцити у просвіті; 2 – гомогенна нечітка базальна мембрана; 3 – деструкція цитоплазми; 4 – периваскулярний набряк.

розміру. Базальна мембрана чітко контурована, в окремих місцях потовщена (рис. 5).

У корі мозочку при застосуванні субстрату ліофілізованої ксеноскіри після термічної травми на 21 добу

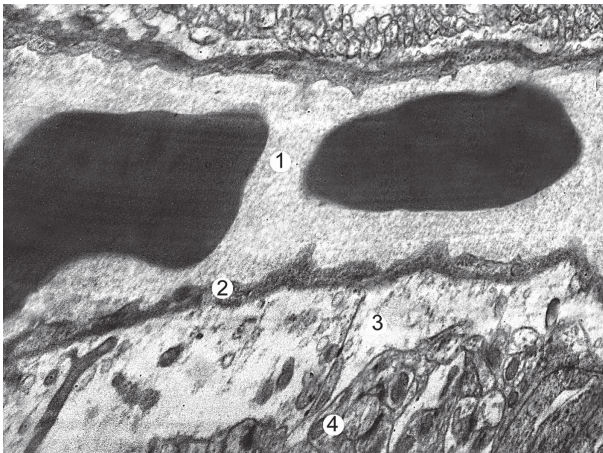


Рисунок 4 – Ультраструктурні зміни гемокапіляра кори мозочка при експериментальній термічній травмі в умовах застосування субстрату ліофілізованої ксеноскіри на 7 добу досліді. Електроннограма. 36.: x 8000.
Позначення: 1 – просвіт капіляра; 2 – базальна мембрана; 3 – периваскулярний набряк; 4 – нейропілль.

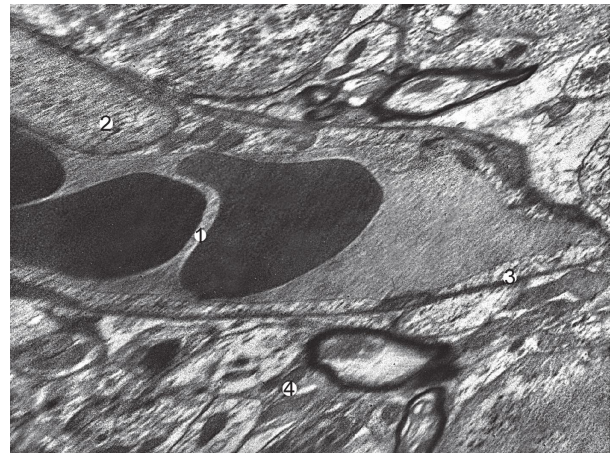


Рисунок 5 – Ультраструктурні зміни гемокапіляра кори мозочка при експериментальній термічній травмі в умовах застосування субстрату ліофілізованої ксеноскіри на 14 добу досліді. Електроннограма. 36.: x 8000.
Позначення: 1 – просвіт з еритроцитами; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – базальна мембрана; 4- нервові волокна.

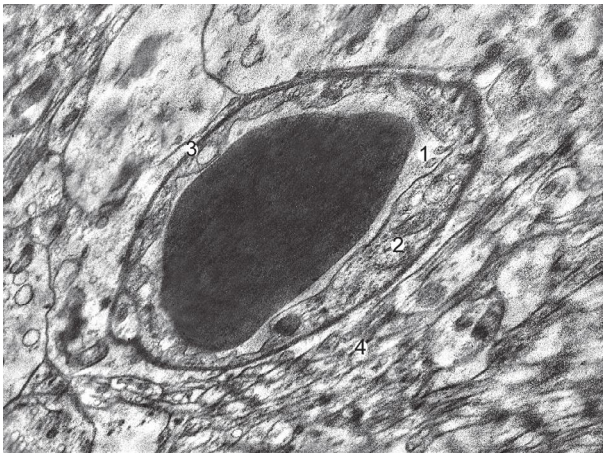


Рисунок 6 – Ультраструктурні зміни гемокапіляра кори мозочка при експериментальній термічній травмі в умовах застосування субстрату ліофілізованої ксеноскіри на 21 добу досліді. Електроннограма. 36.: x 10000.
Позначення: 1 – просвіт гемокапіляра; 2 – цитоплазма ендотеліоцита; 3 – базальна мембрана; 4 – нейропілль.

експерименту спостерігалися багато функціонально активних капілярів, а також відносна нормалізація їх ультраструктурної організації. Просвіти гемокапілярів помірні. Деякі ендотеліоцити мають подовгасті ядра, каріолема яких має інвагінації, ядерця гіпер-

трофовані. У цитоплазмі клітин містилися незмінні органели, чисельні піноцитозні пухири. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі добре виражені. Мітохондрії мають збережені кристи. Периваскулярний набряк практично не спостерігався. Люменальна мембрана містить чисельні мікроворсинки, що вказує на активацію обмінних процесів. Базальна мембрана рівномірна та чітко контурована (рис. 6).

Висновки. Проведені субмікроскопічні дослідження показали нам, що у ранні терміни після термічної травми зміни гемокапілярів характеризуються пристосувально-компенсаторними процесами, тоді як у пізні терміни розвиваються глибокі деструктивні та дегенеративні зміни. Встановлено, що за умов використання субстрату ліофілізованої ксеноскіри відбувається покращення гемодинаміки впродовж усіх термінів досліді, а також створюється середовище для покращення мікроциркуляції кори мозочка, зменшується ступінь їх ушкодження, активуються регенераторні процеси.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати досліджень слугують для проведення подальшої морфометрії структурних компонентів мікроциркуляторного русла при термічній травмі та за умов застосування коригуючих чинників.

Література

1. Cherkasov VG, Kovalchuk AI, Dzevulska IV, Malikov AV, Lakhtadyr TV, Matkivskaya RM. Ctruktturnyye transformatsii vo vnutrennikh organakh pri infuzionnoy terapii ozhogovoy bolezni. Medychna nauka Ukrayiny. 2015;11(3-4):4-11. [in Ukrainian].
2. Hetmaniuk IB, Nebesna ZM, Lykhatskyi PH, Shuturma OYa. Osoblyvosti ul'trastruktturnoy reorganizatsiyi peredserdnykh kardiomyotsytiv pry eksperymental'nyy termichniy travmi ta za umov zastosuвання liofilizovanykh ksenodermotransplantativ. Visnyk naukovykh doslidzhen'. 2019;2:105-109. DOI: 10.11603/2415-8798.2019.2.10273. [in Ukrainian].
3. Shaw P, Sharma AK, Kalonia A, Shukla SK. Vascular perfusion: A predictive tool for thermal burn injury. Journal of Tissue Viability. 2020;29(1): 48-50. DOI: 10.1016/j.jtv.2019.12.002.
4. Pronina OM, Koptev MM, Bilash SM, Yeroshenko GA. Response of hemomicrocirculatory bed of internal organs on various external factors exposure based on the morphological research data. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2018;1(63):153-7. DOI: 10.26.724/2079-8334-2018-1-63-153-157.
5. Lytvynuk SO. Histolohichni zminy hemokapilyariv hipokampa pry eksperymental'nyy termichniy travmi. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2012;1:134-137. [in Ukrainian].
6. Shupp J, Nasabzadeh T, Rosenthal D, Jordan M, Fidler Ph, Jeng J. A review of the local pathophysiological bases of burn wound progression. J of Burn Care & Res. 2010;31(6):849-873. DOI: 10.1097/BCR.0b013e3181f93571.
7. Buryak TO. Vliyaniye urovnya intoksikatsii na razvitiye kognitivnoy disfunktsii u bol'nykh s tyazhelyo termicheskoy travmoy. Dermatovenerol. Kosmetologiya. Seksopatologiya. 2014;1(4):64-70. [in Russian].
8. Dandan Hao, Miao Qu, Mahtab Nourbakhsh. Experimental study of burn damage progression in a human composite tissue model. Biology (Basel). 2021;10(1):40. DOI: 10.3390/biology10010040.

9. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nature Reviews Disease Primers*, 2020;6(1):1-25. DOI: 10.1038/s41572-020-0145-5.
10. Tsybalyuk AV, Huda NV, Kyryk OO. Vykorystannya podribnenoho substratu liofilizovanoho ksenodermoimplantata dlya mistsevoho likuvannya opikovykh khvorykh z infikovanymy ranamy III–IV stupeniv. *Shpytal'na khirurgiya*. 2013;1:81-84. [in Ukrainian].
11. Bilash SM, Pronina OM, Koptev MM. Comprehensive morphological studies as an intergal part of modern medical science. Literature review. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*. 2019;2.2(151):20-3. DOI: 10.29254/2077-4214-2019-2-2-151-20-23
12. Goralskiy LP, Homich VT, Kononskiy OI. Osnovy histolohichnoyi tekhniki i morfofunktsional'ni metody doslidzhen' u normi ta pry patolohiyi. *Zhitomir: Polissya*; 2015. 288 s. [in Ukrainian].

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ГЕМОКАПІЛЯРІВ КОРИ МОЗОЧКА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРМІЧНІЙ ТРАВМІ ТА ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ ЛІОФІЛІЗОВАНОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО СУБСТРАТУ

Огінська Н. В., Небесна З. М., Крамар С. Б.

Резюме. Опікова травма представляє собою значну проблему у зв'язку з опосередкованим впливом на органи та системи організму. В експерименті на білих щурах-самцях було проведено вивчення змін субмікроскопічного стану гемокapілярів кори мозочка у динаміці після нанесення термічної травми і за умов використання субстрату ліофілізованої ксеношкіри. Опік III ступеня наносили під тіопентал-натрієвим наркозом мідними пластини, нагрітими у кип'яченій воді до температури 97-100°C на епільовану поверхню спини протягом 30 секунд, площа ділянки ураження складала 18-20%. Через 1 добу після нанесення термічної травми проводили ранню некректомію, рану покривали субстратом ліофілізованої ксеношкіри. На субмікроскопічному рівні вивчали зміни на 7, 14 та 21 доби експерименту. Шматочки мозочку фіксували у 2,5% розчині глютаральдегіду, а подальшу обробку здійснювали за загальноприйнятою методикою. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромтомі LBK-3, контрастували уранілацетатом, цитратом свинцю за методом Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К. Встановлено значне пошкодження структур гемокapілярів: дилатація, значний периваскулярний набряк, зміна форми ендотеліоцитів та переважання гетерохроматину в ядрі, відбувалася дистрофія органел у цитоплазмі, люменальна поверхня втратила мікрворсинки, порушення трансендотеліального обміну. У ранні терміни відзначалися пристосувально-компенсаторні процеси та початкові прояви деструктивних змін, тоді як у пізні терміни спостерігалися значні деструктивні та дегенеративні зміни. Доведено, що використання субстрату ліофілізованої ксеношкіри попереджує руйнування структурних компонентів гемокapілярів кори мозочка у ранні терміни дослідження та покращує процес регенерації, нормальне функціонування у пізні терміни.

Ключові слова: гемокapіляри; кора мозочку; субмікроскопічні зміни; термічна травма; субстрат ліофілізованої ксеношкіри.

SUBMICROSCOPIC CHANGES OF HEMOCAPILLARIES OF THE CEREBELLAR CORTEX IN EXPERIMENTAL THERMAL INJURY AND UNDER CONDITIONS OF APPLICATION OF LYOPHILIZED XENOGRAFT SKIN SUBSTRATE

Ohinska N. V., Nebesna Z. M., Kramar S. B.

Abstract. Burn injury is a significant problem due to its indirect effect on body organs and systems. The purpose of the study was to establish submicroscopic changes in hemocapillaries of the cerebellar cortex of white male rats in the dynamics after thermal injury and combined application of lyophilized xenograft skin substrate.

Burn of the third degree was induced by copper plates, heated in boiled water to a temperature of 97-100°C and placed on the epilated surface of skin, under thiopental-sodium anesthesia. The affected area occupied 18-20% of the rats' body. Early necrectomy of the affected areas of the skin was carried out 1 day after the thermal injury. The formed wounds were covered with a lyophilized xenograft skin substrate. Changes at submicroscopic levels were studied at 7th, 14th and 21st days of the experiment. For electron microscopic examination, cerebellum pieces were taken, fixed in a 2.5% glutaraldehyde solution, postfixed with 1% osmium tetroxide solution in phosphate buffer. Further processing was carried out according to the standard procedure. Ultrathin sections were made on LKB-3 ultramicrotome and were contrasted with uranylacetate, lead citrate according to the Reynolds method and studied with a PEM-125K electron microscope.

Significant damage to the structures of haemocapillaries was detected: dilatation, significant perivascular edema, endothelial cell shape changes and predominant fraction of heterochromatin in the nucleus, organelles dystrophy in cytoplasm, loss of microvilli on the luminal surface of haemocapillaries, disorder of transendothelial metabolic processes. In the early stage (early toxemia) there were adaptive-compensatory processes and initial manifestations of destructive changes, while in the late stages (late toxemia and septicotoxemia) there were significant destructive and degenerative changes. It was proved that the application of lyophilized xenograft skin substrate after the early necrectomy prevents the destruction of the structural components of the hemocapillaries of the cerebellar cortex in the early stages of the experiment and improves the regenerative processes, proper functioning of microcirculatory bed at the late stages of the experiment.

Key words: cerebellar cortex; hemocapillaries; ultrastructural changes; thermal trauma; lyophilized xenograft skin substrate.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 30.12.2020 року