

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Hapon S. V.: <https://orcid.org/0000-0002-4902-6055> ^{ABCDEF}

Hapon Y. V.: <https://orcid.org/0000-0002-3513-4637> ^{BCDE}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors of the article confirm the absence of conflict of interests. / Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Hapon Yuriy Vasylovych / Гапон Юрій Васильович

State Educational Institution «Poltava Higher Interregional Vocational School» / Державний навчальний заклад «Полтавське вище міжрегіональне професійне училище»

Ukraine, 36007, Poltava, 64-A Reshetilivska str. / Адреса: Україна, 36007, м. Полтава, вул. Решетилівська 64-А

Tel.: +380661001246 / Тел.: +380661001246

E-mail: gyra83@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article. / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статистичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 04.10.2023 / Стаття надійшла 04.10.2023 року

Accepted 01.03.2024 / Стаття прийнята до друку 01.03.2024 року

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-97-106

UDC 57.085:[599.323.452:591.438]

Paydarkina A. P., Kush O. G.

**MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF THE PERITONEUM AND ITS STRUCTURES
WITH ADHESION DISEASE**

Zaporizhzhia National University (Zaporizhzhia, Ukraine)

nastasia.p.nikolskaya97@gmail.com

The study of the pathogenesis of adhesions and the role of lymphoid clusters FALC in adhesion formation remains an urgent problem in modern biology and medicine. Bowel obstruction occupies a special place among all other potential consequences of adhesive disease, which emphasizes the medical and social significance of this problem. The present work presents the peculiarities of the distribution and number of lymphocytes in the small intestinal mesentery in adhesive disease compared to the norm in rats. Purpose: to determine the peculiarities of the morphofunctional state of peritoneal tissues and fat-associated lymphoid clusters (FALC) in rats in normal and adhesive disease. Object and Methods: dissection, macroscopic, microscopic, histological (making film preparations), hematoxylin and eosin staining, mathematical (morphometric grid - the number of immunocompetent cells per standard area of 1000 μm^2 was counted), planimetric (the plane of the small intestine mesentery and the area changed by adhesive processes were calculated), statistical by Student. In the mesentery of the small intestine, fat-associated lymphoid clusters FALC, represented by diffusely located lymphocytes of small, medium and large diameter and plasma cells, are normally observed. After reproduction of the experimental form of adhesive disease, gradual changes in the tissues of the mesentery of the small intestine were observed: a decrease in mobility and granularity of the tissue on day 7 of observation, thickening and density of connective tissue on day 14, as well as the appearance of granular formations with solid conglomerates of heterogeneous structure in the tissue on day 21 of observation. The influence of adhesion formation processes on the structure of lymphoid tissue was also observed, and the presence of lymphocyte clusters in certain areas of the mesentery was observed on day 7 of the study. On day 14, the number of lymphocytes per unit area increased by 44%, and on day 21, by 47% compared to day 7 of observation.

Key words: small intestine, rats, experiment, histological changes of peritoneum, immunity, morphology, microscopy, morphometry.

Connection of the publication with planned research works.

The experimental study was conducted within the framework of the research work of the Department of Physiology, Immunology and Biochemistry with the Course of Civil Defense and Medicine “Morphological and functional state of organs and their lymphoid components under the influence of internal and external factors”, state registration number: 0123U103988.

Introduction.

Adhesive bowel obstruction is a syndrome of disorders of effective motor and evacuation function of the intestine with various clinical and morphological changes in the affected intestine, which occurs as a result of intra-abdominal adhesions, often accompanied by the development of multiple organ failure syndrome involving all organs and systems of the body [1].

Postoperative adhesive disease of the abdominal cavity develops in 14% of patients after the first laparotomy and in 96% after the third. A special place

among the potential consequences of adhesive disease is occupied by bowel obstruction and other disorders, which justifies the medical and social significance of the problem [2]. Thus, the study of the most important links in the pathogenesis of adhesion formation and the development of an experimentally proven anti-adhesive complex of preventive measures is an urgent problem of pelvic surgery [3].

An integral condition for the formation of adhesions is a decrease in the anti-adhesive properties of the peritoneum with a reduction in the level of plasminogen activators due to a deficit in blood supply to the mesothelium. With balanced healing processes, the peritoneum is restored, and if the balance is disturbed, adhesions form [4]. In the case of peritoneal injury, 5 phases of adhesion formation are distinguished: 1. Reactive phase (first 12 hours) – determined by peritoneal damage. 2. The exudation phase (1-3 days) – increases the permeability of the vascular wall, which contributes to the release of peritoneal low-differentiated polypotent cells, inflammatory cells and the liquid part of the blood containing fibrinogen into the abdominal cavity [3]. 3. Adhesion phase (3 days) – fibrin loss on the damaged surfaces, their adhesion. Polypotent cells of the abdominal exudate differentiate into fibroblasts that produce collagen [5]. 4. In the phase of young fusions (7-14 days), loose adhesions are formed, which contain a small amount of collagen. 5. In the phase of mature fusion (14-30 days), dense connective tissue adhesions are formed due to the production and compaction of collagen [6].

When the peritoneum is injured, the mesothelium exfoliates and develops aseptic, and in the presence of infection, septic inflammation with the release of fibrin (serous-fibrinous or purulent-fibrinous inflammation). The released fibrin glues the visceral and parietal peritoneal sheets together [7].

To date, the role of fat-associated lymphoid clusters (FALC) in adhesion formation has not yet been thoroughly investigated.

The novelty of the work is to study the peculiarities of the distribution and number of lymphocytes in the mesentery of the small intestine in adhesive disease compared to the norm in rats and the effect of FALC on the processes of mesenteric tissue remodelling.

The aim of the study.

To determine the features of the morphofunctional state of peritoneal tissues and fat-associated lymphoid clusters (FALC) in rats in normal and adhesive disease.

Object and research methods.

The study was performed on male white rats weighing 190-240 g (n=20). Throughout the experiment, rats were kept on a standard diet with free access to drinking water. The animals were housed in a vivarium with a natural light-dark cycle, and the temperature and humidity of the environment were regulated.

Group I was intact. Animals of groups II (n=5), III (n=5) and IV (n=5) were intraperitoneally injected with 0.5 ml of 20% talc suspension. The aqueous suspension of talc (ChemSeal) was prepared in water for injection and injected with a syringe into the pelvic area.

Animals of group II were withdrawn from the experiment on day seven after injection, group III on day 14 and group IV on day 21 by anaesthesia with chloroform. Autopsy and sampling for further studies were performed under adequate anaesthesia in compliance

with the Council of Europe Convention on Bioethics of 1997, the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes, and the general ethical principles of animal experimentation approved by the First National Congress of Ukraine on Bioethics.

Research methods used: preparation, macroscopic, microscopic, histological (production of film preparations), staining with hematoxylin and eosin, mathematical (Glagolev morphometric grid – the number of immunocompetent cells per standard area of 1000 μm^2 was calculated), planimetric (the area of the formed adhesion was calculated), statistical according to Student.

During inspection macroscopy, the degree of formation of adhesions between organs and the walls of the peritoneum (adhesion assessment) and the area of adhesion between the surface of the peritoneum and intraperitoneal structures were evaluated.

After the macroscopic analysis, fragments of mesentery tissues of the small intestine were collected as a membranous histological preparation, measuring 1.5 × 1.5 cm, for histological evaluation [8]. To prevent the material from twisting, the collected pieces were placed on foam boards, fixed in 10% neutral formalin for 24 hours, and then washed in running water for 2 hours. Staining was performed with hematoxylin and eosin. The prepared film preparations were enclosed in a gelatin-glycerol medium and studied at different magnifications of the microscope. Six fragments of film preparations were obtained from each sample of the anatomical segment.

The degree of inflammation and the formation of adhesions was assessed by a semiquantitative method [9].

The area of the formed adhesions with the walls of the peritoneum and its derivatives was calculated. The studied structures were placed on a flat drawn grid with a period of 1 cm. Fully filled cells were taken for 1 cm^2 , partially filled cells for 0.5 cm^2 , regardless of where the studied fragment intersected them. The calculated area was considered equal to the sum of the areas of fully and partially filled cells of the planimetric grid (**fig. 1**).

The study of samples stained by histological methods and photo documentation of materials was conducted on a MICROMed Evolution LUM LS-8530 microscope using the Microsoft Excel program.

The number of lymphocytes was counted on a standard area of 1000 μm^2 using a morphometric grid. The obtained results were processed using statistical methods according to the Student's criterion.

Research results and their discussion.

The experimental adhesion formation model ensures the adhesion process formation within three weeks of observation. Also, it was established that after the experimental introduction of talc suspension, a combination of processes of transformation of fat-associated lymphoid clusters (FALC) is observed.

Picric acid was used to visualize lymphoid tissue with FALC in the structures of the peritoneum, followed by a study of their topographical and morphological features using a magnifying glass (**fig. 2**) [10].

Typically, the intestinal mesentery of a rat has a film-like transparent structure. Macroscopic examination of intact group I animals allows us to characterize it as a set of dense folds of the abdominal membrane covering the loops of the small and large intestines, separating them

from the back wall of the abdominal cavity, and containing blood vessels.

Pronounced connective tissue adhesions were observed already a week later in the II experimental group after exposure to the peritoneum of the traumatic agent. The process of formation of adhesions takes place in several stages, which naturally replace each other and end with the formation of connective tissue fusion.

Adhesions were compared by the degree of adhesion to areas of the abdominal cavity adjacent to the small intestine, the percentage of the surface of the peritoneum affected by adhesions, and various histopathological characteristics at 7, 14, and 21 days after the introduction of the talc suspension. Thus, on the 7th day in the animals of the II experimental group, adhesions of a weak type were observed: thin and homogeneous, fragile, and easily removed by a weak incision, which led to limited bleeding.

On the 14th day, intermediate adhesions were detected in the animals of the III experimental group. Neoplasms were characterized by a noticeably denser structure compared with the II group and were removed by an aggressive or small single sharp incision, which led to moderate bleeding.

On the 21st day of the study, adhesions of a strong type were formed in the IV group. Dense adhesions with noticeable hard conglomerates of heterogeneous structure were removed mainly by sharp dissection and bled profusely. There was marked hyperemia of the mesentery of the small intestine in 95% of cases.

The morphometry of the mesentery was calculated by the macroscopic study of the main linear parameters [11]. Normally, the length of the mesentery of the small intestine in the 1st group was 11.0 ± 1.5 cm. The obtained data for calculating its width were 9.5 ± 0.5 cm, and the area was 56.5 ± 2.5 cm², which corresponded to the average statistical indicators of white laboratory rats.

Using a planimetric grid, the percentage formation of adhesions in the peritoneum was calculated and compared to the norm, and their area was estimated. On the 7th day of the study, in the animals of the II experimental group, the spread of adhesion formation was noted by 10% (33 ± 1.0 cm) of the mesentery of the small intestine compared with the intact animals of the I group. The 14th and 21st days of observation showed damage to the tissues of the mesentery of the small intestine in the III and IV experimental groups by 15% (48.5 ± 1.5 cm) and 18% (45.7 ± 2.5 cm), respectively, which indi-



Figure 1 – Morphometry of the mesentery area of the small intestine in rats of the I group on the planimetric grid.

cates progressive adhesion damage to the structures of the mesentery, and, as a result, a noticeable decrease in elasticity, flexibility, and a reduction in their mobility.

In the animals of the III and IV experimental groups, on the 14th day after the introduction of the talc suspension, signs of acute inflammation were revealed, which were manifested by diffuse and local lymphocytic infiltration of the mesentery against the background of vascular hyperemia and small haemorrhages. It is also necessary to note the development of swelling of the surrounding tissues, which was noticeable when the branches of the tweezers were mechanically closed, and the formation of dents, which indicates the swelling of the examined tissues.

Haschuk V.S. (2021) emphasizes that in response to mesenteric irritation, a cascade of immune reactions is triggered, which plays a decisive role in forming adhesions. The main role is attributed to cellular immunity (T-lymphocytes) [12]. However, it is not yet known for sure which subpopulations of lymphocytes are involved in this process, which requires further research.

In the rats of the III and IV experimental groups, on the 14th and 21st days of observation, macroscopic examination of the mesentery of the small intestine showed marked hyperemia of blood vessels, in contrast to the animals of the intact group I.

It has been experimentally proven that during the development of the adhesion process, the numerical indicators of immune reactivity are higher than average against the background of an increase in the number of lymphocytes per conventional unit of mesenteric area. Typically, lymphocytes are located diffusely (I group) and

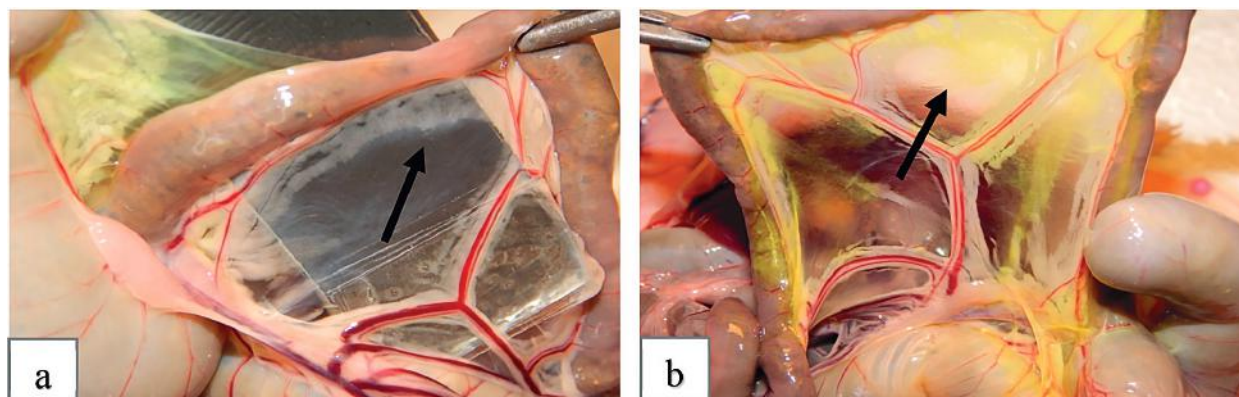


Figure 2 – Small intestinal mesentery in rats. Macroscopic sample; visualization of lymphoid tissue with picric acid: a) in animals of the intact group; b) in the animals of the experimental group for three weeks after the introduction of the talc suspension.

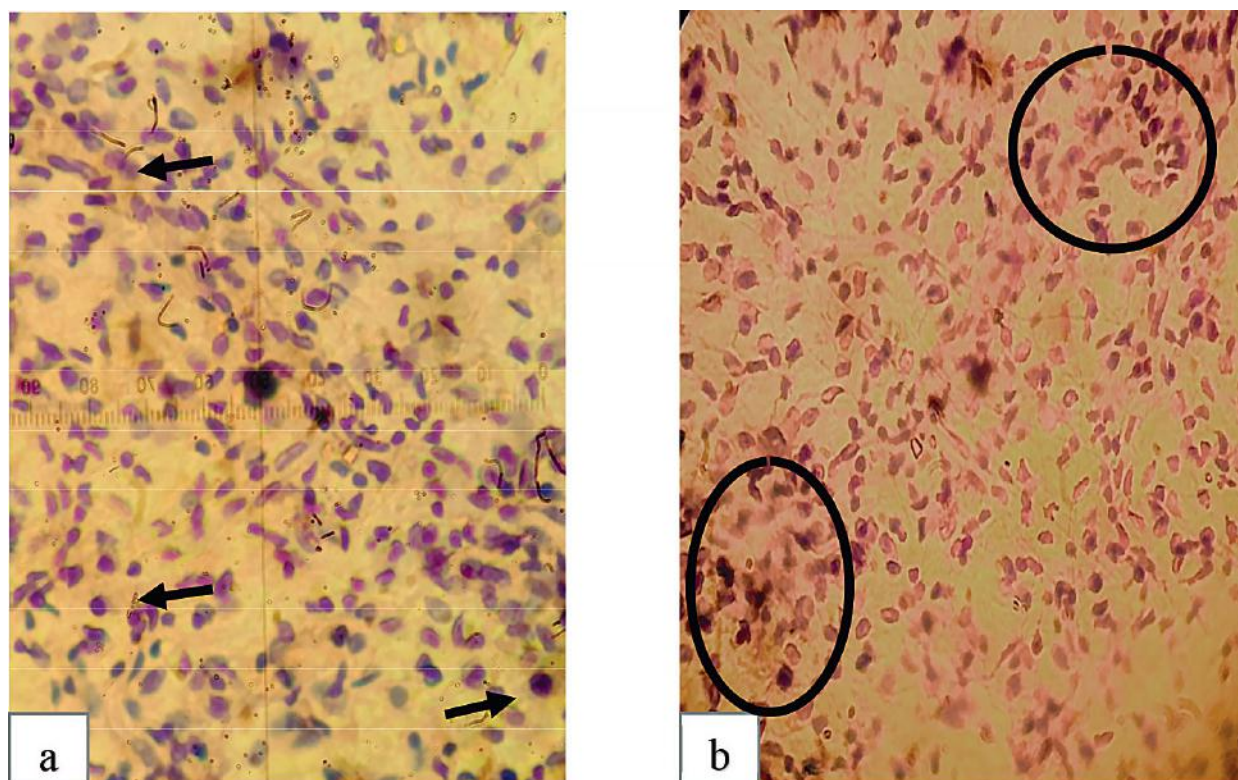


Figure 3 – Mesentery of the small intestine. Topography of lymphocytes. Distribution of lymphocytes: a) diffuse location in rats of the intact group; b) localization of lymphocytes in clusters in rats with experimental adhesion disease on the 14th day of the experiment. Film sample. Staining: hematoxylin and eosin. Encapsulation in glycerin-gelatin. Magnification: 10x40.

are characterized by the presence of rounded small cells with a diameter of 8-9 μm with a well-defined nucleus (**fig. 3**); with progressive processes of adhesion formation, lymphocytes form small clusters of 5-7 cells of small and medium diameter. Some of them have a wide rim of cytoplasm. Most often, such clusters are localized around blood vessels (**see fig. 2, fig. 3**).

Applying the calculation for a standard area of 1000 μm^2 , we obtained facts about the number of lymphocytes in the norm in animals of the I group, which was 4.5 ± 0.58 lymphocytes. There is a tendency for the number of lymphocytes to increase almost twice in animals of III (10.2 ± 0.38) and IV (9.5 ± 0.42) groups in comparison with the indicators of animals of the intact group.

Today, it is known that the formation of adhesions in the peritoneal cavity consists of two main components. This process can be characterized as a local response caused by either mechanical stimulation of the peritoneum or systemic disorders (biochemical, hormonal, and genetic), which determine the intensity of collagen formation by mesotheliocytes and affect the expressiveness of the adhesion process. Bondar O. B. (2003) and Vesely S. V. (2017) consider the combination of these factors to be the basis of the aetiology of adhesion disease and recurrent adhesion intestinal obstruction [4, 13].

The fibrinolytic system is the main protective mechanism against the formation of fibrous adhesions after surgical interventions [13]. However, the activity of the fibrinolytic system can be reduced after surgery, and fibrin can be deposited in the abdominal cavity in quantities that exceed its ability to split [14]. If the fibrous formations are not resolved for some reason, they turn into fibrous adhesions: fibroblasts, on 2-3 days, appear within the adhesions, which begin to

produce collagen fibres [15]. Capillaries are formed 7-21 days after the surgery, and nerve fibres begin to grow [16]. Finally, on the 21st day, nerve fibres with blood vessels and endings form at the site of fibrous adhesions, completing the formation of connective tissue in the form of dense fibrous adhesions [17].

According to our opinion, which coincides with the ideas of Braun K. M. (2014), lymphocytes also affect various cellular processes: they stimulate collagen synthesis and collagenase formation by macrophages and fibroblasts [18]. This idea needs further development and research: exactly which lymphocyte subpopulation affects the mesentery's reconstruction during adhesion disease.

Thus, according to the literature data and the results of our own research, we can conclude that the formation of adhesion disease is mediated by a complex biochemical and hormonal regulatory system involving many biologically active substances, as well as the immune and blood coagulation systems [12, 19].

Conclusions.

In normal rats, in the mesentery of the small intestine, fat-associated lymphoid clusters (FALC), which are represented by diffusely located lymphocytes of small, medium and large diameters over the entire area of the mesentery, are found. The experimental form of adhesion disease was characterized by gradual changes in the tissues of the mesentery of the small intestine and the formation of adhesions, which can be described as thin, uniform and fragile on the 7th day; hard, dense and granular formations on the 14th day; solid conglomerates of heterogeneous structure on the 21st day of observation. The mesentery of the small intestine progressively acquires a less mobile, less elastic, thickened structure. The process of experimen-

tal adhesion formation was accompanied by dynamic changes in the FALC structure. A progressive increase in the accumulation of lymphocytes and their number in these structures is noted. On the 7th day, the number of lymphocytes increases by 10% in animals of the II group, on the 14th day, their increase is noted by 20% in the animals of the IIIrd group, and on the 21st day – by 25%

in the IV experimental group in comparison with intact animals.

Prospects for further research.

In our opinion, histological studies of the cellular composition of the mesentery of the small intestine, their analysis, and comparison between groups are promising.

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-97-106

УДК 57.085:[599.323.452:591.438]

Пайдаркіна А. П., Куц О. Г.

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ОЧЕРЕВИНИ І ЇЇ СТРУКТУР ПРИ СПАЙКОВІЙ ХВОРОБІ

Запорізький національний університет (м. Запоріжжя, Україна)

nastasia.p.nikolskaya97@gmail.com

Дослідження патогенезу спайкового процесу і ролі лімфоїдних кластерів FALC, пов'язаних з жировою тканиною, у процесах спайкоутворення залишається актуальною проблемою сучасної біології і медицини. Кишкова непрохідність посідає особливе місце серед всіх інших потенційних наслідків спайкової хвороби, що підкреслює медико-соціальне значення цієї проблеми. У даній роботі представлені особливості розподілу і кількості лімфоцитів у брижі тонкого кишечника при спайковій хворобі порівняно з нормою у щурів. Мета: визначення особливостей морфофункціонального стану тканин очеревини і лімфоїдних кластерів, асоційованих з жировою тканиною (FALC) у щурів в нормі і при спайковій хворобі. Об'єкт і методи: препарування, макроскопічний, мікроскопічний, гістологічний (виготовлення плівкових препаратів), забарвлення препаратів гематоксиліном і еозином, математичний (морфометрична сітка - підраховувалася кількість імунотоксичних клітин на стандартну площу 1000 мкм²), планіметричний (підраховувалася площа брижі тонкого кишківника та площа, що була змінена спайковими процесами), статистичний за Стьюдентом. В брижі тонкого кишківника в нормі спостерігаються лімфоїдні кластери, асоційовані з жировою тканиною FALC, що представлені дифузно розташованими лімфоцитами малого, середнього і великого діаметру та плазматичними клітинами. Після відтворення експериментальної форми спайкової хвороби спостерігалися поступові зміни в тканинах брижі тонкого кишківника: зменшення рухливості і драглистості тканини на 7 добу спостереження, потовщення і щільність сполучної тканини на 14 добу, а також поява зернистих утворень з твердими конгломератами неоднорідної структури в тканині на 21 добу спостереження. Спостерігався вплив процесів спайкоутворення і на структуру лімфоїдної тканини і полягав у наявності скупчень лімфоцитів в окремих ділянках брижі на 7 добу дослідження, на 14 добу кількість лімфоцитів на одиницю площі збільшувалася на 44%, на 21 добу на 47% порівняно з 7 добою спостереження.

Ключові слова: тонка кишка, щури, експеримент, гістологічні зміни очеревини, імунітет, морфологія, мікроскопія, морфометрія.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Експериментальне дослідження проводилося в межах науково-дослідної роботи кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини «Морфо-функціональний стан органів і їх лімфоїдних компонентів під дією внутрішніх і зовнішніх факторів», номер державної реєстрації: 0123U103988.

Вступ.

Спайкова кишкова непрохідність – синдром порушень ефективної моторної та евакуаторної функції кишки з різними клінічними і морфологічними змінами ураженої кишки, який виникає у результаті внутрішньочеревних зрощень, що нерідко супроводжується розвитком синдрому поліорганної недостатності із залученням усіх органів і систем організму [1].

Післяопераційна спайкова хвороба органів черевної порожнини розвивається у 14% хворих після першої лапаротомії та в 96% – після третьої. Особливе місце серед потенційних наслідків спайкової

хвороби посідають кишкова непрохідність та інші порушення, що обґрунтовує медико-соціальне значення проблеми [2]. Отже, вивчення найбільш значущих ланок патогенезу спайкоутворення і розробка експериментально обґрунтованого протиспайкового комплексу профілактичних заходів є актуальною проблемою хірургії органів малого тазу [3].

Невід'ємною умовою утворення спайок є зниження антиадгезивних властивостей очеревини при зниженні рівня активаторів плазміногену внаслідок дефіциту кровопостачання мезотелію. При збалансованих процесах загоєння відбувається відновлення очеревини, при порушенні балансу – формування спайок [4]. При ушкодженні очеревини виділяють 5 фаз спайкоутворення: 1. Реактивна фаза (перші 12 год) – визначається ушкодженням очеревини. 2. Фаза ексудації (1–3 доби) – підвищується проникливість судинної стінки, що сприяє виходу в черевну порожнину перитонеальних мало-диференційованих поліпотентних клітин, клітин запалення та рідкої частини крові, яка містить фібриноген [3]. 3. Фаза адгезії (3 доба) – випадіння фібрину на ушкоджених поверх-

нях, їх склеювання. Поліпотентні клітини черевного ексудату диференціюються у фібробласти, які продукують колаген [5]. 4. Фаза молодих зрощень (7–14 доби) – утворюються пухкі спайки, які містять незначну кількість колагену. 5. Фаза зрілих зрощень (14–30 доби) – утворюються щільні сполучнотканинні спайки за рахунок продукції та ущільнення колагену [6].

При травмуванні очеревини мезотелій злущується та розвивається асептичне, а при наявності інфекції, септичне запалення з вивільненням фібрину (серозно-фібринозне або гнійно-фібринозне запалення). Фібрин, який випав, склеює листки вісцеральної та парієтальної очеревини [7].

На сьогоднішній момент ще не до кінця досліджено залишається роль лімфоїдних кластерів, асоційованих з жировою тканиною FALC (fat-associated lymphoid clusters) у процесах спайкоутворення.

Новизна роботи полягає у дослідженні особливостей розподілу і кількості лімфоцитів у брижі тонкої кишки при спайковій хворобі у порівнянні з нормою у щурів і впливу FALC на процеси ремоделювання тканини брижі.

Мета дослідження.

Визначення особливостей морфологічно-функціонального стану тканин очеревини і лімфоїдних кластерів, асоційованих з жировою тканиною (FALC) у щурів в нормі і при спайковій хворобі.

Об'єкт і методи дослідження.

Дослідження виконувались на самцях білих щурів з масою тіла 190–240 г (n=20). Протягом усього експерименту щурів утримували на стандартному раціоні харчування за умов вільного доступу до питної води. Тварин розміщували у віварії з природним циклом світло-темрява, регулювали температуру та вологість навколишнього середовища.

I група була інтактною. Тваринам II (n=5), III (n=5) та IV (n=5) експериментальних груп внутрішньоочеревинно вводили 0,5 мл 20% суспензії тальку. Водну суспензію тальку (ХімСейл) готували на воді для ін'єкцій і вводили шприцом у ділянку малого таза.

Тварини II експериментальної групи виводилися з експерименту на 7 добу після ін'єкції, III групи на 14 добу і IV групи на 21 добу шляхом наркозу з хлороформом. Розтин і забір матеріалу для подальших досліджень виконувалися в умовах адекватної анестезії з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 року, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики.

Використані методи дослідження: препарування, макроскопічний, мікроскопічний, гістологічний (виготовлення плівкових препаратів), фарбування гематоксиліном і еозином, математичний (морфометрична сітка Глаголева – підраховувалася кількість імункомпетентних клітин на стандартну площу 1000 мкм²), планіметричний (підраховувалася площа утворений спайок), статистичний за Стьюдентом.

При оглядовій макроскопії оцінювали ступінь утворення спайок між органами та стінками очеревини (оцінка адгезії) й площу адгезії між поверхнею очеревини та внутрішньоочеревинними структурами.

Після проведеного макроскопічного аналізу, для гістологічної оцінки були зібрані фрагменти тканин брижі тонкого кишківника як плівчастого гістологічного препарату, розмірами 1,5 × 1,5 см [8]. Задля запобігання скручування матеріалу зібрані шматочки поміщали на поролонові бортики і фіксували в 10% нейтральному формаліні 24 години, потім 2 години промивали в проточній воді. Фарбування проводилося гематоксиліном і еозином. Виготовлені плівкові препарати заключали в желатин-гліцерин середовище і вивчали при різних збільшеннях мікроскопа. З кожного зразка анатомічного сегмента було отримано шість фрагментів плівкових препаратів.

Ступінь запалення та утворення спайок оцінювали напівкількісним методом [9].

Була розрахована площа утворених спайок із стінками очеревини і її похідними. Досліджувані структури розміщували на плоску розкреслену сітку з періодом в 1 см. Повністю заповнені клітинки приймалися за 1 см², частково заповнені – за 0,5 см², незалежно від того, де досліджуваний фрагмент їх перетинав. Розраховану площу вважали рівною сумі площ повністю та частково заповнених клітинок планіметричної сітки (рис. 1).

Вивчення препаратів забарвлених гістологічними методами і фотодокументація матеріалів проводилася на мікроскопі MICROmed Evolution LUM LS-8530 з використанням програми Microsoft Excel.

За допомогою морфометричної сітки на стандартну площу 1000 мкм² підраховували кількість лімфоцитів. Отримані результати оброблялися методами статистичної обробки за критерієм Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення.

Задіяна експериментальна модель спайкоутворення забезпечує утворення спайкового процесу протягом трьох тижнів спостереження. Також, встановлено, що після експериментального введення суспензії тальку спостерігається комбінація процесів трансформації лімфоїдних кластерів, асоційованих з жировою тканиною FALC (fat-associated lymphoid clusters).

Для візуалізації лімфоїдної тканини з FALC у структурах очеревини проводили із застосуванням пікринової кислоти із подальшим дослідженням їх топографічних і морфологічних особливостей за допомогою лупи (рис. 2) [10].

В нормі брижа кишечнику щура має плівкову прозору структуру. Макроскопічне дослідження тварин I інтактної групи дозволяє охарактеризувати її як сукупність щільних складок черевної оболонки, що охоплюють петлі тонкого і товстого кишечнику, відокремлюють їх від задньої стінки черевної порожнини, і містять кровоносні судини.

Виразені сполучнотканинні зрощення спостерігали вже через тиждень у II експериментальній групі після впливу на очеревину травмуючого агента. Процес утворення спайок перебігає у кілька етапів, які закономірно змінюють один одного і завершуються утворенням сполучнотканинного зрощення.

Спайки порівнювали за ступенем адгезії до ділянок черевної порожнини, що примикали до тонкого кишківника, відсотком поверхні очеревини, ураженої спайками, та різними гістопатологічними характеристиками на 7, 14 і 21 день після введення суспензії тальку. Таким чином, на 7 добу у тварин II

експериментальної групи були помічені спайки неміцного типу: тонкі і однорідні, хрупкі, легко видалялися слабким розрізом, що призводило до обмеженої кровотечі.

На 14 добу у тварин III експериментальної групи було виявлено спайки проміжного типу. Новоутворення характеризувалися помітно щільнішою структурою, у порівнянні з II групою, і видалялися агресивним або невеликим одиночним гострим надрізом, що призводило до помірної кровотечі.

На 21 добу дослідження в IV групі сформувалися спайки міцного типу, щільні зрощення з помітними твердими конгломератами неоднорідної структури видалялися переважно різким розсіченням і сильно кровоточили. Відзначалася чітко виражена гіперемія брижі тонкого кишківника в 95% випадків.

Морфометрію брижі обчислювали за методикою макроскопічного дослідження основних лінійних параметрів [11]. У нормі довжина брижі тонкої кишки в I групі склала $11,0 \pm 1,5$ см, отримані дані підрахунку її ширини склали $9,5 \pm 0,5$ см, а площа – $56,5 \pm 2,5$ см², і відповідали середньостатистичним показникам білих лабораторних щурів.

За допомогою планіметричної сітки було підраховано відсоткове утворення спайок в очеревині в порівнянні з нормою і оцінено їх площу. На 7 добу дослідження у тварин II експериментальної групи відзначалося поширення спайкоутворення на 10% ($33 \pm 1,0$ см) брижі тонкої кишки у порівнянні з інтактними тваринами I групи. 14 і 21 доба спостережень показала ураження тканин брижі тонкого кишківника в III і IV експериментальних групах на 15% ($48,5 \pm 1,5$ см) і 18% ($45,7 \pm 2,5$ см) відповідно, що говорить про прогресуюче спайкове ураження структур брижі, і, як результат, помітне зменшення еластичності, гнучкості, зниження їх рухливості.

У тварин III і IV експериментальних груп на 14 добу після введення суспензії тальку виявили ознаки гострого запалення, які проявлялися дифузною та локальною лімфоцитарною інфільтрацією брижі на фоні гіперемії судин та дрібних крововиливів. Необхідно також відзначити розвиток набряку довкола розташованих тканин, що було помітно при механічному змиканні браншів пінцета, утворенні в'ятин, що говорить про набряклість досліджуваних тканин.

Хашук В. С. (2021) наголошує, що у відповідь на подразнення брижі запускається каскад імунних реакцій, який відіграє вирішальну роль у формуванні



Рисунок 1 – Морфометрія площі брижі тонкого кишківника у щурів I групи на планіметричній сітці.

спайок. Основна роль наводиться клітинному імунітету (Т-лімфоцити) [12]. Проте на сьогоднішній момент ще достеменно не відомо які саме субпопуляції лімфоцитів беруть участь у цьому процесі, що й потребує подальшого дослідження.

У щурів III і IV експериментальних груп на 14 і 21 добу спостереження при макроскопічному дослідженні брижі тонкої кишки відзначається різко виражена гіперемія судин, на відміну від тварин I інтактної групи.

Експериментально доведено, що під час розвитку спайкового процесу числові показники імунної реактивності вище норми на тлі збільшення кількості лімфоцитів на умовну одиницю площі брижі. В нормі лімфоцити розташовані дифузно (I група) і характеризуються наявністю округлих невеликих клітини діаметром 8-9 мкм з чітко вираженим ядром (рис.3); при прогресуючих процесах спайкоутворення лімфоцити утворюють невеликі скупчення з 5-7 клітин малого і середнього діаметру. Частина з них має широкий обідок цитоплазми. Частіше за все подібні скупчення локалізуються навколо судин (див. рис. 2, рис. 3).

Застосовуючи розрахунок на стандартну площу 1000 мкм² було отримано факти про кількість лімфоцитів в нормі у тварин I групи, що складала $4,5 \pm 0,58$ лімфоцитів. Спостерігається тенденція до зростання кількості лімфоцитів майже у два рази у тварин III ($10,2 \pm 0,38$) і IV ($9,5 \pm 0,42$) груп у порівнянні з показниками тварин інтактної групи.

На сьогодні відомо, що утворення спайок в порожнині очеревини складається з двох основних

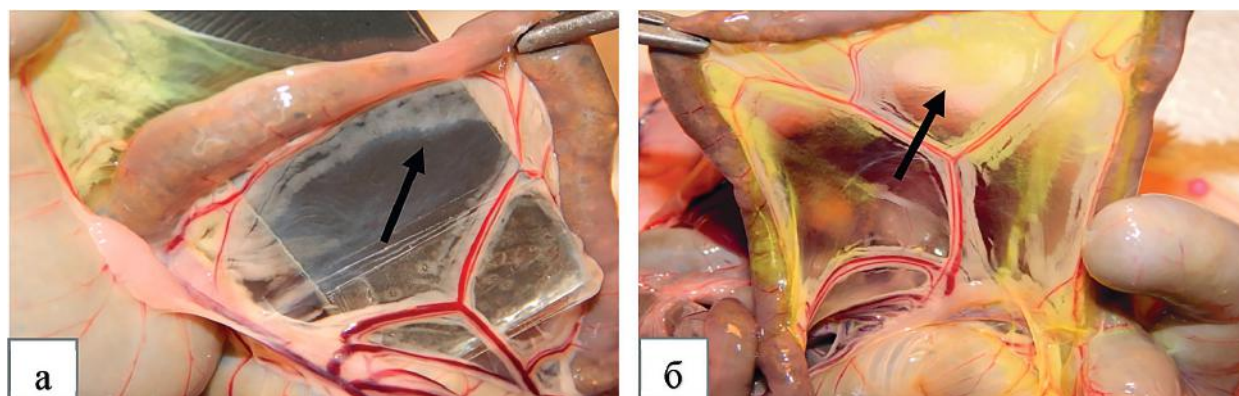


Рисунок 2 – Брижа тонкого кишківника у щурів. Макроскопічний препарат; візуалізація лімфоїдної тканини пікриною кислотою: а) у тварин інтактної групи; б) у тварин експериментальної групи на 3 тижень після введення суспензії тальку.

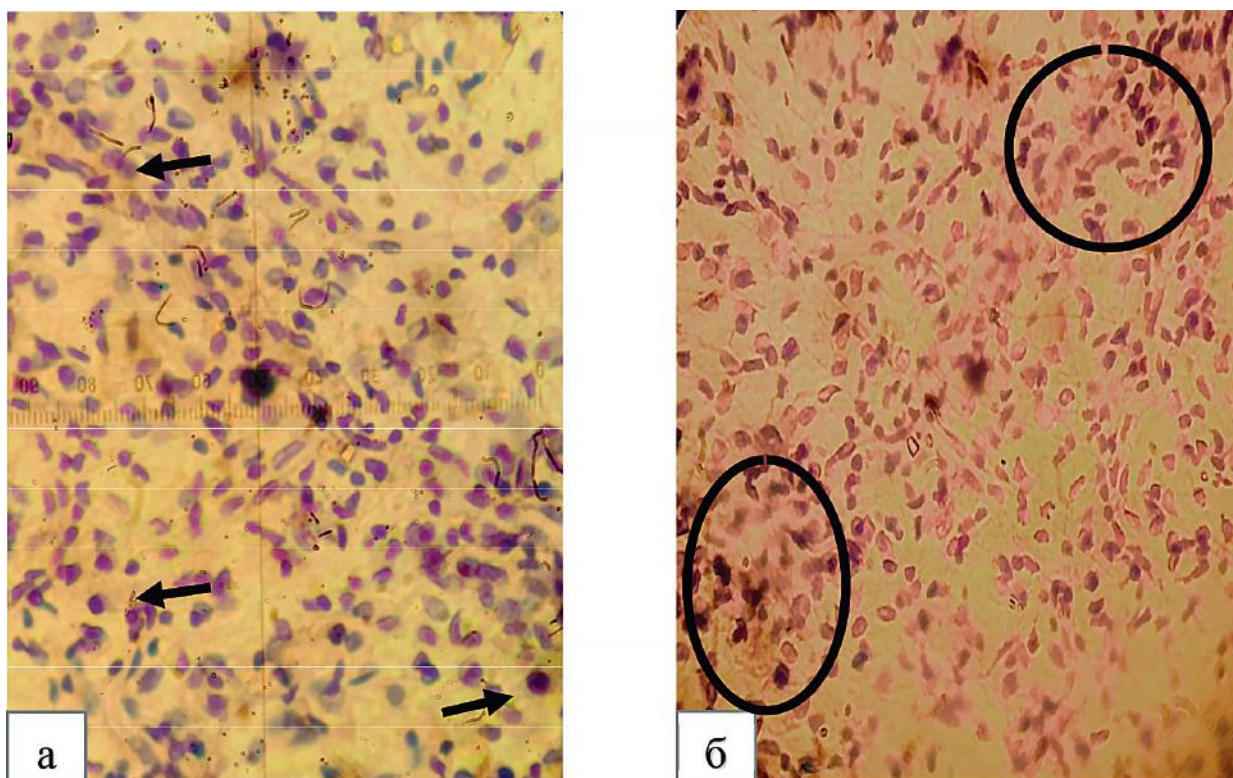


Рисунок 3 – Брижа тонкої кишки. Топографія лімфоцитів. Розподіл лімфоцитів: а) дифузне розташування у щурів інтактної групи; б) локалізація лімфоцитів скупченнями у щурів з експериментальною спайковою хворобою на 14 добу експерименту. Плівчастий препарат. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Заключення в гліцерин-желатин. Збільшення: 10х40.

компонентів. Цей процес можна охарактеризувати як місцеву відповідь, спричинену або механічними стимуляціями очеревини, або системними порушеннями (біохімічними, гормональними та генетичними), які визначають інтенсивність утворення колагену з боку мезотеліоцитів та впливають на виразність спайкового процесу. Поєднання цих чинників Бондар О. Б. (2003) і Веселий С. В. (2017) вважають основою етіології спайкової хвороби та рецидивуючої спайкової кишкової непрохідності [4, 13].

Фібринолітична система є основним захисним механізмом проти утворення фіброзних спайок після хірургічних втручань [13]. Однак активність фібрinolітичної системи може бути знижена після операції і фібрин може відкладатися в черевній порожнині в кількостях, що перевищують її здатність до розщеплення [14]. Якщо фіброзні утворення з якихось причин не розсмоктуються, вони перетворюються на фіброзні спайки: на 2-3 добу в межах спайок з'являються фіброblastи, які починають продукувати колагенові волокна [15]. На 7-21 день після операції формуються капіляри і починають рости нервові волокна [16]. Нарешті, на 21-й день на місці фіброзних спайок формуються нервові волокна з кровоносними судинами і закінченнями, завершуючи формування сполучної тканини у вигляді щільних фіброзних спайок [17].

За нашою думкою, яка співпадає з ідеями Braun K. M. (2014) лімфоцити також впливають на різні клітинні процеси: вони стимулюють синтез колагену і утворення колагенази макрофагами і фіброblastами [18]. Данна ідея потребує подальшого розвитку і дослідження: саме яка субпопуляція лімфоцитів впливає на реконструкцію брижі під час спайкової хвороби.

Таким чином за даними літератури і результатами власних досліджень можна зробити висновок, що формування спайкової хвороби опосередковане складною біохімічною та гормональною регуляторною системою за участю багатьох біологічно активних речовин а також імунної та системи згортання крові [12, 19].

Висновки.

В нормі у щурів в брижі тонкої кишки виявлені лімфоїдні кластери, асоційовані з жировою тканиною FALC (fat-associated lymphoid clusters), що представлені дифузно розташованими лімфоцитами малого, середнього і великого діаметру по всій площі брижі. Експериментальна форма спайкової хвороби характеризувалася поступовими змінами в тканинах брижі тонкого кишківника і утворенням спайок, які можна охарактеризувати як тонкі, однорідні і крихкі на 7 добу; жорсткі, щільні і зернисті утворення на 14 добу; тверді конгломерати неоднорідної структури на 21 добу спостереження. Брижа тонкої кишки прогресивно набирає менш рухливої, менш еластичної, стовщеної конструкції. Процес експериментального спайкоутворення супроводжувалося динамічними змінами в структурі FALC. Відмічається прогресивне збільшення скупчень лімфоцитів і їх кількість в даних структурах. На 7 добу кількість лімфоцитів збільшується на 10% у тварин II групи, на 14 добу відмічається їх збільшення на 20% у тварин III групи і на 21 добу – на 25% в IV експериментальній групі у порівнянні з інтактними тваринами.

Перспективи подальших досліджень.

На наш погляд, перспективним є гістологічні дослідження клітинного складу брижі тонкої кишки та їх аналіз і порівняння поміж групами.

1. Hu Q, Xia X, Kang X, Song P, Liu Z, Wang M, et al. A review of physiological and cellular mechanisms underlying fibrotic postoperative adhesion. *Int J Biol Sci.* 2021;17(1):298-306.
2. Domoratsky AE, Krylyuk VO, Pavlenko AI, Pyatkovska NV, Sozansky VV. Adhesive disease: the current state of the problem. *Acute and urgent conditions in the doctor's practice.* 2016;3-4:19-26.
3. Mandziy OV, Milyevs'kyi AYE, Dubchak E. Vidnovlennya reproduktyvnoho potentsialu u zhinky z bezplidnistyu ta khronichnym tazovym bolem. *Zdorov'ya zhinky.* 2012;10:162-165. [in Ukrainian].
4. Veselyi SV, Klimans'kyi RP, Nhuyen N. Suchasni tendentsiyi u profilaktytsi ta likuvanni spaykovoyi kyshkovoyi neprokhidnosti u ditey (ohlyad literatury). *Khirurgiya dytyachoho viku.* 2017;4:46-52. [in Ukrainian].
5. Bazhora YUI, Petrashevych YUV. Mekhanizmy makromolekulyarnykh vzayemodiy u systemnomu homeostazi pry formuvanni pervynnoyi immunoyi vidpovidi v eksperymenty. *Bukov. med. visn.* 2001;5(3):162-167. [in Ukrainian].
6. Copin P, Ronot M, Nuzzo A, Maggiori L, Bouhnik Y, Corcos O. Inter-reader agreement of CT features of acute mesenteric ischemia. *Eur J Radiol.* 2018;105:87-95.
7. Horal'skyi LP, Khomych VT, Konons'kyi OI. Osnovy histolohichnoyi tekhniki i morfofunktsional'ni metody doslidzhen' u normi ta pry patolohiyi. *Navchal'nyy posibnyk. Zhytomyr: Polissya.* 2005;6:70-71. [in Ukrainian].
8. Paydarkina AP, Kush OG. Doslidzhennya morfologichnykh osoblyvostey ocherevyny bilykh shchuriv y metodyka yiyi zaboru. *Morphologia.* 2023;17(3):163-168.
9. Jayanth ST, Pulimood A, Abraham D, Rajaram A, Paul MJ, Nair A. A randomized controlled experimental study comparing chitosan coated polypropylene mesh and ProceedTM mesh for abdominal wall defect closure. *Ann Med Surg.* 2015;4(4):388-94.
10. Voloshyn MA, Chaykovskyy YUB, Kushch OH. Osnovy imunolohiyi ta imunomorfolohiyi. *Zaporizhzhya-Kyiv: Zaporiz. derzh. med. un-t, Nats. med. un-t im. O.O. Bohomol'tsya;* 2010. 170 s. [in Ukrainian].
11. Felix MD. Observation on the surface cells of the mouse omentum as studied with the Phasecontrast and Electron Microscopes. *Journal of the National Cancer Institute.* 1961;27:713-745.
12. Khashchuk VS. Mekhanizmy rozvytku spaykovoho protsesu ocherevynnoyi porozhnyny (ohlyad literatury). *Klinichna ta eksperymental'na patolohiya* 2021;20.4(78):137-145. [in Ukrainian].
13. Bodnar OB. Likuvannya ta profilaktyka spaykovoyi khvoroby u ditey pislya pereneseniy khrostrykh khirurhichnykh zakhvoryuvan' orhaniv cherevnoyi porozhnyny. *Donetsk;* 2003. 17 s. [in Ukrainian].
14. Tarhan OR, Barut RI. Pentoxifylline, a methyl xanthine derivative, reduces peritoneal adhesions and increases peritoneal fibrinolysis in rats. *Tohoku J. Exp. Med.* 2006;209(3):249-55.
15. Chegini N. Peritoneal molecular environment, adhesion formation and clinical implication. *Front. Biosci.* 2002;7:91-115.
16. Delibegovic S, Koluha A, Cickusic E, Katica M, Mustedanagic J, Krupic F. Formation of adhesion after intraperitoneal application of TIMesh: experimental study on a rodent model. *Acta. Chir. Belg.* 2016;116(5):293-300.
17. Geng HX. Control and prevention of peritoneal adhesions in gynecologic surgery. *Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertil. Steril.* 2006;86(5):1-5.
18. Braun KM, Diamond MP. The biology of adhesion formation in the peritoneal cavity. *Seminars in Pediatric Surgery.* 2014;23(6):336-343.
19. Fortin CN, Saed GM, Diamond MP. Predisposing factors to post-operative adhesion development. *Human Reproduction Update.* 2015;21(4):536-551.

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ОЧЕРЕВИНИ І ЇЇ СТРУКТУР ПРИ СПАЙКОВІЙ ХВОРОБИ

Пайдаркіна А. П., Куш О. Г.

Резюме. Вивчення найбільш значущих ланок патогенезу спайкоутворення і розробка експериментально обґрунтованого протиспайкового комплексу профілактичних заходів є актуальною проблемою сучасної біології і медицини. Особливе місце серед потенційних наслідків спайкової хвороби посідають кишкова непрохідність та інше, що обґрунтовує медико-соціальне значення проблеми. На сьогоднішній момент актуально залишається дослідження ролі лімфоїдних кластерів, асоційованих з жировою тканиною FALC (fat-associated lymphoid clusters) в процесах спайкоутворення. Новизна роботи полягає у дослідженні особливостей розподілу і кількості лімфоцитів у брижі тонкого кишечника при спайковій хворобі у порівнянні з нормою у щурів. **Мета:** визначення особливостей морфофункціонального стану тканин очеревини і лімфоїдних кластерів, асоційованих з жировою тканиною (FALC) у щурів в нормі і при спайковій хворобі. **Об'єкт і методи дослідження:** препарування, макроскопічний, мікроскопічний, гістологічний (виготовлення плівкових препаратів), фарбування гематоксиліном і еозином, математичний (морфометрична сітка – підраховувалася кількість імункомпетентних клітин на стандартну площу 1000 мкм²), планіметричний (підраховувалася площа брижі тонкого кишківника та площа, що була змінена спайковими процесами), статистичний за Ст'юдентом. **Висновки.** В брижі тонкого кишківника в нормі спостерігаються лімфоїдні кластери, асоційовані з жировою тканиною FALC, що представлені дифузно розташованими лімфоцитами малого, середнього і великого діаметру та плазматичними клітинами. Експериментальна форма спайкової хвороби характеризувалася поступовими змінами в тканинах брижі тонкого кишківника і утворенням спайок, які відмічалися на 7 добу спостереження зменшенням рухливості і драглистості тканини; стовщенням і щільністю сполучної тканини брижі тонкої кишки на 14 добу; появою зернистих утворень з твердими конгломератами неоднорідної структури в тканині на 21 добу спостереження. Спайкоутворення супроводжувалося динамічними змінами в структурі лімфоїдної тканини. Відмічається скупчення лімфоцитів в окремих ділянках брижі на 7 добу дослідження. Змінюється також кількість лімфоцитів на стандартну одиницю площі: на 14 добу показник збільшується на 44%, на 21 добу на 47% в порівнянні на 7 добу спостереження.

Ключові слова: тонка кишка, щури, експеримент, гістологічні зміни очеревини, імунітет, морфологія, мікроскопія, морфометрія.

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF THE PERITONEUM AND ITS STRUCTURES WITH ADHESION DISEASE

Paydarkina A. P., Kush O. G.

Abstract. The study of the most significant links in the pathogenesis of adhesion formation and the development of an experimentally based anti-adhesion complex of preventive measures is an urgent problem of modern biology and medicine. A special place among the potential consequences of adhesion disease is occupied by intestinal obstruction and others, which substantiates the medical and social significance of the problem. At the moment, the

study of the role of lymphoid clusters associated with FALC (fat-associated lymphoid clusters) in the processes of adhesion formation remains actual. The novelty of the work consists in the study of the characteristics of the distribution and number of lymphocytes in the mesentery of the small intestine in adhesion disease in comparison with the norm in rats. *The aim:* to study the features of the morphofunctional state of peritoneal tissues and lymphoid clusters associated with adipose tissue (FALC) in normal rats and with adhesion disease. *Materials and methods:* preparation, macroscopic, microscopic, histological (production of film preparations), staining with hematoxylin and eosin, mathematical (morphometric grid – the number of immunocompetent cells was counted on a standard area of 1000 μm^2), planimetric (the mesenteric plane of the small intestine and the area that was changed by spike processes), statistical according to Student. *Conclusions.* Lymphoid clusters associated with FALC adipose tissue, represented by diffusely located lymphocytes of small, medium and large diameter and plasma cells, are observed in the mesentery of the small intestine. The experimental form of adhesion disease was characterized by gradual changes in the tissues of the mesentery of the small intestine and the formation of adhesions, which were noted on the 7th day of observation by a decrease in the mobility and gelatinization of the tissue; thickening and density of the connective tissue of the mesentery of the small intestine on the 14th day; the appearance of granular formations with hard conglomerates of heterogeneous structure in the tissue on the 21st day of observation. Adhesion formation was accompanied by dynamic changes in the structure of lymphoid tissue. There is an accumulation of lymphocytes in some areas of the mesentery on the 7th day of the study. The number of lymphocytes per standard unit of area also changes: on the 14th day, the indicator increases by 44%, on the 21st day by 47% compared to the 7th day of observation.

Key words: small intestine, rats, experiment, histological changes of peritoneum, immunity, morphology, microscopy, morphometry.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Paydarkina A. P.: <https://orcid.org/0009-0001-4436-1532> ^{BCD}

Kush O. G.: <https://orcid.org/0000-0003-3827-3752> ^{ACEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors of the article confirm the absence of conflict of interests. / Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Paydarkina Anastasia Petrivna / Пайдаркіна Анастасія Петрівна

Zaporizhzhia National University / Запорізький національний університет

Ukraine, 69095, Zaporizhzhia, 62 Gogol str. / Адреса: Україна, 69095, м. Запоріжжя, вул. Гоголя 62

Tel.: +380507249841 / Тел.: +380507249841

E-mail: nastasia.p.nikolskaya97@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 20.08.2023 / Стаття надійшла 20.08.2023 року
Accepted 05.02.2024 / Стаття прийнята до друку 05.02.2024 року

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-106-110

UDC 595.421:[616.98:579.834.114]:632.961

Podobivskiy S. S., Lipska V. V., Stravskiy Y. S., Fedoniuk L. Ya.

RESULTS OF INSECTICIDE TESTING IN THE CONTROL OF IXODES TICKS

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University (Ternopil, Ukraine)

podobivskiy@tdmu.edu.ua

In connection with the emergence of epidemiological threats caused by the expansion of the ranges of ixodid ticks, there is an urgent need to develop various measures related to the regulation of the number of these arthropods. Among these measures, the development of insecticidal drugs of chemical and natural origin occupies a prominent place. The first such drugs began to appear in the United States in the 50s and 80s of the twentieth century. Subsequently, similar drugs began to be developed in many countries where ixodid ticks began to pose a threat to public health.

Insecticides for controlling harmful arthropods, including ticks, are also produced and used in Ukraine. However, most of them are designed to control ectoparasites directly on the host body, and only a small number of them are intended to limit their number directly in biocenoses.

Some of the drugs of chemical and natural origin tested by us, which are based on active substances such as ivermectin, alphacipermethrin, piperonyl butoxide, as well as antibiotics of natural origin (macrolides, sterols, phospholipids and phytohormones), can be effectively used to limit the number of ixodid ticks directly in natural and artificial biotopes, without harming other members of these biotopes. The results of such testing showed that the lethal effect