

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ім. М. І. ПИРОГОВА  
МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

БУЛЬКО Ірина Віталіївна

УДК 616 - 001.17: 599.323.4:612.416

ДИСЕРТАЦІЯ  
МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В СЕЛЕЗІНЦІ У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ  
ПІСЛЯ ЛОКАЛЬНОЇ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ШКІРИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ  
В ЕКСПЕРИМЕНТІ

14.03.01 - нормальна анатомія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ І. В. БУЛЬКО

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор Гумінський Юрій  
Йосипович

Вінниця - 2018

## АНОТАЦІЯ

*Булько І. В.* Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 Нормальна анатомія. – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2018.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання щодо визначення морфологічних змін селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри (ОШ) та за умов корекції пошкоджень інфузійним комбінованим колоїдно-гіперосмолярним розчином НАЕС-LX-5 % та референтним препаратом – лактопротеїном з сорбітолом. Застосовано наступні методи дослідження: макроскопічний – для візуального вивчення стану органу, визначення лінійних розмірів та маси; мікроскопічний – для вивчення мікроструктури складових структурних елементів; електронно - мікроскопічний – для проведення ультраструктурного морфометричного аналізу популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки; лабораторні – визначення формули крові, молекул середньої маси за методом Габріелян та показника лейкоцитарного індексу інтоксикації за Кальф-Каліфом (ЛІ) для кількісної оцінки ендогенної інтоксикації; метод проточної ДНК-цитометрії для визначення вмісту ДНК в ядрах клітин селезінки; статистичний із застосуванням параметричних і непараметричних методів для оцінки достовірності відмін між групами порівняння та визначення ступеня взаємозв'язків між показниками розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки та ендогенної інтоксикації.

В усіх термінах спостереження курсова інфузія щурам без опіку шкіри 0,9 % розчину NaCl у дозі 10 мл на кг маси тіла не призводила до будь-яких структурних змін селезінки, усі макроморфометричні параметри не

відрізнялись від таких у інтактних тварин: довжина селезінки дорівнювала –  $40,2 \pm 0,8$  мм; ширина –  $8,8 \pm 0,2$  мм; товщина –  $4,3 \pm 0,6$  мм, маса селезінки –  $1156 \pm 7,5$  мг.

Введення розчину лактопротеїну з сорбітолом інтактним щурам протягом 7 діб призводило на 14, 21 та 30 добу до повнокрів'я, активації Т- та В- залежних ділянок у лімфоїдних вузликах та періартеріолярних піхвах білої пульпи, адгезії та діapedезу лімфоцитів у венулах лімфоїдних вузликів селезінки, гіперплазії та гіпертрофії макрофагів у білій та червоній пульпі селезінки, а також активації фагоцитарної активності. Усі макроморфометричні параметри достовірно не відрізнялися від таких у інтактних тварин.

При введенні комбінованого колоїдно-гіперосмолярного розчину НАЕС-LX-5 % у дозі 10 мл на кг маси тіла щурам без опіку шкіри протягом 7 діб на 14, 21 та 30 добу виявляли незначне повнокрів'я судин кровоносного мікроциркуляторного русла червоної та білої пульпи селезінки. Усі макроморфометричні параметри достовірно не відрізнялися від таких у інтактних тварин.

У щурів, яким після опіку шкіри протягом перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl довжина селезінки на 30 добу після опіку у порівнянні із контролем була більшою на 19,9 % ( $p < 0,05$ ), ширина – на 19,31 % більше ( $p < 0,05$ ), товщина та маса селезінки мали тенденцію до більших показників (відповідно на 4,65 % та 8,3 % при  $p > 0,05$ ). У лімфоїдних вузликах білої пульпи селезінки значно менші за розмірами гермінативні центри у них менша кількість лімфобластів та макрофагів, кількість лімфоцитів та макрофагів у періартеріальних зонах, менша чисельність лімфоцитів та макрофагів у маргінальних зонах, та періартеріолярних лімфоїдних піхвах. Синусоїдні судини у червоній пульпі розширені та повнокровні, селезінкові тяжі звужені з меншою чисельністю лімфоцитів, макрофагів, мегакаріоцитів в порівнянні з контролем. Повного відновлення лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки на 30 добу спостереження

немає, зменшена на 7,25 % кількість вузькоцитоплазматичних та на 19,8 % широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю, збільшена на 38,71 % кількість широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, на 45,24 % лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням та на 38,24 % більшою є кількість лімфобластів ( $p < 0,05$ ).

Внутрішньовенне введення розчину лактопротеїну з сорбітолом щурам з опіком шкіри впродовж перших 7 діб макрометричні параметри селезінки на 14, 21 та 30 добу не мали суттєвих змін (не більше  $\pm 4$  %, при  $p > 0,05$ ). В усі терміни спостереження чисельність лімфоцитів та макрофагів у періартеріолярних зонах, у гермінативних центрах, у мантийній та маргінальній зонах лімфоїдних вузликів та періартеріолярних піхвах білої пульпи та селезінкових тяжках червоної пульпи була більшою порівнянно з контрольною групою щурів без лікування. Виявлено гіпертрофію та гіперплазію макрофагів у білій, червоній пульпі та розширені гермінативні центри. Встановлено на 30 добу спостереження відновлення лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки у порівнянні із групою, яка отримувала 0,9 % розчин NaCl, зменшена кількість вузькоцитоплазматичних лімфоцитів на 4,34 %, збільшена на 8,9 % широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю, збільшена на 10,9 % кількість широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, на 4,76 % лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням та на 2,94 % більшою є кількість лімфобластів ( $p > 0,05$ ). Дана морфологічна картина є підтвердженням стимуляції активності гуморального та клітинного імунітету при введенні лактопротеїну із сорбітолом.

Внутрішньовенне введення розчину HAES-LX-5 % після опіку шкіри протягом перших 7 діб експерименту, значно зменшує патологічні зміни у селезінці. Макрометричні параметри селезінки не мали суттєвих змін (не більше  $\pm 4$  %, при  $p > 0,05$ ) протягом усіх термінів спостереження. Чисельність лімфоцитів та макрофагів в гермінативних центрах, періартеріолярних, мантийній та маргінальній зонах лімфоїдних вузликів та періартеріолярних

піхвах білої пульпи, а також селезінкових тяжках червоної пульпи була більшою. У червоній пульпі збільшено число мегакаріоцитів. Встановлено відновлення лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки на 30 добу спостереження, зменшена на 5,15 % кількість вузькоцитоплазматичних, кількість широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням та лімфобластів не відрізнялась від контролю ( $p < 0,05$ ).

Клітинний склад білої пульпи статистично значуще залежить від рівня ендогенної інтоксикації. Серед клітин білої пульпи селезінки сильні прямі кореляційні зв'язки спостерігались між об'ємними частками широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з фагоцитарною активністю, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням та показниками лейкоцитарного індексу інтоксикації, концентрацією молекул середньої маси ( $r =$  від 0,77 до 0,92). Між об'ємними частками вузькоцитоплазматичних лімфоцитів, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю та показниками лейкоцитарного індексу інтоксикації, концентрацією молекул середньої маси виявлені сильні зворотні кореляційні зв'язки ( $r =$  від -0,78 до -0,93).

Протягом усього віддаленого періоду після опікової травми шкіри (14-30 доба) на фоні термічного ураження шкіри та застосування впродовж перших 7 діб після опіку 0,9 % розчину NaCl у клітинах селезінки виявлялось статистично значуще збільшення кількості клітин селезінки в інтервалі SUB-G0G1 (більше у 2,05-2,8 раза протягом усього періоду дослідження, у порівнянні з групою тварин без опіку), а також реєструвались суттєво більші значення показників блоку проліферації ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками клітинного циклу клітин селезінки тварин без опіку шкіри. На останньому етапі дослідження (30 доба) порівняно з попереднім етапом (21 доба) відзначено статистично значуще зменшення кількості клітин селезінки,

що перебували у фазі G0G1 ( $p < 0,05$ ), а також реєструвались суттєво більші значення показників S-фази ( $p < 0,05$ ), інтервалу SUB-G0G1 ( $p < 0,01$ ), індексу та блоку проліферації ( $p < 0,05$ ).

У порівнянні із застосуванням впродовж перших 7 діб після опіку шкіри інфузій 0,9 % розчину NaCl у віддалених термінах застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % статистично значуще змінює кількість клітин у всіх фазах клітинного циклу селезінки: відбувається збільшення клітин у фазі S та G2+M, що збільшує індекс проліферації, зменшення фрагментації ДНК, зменшує показники фрагментації ДНК – на 14 добу в 1,77 та у 2,77 рази відповідно, на 30 добу – у 2,97 та у 3,06 рази відповідно. Використання розчину лактопротеїну із сорбітолом, та, особливо, HAES-LX-5 % позитивно впливає на характеристики клітинного циклу клітин селезінки і є перспективним для удосконалення існуючих підходів щодо корекції ушкоджень селезінки.

Проведене дослідження дозволило з'ясувати динаміку змін структурної організації селезінки на пізніх стадіях опікової травми за умов застосування внутрішньовенної інфузії нового препарату колоїдно-гіперосмолярного HAES-LX-5%, та референтного препарату–лактопротеїну з сорбітолом.

Вперше встановлено особливості активації та розподілу лімфоцитів білої пульпи селезінки у відповідь на застосування, як досліджуваного препарату колоїдно-гіперосмолярного HAES-LX-5 %, так і референтного препарату – колоїдно-гіперосмолярного розчину лактопротеїну з сорбітолом, що є морфологічним проявом їх імуномодельючої дії.

Автором вперше описані зміни структури селезінки у пізні терміни після опікової травми шкіри за умов застосування нового кровозамінника HAES-LX-5 %, а також розчину лактопротеїну з сорбітолом.

## ANNOTATION

**Bulko I.V. Morphological changes in the spleen in the long term after local skin burn injury and its correction in the experiment - Qualification scientific work on the rights of manuscript.**

Thesis for obtaining a scientific degree of Candidate of Medical Sciences on specialty 14.03.01 Normal Anatomy. – Vinnytsya National Pirogov Memorial Medical University of Ministry of Public Health of Ukraine, Vinnitsya, 2018

The dissertation presents a theoretical generalization and a new solution to the scientific problem of determining the morphological changes of spleen in the distant period after the burn skin injury and in case of the injury correction by infusive combined colloid-hyperosmolar HAES-LX-5 % and a reference preparation – lactoprotein with sorbitol. The following research methods were applied: macroscopic - for visual examination of the state of the organ, determination of linear dimensions and mass; microscopic one – for study of microstructure of constituent structural elements; electron-microscopic - for ultrastructural morphometric analysis of lymphocytes population of spleen white pulp; laboratory – for determination of blood formula, average mass molecules according Gabrielyan method and indicator of leukocyte index of intoxication according to Kalf-Kalif for quantitative estimation of endogenous intoxication; method of flowing DNA cytometry to determine the content of DNA in the cells of spleen; statistical with application of parametric and nonparametric methods for assessing the reliability of the difference between the comparison groups and determining the degree of relationship between distribution of lymphocytes in spleen white pulp and endogenous intoxication.

In all the terms of observation, course infusion to the rats without skin burning of 0,9% NaCl solution in the dose of 10 ml per kg of body weight did not lead to any structural changes in spleen, all the macromorphometric parameters did not differ from those ones in the intact animals: length of spleen was  $40,2 \pm 0,8$

mm; width -  $8,8 \pm 0,2$  mm; thickness –  $4,3 \pm 0,6$  mm, spleen weight -  $1156 \pm 7,5$  mg.

The introduction of lactoprotein sorbitol solution to intact rats during 7 days on 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> and 30<sup>th</sup> day resulted in plethora, activation of T- and B-dependent sites in lymphoid nodes and periarteriolar sheaths of white pulp, adhesion and diapedesis of lymphocytes in lymphoid nodes' venules of spleen, hyperplasia and hypertrophy of macrophages in white and red pulp of spleen, as well as activation of phagocytic activity. All macromorphometric parameters were not significantly different from those ones in the intact animals.

When administering a combined colloid-hyperosmolar HAES-LX-5 % in the dose of 10 ml per kg body weight to rats without skin burns during 7 days on 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> and 30<sup>th</sup> day, insignificant plethora of blood vessels of microcirculatory bed of red and white pulp of spleen was revealed. All macromorphometric parameters were not significantly different from those ones in the intact animals.

In rats, that were injected 0,9 % NaCl solution after skin burn during first 7 days of the experiment, on the 30<sup>th</sup> day after the burn the length of spleen was 19,9 % more than control ( $p < 0,05$ ), the width – 19,31% more ( $p < 0,05$ ), thickness and mass of spleen tended to be higher (respectively by 4,65 % and 8,3 % at  $p > 0,05$ ). In the lymphoid nodules of spleen white pulp, there are significantly less germinative centers, smaller number of lymphoblasts and macrophages in them, less number of lymphocytes and macrophages in the periarterial zones, smaller number of lymphocytes and macrophages in marginal zones and periarteriolar lymphoid sheaths.

Sinusoid vessels in red pulp are dilated and plethoral, spleen tendons are narrowed with smaller number of lymphocytes, macrophages, megacaryocytes compared with the control. There was no complete restoration of lymphocyte composition of white pulp of spleen on 30<sup>th</sup> day of observation, there was reduced by 7,25 % number of narrow cytoplasmic and by 19,8 % wide-cytoplasmic lymphocytes with low activity, increased by 38,71 % number of wide-cytoplasmic lymphocytes with high nonspecific activity, by 45,24 % lymphocytes with



plasmacytic differentiation and greater number of lymphoblasts ( $p < 0.05$ ) by 38,24 %.

Intravenous administration of lactoprotein sorbitol solution in rats with skin burn, during the first 7 days, macrometric parameters of spleen on 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> and 30<sup>th</sup> day did not have significant changes (no more than  $\pm 4\%$  at  $p > 0,05$ ). In all the observation terms, the number of lymphocytes and macrophages in periarteriolar zones, in germinative centers, in mantle and marginal zones of lymphoid nodules and in periarteriolar sheaths of white pulp and splenic strains of red pulp was greater compared to that in the control group of rats without treatment.

Hypertrophy and hyperplasia of macrophages in white, red pulp and extended germinative centres were revealed. On the 30<sup>th</sup> day of observation it was established the restoration of lymphocytic composition of white pulp of spleen in comparison with the group receiving 0,9 % NaCl solution, reduced number of narrow cytoplasmic lymphocytes by 4,34 %, increased by 8,9 % wide-cytoplasmic lymphocytes with low activity, increased by 10,9 % number of broad-cytoplasmic lymphocytes with high nonspecific activity, by 4,76 % lymphocytes with plasmacytic differentiation and by 2,94 % greater number of lymphoblasts ( $p > 0,05$ ). This morphological picture is a confirmation of humoral and cellular immunity activity stimulation under administration of lactoprotein with sorbitol.

Intravenous administration of HAES-LX-5 % solution after skin burn during the first 7 days of the experiment significantly reduces pathological changes in the spleen. Macrometric parameters of spleen did not have significant changes (not more than  $\pm 4\%$ , at  $p > 0,05$ ) during all the observation periods. The number of lymphocytes and macrophages in the germinal centers, periarteriolar, mantle and marginal zones of the lymphoid nodules and periarteriolar sheaths of white pulp, as well as the splenic strains of red pulp was greater. Red pulp has increased number of megakaryocytes. The following changes were seen: restoration of lymphocytic composition of white pulp of spleen on the 30th day of observation, by 5,15 % reduced number of narrow-cytoplasmic, number of wide-cytoplasmic lymphocytes

with low activity, wide-cytoplasmic lymphocytes with high nonspecific activity, lymphocytes with plasmacytic differentiation and lymphoblasts not different from the control ( $p < 0,05$ ).

Cellular composition of white pulp statistically significantly depends on the level of endogenous intoxication. Among the cells of spleen white pulp, strong direct correlation links were observed between the volumetric fractions of wide-cytoplasmic lymphocytes with high nonspecific activity, broad-cytoplasmic lymphocytes with monocytic activity, broad-cytoplasmic lymphocytes with plasmacytic differentiation and indicators of intoxication leukocyte index, concentration of medium weight molecules ( $r =$  from 0,77 to 0,92). Strong reverse correlation links were revealed ( $r =$  from -0,78 to -0,93) between volumetric particles of narrow cytoplasmic lymphocytes, wide-cytoplasmic lymphocytes with low activity and indicators of leukocytic index of intoxication, concentration of medium molecules.

During the entire remote period after the skin burn injury (14-30 days) against the background of thermal skin damage and application during the first 7 days after the burn of 0,9 % NaCl solution, in the cells of spleen, there was statistically significant increase in the number of spleen cells in the range of SUB-G0G1 (2,05-2,8 times more throughout the whole study period, compared with the group without burns), and also significantly higher values of the parameters of proliferation block ( $p < 0,05$ ) were recorded comparing to the similar parameters of the cell cycle of spleen cells in animals without skin burns. During the last stage of the study (30 days), comparing with the previous stage (21 days), statistically significant decrease in the number of spleen cells in G0G1 phase ( $p < 0,05$ ) was noted, as well as significantly higher values of S-phase ( $p < 0,05$ ), SUB-G0G1 interval ( $p < 0,01$ ), index and proliferation block were registered ( $p < 0,05$ ).

Comparing to administration during the first 7 days after skin burn of 0,9 % NaCl solution, in the long-term use of lactoprotein with sorbitol and HAES-LX-5 % statistically significantly changes the number of cells in all the phases of spleen cellular cycle: there is increase in cells in phases S and G2 + M, which

increases proliferation index, reduces DNA fragmentation, reduces DNA fragmentation on the 14<sup>th</sup> day 1,77 and 2,77 times, respectively, on the 30<sup>th</sup> day - 2,97 and 3,06 times, respectively. Administration of lactoprotein solution with sorbitol, and especially HAES-LX-5 % solution, positively affects the characteristics of cellular cycle of spleen cells and is promising to improve existing approaches for correction of spleen injuries.

The study conducted allowed to find out the dynamics of changes in spleen structural organization of the later stages of burn disease under administration of intravenous infusion of a new preparation – colloid-hyperosmolar HAES-LX-5 %, and a referent preparation – lactoprotein with sorbitol.

The characteristics of activation and distribution of spleen white pulp lymphocytes in response to administration of both studied colloid-hyperosmolar HAES-LX-5 % and the referent preparation colloid-hyperosmolar solution of lactoproteine with sorbitol, which are morphological manifestation of their immunomodulating activity, were first established.

The author first described the changes in the structure of spleen in later periods after skin burn injury under administration of a new blood substitute HAES-LX-5 % as well as solution of lactoprotein with sorbitol.

### Список публікацій здобувача

1. Булько І.В. Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротеїну з сорбітолом / І.В. Булько // Галицький лікарський вісник - 2015. - Т.22. – 3 (частина 1). - С.36 - 38.
2. Булько І.В. Структурні зміни в селезінці щурів у пізніх стадіях опікової травми після корекції інфузійним розчином НАЕС-LX-5% / І.В. Булько // Вісник проблем біології і медицини. - 2016. – Вип. 2, Т. 1 - С. 360 - 363.
3. Булько І.В. Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І.В. Булько, Ю.Й. Гумінський // Вісник морфології. – 2011. – № 17. –Т. 2. – С. 227–230. (Здобувачем особисто проведено аналіз джерел літератури, опис і узагальнення отриманих результатів, технічне оформлення статті до друку).
4. Гумінський Ю.Й. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції / Ю.Й. Гумінський, І.В. Булько // Вісник морфології. – 2012. – № 18. –Т. 2. – С. 49–53. (Здобувачем особисто зібраний матеріал, проведена його статистична обробка та узагальнення отриманих результатів, технічне оформлення статті до друку).
5. Булько І.В. Динаміка гістологічних змін селезінки щурів у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2015. - Т. 14, № 2. (52) С. 29 - 32.
6. Булько І.В. Структурні реакції пульпи селезінки на дію нового кровозамінника НАЕС-LX-5% / І.В. Булько// Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2016. - Т. 15, № 1. (55) - С. 63 - 66.
7. Булько І.В. Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів / Булько// Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2017. - Т. 16, № 3. - С. 76 -80.
8. Булько І.В. Морфологія селезінки у віддалений період після

опікової травми шкіри / І.В. Булько // Матеріали II Науково - практичної конференції з міжнародною участю. Природничі читання (м. Чернівці, 14–17 травня 2015 року) – Чернівці, 2015. – С. 92 - 93.

9. Булько І.В. Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротеїну з сорбітолом / І.В. Булько // Науково - практична конференція з міжнародною участю присвяченій 75 - річчю з дня народження професора Шутки Богдана Васильовича (Івано-Франківськ, 30 вересня-1 жовтня 2015 року) - Івано - Франківськ, 2015. – С. 19 - 20.

10. Булько І.В. Реакції пульпи селезінки на дію лактопротеїну з сорбітолом в умовах експерименту. / І.В. Булько // Матеріали науково - практичної конференції з міжнародною участю Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії, присвяченої 75 - річчю від дня народження професора В.І. Проняєва (м. Чернівці, 24-25 березня 2016 р.) – Чернівці, 2016. – С.67 - 69.

11. Булько І.В. Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні розчину лактопротеїну з сорбітолом та розчину НАЕС-LX-5% /І.В. Булько// Матеріали науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології», присвяченої пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г.В., Роменського О.Ю., Когана Б.Й., Шапаренка П.П., Жученка С.П. (м. Вінниця, 21-22 вересня 2017року) - Вінниця. Друкарня «Тези», 2017. – С. 41-42.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	17
ВСТУП	18
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	27
1.1. Сучасні уявлення про морфологічні, функціональні особливості селезінки та реакції імунної системи при дії екзо- та ендогенних факторів, що викликають пошкодження.	28
1.2. Порушення імунних механізмів та морфологічні зміни структури селезінки при дії різних екзо- та ендогенних факторів, що викликають пошкодження, та шляхи їх корекції.	36
1.3. Механізми розвитку патологічних змін органів при опіковій хворобі.	37
1.4. Застосування інфузійної терапії комбінованими колоїдно - гіперосмолярними розчинами при термічній травмі.	42
РОЗДІЛ 2. ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА І ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	47
2.1. Об'єкти дослідження	47
2.2. Методи дослідження	52
РОЗДІЛ 3. МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СЕЛЕЗІНКИ У ЩУРІВ БЕЗ ОПІКУ ШКІРИ, ЯКИМ ВВОДИЛИ ІНФУЗІЙНІ РОЗЧИНИ	55
3.1. Морфологічний стан селезінки щурів без ОШ, яким вводили 0,9 % розчин NaCl.	55
3.2. Морфологічний стан селезінки інтактних тварин, яким вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом	63
3.3. Морфологічний стан селезінки інтактних тварин, яким вводили розчин HAES-LX-5 %	68
РОЗДІЛ 4. МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ	75

## 0,9 % РОЗЧИНУ NaCl

- 4.1. Макро- та мікроскопічні особливості структури селезінки у віддалений період після опіку шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину NaCl. 75
- 4.2. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки у віддалений період після опіку шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину NaCl. 84

## РОЗДІЛ 5. СТРУКТУРНІ ЗМІНИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ У

## ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ ТА КОМПЛЕКСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛАКТОПРОТЕЇНУ З СОРБІТОЛОМ ТА НАЕС-LX-5 % 88

- 5.1. Зміни структури селезінки щурів у віддалений період після опіку шкіри та застосуванні інфузії лактопротеїну з сорбітолом 88
- 5.1.1. Структурні зміни у селезінці щурів на 14 добу після опіку шкіри та застосуванні лактопротеїну з сорбітолом. 89
- 5.1.2. Структурні зміни у селезінці щурів на 21 добу після опіку при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом. 92
- 5.1.3. Структурні зміни у селезінці щурів на 30 добу після опіку при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом. 95
- 5.2. Зміни структури селезінки щурів у віддалений період після опіку шкіри та лікуванні кровозамінником НАЕС-LX-5 %. 98
- 5.2.1. Структурні зміни у селезінці щурів на 14 добу після опіку шкіри при застосуванні розчину НАЕС-LX-5 %. 98
- 5.2.2. Структурні зміни в селезінці щурів на 21 добу після опіку шкіри при застосуванні розчину НАЕС-LX-5 %. 101
- 5.2.3. Структурні зміни в селезінці щурів на 30 добу після опіку шкіри при застосуванні розчину НАЕС-LX-5 %. 104
- 5.3. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки на пізніх стадіях опікової травми після корекції лактопротеїном з 106

сорбітолом та НАЕС-LX-5 %.

5.4. Взаємозалежність між показниками ендогенної інтоксикації та показниками розподілу лімфоцитів білої пульпи селезінки щурів на пізніх стадіях опікової травми.	113
РОЗДІЛ 6. ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ СЕЛЕЗІНКИ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ У ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННЯ 0,9 % РОЗЧИНУ NaCl, ЛАКТОПРОТЕЇНУ З СОРБІТОЛОМ ТА РОЗЧИНУ НАЕС-LX-5 %	118
РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	134
ВИСНОВКИ	145
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	149
ДОДАТКИ	178



**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ОШ	- опік шкіри
ЛІ	- лейкоцитарий індекс інтоксикації
МСМ	- молекули середньої маси
ВЛ	- вузькоцитоплазматичний лімфоцит
ШЛ	- широкоцитоплазматичний лімфоцит
ЕІ	- ендогенна інтоксикація

## ВСТУП

Актуальність теми. Летальність за періодами опікової хвороби коливається в залежності від її стадії. Найбільший відсоток (від 65 до 95 %) померлих припадає на періоди токсемії та септикотоксемії [4, 5]. В останні роки відбувається значне зростання частоти локальних глибоких опіків, коли зона пошкодження не перевищує 10% поверхні тіла. Лікування таких хворих виявляється серйозною медико-соціальною проблемою [221].

Безпосередні причини смерті при опіковій хворобі постійні: сепсис, пневмонія і поліорганна недостатність на їх фоні [152]. Успіх лікування при опіковому шоці залежить від своєчасності та тривалості інтенсивної інфузійної терапії, складу рідин, що вводяться, фармакотерапії, направленої на попередження системної запальної реакції та поліорганної дисфункції [32, 33, 169, 170]. Колоїдні препарати, а головне - раннє їх використання, зменшують летальність у ранні та віддаленні періоди після опіку [117, 135].

За даними наукових досліджень при важких термічних ушкодженнях можливий зрив адаптаційних механізмів гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, виникають дегенеративні зміни аденогіпофіза [210], зміни питомої площі та об'ємної щільності ядер спонгіоцитів [110, гіпертрофія ендокриноцитів пучкової зони кори надниркових залоз [66].

Недавні дослідження показали, що опіки шкіри (ОШ) викликають запальні процеси та імунну дисфункцію [245]. Опікова травма викликає складну реакцію в організмі хворого, порушує гомеостаз імунної системи та призводить до розвитку інфекційних і запальних ускладнень [239]. Зміни структури органів імуногенезу при опіковій хворобі (кістковий мозок, селезінка, лімфатичні вузли) мають певну динаміку. Описані особливості деструктивних та репаративних процесів при опіках шкіри у тимусі [168].

Для селезінки, як органу детоксикації й імунокорекції, включеного у

велике коло кровообігу, характерні наступні функції: механічна фільтрація крові з поглинанням ксенобіотиків; клітинної матриці, що містить макрофаги, лімфоцити та натуральні кілери; синтез гуморальних чинників імунітету, опсонінів, тафтсину, фібронектину, інтерферону та інших чинників, стимулюючих імунні реакції [202, 203]. При опіковій хворобі в селезінці виявлені редукція фолікулів, помірна гіперплазія лімфоцитів і ретикулярних клітин [50, 151].

Внаслідок своєї здатності елімінувати чужорідні антигени, власні мутантні та відмираючі клітини, селезінка виступає як могутній захисний орган імуногенезу. У ній, у першу чергу, синтезуються антитіла на первинно введений антиген і активізується захисна клітинна реакція на рівні лімфоцитів. Екстракорпоральна перфузія донорської селезінки свині кров'ю пацієнта була основним методом дії, що санує при важких формах ендотоксикозу, при шоківих станах. У зв'язку з вищенаведеним, подальший прогрес у розробці проблеми боротьби з шоком потребує комплексного і більш глибокого підходу до виявлення патогенезу системних і місцевих розладів, що виникають в організмі хворих на опікову травму внаслідок порушень гомеостазу у відповідь на дію термічного фактору. [44]. Проведені субмікроскопічні дослідження селезінки встановили, що опікова травма вже на ранніх термінах свого розвитку призводить до глибоких змін всіх структурних компонентів селезінки [42]. У ранніх термінах після опікової травми шкіри у щурів у селезінці відбуваються дистрофічні процеси в лімфоцитах та макрофагах, повнокров'я та пристінкові мікротромби в трабекулярних венах селезінки, повнокровні просвіти синусоїдних судин, набряк та макрофагальна інфільтрація периваскулярної сполучної тканини в трабекулах селезінки [11, 51].

Відсутні дані, які б висвітлювали стан селезінки на пізніх етапах термічного ураження різного ступеня важкості та в умовах застосування інфузії гіперосмолярних розчинів, що визначило мету дослідження: встановити динаміку морфологічних змін структури селезінки щурів через

14 - 30 діб після опікової травми шкіри, при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX-5%.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації затверджена на засіданні вченої ради стоматологічного та фармацевтичного факультетів Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (протокол № 2 від 17 листопада 2011 р.), на засіданні проблемної комісії МОЗ та НАМН України Морфологія людини (протокол № 8 від 2 червня 2011 р.).

Дисертаційне дослідження виконане відповідно до основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук МОН і НАН України (п. 2.2.4.9 Молекулярні, біохімічні, морфологічні і фізіологічні основи розвитку хвороб людини і розробки методів їх лікування), є фрагментом наукової роботи: "Експериментальне обґрунтування ефективності комплексних інфузійних препаратів на моделі опікової хвороби у тварин", що є фрагментом НДР на тему: "Створити нові комплексні колоїдні кровозамінники поліфункціональної дії та розчини для ресуспендування еритроцитів (лабораторно – експериментальне обґрунтування їх застосування в трансфізіології)" (КПКВ 6561040, № Державної реєстрації 0107U001132).

Дослідження є фрагментом НДР Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова: "Морфогенез та патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту, сечостатевої, нейроендокринної та імунної системи". № державної реєстрації: 0111U010551.

Авторка при виконанні роботи виявила та описала морфологічні особливості селезінки щурів через 14, 21, та 30 добу після опікової травми шкіри, при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 %.

Мета дослідження. Встановлення динаміки морфологічних змін структури селезінки щурів через 14, 21, та 30 добу після опікової травми шкіри, при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 %.

Задачі дослідження:

1. Встановити особливості будови селезінки інтактних щурів, яким протягом перших 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % на 14, 21 та 30 добу від початку експерименту.

2. Визначити динаміку морфологічних змін структури селезінки щурів, яким після опікової травми шкіри протягом перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl через 14, 21 та 30 діб.

3. Встановити особливості макроскопічних та мікроскопічних змін у селезінці щурів, яким після опікової травми шкіри протягом перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом на 14, 21 та 30 добу.

4. Визначити особливості макроскопічних та мікроскопічних змін у селезінці щурів яким після опікової травми шкіри протягом перших 7 діб експерименту вводили розчин HAES-LX-5% на 14, 21 та 30 добу.

5. Визначити залежність між показниками концентрації молекул середньої маси, лейкоцитарного індексу інтоксикації та показниками розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки на пізніх стадіях опікової травми.

6. Встановити зміни показників клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні 0,9% розчину NaCl.

7. Визначити особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%.

*Об'єкт дослідження* – зміни структурних компонентів селезінки щурів у віддалений період після ОШ II-III ступеня та корекції розчином лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 %.

*Предмет дослідження* – макро-, мікро- та ультраструктурні зміни будови селезінки після опікової травми шкіри в умовах комплексного застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % в експерименті.

*Методи дослідження* – морфологічні: макроскопічний – для візуального вивчення стану, визначення маси та об'єму селезінки у віддалений період після ОШ; мікроскопічний – для вивчення мікроструктури складових структурних елементів селезінки у віддалений період після ОШ; електронно-мікроскопічний – для проведення ультраструктурного морфометричного аналізу популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки у віддалений період після ОШ та в умовах комплексного застосування лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5 %; лабораторні: визначення формули крові, МСМ за методом Габріелян та показника лейкоцитарного індексу інтоксикації за Кальф-Каліфом (ЛІІ) – для кількісної оцінки ендогенної інтоксикації; вміст ДНК в ядрах клітин селезінки щурів визначався методом проточної ДНК - цитометрії з метою визначення особливостей клітинного циклу досліджених груп; статистичний – для оцінки вірогідності відмін між групами порівняння застосовували параметричні і непараметричні методи оцінки отриманих результатів і визначали ступінь взаємозв'язків між показниками розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки та ендогенної інтоксикації.

Наукова новизна одержаних результатів. Проведене дослідження дозволило з'ясувати зміни структурної організації селезінки на пізніх стадіях опікової травми за умов застосування внутрішньовенної інфузії нового препарату колоїдно-гіперосмолярного розчину НАЕС-LX-5%, та референтного препарату – лактопротеїну з сорбітолом.

Проведене дослідження доповнює існуючі відомості про морфологічні зміни селезінки у пізні терміни після опікової травми шкіри. Доповнено та розширено існуючі уявлення про зміни розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки під впливом опіку на пізніх термінах опікової травми, які характеризувалися статистично значуще меншою кількістю вузькоцитоплазматичних лімфоцитів та широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю, а також більшою кількістю широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю

( $p < 0,05$ ), з плазмоцитарним диференціюванням ( $p < 0,05$ ) та більшою кількістю лімфобластів ( $p < 0,05$ ).

Уперше представлені ультраструктурні морфометричні дані лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки свідчать, що застосування лактопротеїну з сорбітолом впливало на розподіл і функціональну активність лімфоцитів селезінки, а саме: кількість широкоцитоплазматичних лімфоцитів (ШЛ) з низькою активністю на 14 та 21 добу була не достовірно більша, а на 30 добу достовірно ( $p < 0,05$ ) більша (у 1,4 рази порівняно з показниками у щурів, яким після ОШ внутрішньовенно вводили фізіологічний розчин на 30 добу, у 1,4 та 1,2 рази порівняно з показниками у щурів після опіку на 14, 21 добу, яким вводили лактопротеїн із сорбітолом). Разом з тим кількість ШЛ з високою неспецифічною активністю та ШЛ з фагоцитарною активністю на 14, 21 добу при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом на пізніх стадіях опікової травми була не достовірно менша, а на 30 добу їх кількість достовірно менша в 1,2 - 1,4 рази порівняно з 21 добою та 1,3 - 1,5 порівняно з 14 добою.

Уперше показано, що при застосуванні розчину НАЕС-LX-5% при опіковій травмі на пізніх стадіях розподіл лімфоцитів у білій пульпі селезінки теж змінювався. НАЕС-LX-5% сприяє нормалізації лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки. Встановлено практично повне відновлення структури лімфоцитів білої пульпи селезінки на 30 добу спостереження, зменшення на 5,15% кількості вузькоцитоплазматичних, та широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю і лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням та лімфобластів не відрізняється від контролю ( $p < 0,05$ ).

Автором уперше описані зміни структури селезінки у пізні терміни після опікової травми шкіри за умов застосування нового кровозамінника НАЕС-LX-5%, а також розчину лактопротеїну із сорбітолом. Уперше встановлено особливості активації та розподілу лімфоцитів білої пульпи

селезінки у відповідь на застосування колоїдно-гіперосмолярного розчину HAES-LX-5%, та препарату порівняння –розчину лактопротеїну з сорбітолом, що є морфологічним проявом їх імуномодельючої дії.

Встановлені особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5%. Практичне значення отриманих результатів. Виконане дослідження доповнює існуючі відомості про морфологічні зміни селезінки при опіковій травмі шкіри та корекції післяопікового стану, окреслює шляхи подальшого удосконалення підходів до інтенсивної терапії та профілактики. Застосування лактопротеїну з сорбітолом і нового кровозамінника HAES-LX-5 % при опіковій травмі шкіри для корекції післяопікового стану значно зменшило патологічні зміни у селезінці.

Матеріали дисертації використовуються у лекційному курсі та при проведенні практичних занять студентів на кафедрах: анатомії людини (акт впровадження від 22.11.2016), гістології та ембріології (акт впровадження від 03.10.2016) клінічної анатомії та оперативної хірургії (акт впровадження від 15.11.2016), Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; анатомії людини (акт впровадження від 04.01.2017), анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету (акт впровадження від 03.02.2017).

Особистий внесок здобувача. Автором здійснено розробку основних теоретичних і практичних положень дисертаційного дослідження, самостійно визначена мета та завдання даного дослідження, проаналізована наукова література. Здобувач приймав участь в експериментальному дослідженні, особисто провів статистичну обробку отриманих результатів проточної ДНК-цитометрії, написав всі розділи дисертації. Аналіз та узагальнення одержаних результатів, обґрунтування висновків проведено разом з науковим керівником. Електронно-мікроскопічне дослідження проведено сумісно з проф. Медвецьким Є.Б в Національному інституті хірургії та



трансплантології АМН України ім. О.Шалімова. У наукових працях, опублікованих у співавторстві дисертанту належать основні ідеї і розробки стосовно морфології селезінки у пізні терміни після ОШ та застосування інфузійних розчинів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладені та обговорені на II науково-практичній конференції з міжнародною участю Природничі читання (Чернівці, 2015); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 75 - річчю з дня народження професора Шутки Б. В. (Івано–Франківськ, 2015); науково-практичній конференції з міжнародною участю Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії, присвяченій 75 - річчю від дня народження професора В. І. Проняєва (Чернівці, 2016); науково-практичній конференції Індивідуальна анатомічна мінливість органів, систем, тканин людини і його значення для практичної медицини і стоматології, присвяченій 80 - річчю від дня народження професора М. С. Скрипнікова (Полтава, 2016); науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології», присвяченій пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г.В., Роменського О.Ю., Когана Б.Й., Шапаренка П.П., Жученка С.П. (м. Вінниця, 2017).

Апробація дисертаційної роботи проведена на спільному засіданні кафедр анатомії людини; оперативної хірургії та клінічної анатомії; гістології, цитології та ембріології; нормальної фізіології; патологічної анатомії; загальної гігієни та екології людини; науково - дослідного центру та Вінницького відділення наукового товариства АГЕТ і апробаційної ради Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (Вінниця, 2017).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 11 наукових праць, із них: 7 статей у наукових фахових виданнях України (п'ять статей вийшли у виданнях, що входять до переліку міжнародних наукометричних баз); 4 публікації – у матеріалах наукових-практичних конференцій з міжнародною участю.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 183 сторінках машинописного тексту, з яких основний текст становить 140 сторінок; складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел (245 джерел: 181 викладених кирилицею, 64 – латиницею). Робота ілюстрована 51 рисунком й 11 таблицями.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Опікова хвороба – патологічний стан організму, який, крім опікової травми шкіри, викликає характерні зміни життєвоважливих внутрішніх органів і фізіологічних систем, порушення обмінних і нейрогуморальних процесів [205].

Першопричиною та головною ланкою у розвитку опікової хвороби є пошкодження шкіри [227]. За розповсюдженістю опіки підрозділяються на обмежені (не викликають розвитку опікової хвороби, потребують місцевого лікування) [69] і великі (приводять до розвитку опікової хвороби) [192, 228, 230]. Розвиток опікової хвороби спричиняють опіки шкіри, площа яких перевищує 10 – 15 % шкіри, а глибина 5 – 6 % [97, 164].

Опікову травму часто відносять до побутових і промислових травм мирного часу, проте опіки є одним із тяжких видів ураження воєнного часу. Значна частина постраждалих гине в періоді опікового шоку, в більш пізні терміни опікової хвороби, до смерті призводять поліорганна недостатність і сепсис на тлі різких порушень гомеостазу та метаболізму. Руйнування великих масивів шкіри призводить до виділення біологічно активних речовин, що проникають у кров'яне русло та активують відповідні ефектори. Крім того, біологічно активні речовини виділяють також органи і тканини, які знаходяться у стані ішемії та циркуляторної гіпоксії у наслідок опікового шоку.

У патогенезі опікової хвороби виділяють чотири клінічних періоди: опіковий шок (від декількох годин до 3 діб), гостру опікову токсемію (з 3 до 12 доби), септикотоксемію (з 12 діб до відновлення шкірних покривів) [225] і стадію реконвалесценції (починається з моменту повного завершення

відновлення втраченого покриву шкіри і триває в середньому 3 - 5 років, а в дітей – до завершення росту скелета) [6, 97].

Аналіз наукової літератури свідчить, що на сьогодні складні та різноманітні зміни внутрішніх органів умовно поділяють на патологію, котра має патогенетичний зв'язок з опіковою травмою, і зміни, які не мають цього зв'язку [206]. Сьогодні науково обґрунтовано, що у віддалений період опікової травми опіковий сепсис не є наслідком прямої дії мікроорганізмів, а пов'язаний зі змінами в імунній системі – від стану гіперзапалення до стану імунодефіциту [235]. Виражений імунодефіцит призводить до розладу, як окремих функцій імунної системи хворих, так і загального її стану, що відіграє величезну роль у динаміці раньового процесу і справляють істотний вплив на перебіг опікової хвороби, розвиток ускладнень і прогноз травми в цілому [3, 126, 224]. Органи імунної системи відіграють провідну роль у формуванні імунітету. Розвиток клітинної та гуморальної імунної відповіді відбувається у периферичних імунних органах (селезінка, лімфатичні вузли) [28].

1.1. Сучасні уявлення про морфологічні, функціональні особливості селезінки та реакції імунної системи при дії екзо- та ендогенних факторів, що викликають пошкодження.

За даними дослідників [76, 219] селезінка щура та людини має подібну гістологічну структуру. Експериментально доведено, що їх селезінка відноситься до синусного захисного типу: запасає трохи крові та має відносно невеликий обсяг червоної пульпи. Селезінка – це орган кровотворення та імунного захисту. У гризунів вона є універсальним органом кровотворення, де утворюються клітини лімфоїдного, еритроїдного і гранулоцитарного ростків, а також важливим органом лімфоцитоутворення й

імунної відповіді. Це найбільший орган периферичної ланки імунної системи, в завдання якого входить імунний контроль крові і запуск специфічних механізмів захисту у відповідь на антигени, що надходять в організм [148, 179, 191]. Селезінка підтримує клітинну і гуморальну імунні відповіді, вродженого і придбаного імунітету, кількісний і якісний склад імуноцитів крові, лімфи й інших лімфоїдних органів [146].

Згідно наукових даних [147], селезінка виконує чотири важливі функції. Це орган імунної системи, що сприяє елімінації мікроорганізмів та антигенів з периферичної крові, а також у створенні клітинних і гуморальних реакцій на антигени [161, 167]. Тут відбуваються проліферація, диференціювання Т - і В-лімфоцитів і утворення антитіл, а також вироблення речовин, що пригнічують еритропоез у червоному кістковому мозку [150]. Остаточна міграція Т - і В - клітин у селезінку відбувається під контролем цитокінів і хемокінів. Чинник некрозу пухлини забезпечує розподіл лімфоїдних фолікулів селезінки на Т - і В - зони [197]. Цікаво, що нормальна мікрофлора кишечника стимулює синтез ІЛ - 12 макрофагами селезінки, який грає основну роль у захисті господаря від внутрішньоклітинних мікроорганізмів.

Друга важлива функція селезінки – фільтрація, виділення і видалення аномальних і патологічних клітин крові, причому продукти розпаду останніх знову використовуються в організмі [109, 179].

Третьою функцією селезінки є участь у регуляції портального кровотоку. У судинній мережі селезінки депоновані 30 - 50% усіх тромбоцитів і частина нейтрофілів, які можуть потрапляти у периферичне русло при кровотечах або у відповідь на інфекцію [216].

Четвертою дуже важливою функцією селезінки є здатність перетворюватися на головне вогнище екстрамедулярного гемопоезу в ситуаціях із заміщенням або надстимуляцією кісткового мозку [38]. За даними наукової літератури, селезінка у гризунів - універсальний орган кровотворення, де утворюються клітини лімфоїдного, еритроїдного та

гранулоцитарного ростків, а також є важливим органом лімфоцитоутворення й імунітету [146].

Головною функцією периферичних органів лімфоїдної системи є розпізнавання чужорідних антигенів, що потрапляють у внутрішнє середовище, та забезпечення організму адекватною кількістю високоспецифічних ефекторних Т – та В-лімфоцитів в індуктивній фазі імунної відповіді [74]. У периферичних органах утворюються ефекторні лімфоцити, здатні не тільки розрізнати, але і знищувати чужорідні структури (Т - кілери, плазмоцити, Т і В клітини пам'яті). Утворення цих клітин залежить від потреб організму [35, 37].

Селезінка закладається на 5 - ому тижні ембріонального розвитку, як скупчення мезенхімних клітин, що пронизані кровоносними судинами у товщі дорзальної брижі [121, 141]. У щурів ембріонального періоду, на відміну від статевозрілих тварин, Т-лімфоцити, які покидають тимус, первинно заселяють червону пульпу селезінки і тільки потім мігрують до відповідних зон білої пульпи. Чисельність клітинних популяцій селезінки у пренатальному періоді розвитку контролюється гіпоталамо - гіпофізарною системою [118]. Мезенхіма надалі трансформується у ретикулярну тканину, яка заселяється стовбуровими клітинами, з'являються макрофаги. На 12 - ому тижні ембріонального розвитку з'являються В-лімфоцити. У ембріональному періоді до 6 - го місяця селезінка є універсальним кровотворним органом, але до моменту народження людини посилюються процеси лімфопоезу [2].

Після народження через 10 діб у білій пульпі з'являються обриси маргінальної зони, через 15 діб утворюються поодинокі первинні лімфоїдні вузлики, а через 21 добу відбувається формування зрілих вторинних лімфоїдних вузликів і зон періартеріолярних лімфоїдних муфт селезінки, що є ознакою настання функціональної зрілості імунного апарату органу [76]. Таким чином, в період новонародженості у багатьох периферичних імунних органах вже є лімфоїдні вузлики, в тому числі з центрами розмноження [122].

Анатомічна будова селезінки визначається конструкцією її судинного

русла, перш за все характером розгалуження артерій [158]. Селезінкова артерія, увійшовши у ворота, розгалужується на кілька трабекулярних артерій, розташованих в судинних трабекулах [159]. Від трабекулярних артерій у пульпу селезінки відходять дрібніші пульпарні артерії, які оточені періартеріолярними лімфоїдними муфтами. Вийшовши з вузлика, вони розгалужуються у вигляді пензлика на китичкові артеріоли, дистальні кінці, яких утворюють еліпсоїдні артеріоли, забезпечені сфінктером - муфтою з ретикулярних волокон і клітин. Еліпсоїдні артеріоли розгалужуються на артеріальні гемокапіляри. Велика частина їх у червоній пульпі впадає у синусоїдні судини та забезпечують швидку циркуляцію крові. Деякі капіляри можуть відкриватися прямо у ретикулярну тканину (відкритий кровообіг) – повільна циркуляція, що забезпечує кращий контакт клітин крові з макрофагами. Від синусоїдних судин червоної пульпи починається венозна система селезінки: пульпарні вени - трабекулярні вени - селезінкова вена. У місцях переходу синусів у венули розташовані м'язові сфінктери, які регулюють накопичення крові у синусоїдних судинах червоної пульпи, концентрацію в них клітинних елементів. Особлива конструкція судинного русла селезінки, її строми й елементів лімфоїдної тканини та їх цитотопографія відрізняє селезінку від інших імунних органів [27, 187].

Селезінка покрита сполучнотканинною капсулою, що складається з колагенових волокон, еластичних волокон і містить фіброцити та міозити, з поверхні вкрита мезотелієм [115]. Від капсули у паренхіму відходять трабекули, серед яких розрізняють 3 типи: судинні, сполучні та радіальні [9, 46]. Судинні трабекули несуть у собі трабекулярні артерії (м'язового типу), трабекулярні вени (безм'язового типу) та нерви і входять у паренхіму у ділянці воріт селезінки, утворюючи трабекулярне дерево. Сполучні трабекули не містять судин і відходять латерально від судинних трабекул, зміцнюючи трабекулярне дерево. Радіальні трабекули відходять від внутрішньої поверхні капсули радіально вглиб до трабекулярного дерева. Від капсули і трабекул у паренхіму селезінки відходять ретикулярні волокна, які

разом з ретикулярними клітинами утворюють стромальну основу пульпи селезінки [233]. Така конструкція сполучнотканинного остова селезінки дозволяє швидко змінювати об'єм органу при скороченні міоцитів капсули та трабекул і стисканні ретикулярної сітки [108, 219], що є морфологічною основою резервуарної функції селезінки. Таким чином, основа органу - ретикулярна тканина, а основною імунною структурою селезінки слід вважати періартеріолярну лімфоїдну піхву, яка оточує центральну артеріолу (діаметр 20 - 60 мкм), та формує своєрідні лімфоїдні оболонки, футляри, утворені декількома шарами клітин лімфоїдного ряду, що складаються з малих і середніх лімфоцитів, а також одиничних великих лімфоцитів, концентрично оточуючи пульпарні артерії [15, 183, 237].

Паренхіма складається з так званої селезінкової пульпи, яка за кольором поділяється на білу та червону. Червона пульпа становить до 80 % усієї паренхіми селезінки і складається з селезінкових тяжів та венозних синусів. Будова селезінки та співвідношення між білою і червоною пульпою можуть змінюватися у залежності від функціонального стану органу. До білої відносяться періартеріолярні лімфоїдні муфти і лімфоїдні вузлики [27, 30, 46].

Періартеріальні лімфоїдні муфти селезінки відносять до Т - залежної зони, яка бере участь переважно в регуляції клітинної імунної відповіді [13, 31, 231]. Лімфатичні артеріальні піхви – витягнуті вздовж пульпарної артерії скупчення В – лімфоцитів, плазматичних клітин, а по периферії піхви малих Т-лімфоцитів. Такі структури спрямовані до лімфоїдних вузликів та з'єднуються з ними. Періартеріолярну лімфоїдну піхву у щурів можна поділити на три зони: центральну, периферичну і сполучнотканинні канали, що переходять у маргінальну зону. Морфологічно дані ділянки відрізняються концентрацією ретикулярних волокон і розташуванням малих лімфоцитів з темними ядрами, а також наявністю макрофагів і плазматичних клітин [189, 220]. Гермінативні центри добре виражені у порівнянні з іншими зонами лімфоїдного вузлика внаслідок наявності у них великих, світлих молодих



форм лімфоцитів [15, 183]. У світлому гермінативному центрі знаходяться ретикулярні клітини та проліферуючі В-лімфоцити, що диференціюються у плазматичні клітини. Є тут також скупчення макрофагів з фагоцитованими лімфоцитами або їх фрагментами у вигляді хромофільних тілець та дендритних клітин. У такій ситуації реактивний центр світлий. На межі з мантийною зоною зосереджуються плазмоцитарні клітини, що диференціюються.

Структура функціональних зон селезінки більшою мірою залежить від функціонального стану імунної та кровотворної систем, які визначають стан гемопоезу, інтенсивність імунної відповіді й індивідуальну реактивність [149].

Мантийна зона оточує періартеріальну зону та гермінативні центри лімфоїдного вузлика селезінки. У даній зоні знаходиться багато малих В-лімфоцитів і невелика кількість Т-лімфоцитів, плазмоцитів і макрофагів. [46, 47]. Клітини мантийної зони щільно прилягають одна до одної і розшаровуються циркулярно спрямованими товстими ретикулярними волокнами. Характерно, що мантийна зона не бере участі у процесах проліферації імунокомпетентних клітин [108, 223]. Клітини утворюють ніби корону, розташовану циркулярно спрямованими, товстими ретикулярними волокнами.

Маргінальна зона лімфоїдних вузликів селезінки являє собою перехідну ділянку між білою та червоною пульпою. Вона складається з Т - і В-лімфоцитів, поодиноких макрофагів, ретикулярних клітин, моноцитів, еозинофілів і оточена маргінальними синусоїдними судинами з щілиноподібними порами у стінці. Саме маргінальна зона бере участь в імунній відповіді, у видаленні з кровотоку сторонніх включень, будучи місцем захоплення змінених клітин крові та імунних комплексів. Доведено присутність тут особливої популяції макрофагів, що мігрують у білу пульпу [208, 211, 218].

Червона пульпа переважає над білою, займає близько 3/4 всього об'єму

селезінки, та пронизана синусоїдними судинами (капілярами синусоїдального типу діаметром до 200 мкм) [240]. Вона складається з ретикулярної тканини, у якій розташовані еритроцити, лейкоцити, плазмоцити на різних стадіях дозрівання, численні кровеносні судини, а також селезінкові або пульпарні тяжі, де відбувається плазмоцитогенез [29, 62].

У петлях ретикулярної сітки пульпарних тяжів червоної пульпи розташовані еритроцити, лімфоцити різного ступеню зрілості, зрілі та незрілі плазматичні клітини та активно фагоцитуючі макрофаги, які з ними взаємодіють. Тут закінчують своє диференціювання та секретують антитіла плазмоцити, попередники яких переміщуються сюди з білої пульпи. У пульпарних тяжках зустрічаються скупчення В – і Т-лімфоцитів, які можуть формувати нові лімфоїдні вузлики [36, 49]. Для гуморальної імунної відповіді характерними є великі лімфоїдні вузлики селезінки зі світлими центрами, збільшення у тканині селезінки плазмобластів і плазматичних клітин; проліферація макрофагів.

У червоній пульпі затримуються моноцити, які в подальшому диференціюються у макрофаги. Ретикулярні клітини і волокна червоної пульпи утворюють складне переплетіння у вигляді дрібнопетлистої мереживної сітки, на одних ділянках лежать щільно, на інших ділянках вони утворюють комірки, або розташовуються поздовжньо, є ділянки без направленої орієнтації волокон. Місцями ретикулярні волокна деревовидно розгалужуються або утворюють ділянки з войлоковидним переплетінням. Ретикулярні клітини світло забарвлені, великих розмірів і неправильної форми, мають один або декілька відростків. Кожна клітина має овальне або кругле ядро, бідне хроматином, який у вигляді глибок. Клітини розташовані у місцях пересікання волокон, а їх відростки беруть участь в утворенні сітки. Питання класифікації, гістогенезу та цитофізіології ретикулярних клітин селезінки все ще не вирішене. Під терміном “ретикулярна клітина” розуміють різноманітні структури, які вельми відрізняються своїми

параметрами і функціями. З урахуванням поглядів ряду авторів правомірно вирізняти у селезінці фагоцитуючі ретикулярні клітини, для яких характерна наявність у цитоплазмі великої кількості різноманітних лізосом та фагосом та участь у специфічній імунній відповіді. Вони належать до системи мононуклеарних фагоцитів, що представлена центральною ланкою імунорегуляції [75]. Другий різновид – нефагоцитуючі ретикулярні клітини – мають овальну, веретеноподібну чи зіркоподібну форму, овальне чи витягнуте ядро з дифузно розташованим хроматином. Ці клітини контактують з волокнами міжклітинної речовини. Іноді ці клітини називають власними стромальними елементами ретикулярної тканини лімфоїдних структур. Третій вид клітин – недиференційовані клітини, вони неактивовані, та важко ідентифіковані. Через слабкий розвиток клітинних органел чітких структурних особливостей вони не мають [236].

Спленектомія у щурів призводить до дистрофічних змін гепатоцитів печінки [177], підвищення кількості АПУД - клітин наднирників щурів при зниженні площі мозкової речовини [103].

Існує припущення, згідно з яким селезінка очищає циркулюючу кров від клітин зі зміненою мембраною [38, 132, 157]. В основному, це Т-лімфоцити, які, в свою чергу, активно взаємодіють з інтердигтуючими макрофагами, які передають їм інформацію про стан мікрооточення селезінки, стимулюючи їх бласттрансформацію і проліферацію [12, 29, 108]. Так, тимектомія у мишей призводить до активації еритропоезу в селезінці, а у тварин з природженою відсутністю тимуса спостерігаються пригнічення лімфоїдного і еритроїдного ростків кровотворення, активація кісткового грануломоноцитопоеза і компенсаторне збільшення кількості еритроїдних клітин у селезінці [682].

На сьогодні ще не досягнуто повне розуміння природи стромальних клітин селезінки, їх походження, закономірностей розподілу по субкомпартментам органу та механізмів впливу на лімфоїдні клітини при стресі: не визначена природа вузликових дендритних клітин, існують

розбіжності у розумінні походження і диференціювання дендритних клітин, їх взаємодії з Т-лімфоцитами, що пов'язане з недоліком досліджень лімфоїдної і стромальної архітекtonіки органів імуногенезу, особливо у дитячому віці, та затрудняє розуміння закономірностей становлення ефективної імунної відповіді та імунomodуляційних процесів [74].

1.2. Порушення імунних механізмів та морфологічні зміни структури селезінки при дії різних екзо- та ендогенних факторів, що викликають пошкодження, та шляхи їх корекції.

На сьогоднішній день достатньо вивчений морфологічний стан структурних компонентів селезінки в нормі та при різних патологіях, зокрема при сепсисі, захворюваннях органів травної системи, при інфекційних хворобах, за умов довготривалого стресу та ін.[49, 80, 81, 83, 142, 143].

Встановлено, що після завершення розвитку у центральних органах імунної системи лімфоцити залишають їх і заселяють периферійні лімфоїдні органи [186, 242]. Там вони не затримуються надовго завдяки реалізації двох процесів, що забезпечують їхню невинну круговерть – поновлення та рециркуляції [167]. Міграція являє собою важливий процес також і для функціонування центральної ланки імунної системи. У цій ланці (при реалізації певних закономірностей і сигналів) у міграційні процеси залучаються стовбурові кровотворні клітини, попередники Т-лімфоцитів, дозріваючі В – та Т-лімфоцити [209, 212].

Відомо, що біогенні аміни здатні впливати на властивості клітин мікрооточення селезінки, які, в свою чергу, регулюють активність імунних клітин у даному органі [12, 108].

Надмірний викид цих прозапальних сполук гіперактивованими макрофагами індукує метаболічні порушення у клітинах вогнища запалення, місцеві та генералізовані порушення мікроциркуляції, посилення агрегації

тромбоцитів [184, 232]. У результаті розвивається гіпоксія тканин, активізуються процеси перекисного окислення ліпідів [8, 201].

Патогенез формування імунодепресії при важкій опіковій травмі складається з накопичення молекул середньої маси; накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів; посилення транслокації ендотоксинів і мікрофлори з кишки у кров, що приводить до збільшення у крові концентрації ЛПС грамнегативних мікроорганізмів і бактеріємії; порушення обміну нуклеїнових кислот у клітках імунної системи (диснуклеотидоз); порушення цитокінового статусу (істотне переважання прозапальних цитокінів над протизапальними цитокінами) [196]. Важлива роль у розвитку інфекції та септичного шоку, що індукуються грамнегативною мікрофлорою.

Представлені патогенетичні чинники мають високий ступінь універсальності, оскільки формуються при самій різній патології людини [144]. У клінічній імунології їх виділення у край важливе, оскільки на підставі їх ідентифікації визначаються принципи патогенетичної терапії.

Проте, реорганізація структурних компонентів селезінки при термічній травмі організму залишається недостатньо вивченою.

### 1.3. Механізми розвитку патологічних змін органів при опіковій хворобі

Відомо, що при тяжких опіках настають значні структурні та метаболічні порушення всіх органів та систем організму [48, 79, 113]. Патологічні зміни після термічних травм розвиваються і в імунній системі, тому встановлення морфофункціональних особливостей перебігу в ній пристосувально - компенсаторних і деструктивних процесів та розробка на основі цього патогенетично обґрунтованих засобів корекції є актуальними завданнями сучасної біології та медицини [34].

Не можна не відзначити той факт, що найбільш важким проявом опікової хвороби є опіковий шок, який розвивається у тому випадку, якщо

площа глибокого ураження шкіри складає, за даними різних авторів, понад 21 – 40 % поверхні тіла. Незважаючи на значні успіхи, що досягнуті у лікуванні даної патології, летальність хворих з важкими опіками і, передусім, опіковим шоком, залишається високою навіть в умовах лікування у спеціалізованих стаціонарах, отже, типові патологічні процеси, які перебувають в основі розвитку опікової хвороби залишаються предметом дискусій фахівців різного профілю [160, 165].

Термічна травма вже у ранні терміни запускає в організмі ланцюг реакцій в імунній системі, які призводять до складних імуномодуляційних змін [98, 125]. Визначений зв'язок опікового пошкодження шкіри з змінами, котрі, як певна реакція на опік, відбуваються у селезінці. Шкіра також має своєрідні структури імунної системи, а саме периваскулярні лімфоїдні вузлики лімфатичних капілярів та венул шкіри [139, 178]. У таких вузликах обов'язково присутні Т - і В-лімфоцити, макрофаги. На площі опіку формується тканинний детрит із значною мікробною присутністю. Останні разом з аутоантигенами з цієї площі потрапляють до лімфи, та до макрофагів вузликів. Потім макрофаги з антигенами також опиняються у лімфатичних шляхах і вузлах, а потім у крові, та поступово надходять у селезінку, кістковий мозок [190, 222], у гіпоталамус [213].

У лімфатичних вузлах накопичується 99% антигенів. У них так само накопичуються специфічні клітини – ефектори. У відповідь на надходження будь - яких антигенів реагують клітини не лише органів, що дрениують місце входження антигену, але й тимуса [194, 215], кісткового мозку, селезінки, в яких відбувається розвиток попередників ефекторних клітин. Про наявність регуляції процесів диференціювання попередників у кістковому мозку свідчить те, що після антигенної стимуляції процеси проліферації і диференціювання попередників В-лімфоцитів у кістковому мозку контролюються факторами макрофагів селезінки, брижових лімфатичних вузлів, а процеси моноцитогенеза – факторами макрофагів з вогнища запалення [77, 78].

Макрофаги першими з усіх елементів імунної системи контактують з інфекційним агентом або інфікованою клітиною, поглинаючи і перетравлюючи їх, презентують антигени Т - і В-лімфоцитам та ініціюють розвиток клітинної та гуморальної відповіді. Контакт макрофагів з чужорідними субстанціями веде до стимуляції їх функціональної активності [217]. У результаті вони виділяють десятки біологічно активних сполук, таких як ФНП -  $\alpha$ , інтерферон, ІЛ - 1, ІЛ - 6, ІЛ - 8, кисневі радикали, нітросполуки та ін. [181].

Клітини кісткового мозку синтезують гуморальний фактор – мієлопептиди, котрі в 2 - 3 рази підвищують антитілогенез в імунних клітинах лімфатичних вузлів. Головна мішень стимуляторних мієлопептидів так звані мовчазні антитілоутворюючі клітини. Вони утворюють антитіла, але секреція їх з клітини заблокована. Мієлопептиди знімають цю блокаду і кількість антитіл зростає. Сутність дії – зняття інгібаторного впливу на антитіло утворюючі клітини супресорних Т-лімфоцитів. Мовчазні антитілоутворюючі клітини, що так і не розпочали секрецію антитіл, перетворюються на В-лімфоцити пам'яті [140].

Дослідники звертають увагу на те, що опіковий шок характеризується динамічним підвищенням рівня кортикостероїдів у периферичній крові. Концентрація альдостерону у першу добу опіку збільшується у 4,3 рази, а кортизолу - у 1,5 рази [200]. Гістамін діє збудливо на ядра гіпоталамуса, що призводить до підвищеного виділення АКТГ аденогіпофізом; АКТГ і адреналін стимулюють кіркову речовину надниркових залоз до підвищеного виділення глюкокортикоїдів, дія останніх, у свою чергу, веде до розвитку характерної картини стресу [234]. Системні реакції адреналіну, що проявляються у вигляді тахікардії, збільшення систолічного артеріального тиску, збільшення споживання кисню й посиленням теплопродукції [214], супроводжують всі стадії опікової хвороби і пригнічуються лише після загоювання опікової рани [188, 94, 96].

При стресі, який виникає в ураженому організмі під дією високих

температур, відбувається не просто мобілізація енергетичних та структурних ресурсів організму, а їх дискримінативний перерозподіл – передача з систем, які не беруть участь в адаптації до даного конкретного фактору, в системи специфічно відповідальні за цю адаптацію. Це лежить в основі розвитку вторинного імунодефіциту при опіковій травмі. Система антиінфекційної резистентності не виконує безпосередньо метаболічних функцій, не приймає участь у транспортуванні кисню та підтримці енергетичного статусу організму. У зв'язку з цим, з перших хвилин після виникнення стресу починається використання ресурсів системи на користь органів та тканин, відповідальних за адаптацію [95]. Наприклад, лімфоцити, які розпадаються під дією глюкокортикоїдів, виконують трофоцитну функцію – їх нуклеїнові кислоти, амінокислоти та метаболіти утилізуються у процесах репарації та регенерації пошкоджених тканин. Весь період збереження стресорного впливу на організм супроводжується даним впливом на імунну систему [63]. Підтвердженням цьому є відома тріада Сельє: в результаті впливу стресу на організм відмічається, крім пошкодження слизової оболонки шлунково - кишкового тракту, гіпертрофія наднирникових залоз (орган, який входить у домінуючу систему підтримки гомеостазу) і атрофія тимуса. При цьому ступінь атрофічних змін залежить від сили дії стресорного фактору: чим важча травма, тим значніша атрофія тимуса. Після закінчення впливу стресорного фактору відбувається поступове відновлення тимуса [98].

Зміни, які відбуваються у тимусі, завжди супроводжуються змінами у всій системі антиінфекційної резистентності: розвивається дефіцит лімфоїдної тканини, функціональна неповноцінність клітин фагоцитарної системи, що і є однією з основних причин генералізації інфекції при важких опіках [175, 180]. На етапах розвитку опікової хвороби частина клітин тимуса гине шляхом апоптозу (тимоцити, епітеліоретикулоцити, дендритні клітини, ендотеліоцити кровоносних капілярів і венул), некрозу (тимоцити, епітеліоретикулоцити, макрофаги, ендотеліоцити кровоносних капілярів і венул), мітотичної катастрофи (тимоцити), апонекрозу (тимоцити та



дендритні клітини), автофагії (епітеліоретикулоцити та макрофаги) та зроговіння (епітеліоретикулоцити тілець Гассалья) [168, 173, 174].

Опікова травма, як і будь-яка інша, викликає дуже значні порушення у функціонуванні імунної системи, яка в свою чергу знаходиться у тісному взаємозв'язку з іншими системами організму, які піддаються патологічним змінам при травмі [98, 127, 131].

Визначено, що опікова хвороба вже на ранніх термінах призводить до глибоких змін усіх ланок імунної системи організму, забезпечуючи тим самим якісну сталість внутрішнього середовища, що знижує можливості протимікробного захисту організму. Найбільш виражене пригнічення цих можливостей має місце у системах клітинного імунітету та імуногенезу [61, 136].

За даними Гаврилюк - Скиби та Волкова К.С. [40, 41] у структурах селезінки у ранні терміни (стадії шоку та ранньої токсемії) після термічної травми відмічаються пристосувально - компенсаторні та наявні початкові ознаки деструктивних змін. Збільшуються масометричний та лінійні показники органу, достовірно зростає коефіцієнт Вогенворта, у 1,94 раза у порівнянні з показниками інтактних тварин. Гіперплазія білої пульпи відображає зростання компенсаторних реакцій імунної системи, імуногістохімічно визначені ознаки активації Т - клітинної та макрофагальної ланки імунітету (збільшення кількості CD45<sup>+</sup>, CD68<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup> та CD8<sup>+</sup> клітин). Гістологічно та гістохімічно виявлені дисциркуляторні зміни органу (повнокрів'я червоної пульпи та судинного русла, сповільнення кровотоку в судинах мікроциркуляторного русла), підвищення судинно - тканинної проникності, що супроводжується порушенням гемокоагуляції у вигляді дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, що відображає початок декомпенсації пристосувальних процесів [45, 82, 84].

Таким чином, опікову хворобу можна розглядати, як захворювання з вторинною імунною недостатністю, з прямим пошкодженням шкіри – найбільшого імунного органу організму, при якій особливо пригнічені

клітинні механізми захисту [98, 166], внаслідок чого розвивається неадекватна системна запальна реакція у організмі, пригнічуються специфічні антиінфекційні механізми та створюються сприятливі умови для інфекційних ускладнень [16, 226].

Незначна кількість робіт присвячена комплексному вивченню стану імунних реакцій у обпечених, в зв'язку з процесом загоєння, а також з тими методами детоксикації, які проводяться [97].

Внаслідок того, що опікова хвороба розглядається, як захворювання з вторинною імунною недостатністю, при якій організм стає беззахисним по відношенню до різноманітного патогенного впливу та створюються сприятливі умови для інфекційних ускладнень, адекватність імунологічної реактивності організму, як на протікання загоєння ран, так і на активне хірургічне лікування визначає результат опікової хвороби. Направлена зміна резистентності та імунологічної реактивності організму є одним із актуальних та перспективних напрямків сучасної медицини [97].

1.4. Застосування інфузійної терапії комбінованими колоїдно-гіперосмолярними розчинами при термічній травмі.

Сьогодні лікування опікової хвороби базується на патогенетичному розвитку захворювання та включає методи лікування відповідно її періодизації.

Використання у комплексній терапії хворих із післяопіковими деформаціями лікувального плазмаферезу проявлялось меншим проявом місцевої запальної реакції в ділянці рубців і нижчим рівнем вмісту аутоагресивних факторів [16, 104]. Проте, поряд із позитивним ефектом даного методу лікування відмічено збереження високої автосенсибілізації у даної категорії хворих після плазмаферезу, що вимагає виконання повторних процедур через 4–5 тижнів. При лікуванні опікових ран м'яких тканин застосування 2 % засобу Кротозин, за рахунок виражених антисептичних,

сорбційних та антиоксидантних властивостей, має позитивний корегуючий вплив на зміни показників концентрації циркулюючих імунних комплексів у крові експериментальних тварин у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани [137].

У подальшому ведеться боротьба з гіпопротеїнемією, згущенням крові і інтоксикацією: вводять великі дози сироватки, плазми (1,0 - 1,5 л в день), ізотонічний розчин хлориду натрію (до 2 л), 40 % розчин глюкози (по 60 100 мл), 10 % розчин хлориду натрію (по 40 - 50 мл), кровозамінники, білковий гідролізат та ін. У цій фазі перебігу опікової хвороби показана інтенсивна інфузійна терапія.

Встановлено, що компенсація гіповолемії та корекція порушень оксигенації не впливає на ступінь вираженості токсемії. Введення інфузійних розчинів суттєво покращує прогноз та зменшує активність цитокінів запалення, і рівень поліорганних уражень, які вважають одним із основних проявів опікової хвороби [188, 195].

Поєднання позитивних якостей гіперосмолярної кристалоїдної складової з низькомолекулярним тетракрохмалем відбулося при створенні нового колоїдно - гіперосмолярного інфузійного розчину під лабораторним кодом НАЕС-LX-5 %. У ДУ „Інститут патології крові та трансфузійної медицини” НАМН України (м. Львів) розроблено новий комбінований інфузійний розчин НАЕС-LX-5 %. Препарат, як колоїдну основу, вміщує полі(0 - 2 – гідроксиетил ) крохмалю (середня молекулярна маса становить 130 000 Дальтон, ступінь молекулярного заміщення 0,4) – 5 %, а також багатоатомний спирт ксилітол – 5 %, залужнювальний компонент натрію лактат – 1,5 %, натрію хлорид – 0,8 %, калію хлорид – 0,03 %, кальцію хлорид – 0,02 %, магнію хлорид – 0,01 %. Іонний склад розчину має наступну структуру:  $\text{Na}^+$  – 270,7 ммоль/л,  $\text{K}^+$  – 4,0 ммоль/л,  $\text{Ca}^{++}$  – 1,8 ммоль/л,  $\text{Mg}^{++}$  – 1,1 ммоль/л,  $\text{Cl}^-$  – 146,6 ммоль/л,  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$  – 133,8 ммоль/л. Теоретична осмолярність препарату, якій підлягає, дослідженню, складає 890 мосмоль/л, що у 3 рази перевищує осмолярність ізотонічного розчину NaCl

та осмолярність плазми крові [100, 101]. Розчин Гекотон (HAES-LX-5%), використовується на догоспітальному та ранньому госпітальному етапах лікування потерпілих з поєднаною травмою [138]. Сьогодні за даними літератури ще залишається відкритим питання оцінки співвідношення ризик/користь препаратів на основі гідроксиетилкрохмалю при різних патологічних станах, що супроводжуються ендоінтоксикацією [99]. Водночас препарати на основі гідроксиетилкрохмалю залишаються базовими препаратами при лікуванні гіповолемічних станів, як у військовій медицині, так і у цивільних клініках. В експерименті на кролях на моделі токсичного гепатиту, який викликаний проведенням підшкірних ін'єкцій чотирихлористого вуглецю, застосування розчину HAES-LX-5 % у дозі 10 мл/кг маси тіла виявляло наявність значних дезінтоксикаційних властивостей препарату [102].

Інфузійні гіперосмолярні розчини (лактопротеїн з сорбітолом і HAES-LX-5 %) за умов експериментальної опікової травми шкіри тварин при внутрішньовенному застосуванні проявляють адаптогенні (цито - та ангіопротекторні) властивості, запобігають розвитку набряку та крововиливів, попереджають альтерацію, а також сприяють репарації клітин кіркової речовини надниркових залоз [157, 198, 199].

Встановлено поліпшення функціональних показників печінки при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX-5 % уже у період опікового шоку [153, 154]. При інфузійній терапії колоїдно - гіперосмолярними розчинами морфологія печінки щурів поліпшувалась уже на ранніх стадіях опікової хвороби [155, 156]. Позитивний ефект дії інфузії гіперосмолярних розчинів віддзеркалюється у покращенні загального стану, прискоренні відновлення поведінкових реакцій та маси тіла тварин з опіком у групах, яким вводили лактопротеїн з сорбітолом і HAES-LX-5 %. Статистично значиму позитивну динаміку збільшення маси тіла встановлено у період 14 - 30 доби [64, 65].

Доведено, що застосування інфузійної терапії комбінованими колоїдно

- гіперосмолярними розчинами позитивно впливає на клінічний стан організму та структурні зміни гіпофіза [87, 88, 89, 90], надниркових залоз [67] і тимуса [172, 176] при експериментальній опіковій хворобі у щурів. Поліпшується ультраструктура межклітинної речовини внутрішніх органів [169], показники вегетативного гомеостазу, компенсаторно - пристосувальні реакції природної резистентності організму, гуморальної та клітинної ланок імунітету.

Колоїдні препарати, а головне - раннє їх використання, зменшують летальність у ранні та віддаленні періоди після опіку (57, 58, 117, 135]. Доведено, що введення інфузійних препаратів зменшує активність цитокінів запалення, поліпшує адаптацію та компенсацію порушених функцій внутрішніх органів, уражених при опіковій хворобі [171].

Морфофункціональні зміни селезінки у зв'язку з опіковою травмою є актуальною проблемою, яка вимагає поглибленого, різнобічного вивчення, у тому числі на рівні морфологічних структур, та інноваційної реалізації нових медико - технологічних рішень, спрямованих на підвищення ефективності лікувально - профілактичних заходів. В експерименті на щурах вивчені ультраструктурні зміни селезінки при дії інфузійних препаратів лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5 % на ранніх термінах (1, 3 та 7 доба). Так, при інфузії НАЕС-LX-5 % у дозі 10 мл на кг у ранніх термінах спостереження структура селезінки не відрізнялась від такої у інтактних тварин. Інфузія лактопротеїну із сорбітолом у дозі 10 мл на кг призводила до змін ультраструктури білої пульпи селезінки. У гермінативних центрах збільшена чисельність лімфобластів в порівнянні з щурами, яким проводили інфузію НАЕС-LX-5 % у дозі 10 мл на кг. В усіх зонах білої пульпи виявляли макрофаги у цитоплазмі яких розташовані чисельні великі гетерофагосоми. У плазмоцитах розширені каналці шорсткої ендоплазматичної сітки. Вказані зміни є проявом підвищеної функціональної активності імунокомпетентних клітин на даний термін спостереження [51].

Через 1, 3 і 7 добу після опікової травми шкіри у щурів, яким вводили

розчин лактопротеїну із сорбітолом, дистрофічні процеси в селезінці були менш виражені ніж у щурів, яким після опікової травми шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl. Значний інтерес становлять експериментальні дослідження з вивчення можливих позитивних чи негативних впливів інфузійної терапії комбінованими колоїдно - гіперосмолярними розчинами на структурні зміни селезінки, як периферичного органу імунної системи при довгостроковому введенні протягом місяця.

Все вище викладене стало підставою для проведення даного дослідження, метою якого є встановити особливості морфологічних проявів пошкодження та компенсаторно - пристосувальних змін структурних компонентів селезінки щурів через 14, 21 та 30 добу після опікової травми шкіри, а також при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 %.

## РОЗДІЛ 2

### ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА І ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Об'єкти дослідження

Експериментальні дослідження опікової травми були виконані на 200 білих статевозрілих щурах - самцях масою 160 - 200 г., отриманих із віварію Державної установи "Інститут фармакології та токсикології НАМН України". Дослідження проводили на базі проблемної науково - дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку науково - дослідного центру Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, яка сертифікована МОЗ України (посвідчення № 003/10 від 11.01.2010 року) та лабораторії кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, яка сертифікована МОЗ України (посвідчення №000679 від 11.01.2008 року).

На проведення експерименту отриманий дозвіл комісії з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол №10 від 23 листопада 2017 року), якою встановлено, що проведені дослідження відповідають етичним та морально - правовим вимогам згідно наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались рекомендацій Європейської комісії щодо проведення медико - біологічних досліджень з використанням тварин та методичними рекомендаціями Державного фармакологічного центру МОЗ України. Досліди проводились з урахуванням правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP), закону України № 3447 - IV Про захист тварин від жорстокого поводження від 21 лютого 2006 року.

Як досліджуваний препарат був використаний колоїдно-гіперосмолярний препарат НАЕС-LX-5 %, розроблений у ДУ “Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України” [Патент на винахід 93776].

Препарат містить гідроксиетилкрохмаль - 200/0,5 або гідроксиетилкрохмаль - 130/0,4, а також ксилітол, натрію лактат, натрію хлорид, калію хлорид, кальцію хлорид, магнію хлорид при наступному співвідношенні компонентів, мас. %: гідроксиетилкрохмаль - 200/0,5 (ММ 200000 Дальтон, МЗ 0,5) 4,5 - 5,0 або гідроксиетилкрохмаль - 130/0,4 (ММ 130000 Дальтон, МЗ 0,4) 4,5 - 5,0 ксилітол 4,0 - 6,0 натрію лактат 1,35 - 1,66 натрію хлорид 0,72 - 0,88 калію хлорид 0,027 - 0,033 кальцію хлорид (в перерахунку на суху речовину) 0,017 - 0,023 магнію хлорид (в перерахунку на 0,008 - 0,0125 в суху речовину) вода для ін'єкцій решта. За таких умов препарат матиме наступний іонний склад:  $\text{Na}^+$  - 270,7 ммоль/л,  $\text{K}^+$  - 4,0 ммоль/л,  $\text{Ca}^{++}$  - 1,8 ммоль/л,  $\text{Mg}^{++}$  - 1,1 ммоль/л,  $\text{Cl}^-$  - 146,6 ммоль/л,  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$  - 133,8 ммоль/л. Осмолярність препарату - 890 мОсм/л. Як видно з наведеного пропису, основними діючими речовинами препарату є гідроксиетильований крохмаль, ксилітол, натрію лактат та електроліти [100, 101].

Як референс - препарат застосовували колоїдно - гіперосмолярний розчин лактопротеїну з сорбітолом, який серійно випускається Київським ЗАТ “Біофарма” (Сертифікат про державну реєстрацію МОЗ України № 464/09 - 300200000 від 12.03.2009 року та являє собою білково - сольовий розчин, що як колоїдну основу містить донорський альбумін – 5 %, а також багатоатомний спирт сорбітол – 6 %, натрію лактат – 2,1 %, натрію хлорид – 0,8 %, кальцію хлорид – 0,01 %, калію хлорид – 0,0075 %, натрію гідрокарбонат – 0,01 %. Іонний склад препарату має наступну структуру:  $\text{Na}^+$  – 343,5 ммоль/л,  $\text{K}^+$  – 1,0 ммоль/л,  $\text{Ca}^{++}$  – 0,9 ммоль/л,  $\text{Cl}^-$  – 139,7 ммоль/л,  $\text{HCO}_3^-$  – 1,2 ммоль/л,  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$  – 187,4 ммоль/л. Осмолярність розчину становить 1020 мосмоль/л. [119].



Попередні дослідження виявили, що щури-самці без будь-якої фармакокорекції за умов опікової травми шкіри гинули всі до 9-ї доби експерименту, не доживаючи до пізньої стадії опікової травми. Тому в експерименті ми застосовували внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену 0,9 % розчину NaCl та вище вказаних інфузійних препаратів.

Усім тваринам перед моделюванням патологічного стану, бічні поверхні тулуба брили механічною машинкою та безпечною бритвою.

Катетер встановлювали у стегнову вену та підшивали під шкіру, його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на 10 мл 0,9 % розчину NaCl) після кожного введення речовин (рис. 2.1).

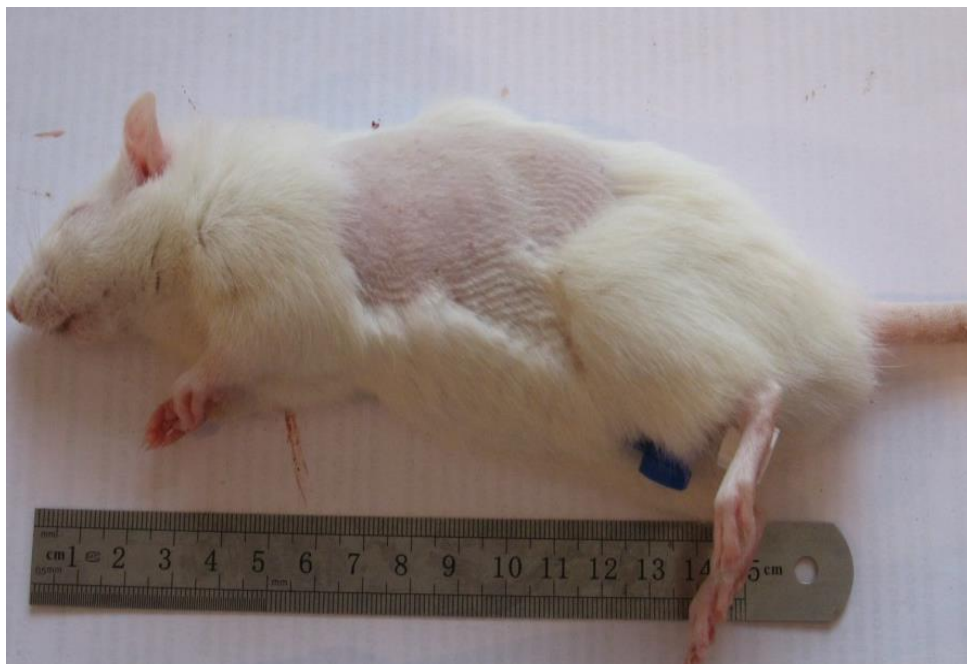


Рис. 2.1. Фото щура після постановки катетера та депіляції бокових поверхонь тулуба.

Перше введення розчинів здійснювали через 1 год. після моделювання патологічного стану, наступні інфузії виконувались раз на добу. Бриття тварин, постановка опіків та катетеризацію магістральних судин здійснювали

в умовах прополового наркозу 60 мг/кг внутрішньоочеревинно.

Тварин розподілили на контрольну та дослідну групи. У контрольній групі представлені інтактні щури (катетеризовані та депільовані). Тварин дослідної групи розподілили на шість підгруп (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

**Розподіл тварин контрольної та експериментальних групах за термінами забору гістологічного матеріалу**

Група тварин		Термін після ОШ				Загальна кількість тварин
		До початку експерименту	14 діб	21 діб	30 діб	
Контроль		2	2	2	2	8
Дослід	I	2	10	10	10	32
	II	2	10	10	10	32
	III	2	10	10	10	32
	IV	2	10 (2)	10 (2)	10 (1)	32
	V	2	10 (1)	10	10	32
	VI	2	10 (1)	10 (1)	10	32
Всього		14	62 (4)	62 (3)	62 (1)	200

**Примітка:** у дужках – кількість тварин, що загинула.

До групи № 1 були віднесені щури без ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену 0,9 % розчину NaCl у дозі 10 мл/кг.

До групи № 2 були віднесені щури без ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену розчину лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл/кг.

До групи № 3 були віднесені щури без ОШ, яким щоденно 7 діб

протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену розчину НАЕС-LX-5 % у дозі 10 мл/кг.

До групи № 4 були віднесені щури після ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену 0,9 % розчину NaCl у дозі 10 мл/кг.

До групи № 5 були віднесені щури після ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену розчину лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл/кг (рис. 2.2).

До групи № 6 були віднесені щури після ОШ, яким щоденно 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену розчину НАЕС-LX-5 % у дозі 10 мл/кг.

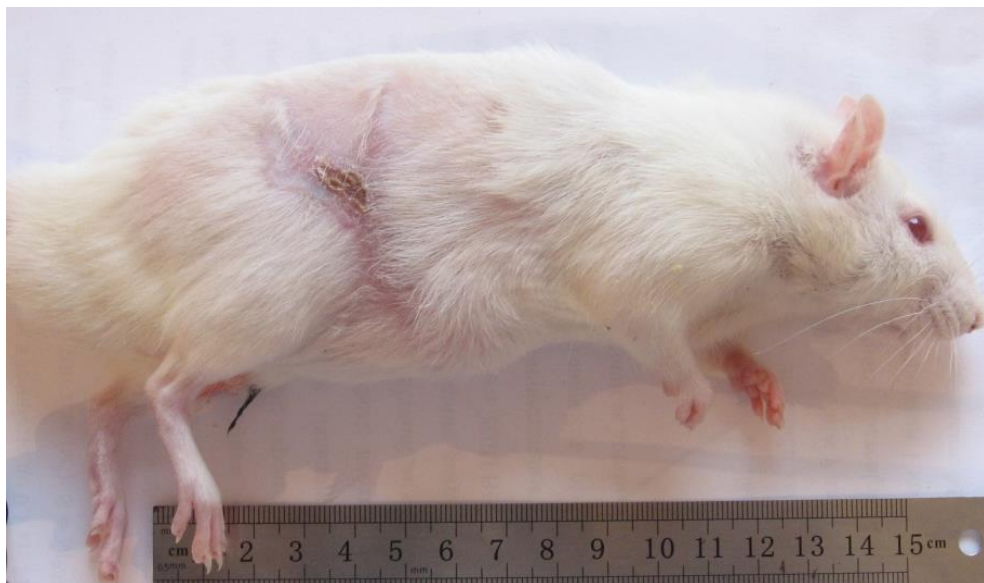


Рис. 2.2. Фото щура на 21 добу після нанесення опікової травми, яким 7 діб протягом 5 - 6 хвилин проводили внутрішньовенну інфузію у нижню порожнисту вену розчину лактопротеїну з сорбітолом.

Опіковий шок викликали шляхом прикладання 4 - ох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом 6 - ти

хв. у воді на дерев'яній підставці з постійною температурою 100 °С. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складає 21 – 23 % при експозиції 10 сек, що є достатнім для сформовування опіку II-III ступеня та викликання шокового стану середнього ступеня важкості.

Забір матеріалу для дослідження інтактних та експериментальних тварин проводили згідно з загальноприйнятими методиками та дотриманням вимог біоетики [70, 114].

Евтаназію щурів проводили шляхом передозування пропофолу через 14, 21 та 30 добу після опіку. Ці терміни вибрані відповідно до певних періодів опікової хвороби [53, 106].

## 2.2. Методи дослідження

Для гістологічного дослідження фрагменти селезінки фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, промивали у проточній воді, обезводнювали у батареї спиртових розчинів зростаючої концентрації та заключали у парапласт. Зрізи товщиною 3 - 5 мкм. Виготовляли на ротаційному мікротомі, забарвлювали гематоксилін еозином та за Ван-Гізон [163]. Мікроскопічні дослідження проводили на 14, 21 та 30 добу. Гістологічні препарати досліджували у світловому мікроскопі OLYMPUS BH - 2 з використанням об'єктивів x10 та x40, окуляра x10.

Для електронно - мікроскопічного дослідження шматочки селезінки фіксували в 2,5 % - ому розчині глютаральдегіду на 0,1 г фосфатному буфері та дофіксували в 1 % - ому розчині чотирьохокису осмію на фосфатному буфері, 1 % розчині танінової кислоти, зневоднювали в батареї спиртів зростаючої концентрації та ацетоні, проводили в сумішах ацетону та епону та заливали в суміш епону та аралдиту [10]. Морфологічні структури контрастували в процесі зневоднення матеріалу насиченим розчином уранілацетата, а на зрізах - цитратом свинцю. Зрізи товщиною 40 - 60 нм, отримані на ультрамікротомі УМТП - 7, вивчали в електронному мікроскопі

ТЕСЛА БС-500. Для проведення морфометричних досліджень на ультраструктурному рівні досліджувався клітинний склад білої пульпи селезінки кожної тварини відповідного терміну експерименту і підраховували процентний вміст типів клітин.

Ступінь накопичення токсичних продуктів в організмі оцінювали за токсичністю сироватки крові експериментальних тварин, досліджуючи концентрацію молекул середньої маси (МСМ) за скринінговим методом Н.І. Габріелян та співавт. [39]. Визначення МСМ виконували наступним чином: сироватку крові обробляли 10 % розчином трихлороцтової кислоти у співвідношенні 1,0:0,5. Осад відділяли шляхом 30 - хвилинного центрифугування при 3000 об/хв. Супернатант розводили дистильованою водою у співвідношенні 1:10. Для кількісної оцінки рівня МСМ використовували показник абсорбції при довжині хвилі 254 нм. Рівень МСМ виражався в умовних одиницях (УО), рівних одиниці екстинції при спектрофотометрії. Визначення рівня МСМ проводили шляхом колориметрування на спектрофотометрі СФ-26. Додатково визначали коефіцієнт розподілу (К), який виражався співвідношенням рівня абсорбції при 280 нм до її рівня при 254 нм. Крім того визначався лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) за методикою Я.Я. Кальф- Калифа [59, 60, 73, 133]:

$$\text{ЛІІ} = \frac{(C + 3Ю + 2П + 4ММі)(П + 1)}{(ММ + Л)(Е + 1)}, \quad (2.1)$$

де П<sub>л</sub> – плазматичні клітини, Ю – юні форми, С – сегментоядерні нейтрофіли, П – палочкоядерні нейтрофіли, Мо – моноцити, Е – еозинофіли, М<sub>і</sub> - міелоцити, Л - лімфоцити.

Вміст ДНК в ядрах клітин селезінки щурів визначали методом проточної ДНК - цитометрії, яку здійснювали на багатофункціональному проточному цитофлуориметрі PartecPAS (Німеччина) на базі НДЦ ВНМУ імені М.І. Пирогова [182, 185]. Для визначення вмісту ДНК в ядрах клітин

селезінки методом проточної цитофлуориметрії з органу вилучали під стерильною капсулою зразок тканини ( $0,5 \text{ см}^3$ ), ретельно промивали фізіологічним розчином ( $0,9 \% \text{ NaCl}$ ) з подальшим зануренням у фосфатно - сольовий буфер з рН 7, 4 (Sigma, США).

Суспензії ядер з клітин селезінки отримували за допомогою розчину для дослідження ядерної ДНК CyStainDNA фірми (Partec, Німеччина), що дозволяє одночасно екстрагувати ядра та мітити ядерну ДНК, у відповідності з протоколом - інструкцією виробника.

Фрагментацію ядер ДНК клітин селезінки досліджували за допомогою програмного забезпечення FloMax (фірма Partec, Німеччина), шляхом підрахунку відсотку ядер у інтервалі RN1. З кожного зразка клітинної суспензії аналізували мінімум 20 тис. подій. Аналіз клітинного циклу виконувався шляхом визначення: G0G1 – відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2с); S - відсоткове співвідношення клітин фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК  $> 2\text{с}$  та  $< 4\text{с}$ .); G2 + M – відсоткове співвідношення фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4с, або поліплоїдні). Визначення фрагментації ДНК (апоптоз) виконано шляхом виділення SUB - G0G1 ділянки на ДНК - гістограмах – RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК  $< 2\text{с}$ .

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за методом варіаційної статистики, визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою U - критерію Мана - Уїтні [111, 112]. Статистично значущими вважали результати при  $p < 0,05$ . Для визначення взаємозв'язків між показниками застосовували метод парної кореляції Пірсона та рангової кореляції Спірмена [162]. Визначали напрямок кореляційного зв'язку: прямий або зворотній і силу зв'язку. При аналізі вибіркового коефіцієнта кореляції (r) сила зв'язку оцінювалася таким чином: при  $r = 0$  - зв'язок відсутній; при  $r =$  від 0,1 до 0,3 - слабкий зв'язок; 0,3 - 0,7 – зв'язок середньої сили; 0,7 - 1, 0 – сильний зв'язок [1].

РОЗДІЛ 3  
МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СЕЛЕЗІНКИ У ЩУРІВ БЕЗ ОПІКУ  
ШКІРИ, ЯКИМ ВВОДИЛИ ІНФУЗІЙНІ РОЗЧИНИ

3.1. Морфологічний стан селезінки щурів без ОШ, яким вводили 0,9 % розчин NaCl.

При макроскопічному дослідженні було встановлено, що у щурів без ОШ, яким перші сім днів проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl, селезінка розташована у черевній порожнині у дорсо - вентральному напрямку, червоного кольору з синюватим відтінком. Селезінка вкрита сполучнотканинною капсулою. В усі терміни дослідження селезінка мала пружну консистенцію, при розрізі мала червоно - сіруватий колір (рис. 3.1).



Рис. 3.1. Макропрепарат селезінки щура без ОШ, якому протягом перших 7 днів експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl, на 14добу дослідження: 1 - вентральний край; 2 - дорсальний край; 3 - ворота селезінки.

Селезінка мала форму неправильного чотирикутного паралелепіпеда, вентральний край якого, як правило, був ширший дорсального. Встановлено наступні розміри селезінки даної групи: довжина селезінки дорівнювала  $40,2 \pm 0,8$  мм (від 37,5 до 45,5 мм); ширина –  $8,8 \pm 0,2$  мм (від 7,2 до 9,2 мм); товщина –  $4,3 \pm 0,6$  мм (від 3,7 до 4,5 мм). Маса селезінки складала  $1156 \pm 7,5$  мг (від 1132 мг до 1174 мг.). Відміни від групи інтактних тварин відсутні.

При мікроскопічному дослідженні було встановлено, що селезінка мала структуру подібну до такої, як у інтактних щурів, дистрофічних та деструктивних змін її структурних компонентів не виявлено. Сполучнотканинна капсула селезінки вкрита мезотелієм. У клітинному складі сполучної тканини переважали фібробласти та гладкі міоцити. В ділянці воріт селезінки від капсули у паренхіму відходили судинні трабекули, які містили трабекулярні артерії, трабекулярні вени та нерви. Латерально від судинних трабекул відгалужувались сполучні трабекули, а від внутрішньої поверхні капсули радіально вглиб відходили радіальні трабекули селезінки. Сполучні та радіальні трабекули селезінки не містили судин. Строму червоної пульпи селезінки утворювали ретикулоцити та ретикулярні волокна. Вони формували тривимірну сітку, у комірках якої містилась велика кількість макрофагів, Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів, плазмоцитів, сегментоядерних лейкоцитів, еритроцитів, мегакаріоцитів та тромбоцитів, які утворювали тяжі червоної пульпи, а також артеріоли та синусоїдні судини селезінки. Біла пульпа селезінки утворена лімфоїдними вузликами та періартеріолярними лімфоїдними піхвами. Окрім великих, середніх та малих лімфоцитів у ній розташовані плазмоцити, макрофаги та інтердигітатні клітини. Періартеріолярні лімфоїдні піхви представляли довгастої форми скупчення лімфоцитів, які у вигляді муфт охоплювали артерії білої пульпи і продовжувалися у лімфоїдні вузлики селезінки. У центральній частині періартеріолярних лімфоїдних піхв, ближче до стінки судин, розташовані В-лімфоцити і плазмоцити, на периферії – Т-лімфоцити. У лімфоїдних вузликах селезінки гермінативний центр, періартеріальна,



мантійна та крайова зони за структурою були подібні до таких у інтактних щурів(рис. 3.2).

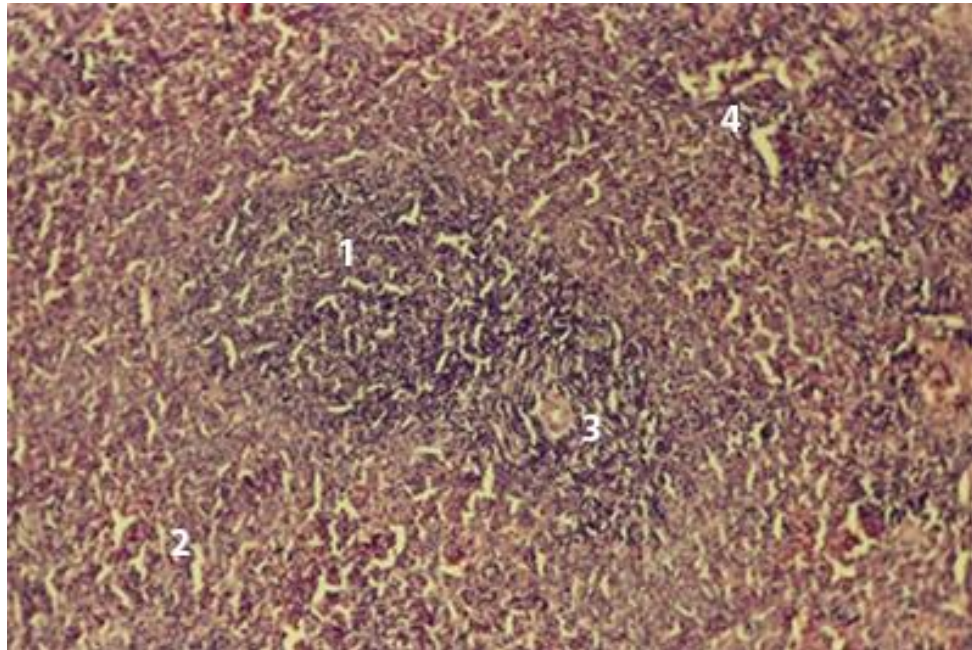


Рис. 3.2. Структура селезінки щура без ОШ, якому протягом перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl, на 14 добу дослідження: 1 - біла пульпа; 2 - червона пульпа; 3 - вузликова артерія; 4 - синусоїдні судини червоної пульпи. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x10. Об'єктив x10.

У щурів без ОШ, яким перші сім днів експерименту у вену вводили 0,9 % розчину NaCl, на 21 добу дослідження капсула та трабекули селезінки мали структуру характерну для інтактних щурів. Періартеріолярні лімфоїдні піхви утворені декількома шарами малих і середніх лімфоцитів, поодиноких великих лімфоцитів, а також плазмоцитів, макрофагів, дендритних та інтердигітатних клітини, які концентрично оточували пульпарні артерії. Діаметр періартеріолярних лімфоїдних піхв коливався від 20 до 60 мкм. Структура гермінативних центрів, періартеріальних, мантійних та маргінальних зон у лімфоїдних вузликах селезінки була подібна до такої, як у інтактних щурів. У гермінативних центрах розташовані ретикулярні та

дендритні клітини, лімфобласти, В-лімфоцити, плазмоцити, скупчення макрофагів, цитоплазма, яких містила гетерофаголізосоми. На межі між білою та червоною пульпою розташовані маргінальні синусоїдні судини. Як і у інтактних щурів, у червоній пульпі селезінки розташовані синусоїдні судини та селезінкові тяжі. В останніх виявляли чисельні еритроцити, а також лімфоцити, мегакаріоцити, тромбоцити, макрофаги, та плазматичні клітини (див. рис. 3.3).

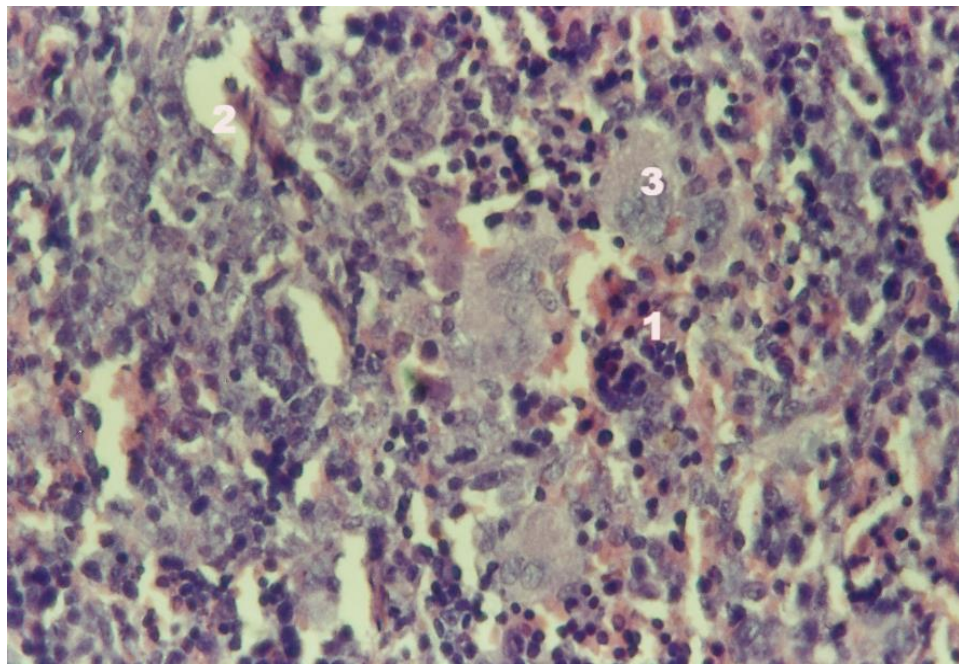


Рис. 3.3. Структура червоної пульпи селезінки щура без ОШ, якому протягом перших 7 діб експерименту у вену вводили 0,9 % розчин NaCl, на 21 добу дослідження: 1 - тяж червоної пульпи; 2 - синусоїдна судина червоної пульпи селезінки; 3 - мегакаріоцит. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 40. Об'єктив x 10.

На межі з мантийною зоною зосереджені плазмоцити на різних стадіях диференціювання. Мантийні зони у вигляді корони оточували періартеріальні зони та гермінативні центри лімфоїдних вузликів селезінки. Мантийні зони містили чисельні малі В-лімфоцитів і невелику кількість Т-лімфоцитів,



плазмоцити та макрофаги. Між клітинами мантийних зон розташовані циркулярно спрямовані, товсті ретикулярні волокна. У маргінальних зонах лімфоїдних вузликів селезінки виявляли ретикулярні клітини та волокна, моноцити, еозинофіли Т - та В -лімфоцити, макрофаги, а також подібні до фібробластів, бар'єрні клітини.

На 30 добу структура селезінки даної групи тварин не змінена. У білій пульпі добре структуровані гермінативні центри, періартеріальна та мантийна зони. Маргінальна зона не чітко відділена від червоної пульпи. Структура червоної пульпи не відрізнялась від щурів без ОШ, яким перші сім днів у вену вводили 0,9 % розчин NaCl, у попередні терміни дослідження (рис. 3.4).

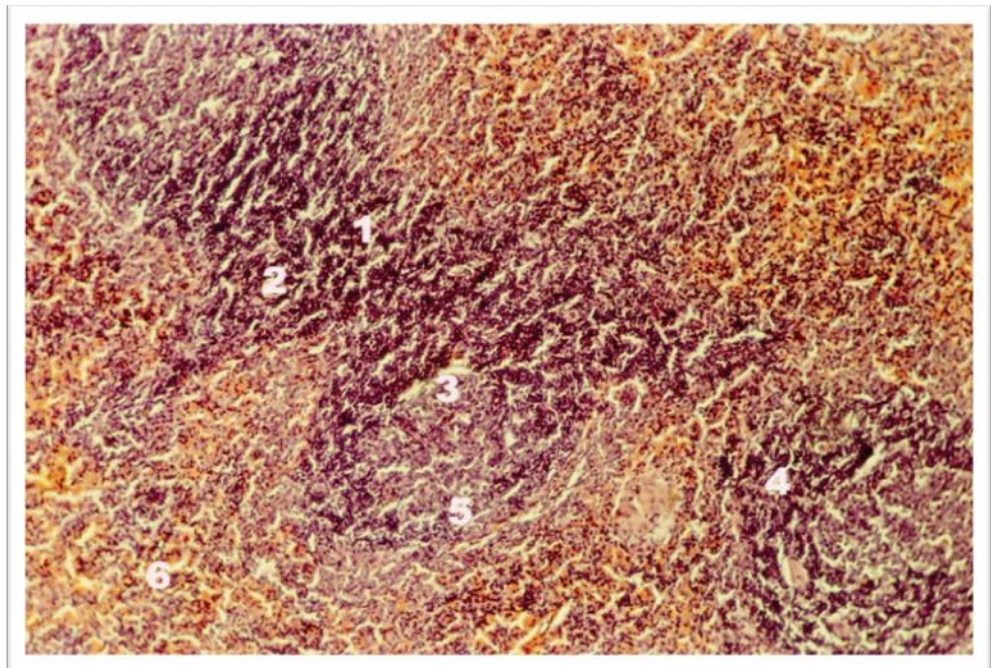


Рис. 3.4. Структура білої та червоної пульпи селезінки щура, якому протягом перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl, на 30 добу дослідження: 1 - біла пульпа; 2 - періартеріальна зона; 3 - гермінативний центр; 4 - мантийна зона; 5 - крайова зона; 6 - червона пульпа. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

Таким чином при морфологічному дослідженні у щурів без ОШ, яким протягом 7 діб проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl у дозі 10 мл на кг

макроскопічних та мікроскопічних змін у будові селезінки не виявили. Встановлено, що структура селезінки в усі терміни дослідження була подібна до такої, як у інтактних щурів.

За даними ультраструктурного та морфометричного дослідження у щурів без ОШ, яким перші сім днів експерименту у вену вводили 0,9 % розчин NaCl, у білій пульпі селезінки розташовані вузькоцитоплазматичні лімфоцити (ВЛ), широкоцитоплазматичні лімфоцити (ШЛ) та лімфобласти. ШЛ мали діаметр понад 12 мкм та представляли клітини низької та високої функціональної активності. Серед останніх у свою чергу виявляли ШЛ з переважно неспецифічною активністю, плазмоцитарним диференціюванням (трансформацією В-лімфоцитів в плазмоцити) та ШЛ з переважно фагоцитарною активністю.

В усі терміни дослідження у білій пульпі селезінки переважали ВЛ, що мали діаметр до 7 мкм. Вони представляли дві популяції клітин: одні з яких не беруть участі в імуногенезі і є кінцевими клітинами лімфоцитопоезу; інші – це імунокomпетентні клітини. Найчастіше ВЛ мали рівномірно оточені вузьким поясом цитоплазми округлі, ядра. У деяких ядрах нуклеолема утворювала інвагінації. Зазвичай поблизу внутрішньої ядерної мембрани виявляли порівняно широкий, нерівномірний поясок компактного гетерохроматину, що переходив у розташовані у центрі глибки, між якими розташований дифузний еухроматин, іноді виявляли ядерце. Проте ядра деяких ВЛ містили гранулярний рівномірно розташований гетерохроматин. Цитоплазма ВЛ містила незначну кількість рибосом і полісом, мало мітохондрій, рідко виявляли лізосомоподібні гранули, вакуолі та інші органели. ВЛ мали різну кількість цитоплазматичних виростів (рис. 3.5).

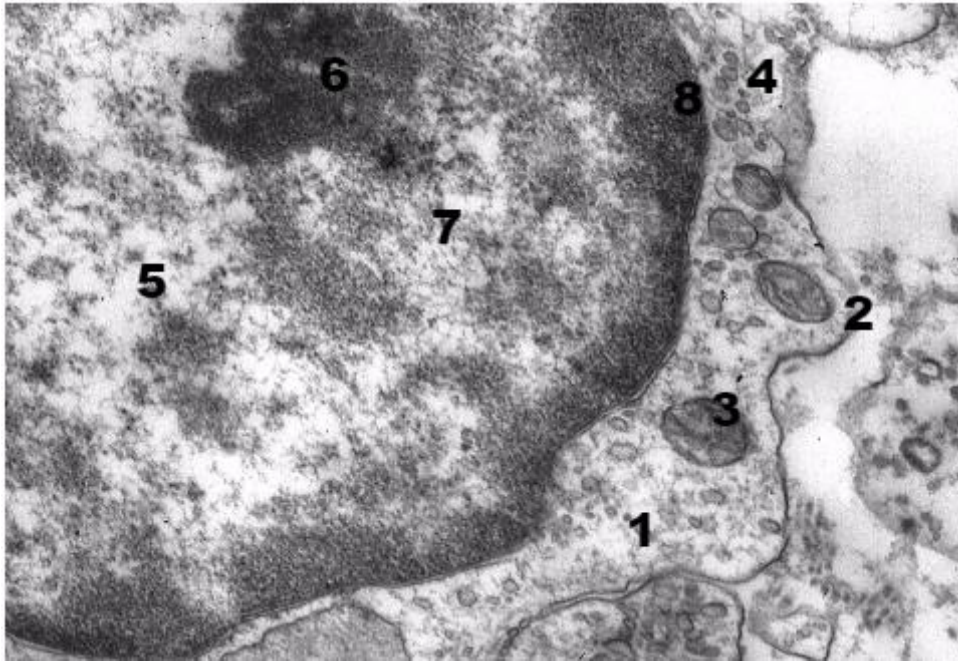


Рис. 3.5. Електронограма. Фрагмент вузькоцитоплазматичного лімфоцита білої пульпи селезінки щура, якому протягом перших 7 діб експерименту у вену вводили 0,9 % розчин NaCl: 1 - вузький обідок цитоплазми; 2 - вирости цитоплазми; 3 - мітохондрії; 4 - рибосоми; 5 - ядро; 6 - ядерце; 7 - еухроматин; 8 - компактний гетерохроматин. x 22000.

Кількість ШЛ з низькою активністю була у 5,2 рази менше. ШЛ низької активності від ВЛ відрізнялися порівняно широким, переважно нерівномірним обідком цитоплазми, яка містила чисельні вакуолі, поодинокі рибосоми та полісоми, а також мітохондрії. При цьому ядро оточене, як не дуже широкою, так і часто об'ємною цитоплазмою (рис. 3.6).

Лише приблизно за порівняльними розмірами клітини та ядра ВЛ можна віднести до малих і рідко до великих лімфоцитів, ШЛ з низькою активністю - до малих і середніх, а більшість активованих лімфоцитів і лімфобластів - до великих. ШЛ з фагоцитарною активністю виявляли у 9,5 разів менше. Вони мали округле або довгасте ядро, часто без інвагінацій нуклеолеми. У ньому, як правило, зменшена кількість компактного гетерохроматину. У цитоплазмі ШЛ з фагоцитарною активністю розташовані

чисельні вакуолі та кілька зазвичай дрібних мітохондрій, а також вільні рибосоми, окремі елементи ендоплазматичного ретикулуму, каналці та диктіосоми апарату Гольджі та характерні електроннощільні гранули.

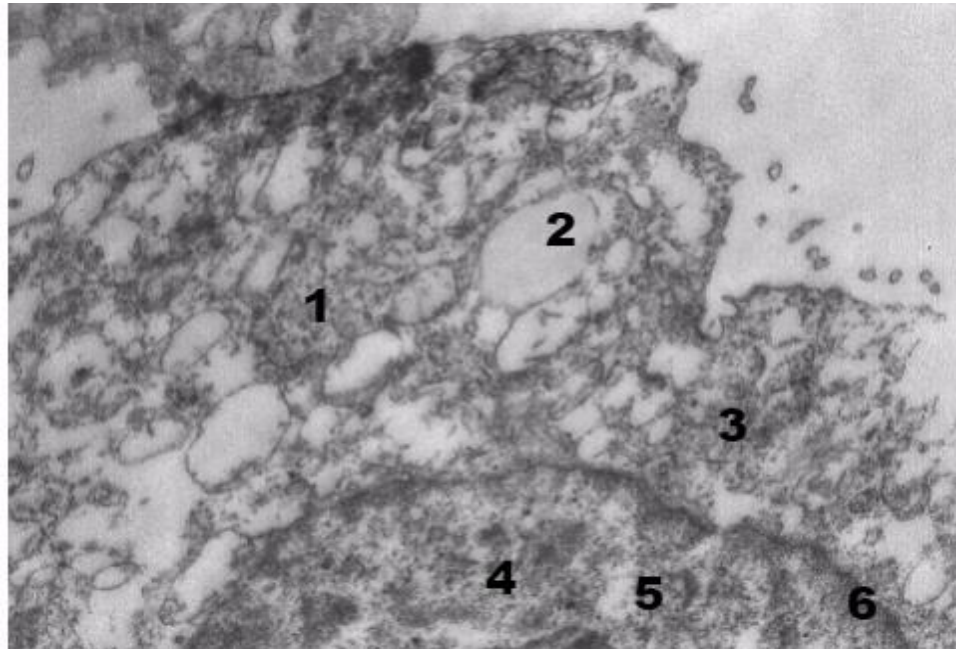


Рис. 3.6. Електронограма. Фрагмент широкоцитоплазматичного лімфоцита низької активності білої пульпи селезінки щура, якому протягом перших 7 днів експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl: 1 - цитоплазма; 2 - електроннопрозорі вакуолі; 3 - рибосоми; 4 - ядро; 5 - еухроматин; 6 - гетерохроматин. x 22000.

ШЛ високої активності порівняно з ВЛ виявляли в 8,5 раз менше, вони характеризувались великою цитоплазмою, яка містила значну кількість мітохондрій, елементів агранулярного і часто розширених цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, а також чисельні вакуолі та гранули.

ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням виявляли у 12,5 разів менше порівняно з ВЛ. Для них характерна наявність в цитоплазмі пластинчатого комплексу, добре розвиненого гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, збільшеної кількості мітохондрій, гранул, вільних і зв'язаних з мембранами

рибосом та вакуоль.

Лімфобласти виявляли у 15,4 разів менше порівняно з ВЛ. Для структури лімфобластів характерно велике ядро, заповнене головним чином дифузним, пухким еухроматином, в якому добре структуровані ядерця і незначна кількість компактного гетерохроматину розташованого під нуклеоплазмою. Цитоплазма лімфобластів, як правило, електроннопрозорова та містить помірну кількість органел.

Таким чином електронномікроскопічне дослідження та морфометричний аналіз дозволили виявити ультраструктурні особливості лімфоцитів білої пульпи селезінки щурів без ОШ, яким перші 7 днів експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl на 14, 21 та 30 добу дослідження.

3.2. Морфологічний стан селезінки інтактних тварин, яким вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом

При мікроскопічному дослідженні встановлено, що у щурів без ОШ, яким протягом перших 7 днів експерименту у вену вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом селезінка мала притаманну цьому органу структуру. Однак, через 14 днів у щурів даної групи відмічено, що судини кровоносного мікроциркуляторного русла у трабекулах селезінки, а також у білій та червоній пульпі повнокровні, у порівнянні з щурами без ОШ яким протягом перших 7 днів експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl. Також виявляли крайове стояння та підвищену адгезію лейкоцитів до ендотеліоцитів у венулах. В усіх зонах білої пульпи виявляли макрофаги у цитоплазмі, яких розташовані чисельні гетерофаголізосоми, що є морфологічною ознакою їх активації. Для лімфобластів, розташованих в гермінативних центрах, характерні великі ядра з високим вмістом еухроматину їх чисельність була більшою у порівнянні з щурами без ОШ, яким протягом перших 7 днів експерименту у вену вводили 0,9 % розчин NaCl. Лімфоїдні вузлики селезінки були збільшені у розмірах в порівнянні з



щурами без ОШ, яким протягом перших 7 діб експерименту у вену вводили 0,9 % розчин NaCl. У червоній пульпі селезінки щурів, яким перших сім діб експерименту у вену вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом розташовані формені елементи крові: еритроцити, тромбоцити, лімфоцити, плазматичні клітини. Однак у щурів, яким перші сім діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом чисельність плазмоцитів була більшою порівняно з такою у щурів без ОШ, яким вводили 0,9 % розчин NaCl в той же термін спостереження. Більшість лімфоцитів у червоній пульпі мали середні розміри, тоді, як макрофаги мали великі розміри. У цитоплазмі макрофагів розташовані фрагменти еритроцитів та тромбоцитів (рис. 3.7).

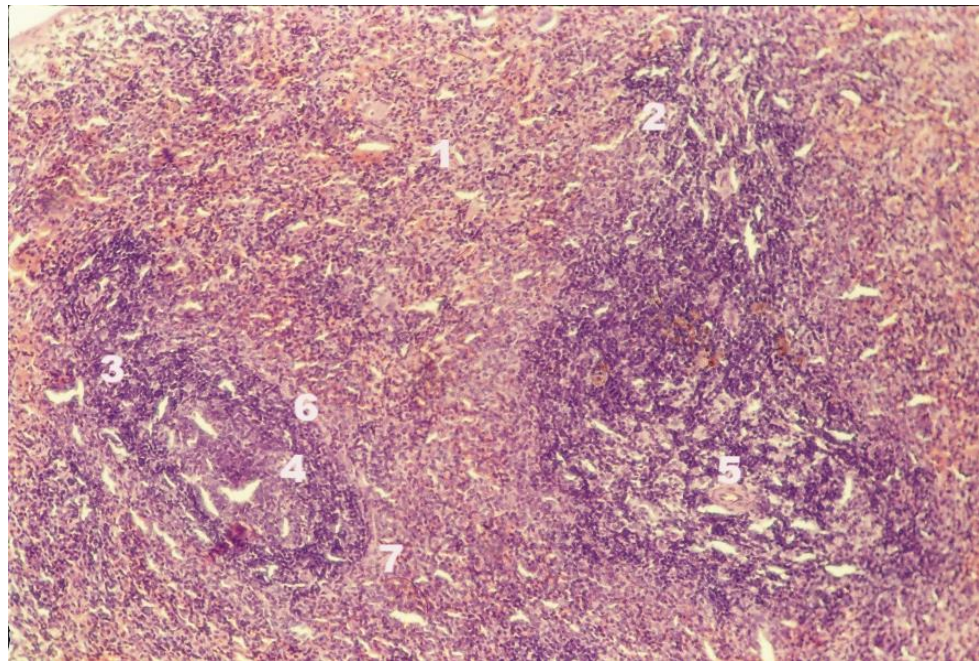


Рис 3.7. Структура білої та червоної пульпи селезінки щура без ОШ, якому перших 7 діб вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 14 добу експерименту: 1 - червона пульпа селезінки; 2 -періартеріолярна піхва; 3 - лімфоїдний вузлик селезінки; 4 - гермінативний центр; 5 - вузликова артерія; 6 - мантійна зона; 7 - маргінальна зона. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.



Через 21 добу від початку експерименту виявляли розширені та повнокровні просвіти судин кровоносного мікроциркуляторного русла у судинних трабекулах селезінки, а також у білій та червоній пульпі. Також виявлено крайове стояння та підвищену адгезію лейкоцитів до ендотеліоцитів у синусоїдних судинах червоної пульпи та венулах у лімфоїдних вузликах селезінки. У мантийній та маргінальній зонах білої пульпи селезінки чисельність плазмоцитів була більшою у порівнянні з такою у щурів без ОШ, яким протягом перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl, в той же термін спостереження. Вказані зміни є проявом підвищеної функціональної активності імунокомпетентних клітин (рис. 3.8).

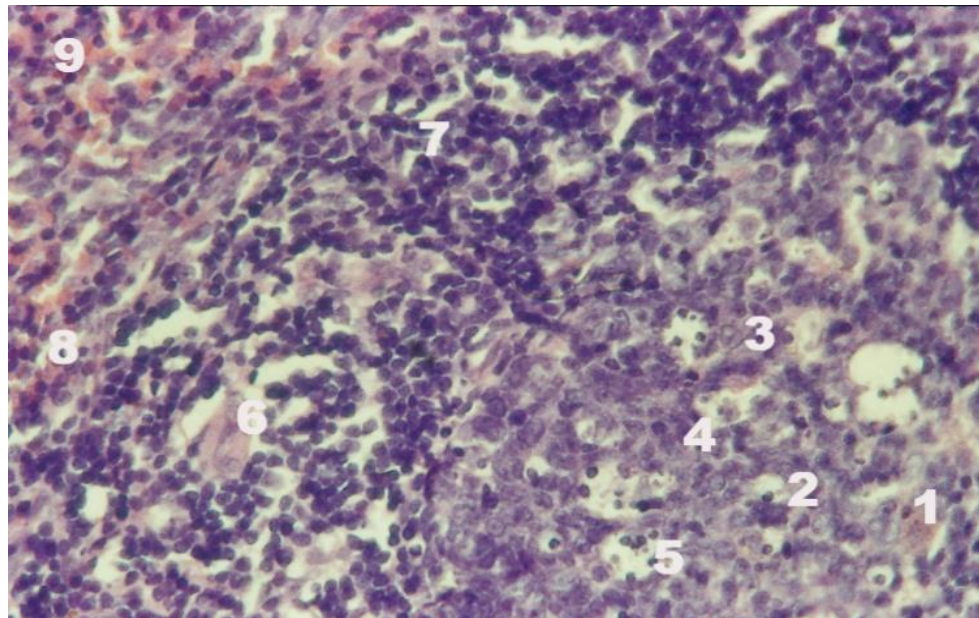


Рис 3.8. Структура селезінки щура без ОШ, якому перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 21добу експерименту: 1 – ретикулоцит; 2 - макрофаг; 3 - гермінативний центр; 4 – лімфоласти; 5 - лімфоцити в просвітах венул; 6 - вузликова артерія; 7 - мантийна зона; 8 - маргінальна зона білої пульпи селезінки; 9 - червона пульпа селезінки. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 40. Об'єктив x 10.

У гермінативних центрах виявляли більшу чисельність лімфобластів у порівнянні з такими у щурів без ОШ, яким проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl в той же термін спотереження. В усіх зонах білої пульпи виявлені макрофаги у цитоплазмі, яких розташовані чисельні великі гетерофаголізосоми.

На 30 добу від початку експерименту у щурів без ОШ, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію розчином лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл на кг маси тіла також відмітили стимулюючий вплив на макрофаги, ретикулярні клітини і лімфоцити у гермінативних центрах лімфоїдних вузликів (рис. 3.9).

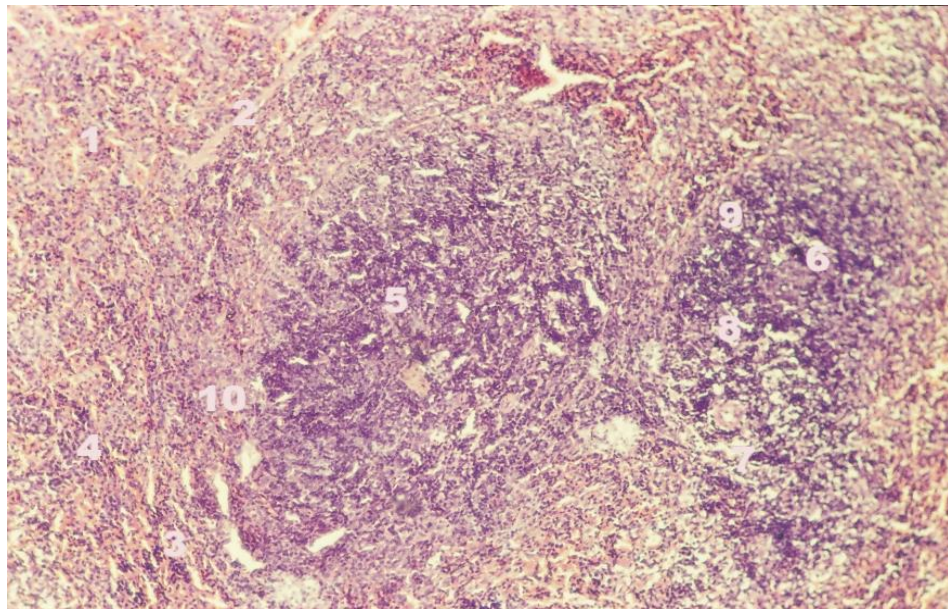


Рис 3.9. Структура білої та червоної пульпи селезінки щура без ОШ, якому перших 7 діб вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 30 добу експерименту: 1 - червона пульпа; 2 - трабекули селезінки; 3 - повнокровні синусоїдні судини селезінки; 4 - селезінкові тяжі; 5 - лімфоїдні вузлики білої пульпи; 6 - гермінативний центр; 7 - вузликова артеріола; 8 - періартеріолярна зона; 9 - мантійна зона; 10 - маргінальна зона. Зabarвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

Відмічено гіперплазію ретикулярних клітин у білій пульпі селезінки. У маргінальній зоні лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки розташовані не гіпертрофовані макрофаги, Т – та В-лімфоцити, плазмоцити. Гермінативні центри у лімфоїдних вузликах селезінки розширені в порівнянні з такими у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту проводили інфузію розчину 0,9 % NaCl в той же термін спостереження. У гермінативних центрах виявляли гіпертрофовані макрофаги. Періартеріолярні зони у лімфоїдних вузликах білої пульпи селезінки розширені, у них розташовані лімфоцити та макрофаги, цитоплазма останніх містила чисельні гетерофаголізосоми.

На 30 добу періартеріолярні лімфоїдні піхви були розширені в усіх зонах, містили чисельні лімфоцити. Також, як і в попередні термін дослідження, у періартеріолярних лімфоїдних піхвах виявляли гіпертрофію та гіперплазію макрофагів, їх цитоплазма містила чисельні гетерофаголізосоми.

Таким чином у щурів без ОШ, яким перших 7 діб проводили інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом, виявляли повнокровні просвіти кровоносних судин у білій та червоній пульпі селезінки щурів. Значно збільшена чисельність макрофагів у червоній та білій пульпі селезінки. Макрофаги гіпертрофовані, а їх цитоплазма містила гетерофаголізосоми. Гіперплазія та гіпертрофія макрофагів у білій та червоній пульпі селезінки є ознаками активації їх фагоцитарної функції у відповідь на дію лактопротеїну. Зважаючи на той факт, що макрофаги проявляють важливу роль у диференціюванні Т-лімфоцитів та В-лімфоцитів у селезінці, а також у процесах фізіологічного руйнування еритроцитів та тромбоцитів слід очікувати позитивний вплив лактопротеїну з сорбітолом для збалансування реакцій гуморального і клітинного імунітету у селезінці щурів з опіками шкіри, та корекції проявів наслідків опікової травми.



3.3. Морфологічний стан селезінки інтактних тварин, яким вводили розчин НАЕС-LX-5 %.

При мікроскопічному дослідженні у щурів без опіку шкіри, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію розчину НАЕС-LX-5 % на 14 добу експерименту селезінка мала притаманну цьому органу структуру і по будові не відрізнялась від щурів, яким протягом 7 діб проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl в той же термін дослідження. У мантийній зоні лімфоїдних вузликів селезінки виявляли переважно малі темні лімфоцити. У маргінальній зоні лімфоїдних вузликів селезінки виявляли лімфоцити, макрофаги, плазмоцити (рис. 3.10).

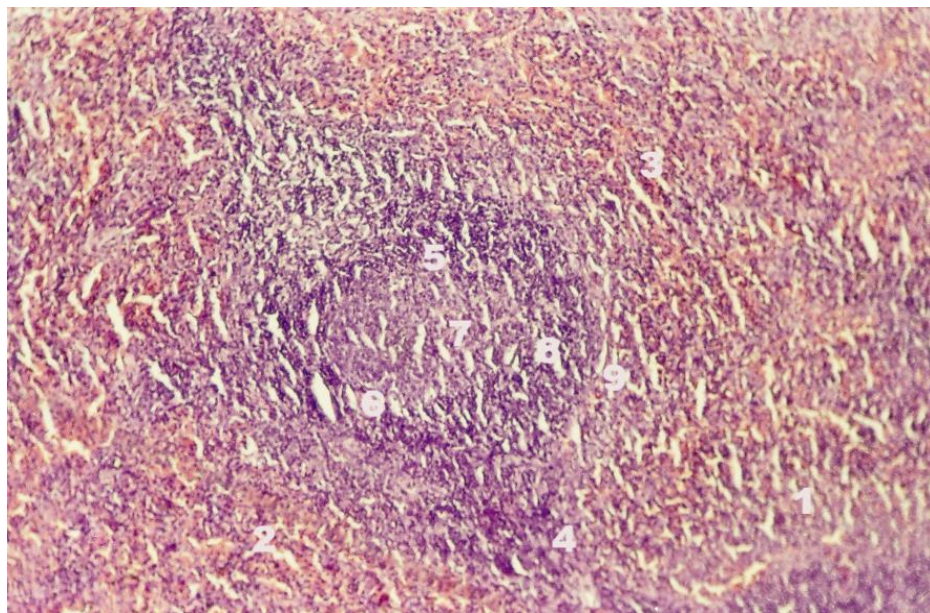


Рис. 3.10. Структура селезінки щура без ОШ, якому перших 7 діб експерименту вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 14 добу дослідження: 1 – червона пульпа; 2 – синусоїдна судини селезінки; 3 - селезінкові тяжі; 4 – періартеріолярна лімфоїдна піхва; 5 - лімфоїдний вузлик; 6 - періартеріальна зона; 7 - гермінативний центр; 8 - мантийна зона; 9 - маргінальна зона. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об’єктив x 10.

Макрофаги у гермінативних центрах лімфоїдних вузликів селезінки були подібні до таких у щурів, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl в той же термін дослідження. Однак на межі мантийної і маргінальної зони подекуди виявляли гіпертрофовані макрофаги. У маргінальній зоні лімфоїдних вузликів селезінки розташовані лімфоцити, плазмоцити, гранулоцити, моноцити та макрофаги (рис. 3.11).

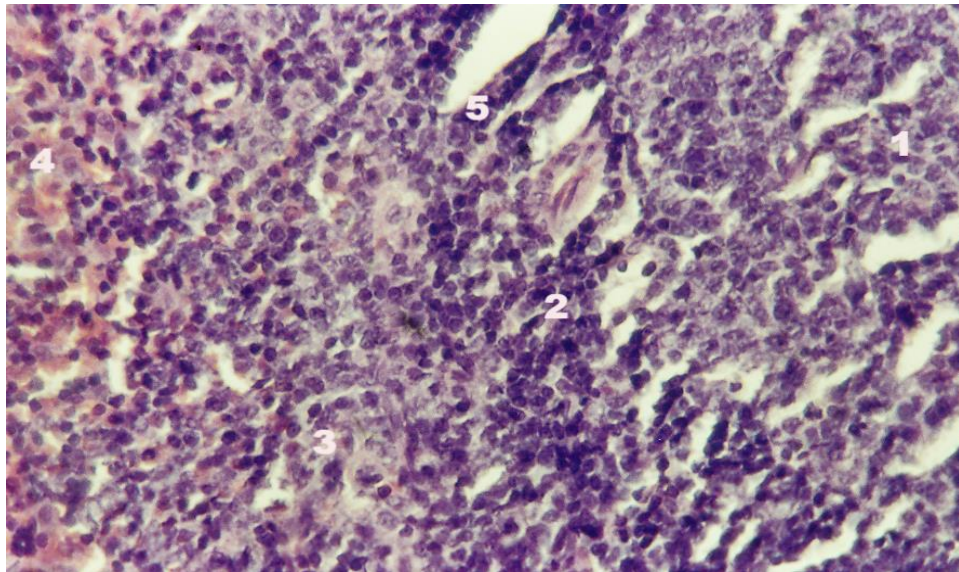


Рис.3.11.Структура білої та червоної пульпи селезінки щура без ОШ, якому перших 7 діб експерименту вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 14 добу дослідження: 1 - гермінативний центр; 2 - мантийна зона лімфоїдного вузлика; 3 - маргінальна зона лімфоїдного вузлика; 4 - червона пульпа; 5 - розширені просвіти кровоносних судин. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 40. Об'єктив x 10.

Синусоїдні судини червоної пульпи, помірно повнокровні. У гермінативних центрах лімфоїдних фолікулів селезінки виявляли малі та великі, світлі і темні лімфоцити, лімфобласти, а також макрофаги. У періартеріолярних зонах лімфоїдних вузликів селезінки виявляли чисельні Т-лімфоцити навколо яких розташовані макрофаги. Структура макрофагів у червоній пульпі подібна до такої у щурів без ОШ, яким протягом перших 7



дів експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl, в той же термін кількість лімфобластів була менша ніж така у щурів без ОШ, яким перших 7 дів дослідження проводили інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом.

При мікроскопічному дослідженні у щурів без опіків шкіри, яким протягом перших 7 дів експерименту проводили інфузію розчину НАЕС-ЛХ-5 % на 21 добу селезінка по будові не відрізнялась від такої у щурів, яким протягом перших 7 дів проводили інфузію розчину НАЕС-ЛХ-5 % на 14 добу експерименту, а також від такої у щурів, яким протягом перших 7 дів проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl у той же термін дослідження.

Лімфоїдні вузлики селезінки мали добре структуровані гермінативні центри, періартеріальні, мантийні та маргінальні зони (рис. 3.12; 3.13).

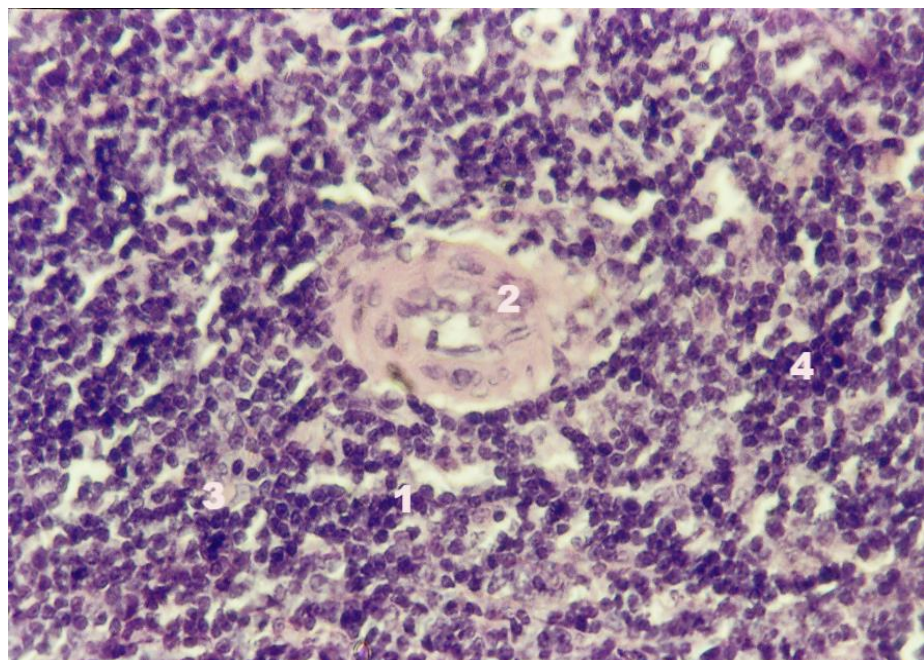


Рис.3.12. Структура селезінки щура без ОШ, якому перших 7 дів експерименту вводили розчин НАЕС-ЛХ-5 %, на 21 добу дослідження: 1 - періартеріальна зона лімфоїдного вузлика; 2 - вузликова артеріола; 3 - макрофаги; 4 - лімфоцити. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр х 40. Об'єктив х 10.

Синусоїдні судини червоної пульпи помірно повнокровні. Селезінкові

тяжі червоної пульпи містили еритроцити, тромбоцити, лімфоцити, плазмоцити, макрофаги та поодинокі мегакаріоцити. Ретикулярна строма по структурі не відрізнялась від такої у щурів без ОШ, яким перші 7 діб експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl в той же термін дослідження.

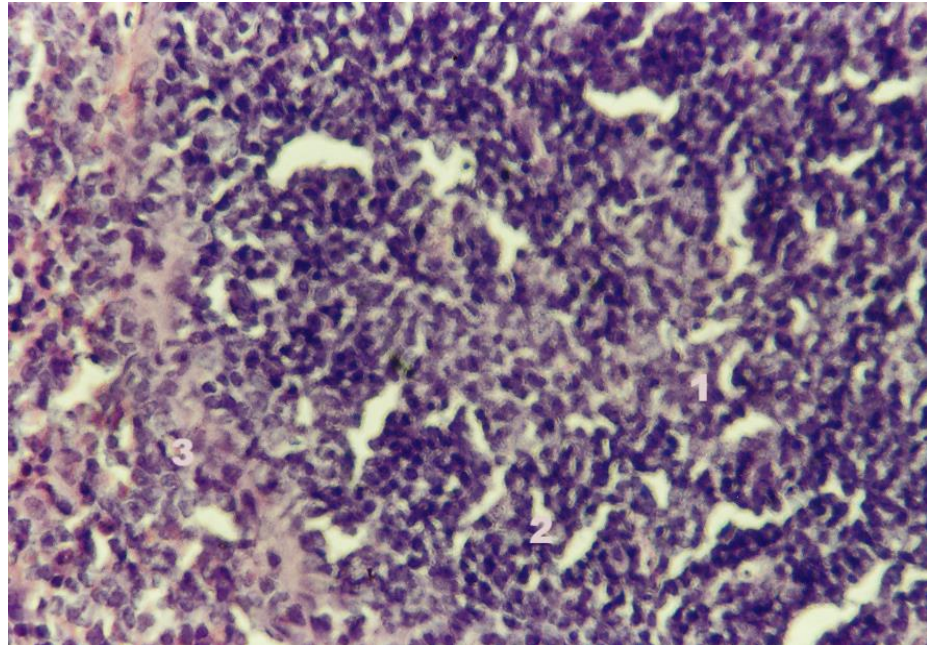


Рис. 3.13. Структура селезінки щура без ОШ, якому перших 7 діб вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 21 добу: 1 - гермінативний центр лімфоїдного вузлик; 2- мантійна зона; 3 - маргінальна зона. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 40. Об'єтив x 10.

При мікроскопічному дослідженні у щурів без опіків шкіри, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію розчину НАЕС-LX-5 % на 30 добу експерименту селезінка мала притаманну цьому органу структуру, і за будовою не відрізнялась від такої у щурів, яким протягом 7 діб проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl в той же термін дослідження. У гермінативних центрах лімфоїдних вузликів макрофаги по будові подібні до таких у щурів без ОШ, яким перші 7 діб експерименту проводили інфузію



0,9 % розчину NaCl в той же термін дослідження. Мантійна зона по будові подібна до такої у щурів без ОШ, яким перші 7 діб експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl в той же термін дослідження.

Розташовані на межі білої та червоної пульпи кровоносні капіляри та венули помірно повнокровні. Селезінкові тяжі червоної пульпи містили поодинокі мегакаріоцити, які свідчать про помірний екстрамедулярний тромбоцитопоез (рис. 3.14; 3.15).

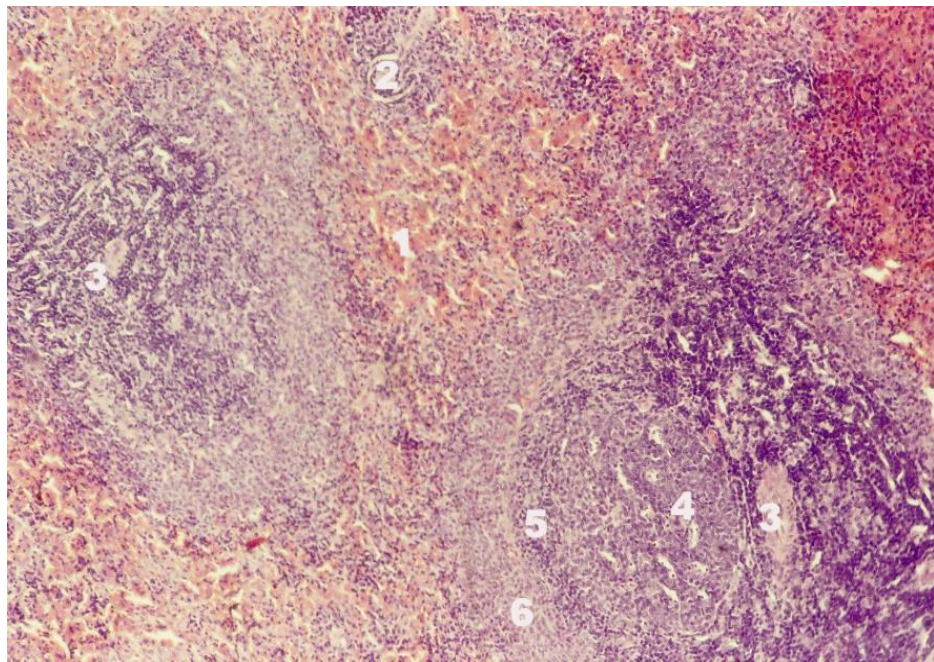


Рис. 3.14. Структура селезінки щура без ОШ, якому перших 7 діб експерименту вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 30 добу: 1 - помірно повнокровні просвіти синусоїдних судин червоної пульпи; 2 - періартеріолярна лімфоїдна піхва; 3 - періартеріолярна зона лімфоїдного вузлика; 4 - гермінативний центр; 5 - мантійна зона; 6 - маргінальна зона. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

Активації макрофагів або зростання їх присутності характерне для щурів, яким вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, не виявили. У маргінальних зонах лімфоїдних вузликів селезінки виявляли малі темні



лімфоцити, макрофаги, плазмоцити, зернисті лейкоцити, бар'єрні клітини.

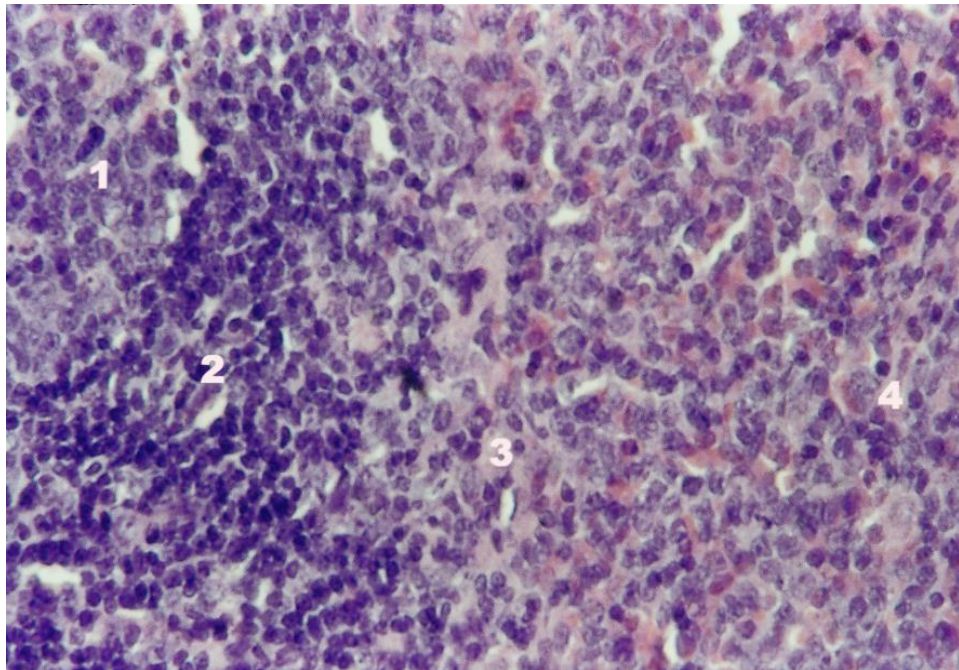


Рис. 3.15. Структура селезінки щура без ОШ, якому перших 7 діб вводили розчину НАЕС-LX-5 %, на 30 добу: 1 - гермінативний центр лімфоїдного вузлика; 2 - мантийна зона; 3 - маргінальна зона; 4 - червона пульпа. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 40. Об'єтив x 10.

Таким чином, в усіх термінах спостереження курсова інфузія щурам без ОШ 0,9 % розчину NaCl та розчину НАЕС-LX-5 % у дозі 10 мл на кг маси тіла не призводила до будь - яких структурних змін селезінки. Загалом реакція пульпи селезінки інтактних щурів на введення в організм кровозамінника НАЕС-LX-5 % на 30-ту добу характеризується незначним повнокрів'ям судин кровоносного мікроциркуляторного русла червоної та білої пульпи селезінки. Ми не виявили активації Т- та В- залежних ділянок у лімфоїдних фолікулах та періартеріолярних піхвах білої пульпи, а також посилення фагоцитарної активності макрофагів, яке було виявлено у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту проводили інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом.

Результати цього розділу опубліковано у наступних працях:

1. Булько І.В. Структурні реакції пульпи селезінки на дію нового кровозамінника НАЕС-LX-5 % / І.В. Булько// Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2016. - Т. 15, № 1. (55) - С. 63 - 66.

2. Булько І.В. Реакції пульпи селезінки на дію лактопротеїну з сорбітолом в умовах експерименту. / І.В. Булько // Матеріали науково - практичної конференції з міжнародною участю Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії, присвяченої 75 - річчю від дня народження професора В.І. Проняєва. – Чернівці, 2016. – С.67 - 69.

## РОЗДІЛ 4

## МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ 0,9 % РОЗЧИНУ NaCl

4.1. Макро- та мікроскопічні особливості структури селезінки у віддалений період після опіку шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину NaCl.

Через 14 діб після опікової травми шкіри у щурів, яким проводили інфузію 0,9 % розчином NaCl загальний план будови селезінки був подібний до тварин контрольної групи, однак встановлені зміни у макроскопічній будові. При макроскопічному дослідженні встановлено, що у щурів, яким перших сім діб після ОШ вводили розчини 0,9 % NaCl, у дозі 10 мг на кг маси тіла селезінка збільшена у розмірах. Кровоносні судини у воротах селезінки повнокровні. Лімфатичні судини розширені, заповнені лімфою. У всі терміни дослідження у щурів після опікової травми шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину NaCl селезінка була червоно-пурпурно-коричневого кольору, м'яка, еластичної консистенції (рис. 4.1).

У віддалені терміни даної групи дослідження селезінка мала більші макроскопічні параметри відносно інтактних тварин, так, довжина селезінки на 14 добу після опіку дорівнювала  $45,1 \pm 1,2$  мм (на 12,9 % більше контролю,  $p < 0,05$ ); ширина -  $9,7 \pm 0,2$  мм (на 10,23 % більше,  $p < 0,05$ ); товщина -  $4,4 \pm 0,3$  мм (на 2,27 % більше,  $p > 0,05$ ). Маса селезінки складала  $1188,0 \pm 6,8$  мг (на 2,77 % більше,  $p > 0,05$ ).

На 21 добу після опіку довжина селезінки складала  $46,2 \pm 1,3$  мм (на 14,93 % більше контролю,  $p < 0,05$ ); ширина -  $10,2 \pm 0,3$  мм (на 10,23 % більше,

$p < 0,05$ ); товщина -  $4,5 \pm 0,3$  мм (на 4,65 % більше,  $p > 0,05$ ). Маса селезінки складала  $1207 \pm 8,8$  мг (на 4,41 % більше,  $p > 0,05$ ).



Рис. 4.1. Макропрепарат селезінки щура після ОШ, якому вводили 0,9 % розчин NaCl на 14 добу: 1 - вентральний край; 2 - дорсальний край.

На 30 добу після опіку довжина селезінки дорівнювала  $48,2 \pm 1,3$  мм (на 19,90 % більше контролю,  $p < 0,05$ ); ширина -  $10,5 \pm 0,3$  мм (на 19,31 % більше,  $p < 0,05$ ); товщина -  $4,5 \pm 0,3$  мм (на 4,65 % більше,  $p > 0,05$ ). Маса селезінки складала  $1252,0 \pm 6,7$  мг (на 8,3 % більше,  $p > 0,05$ ).

При мікроскопічному дослідженні встановлено, що у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl, на 14 добу просвіти синусоїдних судин селезінки у червоній пульпі розширені та повнокровні. Селезінкові тяжі звужені (рис. 4.2).

У клітинному складі селезінкових тяжів виявляли чисельні еритроцити, а також мегакаріюцити, тромбоцити, макрофаги, лімфоцити, плазматичні клітини, нейтрофільні та еозинофільні лейкоцити, що вказувало на прояви алергічних процесів у відповідь на дію опікового детриту, котрий потрапляє

до селезінки. У щурів, яким після ОШ перших 7 днів експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl, на 14 добу у червоній пульпі селезінки виявляли вогнища з ознаками посиленого екстрamedулярного гемопоєзу. На що вказувала збільшена кількість мегакаріоцитів, які містили поліплоїдні ядра, як прояв активації тромбоцитопоєзу, а також вогнища еритропоєзу навколо макрофагів.

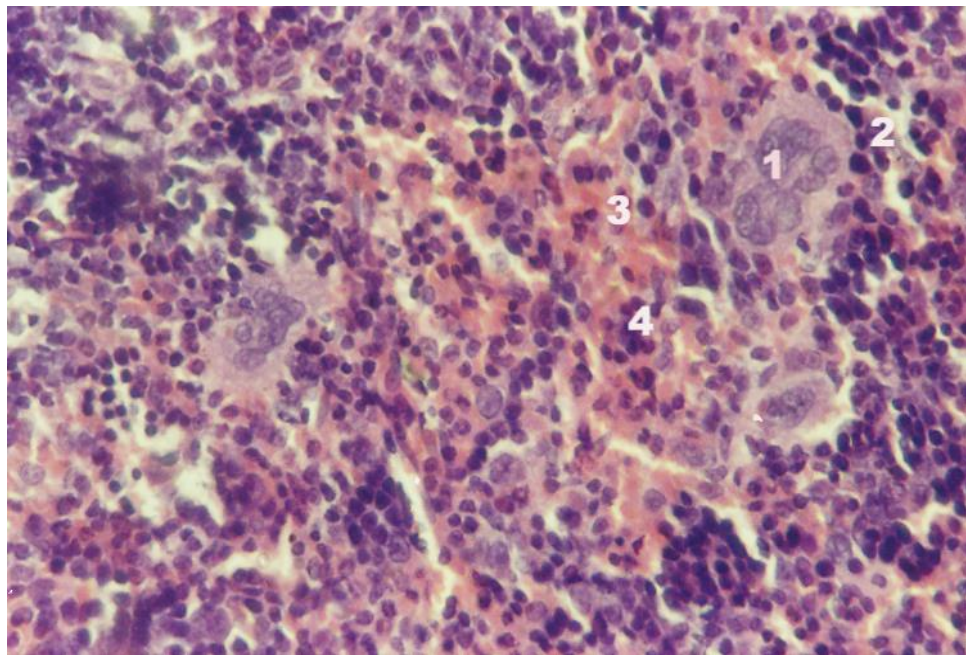


Рис. 4.2. Структура селезінки щура,якому перших 7 днів після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl на 14 добу: 1 - поліплоїдний мегакаріоцит; 2 - звужені селезінкові тяжі; 3 - розширені та повнокровні просвіти синусоїдних судин селезінки; 4 - вогнища еритропоєзу. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 40. Об'єктив x 10.

На 14 добу кількість лімфоїдних вузликів селезінки не відрізнялась від щурів без ОШ, яким також проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl. Однак лімфоїдні вузлики селезінки мали не чіткі межі, гермінативні центри в них збільшені у розмірах порівнянно з щурами без ОШ, яким також перші 7 днів експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl. У деяких лімфоїдних



вузликах селезінки збільшена кількість малодиференційованих клітин. У більшій частині лімфоїдних вузликів селезінки переважали лімфоцити з гіпо- та гіперхромними ядрами, тоді як у щурів без ОШ переважали лімфоцити з нормохромними ядрами (рис. 4.3).

Гермінативні центри виявляли у всіх лімфоїдних вузликах селезінки. У лімфоїдних фолікулах та періартеріолярних лімфоїдних піхвах білої пульпи виявили типові атрофічні зміни. Так у періартеріолярних зонах, зменшена чисельність лімфоцитів та макрофагів навколо вузликової артеріоли у Т - залежній зоні у порівнянні з щурами без ОШ, яким перших 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl. У лімфоїдних фолікулах гермінативні центри зменшені у розмірах, у них менше лімфобластів.

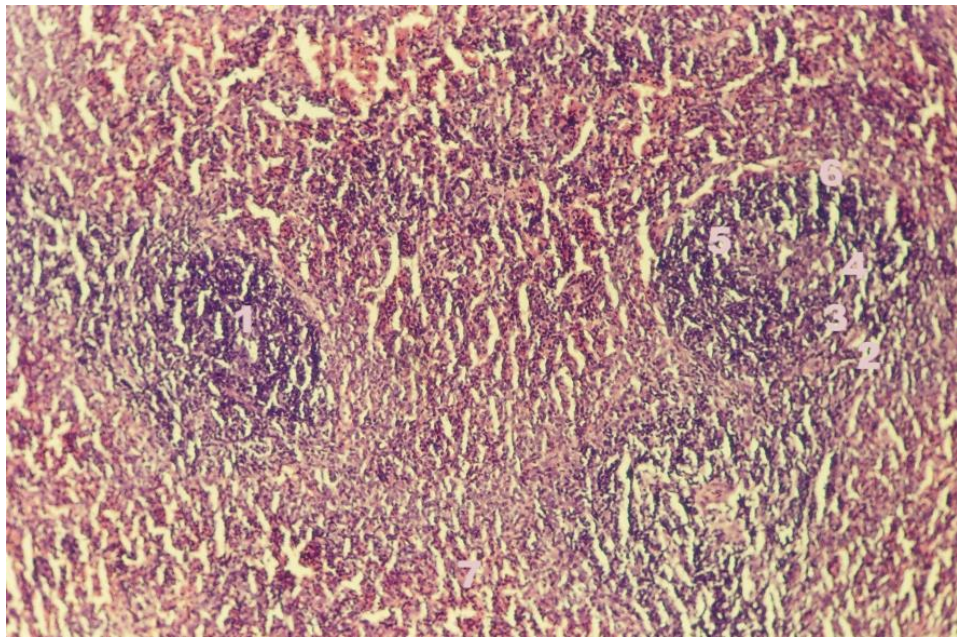


Рис. 4.3. Структура селезінки щура,якому перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl на 14 добу: 1 - біла пульпа; 2 - вузликова артеріола; 3 - Т - залежна зона; 4 - гермінативний центр; 5 - мантійна зона; 6 - маргінальна зона; 7 - червона пульпа селезінки. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

У маргінальній зоні також менше лімфоцитів та плазмоцитів, однак,

виявляли гіпертрофовані макрофаги. Маргінальна зона у лімфоїдних фолікулах білої пульпи селезінки звужена у порівнянні з щурами без ОШ (рис. 4.4). Таким чином, у селезінці щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl, на 14 добу переважали атрофічні зміни білої та червоної пульпи. Той факт, що у періартеріолярній зоні білої пульпи селезінки зменшена кількість Т-лімфоцитів, у гермінативних зонах зменшена кількість лімфобластів, у мантийній та краєвій зонах також зменшена кількість лімфоцитів, маніфестує напруження клітинної та гуморальної імунної відповіді.

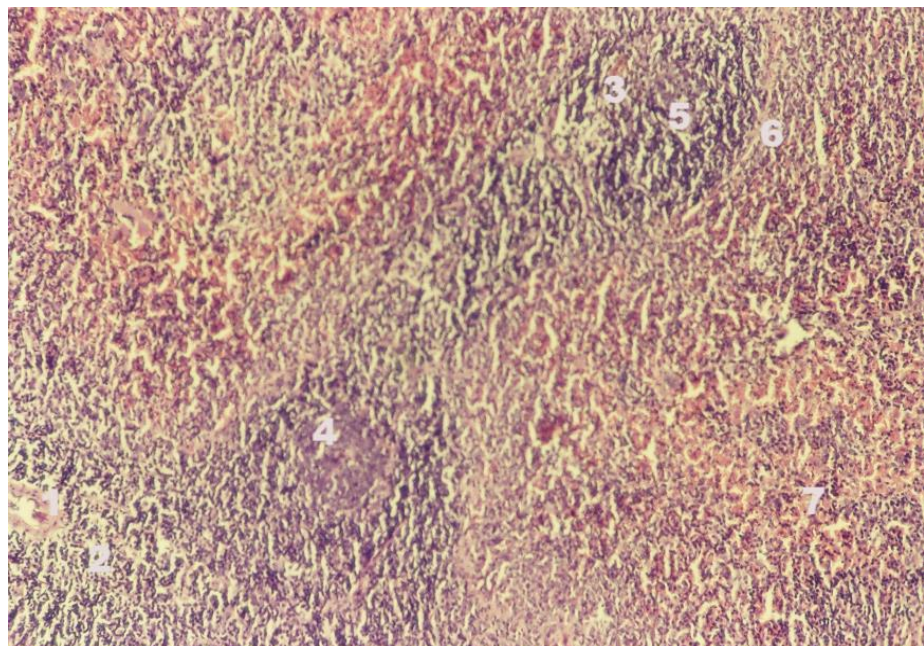


Рис. 4.4. Структура селезінки щура,якому перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl на 14 добу: 1 - артерія білої пульпи; 2 - періартеріолярна лімфоїдна піхва; 3 - лімфоїдний вузлик; 4 - гермінативний центр; 5 - мантийна зона; 6 - маргінальна зона; 7 - повнокровні просвіти синусоїдних судин червоної пульпи селезінки. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

У червоній пульпі виявили розширені та повнокровні просвіти синусоїдних судин, селезінкові тяжі були звужені та містили меншу



чисельність клітин, серед яких була збільшена кількість еозинофільних лейкоцитів, а також вогнища посиленого еритропоезу та тромбоцитопоезу.

При мікроскопічному дослідженні селезінки у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl, на 21 добу виявляли збільшені за розмірами лімфоїдні вузлики білої пульпи. Однак вони мали різну структуру. Виявляли лімфоїдні вузлики в яких гермінативні центри зменшені у розмірах, темні, містили незначну кількість лімфобластів. Мантійні зони містили лімфоцити, плазмоцити, та макрофаги, однак, більшість з них мали ознаки дистрофічних змін у вигляді гіперхромних ядер та вакуолярної дистрофії цитоплазми. Маргінальні зони були розширені, однак, містили незначну кількість клітин, що вказувало на їх посилену міграцію з білої у червону пульпу (рис. 4.5).

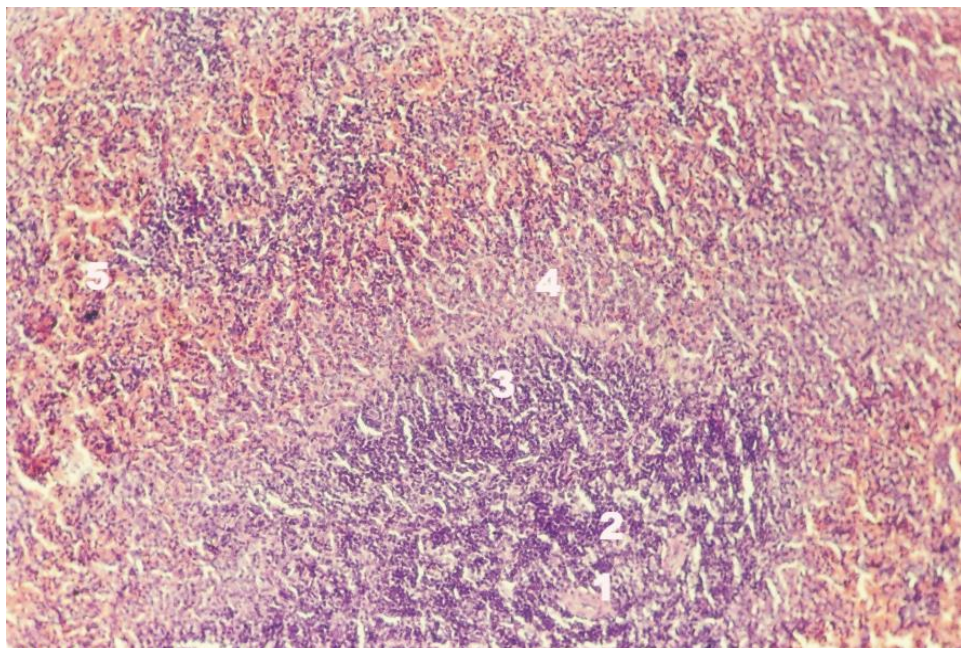


Рис. 4.5. Структура селезінки щура, якому перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl, на 21 добу: 1 - вузликова артеріола; 2 - періартеріальна зона; 3 - мантійна зона; 4 - маргінальна зона; 5 - повнокровні просвіти синусоїдних судин червоної пульпи селезінки. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.



Періартеріальні зони у таких лімфоїдних вузликах були розширеними у них збільшена кількість Т-лімфоцитів, у порівнянні з щурами, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl, на 14 добу дослідження.

Чітко визначалися збільшені за розмірами лімфоїдні фолікули, які містили розширені світлі гермінативні центри. В останніх виявили гіперплазію та гіпертрофію макрофагів з ознаками фагоцитарної активності, значну кількість лімфобластів з різним ступенем диференціювання, лімфоцитів, фігури мітозу. Мантійні зони, у таких лімфоїдних вузликах, розширені містили чисельні гіпертрофовані макрофаги, лімфоцити, плазмоцити (рис. 4.6; 4.7; 4.8).

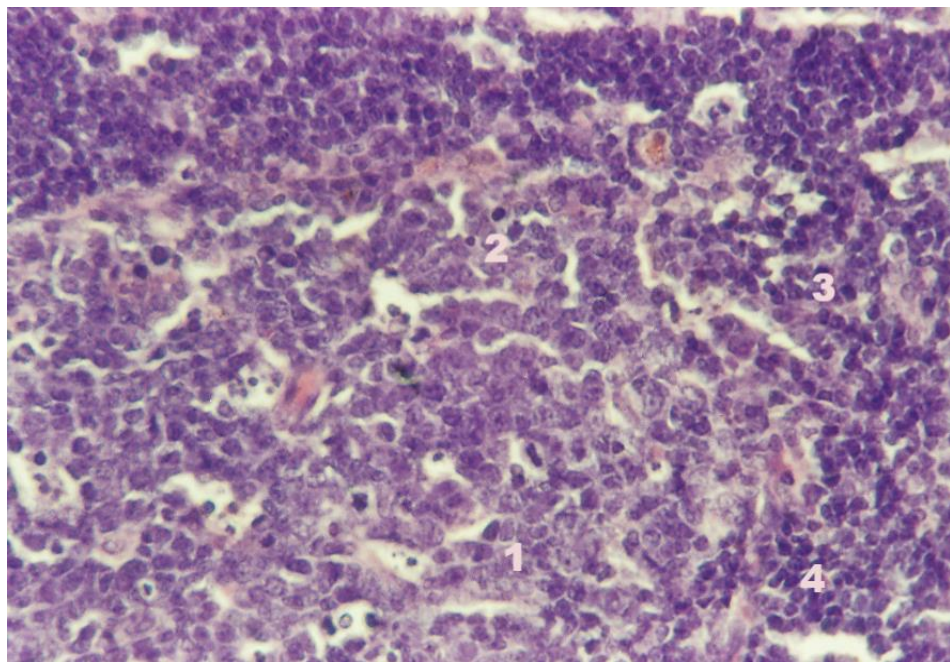


Рис. 4.6. Структура селезінки щура,якому перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl на 21 добу: 1 - гермінативний центр; 2 - фігури мітозу; 3 - мантійна зона; 4 - малі лімфоцити. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 40. Об'єктив x 10.

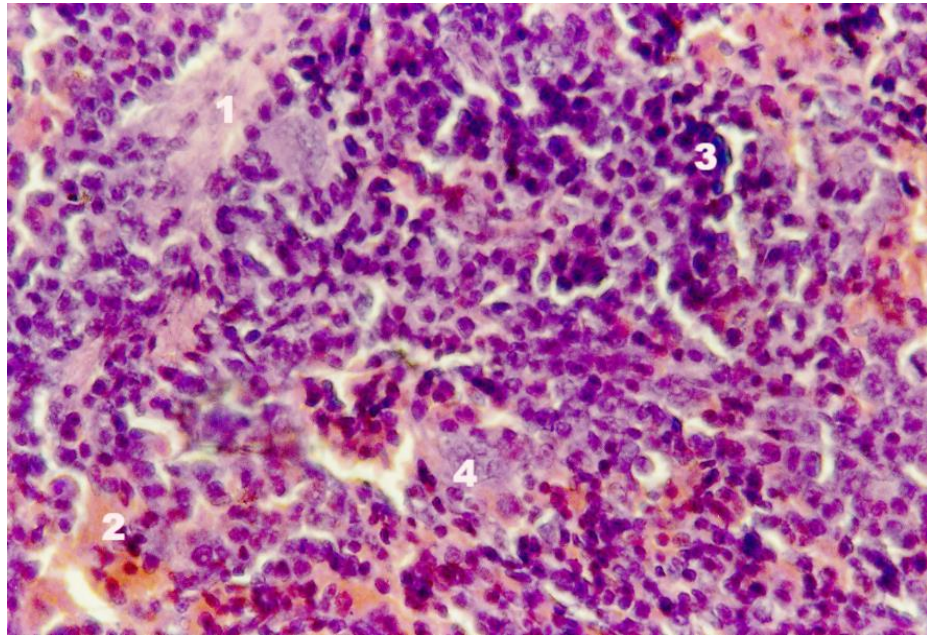


Рис. 4.7. Структура червоної пульпи селезінки щура, якому перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl, на 21 добу: 1 - трабекула селезінки; 2 - повнокровні синусоїдні судини; 3 - селезінкові тяжі; 4 - поліплоїдні мегакаріоцити. Зabarвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр х 40. Об'єктив х 10.

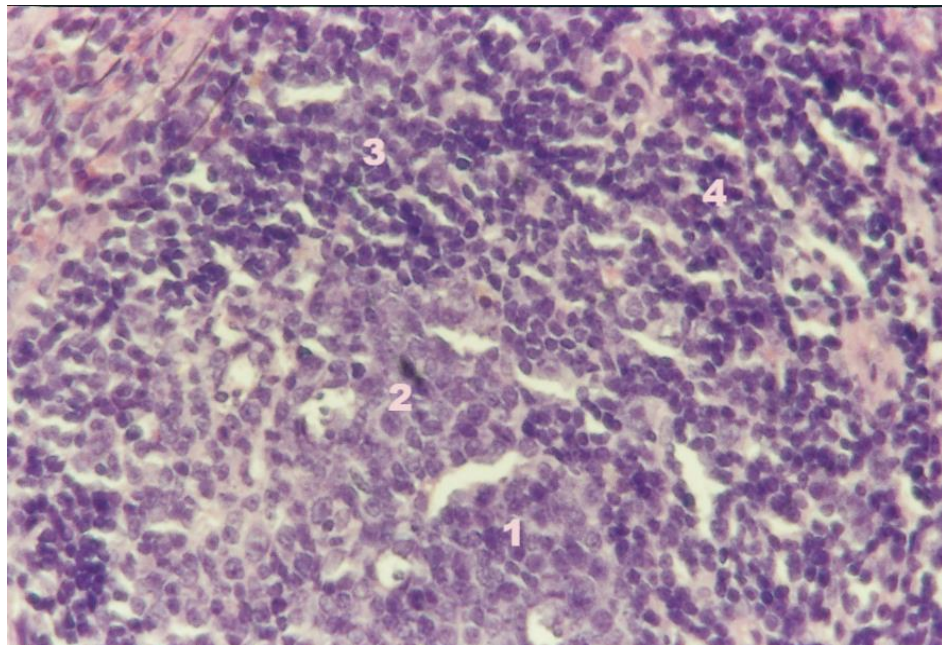


Рис. 4.8. Структура лімфоїдного вузлика селезінки щура, якому перших 7 діб після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl на 21 добу: 1 - гермінативний центр; 2 - фігури мітозу; 3 - мантійна зона; 4 - малі лімфоцити. Зabarвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр х 40. Об'єктив х 10.



На 30 добу періартеріальні зони містили більшу чисельність функціонально активних макрофагів та лімфоцитів, у порівнянні з щурами, 21 доби дослідження, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl. У більшій частині лімфоїдних вузликів маргінальні зони розширені та світлі, що може свідчити про активну евакуацію диференційованих лімфоцитів (рис. 4.9).

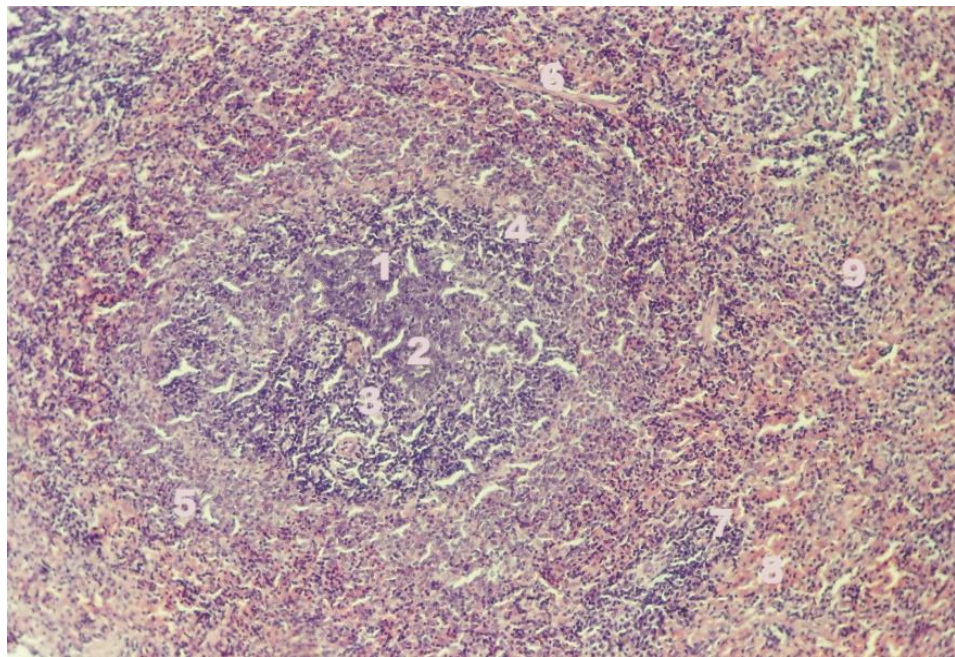


Рис. 4.9. Структура селезінки щура, якому перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl, на 30 добу: 1 - лімфоїдний вузлик; 2 - гермінативний центр; 3 - періартеріолярна зона; 4 - мантійна зона; 5 - маргінальна зона; 6 - трабекули селезінки; 7 - періартеріолярна лімфоїдна піхва; 8 - синусоїдні судини червоної пульпи; 9 - селезінкові тяжі. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

Отже у селезінці щурів при ОШ без корекції на 14 добу наявне повнокров'я судин червоної та білої пульпи. У червоній пульпі звужені селезінкові тяжі, які містили менше лімфоцитів, макрофагів та плазмоцитів.

Однак у них виявляли еозинофільні лейкоцити та більшу чисельність мегакаріоцитів, що є морфологічною ознакою активації тромбоцитопоезу. Зменшена кількість лімфоцитів та макрофагів у періартеріальних зонах, та у періартеріолярних лімфоїдних піхвах. Встановлені нами зміни можна трактувати, як зниження участі макрофагів у регуляції імунної відповіді. На 21 добу також виявляли ознаки посиленого тромбоцитопоезу. У цей термін і на 30 добу значно розширені гермінативні центри лімфоїдних вузликів, в яких чимало макрофагів з фагоцитованими фрагментами лімфоцитів. Розширені маргінальні зони, однак, вони містили незначну кількість лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів, що може свідчити про активацію транспорту клітин у червону пульпу.

4.2. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки у віддалений період після опіку шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину NaCl.

При електронномікроскопічному дослідженні селезінки у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl, виявили значні зміни вмісту лімфоцитів у складі білої пульпи селезінки (табл. 4.1).

Кількість ВЛ достовірно була меншою на 38,1 % (14 доба) та до 30 доби на 7,25 % порівняно з такою у щурів без ОШ, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl в той же термін дослідження.

Кількість ШЛ з низькою активністю від 14 до 30 доби не відновлювалася відносно контролю та була меншою на 36,63 % та 19,8 % відповідно ( $p < 0,05$ ). Кількість ШЛ з високою неспецифічною активністю, навпаки була достовірно більшою на 14, 21 та 30 добу відповідно у 2,2; 1,8 та 1,4 рази порівняно з такою у щурів без ОШ, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl у аналогічні терміни дослідження.

Кількість ШЛ з фагоцитарною активністю також є достовірно більшою відповідно у тіж терміни дослідження в 1,9; 1,7 та 1,36 рази порівняно з такою у щурів без ОШ, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl у тіж терміни дослідження. Кількість ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням та лімфобластів була теж достовірно більшою на 14, 21 та 30 добу відповідно в 2,2; 1,8 та 1,39 рази порівняно з такою у щурів без ОШ, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl в той же термін дослідження.

Таблиця 4.1

**Розподіл лімфоцитів білої пульпи селезінки на пізніх стадіях опікової травми при інфузії 0,9 % розчину NaCl ( $M \pm m$ )**

Види клітин	Контроль	Терміни спостереження		
		14 доба	21 доба	30 доба
ВЛ	52,4±4,5	33,5±3,7*	41,4±5,7	48,6±5,2
ШЛ – з низькою активністю	10,1±1,3	6,4±0,6*	7,5±0,8 <sup>Δ</sup>	8,1±1,3
ШЛ – з високою неспецифічною активністю	6,2±1,2	13,8±1,3*	11,2±1,2* <sup>Δ</sup>	8,6±1,0*
ШЛ - з фагоцитарною активністю	5,5±0,6	10,6±0,8*	9,3±0,9 <sup>Δ</sup>	7,5±0,9 <sup>Δ</sup>
ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням	4,2±0,3	8,9±0,4*	7,6±0,4* <sup>Δ</sup>	6,1±0,5* <sup>Δ</sup>
Лімфобласти	3,4±0,7	6,7±0,5*	5,6±0,4* <sup>Δ</sup>	4,7±0,3* <sup>Δ</sup>

**Примітки:**\* -  $p < 0,05$  - достовірність відмінностей відносно групи тварин з показниками попереднього терміну опікової травми;

Δ -  $p < 0,05$  - достовірність відмінностей відносно контрольної групи тварин.

Кількість лімфобластів була достовірно більшою відповідно термінів дослідження в 1,97, 1,65 та 1,38 рази порівняно з такою у щурів без ОШ, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl в аналогічні терміни дослідження.

Відомо, що активні ШЛ диференціюються переважно в Т- і К-лімфоцити, а клітини з плазмоцитарним диференціюванням відображають гуморальну імунну відповідь. Кількість лімфобластів відображають інтенсивність процесу загальної проліферації лімфоцитів та поповнення у лімфоїдній системі, генерації активованих Т-, В- та К-лімфоцитів у відповідь на відповідні стимули. У зв'язку з цим, отримані морфометричні дані, зміни розподілу лімфоцитів білої пульпи селезінки характеризують підвищення гуморальної імунної активності на пізніх стадіях опікової травми.

Представлений розподіл і особливості активації лімфоцитів білої пульпи селезінки є проявом реакції цих клітин у стадії токсемії опікової хвороби.

У щурів, яким після ОШ перші 7 діб експерименту вводили розчин 0,9 % NaCl, для лімфоцитів у білій пульпі селезінки на пізніх стадіях опікової травми характерна достовірно менша кількість ВЛ та ШЛ з низькою активністю, а також достовірно більша кількість ШЛ з високою неспецифічною активністю, з плазмоцитарним диференціюванням та лімфобластів у порівнянні з такою у щурів без ОШ, яким протягом перших 7 діб експерименту проводили інфузію 0,9 % розчину NaCl.

Досить широкий спектр електронномікроскопічних ознак лімфоцитів білої пульпи селезінки дозволяє з високою достовірністю визначати вплив різних медикаментозних засобів на функціональну активність лімфоїдної системи. На наш погляд перспективним є дослідження структури лімфоцитів білої пульпи селезінки при застосуванні медикаментозних засобів, що зменшують ендотоксикоз, профілактують гіповолемію та шок при опіковій хворобі.

Результати цього розділу опубліковано в наступних працях:

1. Булько І.В. Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І.В. Булько, Ю.Й. Гумінський // Вісник морфології. – 2011. – № 17. –Т. 2. – С. 227–230.
2. Гумінський Ю.Й. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції / Ю.Й. Гумінський, І.В. Булько // Вісник морфології. – 2012. – № 18. –Т. 2. – С. 49–53.
3. Булько І.В. Динаміка гістологічних змін селезінки щурів у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2015. - Т. 14, № 2. (52) С. 29 - 32.
4. Булько І.В. Морфологія селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Матеріали II Науково - практичної конференції з міжнародною участю Природничі читання (14–17 травня 2015 року, м. Чернівці) – Чернівці, 2015. – С. 92 - 93.

## РОЗДІЛ 5.

## СТРУКТУРНІ ЗМІНИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ ТА КОМПЛЕКСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛАКТОПРОТЕЇНУ З СОРБІТОЛОМ ТА НАЕС-LX-5 %

5.1. Зміни структури селезінки щурів у віддалений період після опіку шкіри та застосуванні інфузії лактопротеїну з сорбітолом.

При макроскопічному дослідженні селезінки у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту проводили внутрішньовенну інфузію лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX-5 % розміри селезінки статистично значуще не змінені. Селезінка була червоно - пурпурно - коричневого кольору, м'яко - еластичної консистенції (рис. 5.1).



Рис. 5.1. Макропрепарат селезінки щура,якому перших 7 діб після ОШ вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 14 добу: 1 - вентральний край; 2 - дорсальний край; 3 - ворота селезінки.



У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту внутрішньовенно вводили лактопротеїн з сорбітолом відмін макрометричних параметрів практично немає: довжина селезінки на 14 добу після опіку дорівнювала  $43,1 \pm 1,3$  мм (на 7,22 % більше контролю,  $p > 0,05$ ); ширина –  $8,6 \pm 0,3$  мм (відмін у порівнянні із контролем немає); товщина –  $4,3 \pm 0,3$  мм (відмін немає). Маса селезінки складала  $1167 \pm 6,7$  мг (відмін немає).

На 21 добу після опіку довжина селезінки складала  $44,2 \pm 1,2$  мм (на 9,95 % більше контролю,  $p > 0,05$ ); ширина –  $9,5 \pm 0,3$  мм (відмін у порівнянні із контролем немає); товщина –  $4,03 \pm 0,3$  мм (відмін немає). Маса селезінки складала  $1167 \pm 8,6$  мг (відмін немає).

На 30 добу після опіку довжина селезінки дорівнювала  $39,2 \pm 1,3$  мм (на 2,49 % менше за контроль,  $p > 0,05$ ); ширина -  $9,5 \pm 0,3$  мм (на 7,95 % більше,  $p > 0,05$ ); товщина -  $4,3 \pm 0,3$  мм (відмін немає). Маса селезінки складала  $1172 \pm 6,8$  мг (відмін немає).

Таким чином у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом макроскопічні показники селезінки не досягли таких у щурів без ОШ, яким вводили данні препарати у такіж терміни дослідження. Однак розчин лактопротеїну з сорбітолом значно переважав дію 0,9 % розчину NaCl.

5.1.1. Структурні зміни у селезінці щурів на 14 добу після опіку шкіри та застосуванні лактопротеїну з сорбітолом.

У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту проводили внутрішньовенну інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом, на 14 добу повнокрів'я судин кровоносного мікроциркуляторного русла у трабекулах селезінки, у білій та червоній пульпі, крововиливи, а також лейкоцитарна інфільтрація та набряки сполучної тканини у судинних трабекулах селезінки були менше виражені, ніж у щурів на 14 добу, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчин 0,9 % NaCl. У клітинному складі селезінкових тяжів виявляли чисельні еритроцити, а також мегакаріюцити, тромбоцити, макрофаги, лімфоцити, плазматичні клітини; нейтрофільні лейкоцити. Однак

у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту проводили внутрішньовенну інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом, на 14 добу чисельність еозинофільних лейкоцитів була меншою у порівнянні з такою у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчин 0,9 % NaCl, на 14 добу. У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 14 добу у червоній пульпі селезінки виявляли помірні вогнища екстрамедулярного тромбоцитопоезу, а також вогнища еритропоезу. Лімфоїдні вузлики білої пульпи мали неодноманітну структуру. У деяких лімфоїдних вузликах гермінативні центри були менші у розмірах і містили меншу кількість лімфобластів у порівнянні з такими у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 14 добу. Однак більша частина лімфоїдних вузликів містили широкі світлі гермінативні центри.

У гермінативних центрах таких лімфоїдних вузликів виявляли більшу чисельність лімфобластів у порівнянні з щурами, яким після ОШ перші 7 діб експерименту вводили розчини 0,9 % NaCl, в той же термін спостереження. Виявляли також об'ємні вузлики з широкими T - залежними зонами та значним вмістом макрофагів у них. Для лімфобластів, розташованих у гермінативних центрах, характерні великі ядра з високим вмістом еухроматина. У більшій частині лімфоїдних вузликів селезінки переважали лімфоцити з нормохромними ядрами, тоді як у щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчини 0,9 % NaCl, на 14 добу переважали лімфоцити з гіпо - та гіперхромними ядрами.

У мантийній зоні виявляли малі, середні лімфоцити, плазмоцити, гіпертрофовані макрофаги. У маргінальній зоні виявляли ретикулоцити, лімфоцити, макрофаги, плазмоцити. Маргінальні зони лімфоїдних вузликів розширені, але слабо забарвлені. Кровоносні судини на межі маргінальної зони та червоної пульпи повнокровні. В усіх зонах білої пульпи виявляли гіпертрофовані макрофаги, у цитоплазмі яких розташовані чисельні гетерофаголізосоми. Значно розширені селезінкові лімфатичні

періартеріолярні піхви, які одним полюсом заходили на територію вузлика і містили малі, середні лімфоцити, лімфобласти, гіпертрофовані макрофаги (рис.5.2).

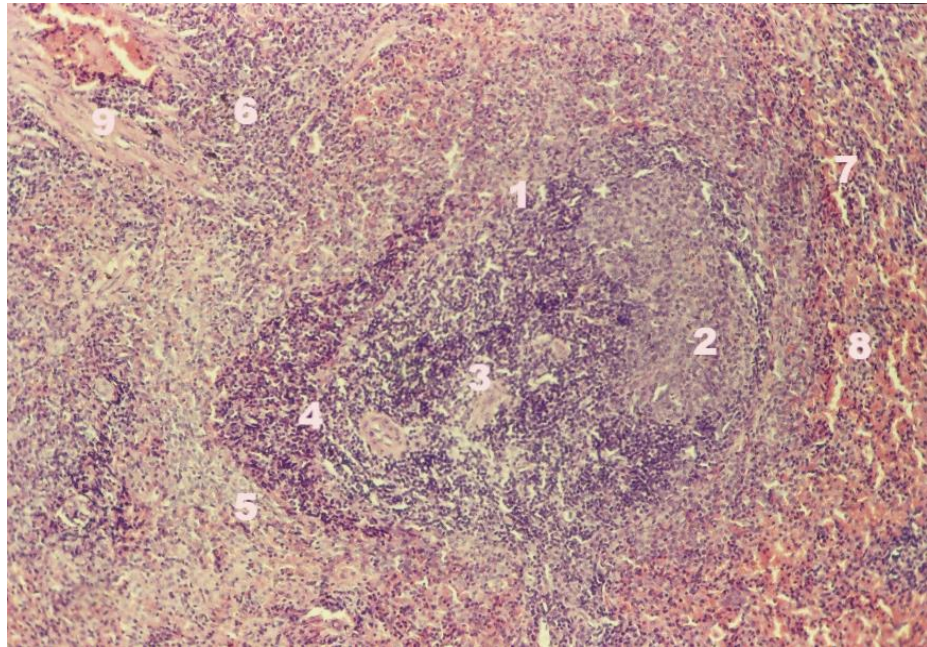


Рис. 5.2. Структура селезінки щура, якому перших 7 діб після ОШ проводили інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом, на 14 добу: 1 - лімфоїдний вузлик; 2 - гермінативний центр; 3 - періартеріолярна зона; 4 - мантийна зона; 5 - маргінальна зона; 6 - періартеріолярна лімфоїдна піхва; 7 - повнокровні синусоїдні судини червоної пульпи; 8 - селезінкові тяжі; 9 - трабекули селезінки. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

Таким чином, на 14 добу у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту внутрішньовенно вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом прояви патологічних змін у білій та червоній пульпі селезінки були менше вираженими у порівнянні з щурами, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчини 0,9 % NaCl, на 14 добу. Так крововиливи, а також лейкоцитарна інфільтрація та набряки сполучної тканини у судинних трабекулах селезінки

були менше виражені, ніж такі у щурів, яким після ОШ перших 7 днів експерименту вводили розчин 0,9 % NaCl, на 14 добу. У щурів, яким після ОШ перших 7 днів експерименту внутрішньовенно вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом Т-залежні зони містили більшу кількість лімфоцитів та гіпертрофованих макрофагів, у гермінативних центрах виявляли більшу кількість лімфобластів, В-лімфоцитів та плазмоцитів, також наявна гіперплазія, гіпертрофія та активація макрофагів в усіх зонах лімфоїдних вузликів, а також гіперплазії лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів у складі періартеріолярних лімфоїдних півхв.

5.1.2. Структурні зміни у селезінці щурів на 21 добу після опіку при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом.

У щурів, яким після ОШ перших 7 днів експерименту проводили внутрішньовенну інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом, на 21 добу виявляли повнокров`я судин у трабекулах селезінки, а також у складі білої та червоної пульпи, однак це явище було менше виражено ніж у щурів, яким перших 7 днів після ОШ вводили розчини 0,9 % NaCl, на 21 добу. Селезінкові тяжі звужені містили еритроцити, мегакаріоцити, тромбоцити, лімфоцити, плазмоцити та гіпертрофовані макрофаги. У цитоплазмі макрофагів розташовані фрагменти еритроцитів, подекуди виявлені гранули феритину та гетерофаголізосоми. У щурів, яким після ОШ перших 7 днів експерименту проводили внутрішньовенну інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом, на 21 добу площа білої пульпи значно більша у порівнянні з такою у щурів, яким перших 7 днів після ОШ вводили розчини 0,9 % NaCl, на 14 добу( рис. 5.3). У щурів, яким після ОШ перших 7 днів експерименту проводили внутрішньовенну інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом, на 21 добу на тлі повнокров`я червоної пульпи виявляли розширені та повнокровні просвіти кровоносних капілярів та венул у гермінативних центрах лімфоїдних вузликів селезінки. В останніх переважали лімфобласти та гіпертрофовані макрофаги, тоді, як малих та середніх лімфоцитів було менше.

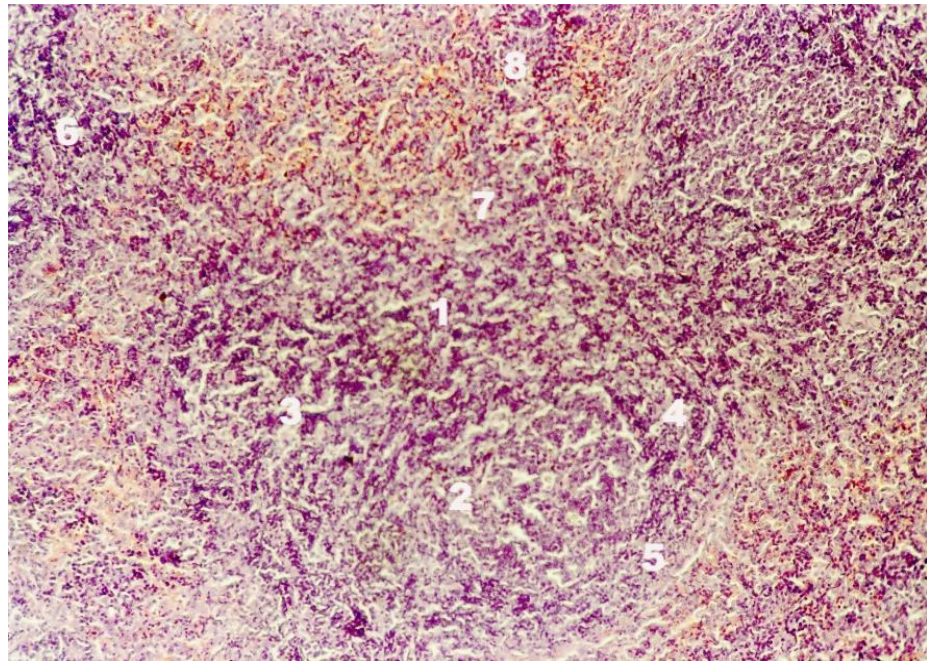


Рис. 5.3. Структура селезінки щура, якому перших 7 днів після ОШ проводили інфузію розчину розчину лактопротеїну з сорбітолом, на 21 добу: 1 - лімфоїдний вузлик; 2 - широкий гермінативний центр; 3 - періартеріолярна зона; 4 - мантийна зона; 5 - маргінальна зона; 6 - періартеріолярна лімфоїдна піхва; 7 - повнокровні синусоїдні судини червоної пульпи; 8 - селезінкові тяжі. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

Гіпертрофовані макрофаги створювали у всіх зонах лімфоїдних вузликів селезінки ефект "зоряного неба" (рис. 5.4). Між судинними трабекулами та лімфоїдними вузликами розташовані періартеріолярні лімфоїдні піхви. Піхвові артерії білої пульпи з'єднані з вузликовими артеріолами лімфоїдних вузликів селезінки.

У складі періартеріолярних лімфоїдних піхв, які оточували піхвові артерії, виявляли В - лімфоцити, плазмоцити, Т - лімфоцити та гіпертрофовані функціонально активні макрофаги цитоплазма яких містила чисельні гетерофаголізосоми.



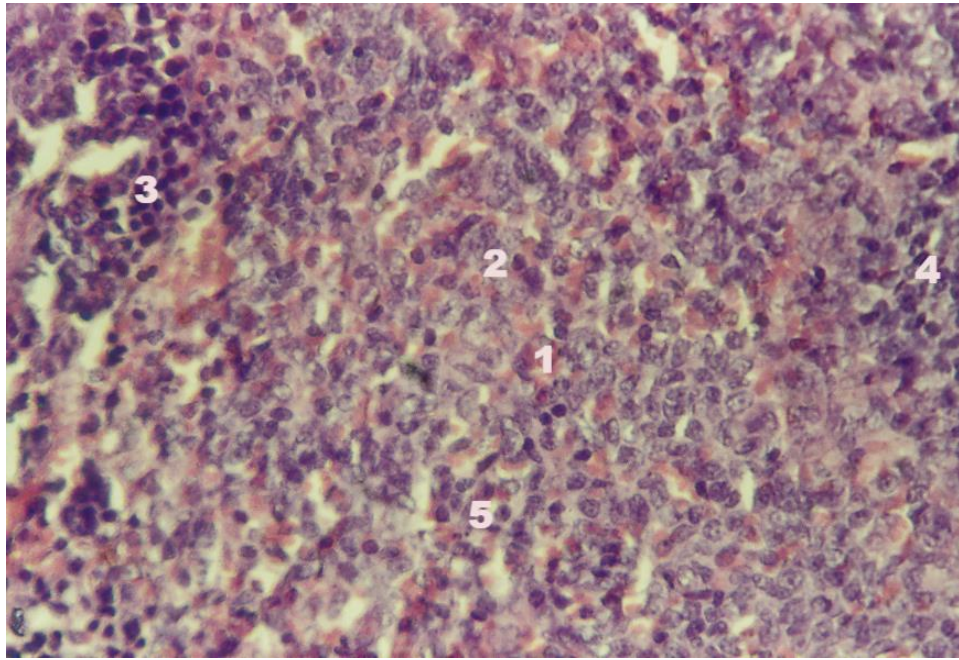


Рис. 5.4. Структура селезінки щура, якому перших 7 днів після ОШ вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 21 добу: 1 - повнокровні просвіти судин у гермінативному центрі лімфоїдного вузлика; 2 - лімфобласти; 3 - малі лімфоцити; 4 - середні лімфоцити; 5 - макрофаги. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр х 40. Об'єктив х 10.

Таким чином: внутрішньовенне введення щурам розчину лактопротеїну з сорбітолом, перших 7 днів після ОШ на 21 добу посилювало клітинну та гуморальну імунну відповідь на дію факторів опікової травми у порівнянні з такими у щурів, яким перших 7 днів після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl, на 21 добу. Що морфологічно підтверджено більшою площею білої пульпи розширеними гермінативними центрами та періартеріолярними зонами, більшим числом темних малих лімфоцитів у Т - залежних зонах лімфоїдних вузликів та періартеріолярних лімфоїдних піхвах та більшою кількістю функціонально активованих макрофагів в усіх зонах білої пульпи, а також у селезінкових тяжках червоної пульпи селезінки у порівнянні з такими у щурів, яким перших 7 днів після ОШ вводили розчини 0,9 % NaCl, на 21 добу.

5.1.3. Структурні зміни у селезінці щурів на 30 добу після опіку при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом.

У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту внутрішньовенно вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 30 добу виявили помірно повнокровні синусоїдні судини червоної та білої пульпи селезінки. Однак параваскулярний набряк інтерстицію у судинних трабекулах селезінки та лейкоцитарна інфільтрація були значно менше вираженими у порівнянні з щурами, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl, на 30 добу. У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту внутрішньовенно вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 30 добу виявляли гіпертрофовані лімфоїдні вузлики селезінки, які часто розташовані настільки близько один до одного, що їх широкі маргінальні зони з'єднані. Селезінкові тяжі у червоній пульпі селезінки містили еритроцити, мегакаріоцити, тромбоцити, лімфоцити, плазмоцити, гіпертрофовані макрофаги та по структурі були подібні до таких у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, в той же термін дослідження(рис. 5.5).

У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту внутрішньовенно вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 30 добу у лімфоїдних вузликах білої пульпи виявляли розширені періартеріолярні, а також маргінальні зони; Світлі гермінативні центри переважно невеликі, хоча поодинокі мали структуру, що свідчила про їх активацію. В таких вузликах виявляли гіперплазію лімфобластів, чисельні мітози, також виявляли чисельні плазмобласти та плазматичні клітини, гіпертрофовані макрофаги цитоплазма яких містила гетерофаголізосоми. Мантийні зони лімфоїдних вузликів розширені у порівнянні з щурами, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчини 0,9 % NaCl, на 30 добу, вони містили щільно розташовані темні диференційовані лімфоцити та плазмоцити, а також гіпертрофовані макрофаги (рис. 5.6).

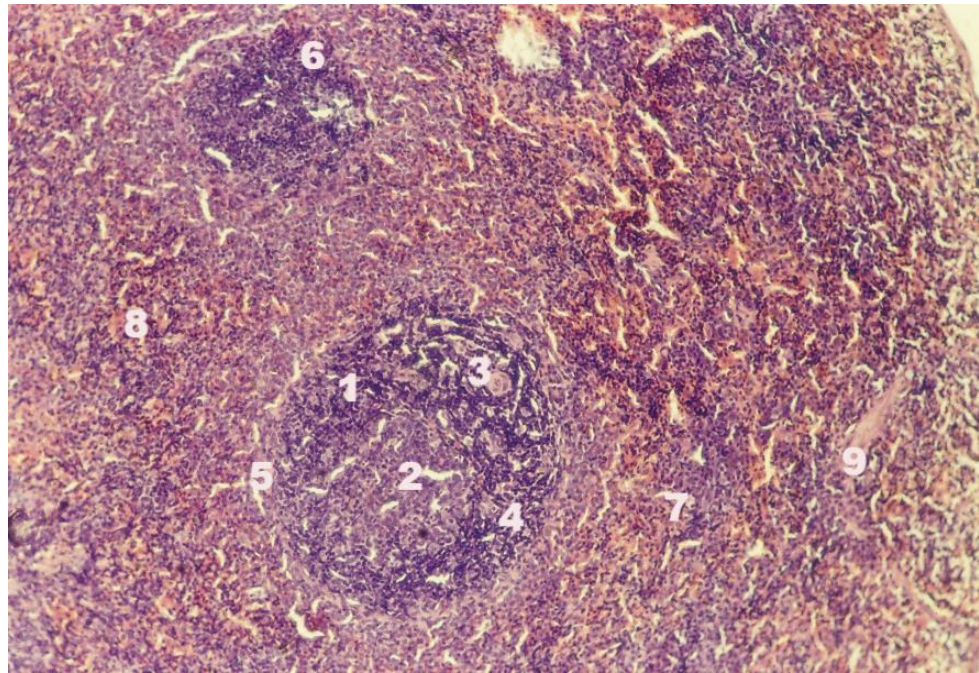


Рис. 5.5. Структура селезінки щура, якому перших 7 діб після ОШ проводили інфузію розчином лактопротеїну з сорбітолом, на 30 добу: 1 - лімфоїдний вузлик; 2 - широкий гермінативний центр; 3 - розширена періартеріолярна зона; 4 - мантийна зона; 5 - маргінальна зона; 6 - періартеріолярна лімфоїдна піхва; 7 - повнокровні синусоїдні судини червоної пульпи; 8 - селезінкові тяжі; 9 - трабекули селезінки. Зabarвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

У періартеріолярній зоні білої пульпи значно більша кількість лімфоцитів і макрофагів у порівнянні з щурами, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl, на 30 добу. До вузликів підходять розширені періартеріолярні лімфоїдні піхви, в яких виявляли лімфоцити плазмоцити та макрофаги їх чисельність була більшою у порівнянні з щурами без ОШ, яким перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 30 добу. Синусоїдні судини червоної пульпи селезінки повнокровні, селезінкові тяжі містили еритроцити, тромбоцити, мегакаріоцити, макрофаги, лімфоцити та плазмоцити. Чисельність мегакаріоцитів була більшою у



порівнянні з щурами без ОШ яким перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 30 добу.

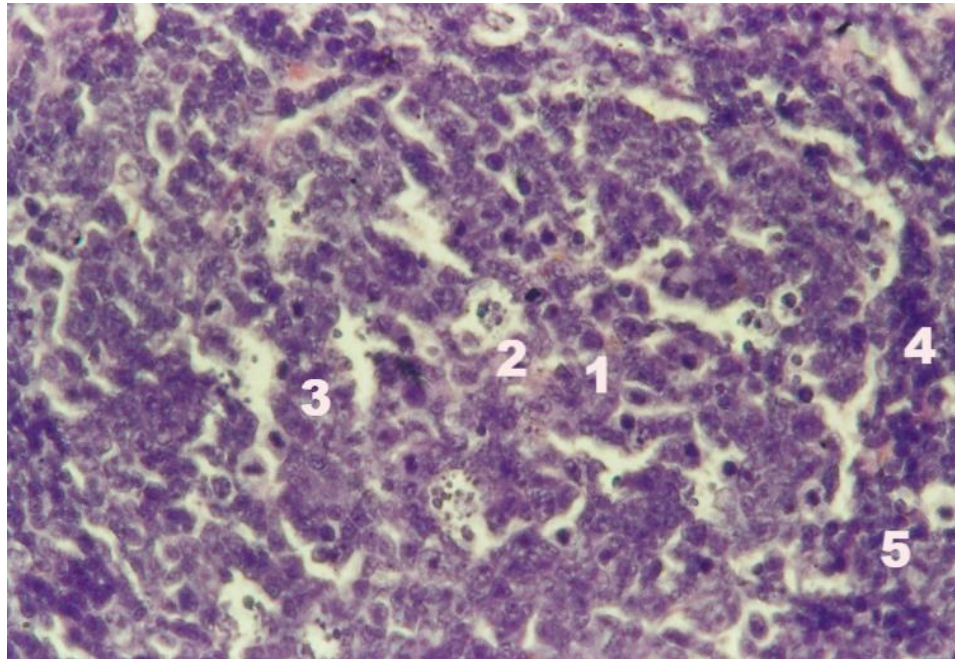


Рис. 5.6. Структура селезінки щура, якому перших 7 діб після ОШ вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, на 30 добу: 1 - гермінативний центр лімфоїдного вузлика; 2 - лімфобласти; 3 - макрофаги; 4 - мантійна зона; 5 - малі темні лімфоцити. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр х 40. Об'єктив х 10.

Таким чином, у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту внутрішньовенно вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, у селезінці виявляли гіпертрофію та гіперплазію макрофагів у білій та червоній пульпі. Розширені гермінативні центри, які містили більше лімфобластів у порівнянні з щурами, яким після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl, у такі ж терміни спостереження. Також збільшена чисельність лімфоцитів у мантійній та періартеріолярній зоні, є морфологічним підтвердженням активності гуморального та клітинного імунітету. Динаміка змін структури селезінки у щурів, яким після ОШ вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, є

морфологічним підтвердженням його властивості знижувати негативні наслідки опікової травми у білій та червоній пульпі селезінки.

5.2. Зміни структури селезінки щурів у віддалений період після опіку шкіри та лікуванні кровозамінником HAES-LX-5 %.

У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту внутрішньовенно вводили розчин HAES-LX-5 % розміри селезінки були подібні до таких у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту внутрішньовенно вводили розчин HAES-LX-5 %.

Довжина селезінки на 14 добу після опіку дорівнювала  $42,2 \pm 1,3$  мм (більше на 4,98 %,  $p > 0,05$ ); ширина –  $8,5 \pm 0,3$  мм (менше на 3,41 %,  $p > 0,05$ ); товщина –  $4,2 \pm 0,3$  мм (менше на 2,33 %,  $p > 0,05$ ). Маса селезінки складала  $1161 \pm 6,6$  мг (на 0,43 % більше,  $p > 0,05$ ).

На 21 добу після опіку довжина селезінки складала  $40,2 \pm 1,2$  мм (відмін від контролю немає); ширина –  $9,0 \pm 0,3$  мм (більше на 2,27 %,  $p > 0,05$ ); товщина –  $4,2 \pm 0,3$  мм (менше на 2,33 %,  $p > 0,05$ ). Маса селезінки складала  $1157 \pm 7,6$  мг (відмін – немає).

На 30 добу після опіку довжина селезінки дорівнювала  $38,2 \pm 1,3$  мм (менше на 12,19 %,  $p > 0,05$ ); ширина –  $9,0 \pm 0,3$  мм (більше на 2,27 %,  $p > 0,05$ ); товщина –  $4,2 \pm 0,3$  мм (менше на 2,33 %,  $p > 0,05$ ). Маса селезінки складала  $1152 \pm 6,8$  мг (відмін – немає).

5.2.1. Структурні зміни у селезінці щурів на 14 добу після опіку шкіри при застосуванні 5 % розчину HAES-LX.

У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту у вену вводили розчин HAES-LX-5 %, на 14 добу виявляли повнокровні кровоносні судини, та лейкоцитарну інфільтрацію пухкої сполучної тканини у судинних трабекулах селезінки. Однак ці прояви були менше виражені, ніж такі у щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl, в той же

термін спостереження. На тлі повнокрів'я синусоїдних судин у червоній пульпі селезінки виявляли незначно звужені селезінкові тяжі, які містили еритроцити, мегакаріоцити, лімфоцити, плазмоцити та макрофаги(рис. 5.7).

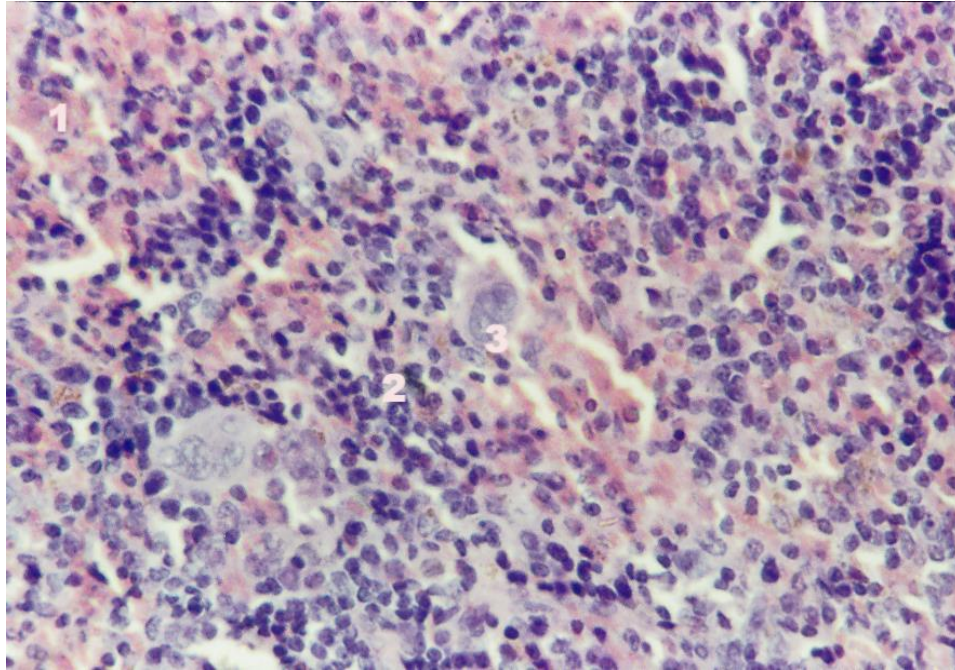


Рис. 5.7. Структура селезінки щура, якому перших 7 днів після ОШ вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 14 добу: 1 - повнокровні синусоїдні судини червоної пульпи; 2 - звужені селезінкові тяжі; 3 - мегакаріоцити. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 40. Об'єктив x 10.

На 14 добу виявляли збільшені у розмірах лімфоїдні вузлики та періартеріолярні лімфоїдні піхви, у порівнянні з щурами, яким перших 7 днів після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl, на 14 добу. У лімфоїдних вузликах селезінки виявляли розширені гермінативні центри, розширені періартеріальні, мантійні, а також маргінальні зони. У мантійних зонах білої пульпи селезінки виявляли лімфоцити, плазмоцити, макрофаги їх структура була подібна до такої у щурів, яким перших 7 днів після ОШ вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, в той же термін дослідження. У щурів, яким



після ОШ перших 7 діб експерименту внутрішньовенно вводили розчин НАЕС-LX-5 % на 14 добу у розширених маргінальних зонах, виявляли повнокровні маргінальні кровоносні судини (рис. 5.8).

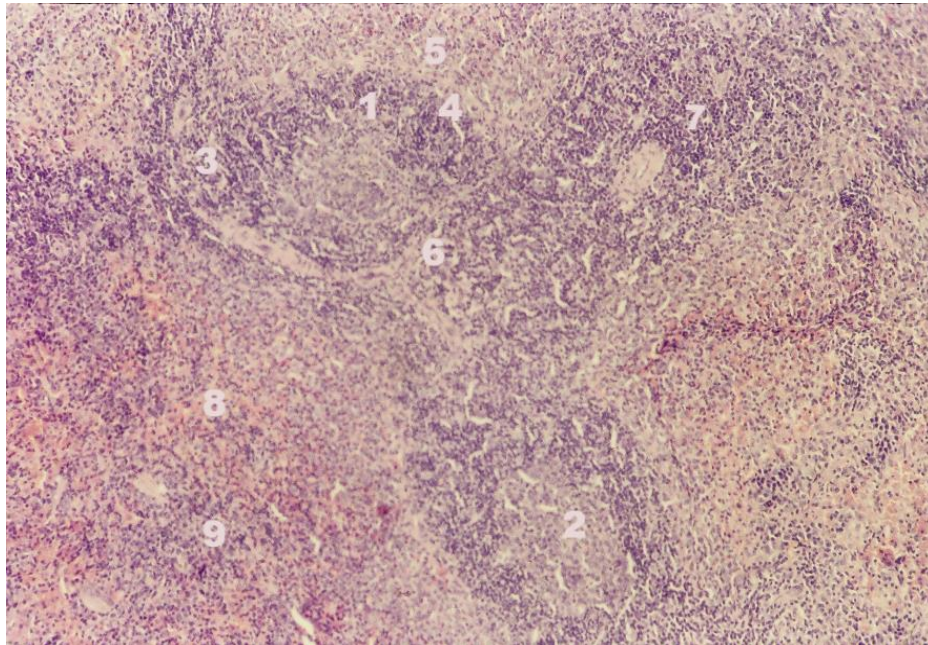


Рис. 5.8. Структура селезінки щура,якому перших 7 діб після ОШ вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 14 добу: 1 - лімфоїдний вузлик; 2 - широкий гермінативний центр;3 - розширена періартеріолярна зона; 4 - мантийна зона; 5 - маргінальна зона; 6 - маргінальні судини; 7 - періартеріолярна лімфоїдна піхва; 8 - повнокровні синусоїдні судини червоної пульпи; 9 - селезінкові тяжі. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

Світлі гермінативні центри містили значну кількість лімфобластів. У періартеріолярних зонах білої пульпи селезінки виявляли гіпертрофовані ретикулоцити чисельні малі лімфоцити та макрофаги. Останні з ознаками помірної фагоцитарної активності, що морфологічно підтверджувалось незначним вмістом гетерофаголізосом в їх цитоплазмі.

На 14 добу також виявляли гіперплазію лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів у складі лімфатичних періартеріолярних піхв, у гермінативних

центрах виявляли більшу кількість лімфобластів, В-лімфоцитів та плазмобластів, у мантийних зонах більшу кількість лімфоцитів та гіпертрофованих макрофагів, у періартеріолярних зонах більшу кількість лімфоцитів у порівнянні з такими у щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl, на 14 добу. У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту у вену вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 14 добу також наявна гіперплазія лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів у складі періартеріолярних лімфоїдних піхв.

Таким чином у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту у вену вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 14 добу прояви патологічних змін у білій та червоній пульпі селезінки були подібними до таких у щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, та менше вираженими у порівнянні з такими у щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl, на 14 добу.

5.2.2. Структурні зміни у селезінці щурів на 21 добу після опіку шкіри при застосуванні розчину НАЕС-LX-5 %.

У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили у вену розчин НАЕС-LX-5 %, на 21 добу у червоній пульпі селезінки синусоїдні судини помірно повнокровні не розширені селезінкові тяжі, не звужені по структурі подібні до таких у щурів, яким після ОШ вводили лактопротеїн з сорбітолом, містили велику кількість макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, еритроцитів, мегакаріоцитів. Саме у цей термін спостереження у червоній пульпі селезінки щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчин НАЕС-LX-5 %, виявляли значні вогнища мегакаріоцитів. Активність тромбоцитопоеза морфологічно підтверджується наявністю попередників мегакаріоцитів. Це великі клітини, які містили великі базофільні ядра та еозинофільно забарвлену цитоплазму (рис. 5.9). У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили у вену розчин НАЕС-LX-5 % на 21 добу виявляли гіперплазію та гіпертрофію лімфоїдних вузликів селезінки. Лімфоїдні вузлики селезінки містили розширені гермінативні центри. В

останніх розташовано більше лімфобластів у порівнянні з такими у щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчини 0,9 % NaCl, на 21 добу.

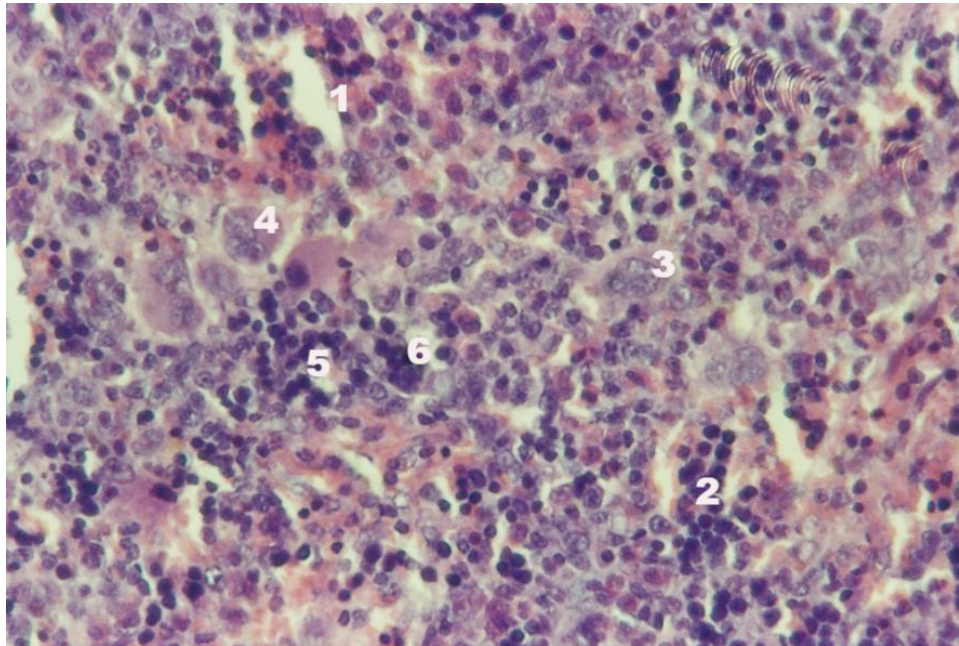


Рис. 5.9. Структура селезінки щура, якому перших 7 діб після ОШ проводили інфузію розчину НАЕС-LX-5 %, на 21 добу: 1 - синусоїдні судини червоної пульпи; 2 - селезінкові тяжі; 3 - мегакаріоцити; 4 – премегакаріоцити в осередку гемопоезу; 5 - лімфоцити; 6 - макрофаги. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 40. Об’єктив x 10.

Ми також виявили розширені мантійні, періартеріолярні та маргінальні зони лімфоїдних вузликів селезінки у порівнянні з щурами, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl, на 21 добу. Маргінальні зони, близько розташованих лімфоїдних вузликів, часто були з’єднані, тоді як у щурів без опіків шкіри між лімфоїдними фолікулами розташована червона пульпа (рис. 5.10).

У щурів, яким вводили лактопротеїн з сорбітолом, а також у щурів, яким водили НАЕС-LX-5 % на 21 добу в усіх зонах лімфоїдних вузликів селезінки виявляли гіпертрофовані макрофаги цитоплазма яких містила чисельні гетерофаголізосоми.



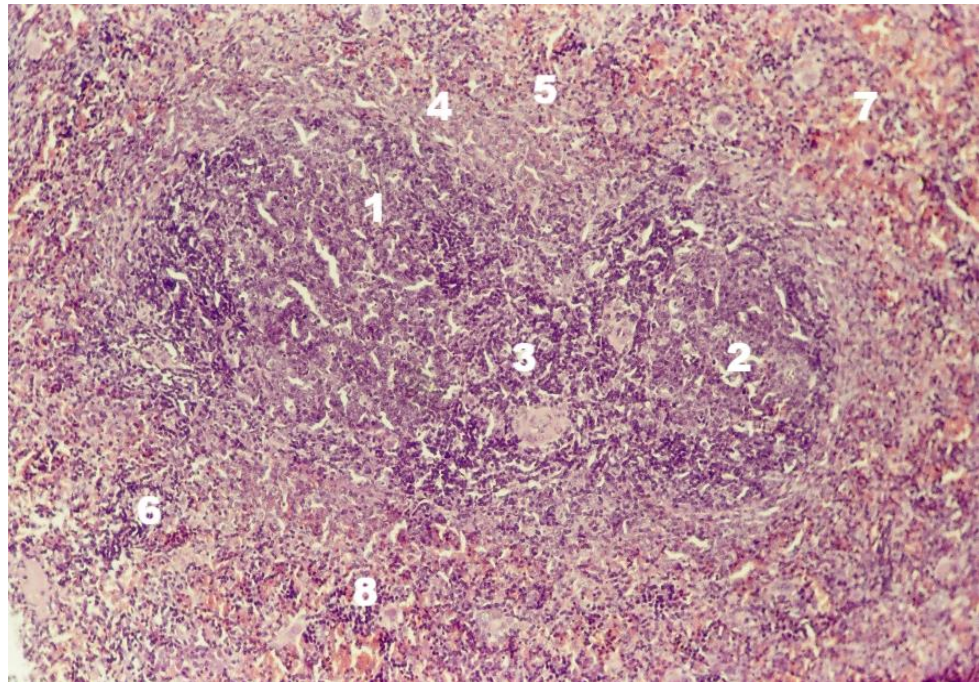


Рис. 5.10. Структура селезінки щура, якому перших 7 днів після ОШ проводили інфузію розчину НАЕС-LX-5 %, на 21 добу: 1 - лімфоїдний вузлик; 2 - широкий гермінативний центр; 3 - розширена періартеріолярна зона; 4 - мантійна зона; 5 - маргінальна зона; 6 - періартеріолярна лімфоїдна піхва; 7 - повнокровні синусоїдні судини червоної пульпи; 8 - селезінкові тяжі. Зabarвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x 10.

У щурів, яким після ОШ перших 7 днів експерименту вводили у вену розчин НАЕС-LX-5 % на 21 добу, у частині лімфоїдних вузликів селезінки розширені маргінальні зони містили повнокровні маргінальні судини, однак кількість лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів була незначною, що на тлі розширених мантійних зон, які містили велику кількість Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів та плазмоцитів, вказує на посилену міграцію цих клітин у червону пульпу селезінки. Чітко визначали гіпертрофовані періартеріолярні лімфоїдні піхви, їх діаметр досягав 60 - 70 мкм. У центральній частині навколо піхвових артерій білої пульпи розташовані В-лімфоцити, плазмобласти, плазмоцити, на периферії – малі темні лімфоцити. В усіх зонах

періартеріолярних лімфоїдних піхв розташовані гіпертрофовані макрофаги цитоплазма, яких містила гетерофаголізосоми.

5.2.3. Структурні зміни у селезінці щурів на 30 добу після опіку шкіри при застосуванні розчину НАЕС-LX-5 %.

У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили в вену розчин НАЕС-LX-5 %, на 30 добу кровоносні судини у трабекулах селезінки були помірно повнокровними. Однак ми не виявили лейкоцитарної інфільтрації, крововиливів, та параваскулярних набряків, які виявляли у трабекулах селезінки щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl. Синусоїдні судини червоної пульпи помірно повнокровні. Селезінкові тяжі червоної пульпи добре структуровані містили еритроцити, тромбоцити, макрофаги, лімфоцити, мегакаріоцити. Кількість макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів переважала у щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили розчин 0,9 % NaCl в той же термін спостереження(рис. 5.11).

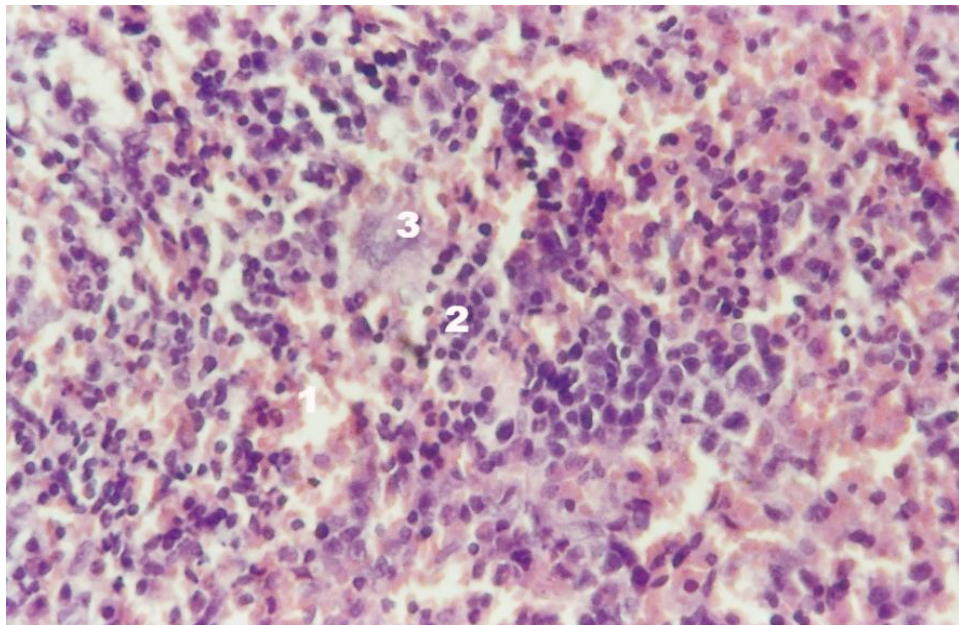


Рис. 5.11. Структура червоної пульпи селезінки щура,якому після ОШ вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 30 добу: 1 - синусоїдні судини; 2 - селезінкові тяжі; 3 - мегакаріоцити. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр х 40. Об'єктив х 10.



Маргінальні зони лімфоїдних вузликів розширені, просвітлені містили чисельні макрофаги, а також плазмобласти, плазмоцити, малі темні лімфоцити та бар'єрні клітини. Характерним також можна вважати гіпертрофію періартеріолярних та мантийних зон і світлих гермінативних центрів у лімфоїдних вузликах. Як і у попередній термін дослідження на 30 добу, виявляли функціонально активні макрофаги у Т - та у В - зонах лімфоїдних вузликів. У червоній пульпі виявляли значні скупчення мегакаріоцитів (рис. 5.12).

Крім того, виявляли гіперплазію та гіпертрофію макрофагів і активацію їх фагоцитарної активності у всіх зонах лімфоїдних вузликів.

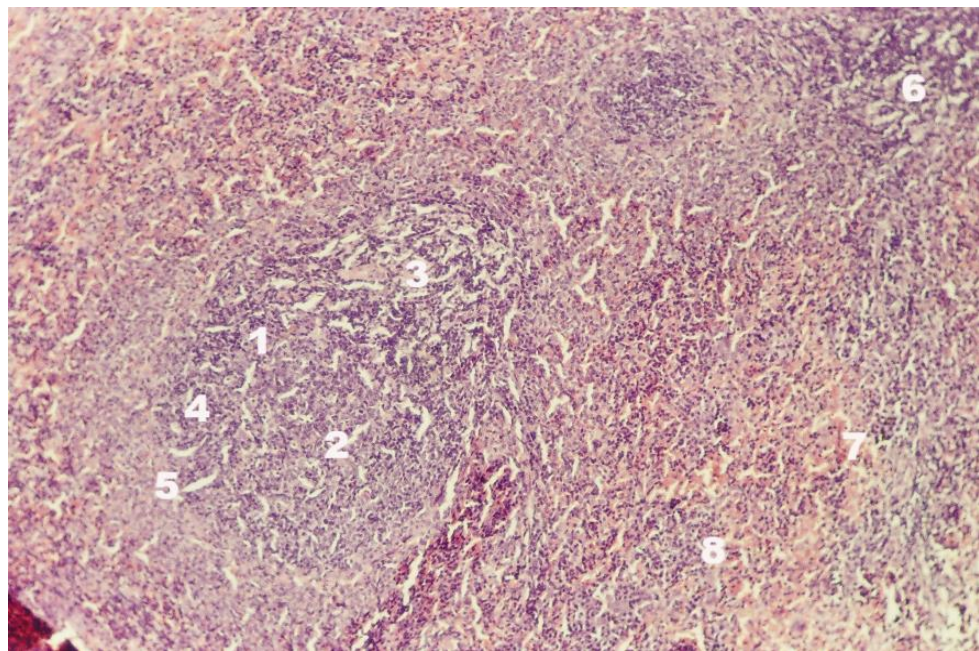


Рис. 5.12. Структура селезінки щура, якому перших 7 діб після ОШ у вену вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 30 добу: 1 - лімфоїдний вузлик; 2 – розширений гермінативний центр; 3 - розширена періартеріолярна зона; 4 - мантийна зона; 5 - розширена маргінальна зона; 6 - періартеріолярна лімфоїдна піхва; 7 - синусоїдні судини червоної пульпи. Забарвлення – гематоксилін та еозин. Окуляр x 10. Об'єтив x 10.

У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту у вену вводили розчин НАЕС-LX-5 %, на 30 добу також наявна гіперплазія лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів у складі періартеріолярних лімфоїдних піхв. У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили у вену розчин НАЕС-LX-5 %, на 30 добу у білій пульпі селезінки виявляли зростання кількості лімфоїдних вузликів та їх розмірів, як і у попередньому терміні дослідження, маргінальні зони близько розташованих лімфоїдних вузликів, часто були з'єднані.

Отже у щурів яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили у вену розчин НАЕС-LX-5 %, на 14 добу та ще сильніше на 21 та 30 добу у селезінкових тяжках червоної пульпи селезінки збільшена чисельність мегакаріоцитів, що є морфологічною ознакою посиленого тромбоцитопоезу. У разі застосування з метою корекції проявів опікової травми кровозамінника НАЕС-LX-5 % на 14 і особливо на 21 та 30 добу у світлих гермінативних центрах визначали мітотичну активність лімфобластів, активність макрофагів, розширені періартеріолярні зони, розширені маргінальні зони у лімфоїдних вузликах селезінки, зростала чисельність лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів у періартеріолярних лімфоїдних піхвах. Що є структурними ознаками активності гуморального імунітету та клітинного імунітету.

5.3. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки на пізніх стадіях опікової травми після корекції лактопротеїном з сорбітолом та НАЕС-LX-5 %.

У щурів без ОШ, яким вводили лактопротеїн з сорбітолом, показники розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки на 14, 21 та 30 добу не суттєво відрізнялись від показників розподілу лімфоцитів у щурів без ОШ, яким вводили фізіологічний розчин. У щурів без ОШ, яким вводили розчин НАЕС-

LX-5 %, у білій пульпі селезінки на 14, 21 та 30 добу також не виявили суттєвої різниці показників вмісту лімфоцитів білої пульпи селезінки при порівнянні з показниками у щурів без ОШ, яким вводили фізіологічний розчин (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

**Розподіл лімфоцитів (%) білої пульпи селезінки на пізніх стадіях опікової травми після застосування лактопротеїну з сорбітолом( $M \pm m$ )**

Види клітин	Контроль	Терміни спостереження		
		14 доба	21 доба	30 доба
ВЛ	52,4±4,5	45,3±3,3	46,8±3,5	50,1±3,5
ШЛ – з низькою активністю	10,1±1,3	7,9±0,6	8,9±0,6	11,0±0,7* <sup>Δ</sup>
ШЛ – з високою неспецифічною активністю	6,2±1,2	9,8±0,6	8,9±0,6	7,6±0,5*
ШЛ - з фагоцитарною активністю	5,5±0,6	9,2±0,6	7,8±0,5	6,1±0,4*
ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням	4,2±0,3	6,4±0,3* <sup>Δ</sup>	5,4±0,3* <sup>Δ</sup>	4,4±0,3* <sup>Δ</sup>
Лімфобласти	3,4±0,7	5,5±0,3	5,1±0,3	3,3±0,2* <sup>Δ</sup>

Примітки:

\* -  $p < 0,05$  - достовірність відмінностей відносно групи тварин з показниками попереднього терміну опікової травми після застосування лактопротеїну з сорбітолом;

Δ -  $p < 0,05$  - достовірність відмінностей відносно групи тварин аналогічного терміну опікової травми після застосування фізіологічного розчину.

Після опіку на 14 добу кількість вузькоцитоплазматичних лімфоцитів (ВЛ) білої пульпи селезінки різко зменшена, при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом мала тенденцію до збільшення ( $p > 0,05$ ), як на 14 добу, так і на 21 та 30 добу.

Ми порівняли показники розподілу лімфоцитів білої пульпи селезінки у щурів, яким після ОШ проводили застосування лактопротеїну з сорбітолом, з показниками у щурів, яким після ОШ внутрішньовенно вводили фізіологічний розчин.

Кількість широкоцитоплазматичних лімфоцитів (ШЛ) з низькою активністю на 14 та 21 добу була недостовірно більша, а на 30 добу достовірно ( $p < 0,05$ ) більша (у 1,4 рази порівняно з показниками у тварин після опіку на 30 добу без лікування, у 1,4 та 1,2 рази відповідно порівняно з показниками у щурів після опіку на 14, 21 добу, яким вводили лактопротеїн з сорбітолом). Разом з тим кількість ШЛ з високою неспецифічною активністю та ШЛ з фагоцитарною активністю на 14, 21 добу при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом на пізніх стадіях опікової травми була недостовірно менша, а на 30 добу їх кількість достовірно менша у 1,2 - 1,4 рази порівняно з такою на 21 добу та 1,3 - 1,5 порівняно з такою на 14 добу.

При ультраструктурному дослідженні у цитоплазмі ШЛ високої активності виявляли чисельні мітохондрії, окремі елементи гладкої і часто розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, а також велику кількість електронопросвітлених вакуолей, та електронощільних гранул. ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням мали округле ядро з характерним розташуванням хроматину. У цитоплазмі ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням виявляли діктіосоми пластинчатого комплексу, добре структуровані каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, велику чисельність мітохондрій, вільних і пов'язаних з мембранами рибосом, а також електронопрозорі вакуолі, та мілкі гранули (рис. 5.13).

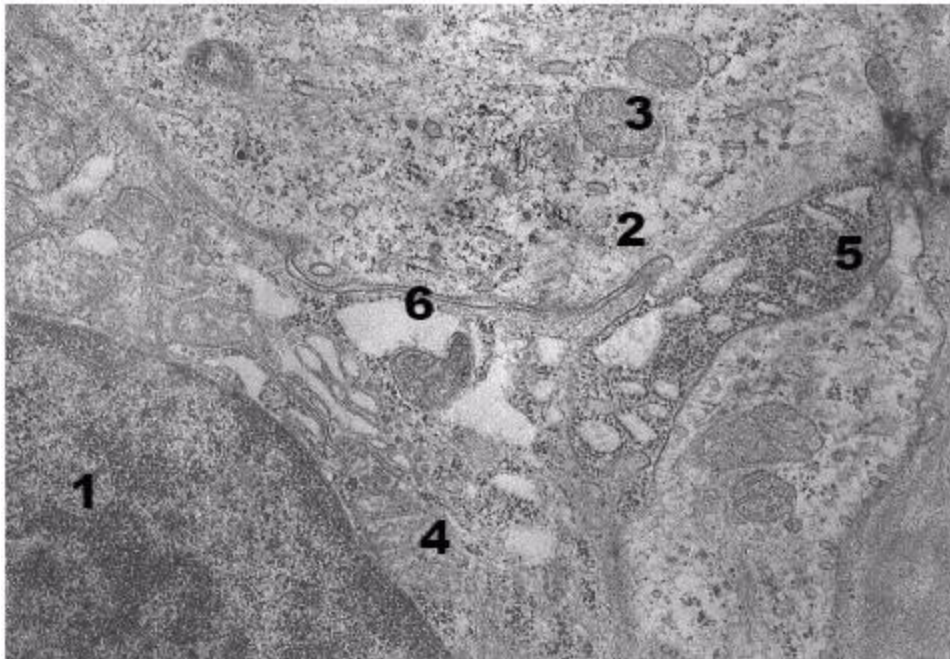


Рис. 5.13. Електронограма. Широкоцитоплазматичний лімфоцит з плазмоцитарним диференціюванням. Позначення: 1 - ядро; 2 - цитоплазма; 3 - мітохондрії; 4 - пластинчастий комплекс; 5 - каналці гранулярної ендоплазматичної сітки; 6 - електронопрозорі вакуолі. х 20000.

Кількість ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням на пізніх стадіях опікової травми після застосування лактопротеїну з сорбітолом достовірно менша ( $p < 0,05$ ) в усіх термінах спостереження. Аналогічною була динаміка показників чисельності лімфобластів білої пульпи селезінки.

Після застосування розчину НАЕС-LX-5 % розподіл лімфоцитів у білій пульпі селезінки на пізніх стадіях опікової травми теж змінювався (табл. 5.2). На 14, 21 та 30 добу ми виявили достовірні зміни у кількості ШЛ з високою неспецифічною активністю, з плазмоцитарним диференціюванням, кількість яких менша у 1,6; 1,5; 1,4 рази відповідно порівняно з показниками групи тварин аналогічного строку опікової травми після застосування фізіологічного розчину ( $p < 0,05$ ). Кількість ШЛ з фагоцитарною активністю та лімфобластів також була недостовірно менша у порівнянні з такою у щурів, яким після ОШ внутрішньовенно вводили фізіологічний розчин у такі

самі терміни дослідження та достовірно менша на 30 добу відносно групи тварин з показниками попереднього терміну опікової травми при застосуванні розчину НАЕС-LX-5 %.

Таблиця 5.2.

**Розподіл лімфоцитів (%) білої пульпи селезінки на пізніх стадіях опікової травми після застосування розчину НАЕС-LX-5 % (M±m)**

Види клітин	Контроль	Терміни спостереження		
		14 доба	21 доба	30 доба
ВЛ	52,4±4,5	47,3±5,5	48,5±4,7	49,7±4,2
ШЛ – з низькою активністю	10,1±1,3	8,1±0,6	8,7±0,7	10,0±0,8
ШЛ – з високою неспецифічною активністю	6,2±1,2	6,8±0,6 <sup>Δ</sup>	6,4±0,7 <sup>Δ</sup>	6,2±0,6 <sup>Δ</sup>
ШЛ - з фагоцитарною активністю	5,5±0,6	9,1±0,9*	7,6±0,8	5,6±0,6* <sup>Δ</sup>
ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням	4,2±0,3	5,4±0,7 <sup>Δ</sup>	5,1±0,6 <sup>Δ</sup>	4,2±0,5 <sup>Δ</sup>
Лімфобласти	3,4±0,7	5,4±0,8	5,2±0,4	3,4±0,3* <sup>Δ</sup>

**Примітки:**\* -  $p < 0,05$  - достовірність відмінностей відносно групи тварин з показниками попереднього терміну опікової травми після застосування розчину НАЕС-LX-5 %;

Δ -  $p < 0,05$  - достовірність відмінностей відносно групи тварин аналогічного терміну опікової травми після застосування фізіологічного розчину.

ШЛ з фагоцитарною активністю мали округлі або довгасті ядра часто без інвагінації каріолеми. В яких на периферії розташована незначна



кількість компактного гетерохроматину, а більшу частину займає еухроматин. Цитоплазма ШЛ з фагоцитарною активністю містила елементи гранулярної ендоплазматичної сітки, структурні компоненти комплексу Гольджі, дрібні мітохондрії, вільні рибосоми, а також чисельні лізосоми, електронопрозорі вакуолі, та характерні електронощільні гранули. Кількість ВЛ, та ШЛ з низькою активністю була більшою порівняно з такою у щурів, яким після ОШ 7діб вводили фізіологічний розчин (див. рис 5.14).

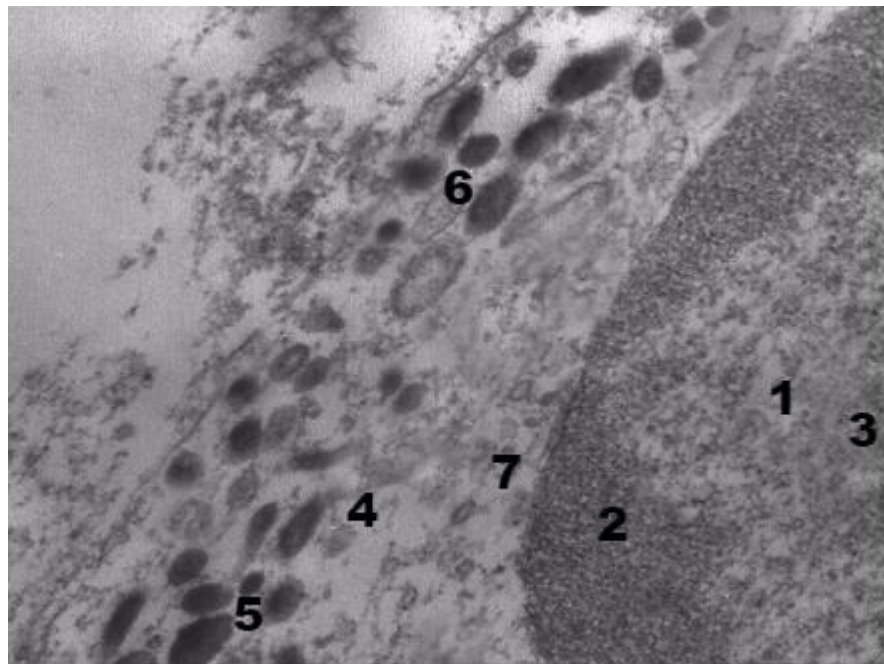


Рис. 5.14. Електронограма. Широцитоплазматичний лімфоцит з ознаками фагоцитарної активності: 1 - ядро; 2 - гетерохроматин; 3 - еухроматин; 4 - цитоплазма; 5 - електронощільні гранули; 6 - мітохондрії; 7 - каналці ендоплазматичної сітки. x 22000.

Таким чином, розчин НАЕС-LX-5 % та референс препарат лактопротеїн з сорбітолом наряду з протишоковою та дезінтоксикаційною дією, сприяють нормалізації розподілу лімфоцитів у білій пульпі селезінки. Мінімізують дію стрес - факторів, та створюють умови для стимуляції імунної системи.

Лактопротеїн з сорбітолом діє на щурів з опіками, як противошоковий,

детоксикаційний засіб, що сприяє нейтралізації метаболічного ацидозу, на 14 добу проявляє ендотеліопротекторну дію у стінках судин кровоносного мікроциркуляторного русла селезінки, що морфологічно проявлялось меншими проявами набряку тканин, діapedезних крововиливів та лейкоцитарної інфільтрації сполучної тканини у судинних трабекулах селезінки. При дії лактопротеїну на 14 добу виявляли розширені періартеріолярні зони білої пульпи селезінки, які містили більшу кількість лімфоцитів. Розширені гермінативні центри білої пульпи містили більшу кількість лімфобластів. Спостерігали гіпертрофію макрофагів та гіперплазію і активацію макрофагів в усіх зонах лімфоїдних вузликів селезінки, а також гіперплазію клітин лімфоїдних періартеріолярних піхв, у порівнянні з щурами з опіками, яким вводили фізіологічний розчин в той же термін дослідження.

На 21 добу гіпертрофовані макрофаги створювали у всіх зонах лімфоїдних вузликів ефект "зоряного неба". Повнокровні, капіляри світлих гермінативних центрів, які містили більшу кількість функціонально активних лімфобластів, що морфологічно підтверджувалось більшою кількістю мітозів. Періартеріолярні лімфоїдні піхви, були розширені і містили велику кількість Т-лімфоцитів, та гіпертрофованих макрофагів, а також В-лімфоцитів та плазмоцити. Слід відзначити коригуючий вплив лактопротеїну з сорбітолом на структуру білої та червоної пульпи селезінки в умовах септикотоксемії при опіковій травмі шкіри з 14 - ої до 30 - ої доби. Також слід відзначити особливо гіперплазію та гіпертрофію макрофагів в усіх зонах білої та червоної пульпи селезінки. На 30 добу у білій пульпі зростає структурна частка клітинної ланки імунітету.

Представлені ультраструктурні морфометричні дані розподілу лімфоцитів білої пульпи селезінки свідчать, що застосування розчину НАЕС-LX-5 %, як і застосування лактопротеїну з сорбітолом впливало на розподіл і функціональну активність лімфоцитів селезінки, а саме: кількість вузькоцитоплазматичних лімфоцитів та широкоцитоплазматичних



лімфоцитів з низькою активністю була достовірно більша, або мала тенденцію до збільшення, а кількість широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, з фагоцитарною активністю, з плазмоцитарним диференціюванням та лімфобластів білої пульпи селезінки була достовірно менша або мала тенденцію до зменшення.

Є підстави вважати, що зміна спрямованого диференціювання й активації лімфоцитів білої пульпи селезінки відображала реакцію системи імунітету на інтенсивну терапію наслідків опікової травми, як досліджуваного препарату колоїдно-гіперосмолярного розчину НАЕС-LX-5 %, так і референс препарату колоїдно-гіперосмолярного розчину лактопротеїну з сорбітолом. Представлений розподіл та особливості активації лімфоцитів білої пульпи селезінки є виразом реакції цих клітин у відповідь на застосування відповідних препаратів, які мають імуномодулюючий ефект.

5.4. Взаємозалежність між показниками ендогенної інтоксикації та показниками розподілу лімфоцитів білої пульпи селезінки щурів на пізніх стадіях опікової травми.

Ендогенна інтоксикація (ЕІ) на пізніх стадіях опікової травми (в стадію токсемії та септикотоксемії) відіграє важливу роль у патогенезі хвороби. Етіопатогенетичні механізми її поки що остаточно не вивчені, але вважається, що опікова токсемія зумовлена накопиченням в організмі низько-, середньо- та високомолекулярних сполук ендогенного походження, які мають токсичну дію [145].

Показники ЕІ у щурів на пізніх стадіях опікової травми оцінювали за допомогою визначення рівня МСМ, ЛІІ.

Лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) на 14 добу після опікової травми за умов внутрішньовенного введення 0,9 % розчину NaCl становив  $0,64 \pm 0,02$  ум. од., що в 3,2 рази вище, ніж у щурів до моделювання опікової

травми ( $p < 0,05$ ).

На 21 добу після опіку рівень ЛШ був нижчий, ніж на 14 добу після опіку у 1,5 рази, проте вищий, ніж у щурів до опікової травми у 2,2 рази, що свідчить про наявність менше вираженої ендогенної інтоксикації. На 30 добу після опікової травми рівень ЛШ був статистично значуще меншим порівняно з показниками на 14 добу опікової травми (у 2,5 рази), так і на 21 добу після опікової травми (у 1,7 рази) та наближався до показників до нанесення опікової травми [57].

Як видно з графіка (рис. 5.15), застосування лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5 % статистично значуще знизило рівень ЛШ на 14 добу (в 1,6 рази) та 21 добу (в 1,8 рази), порівняно з використанням 0,9 % розчином NaCl у аналогічні терміни.

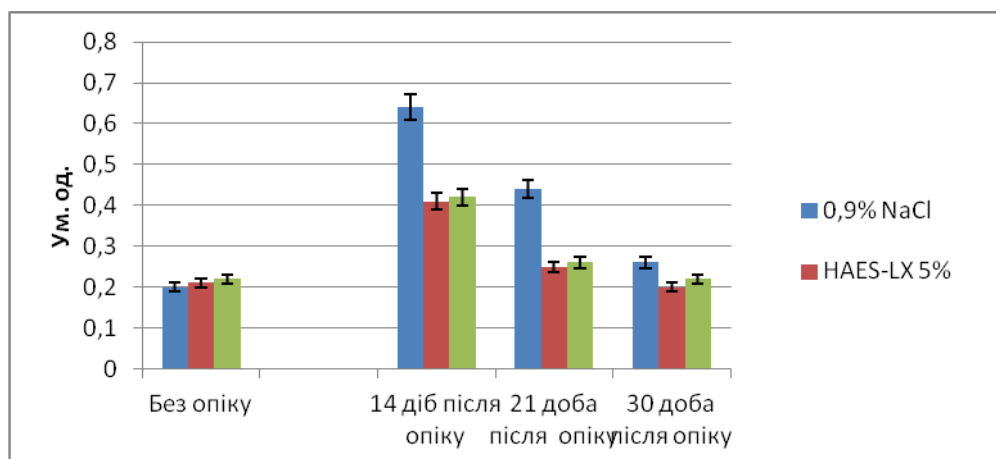


Рис. 5.15. Рівень лейкоцитарного індексу інтоксикації (ЛШ) після ОШ за умов здійснення інфузійної терапії

Рівень МСМ у щурів на пізніх стадіях опікової травми за умов здійснення інфузійної терапії NaCl на 14 добу після опіку складав  $0,88 \pm 0,019$  ум. од., що у 1,7 рази більше, ніж до моделювання опікової травми (рис. 5.16). На 21 добу після моделювання опікової травми рівень МСМ був у 1,6 рази більшим порівняно з таким у інтактних щурів та майже не змінювався

( $p > 0,05$ ), порівняно з терміном на 14 добу. Слід відмітити, що на 30 добу після ОШ за умов здійснення інфузійної терапії NaCl концентрація МСМ у щурів перевищувала рівень такої до моделювання опіку в 1,5 рази.

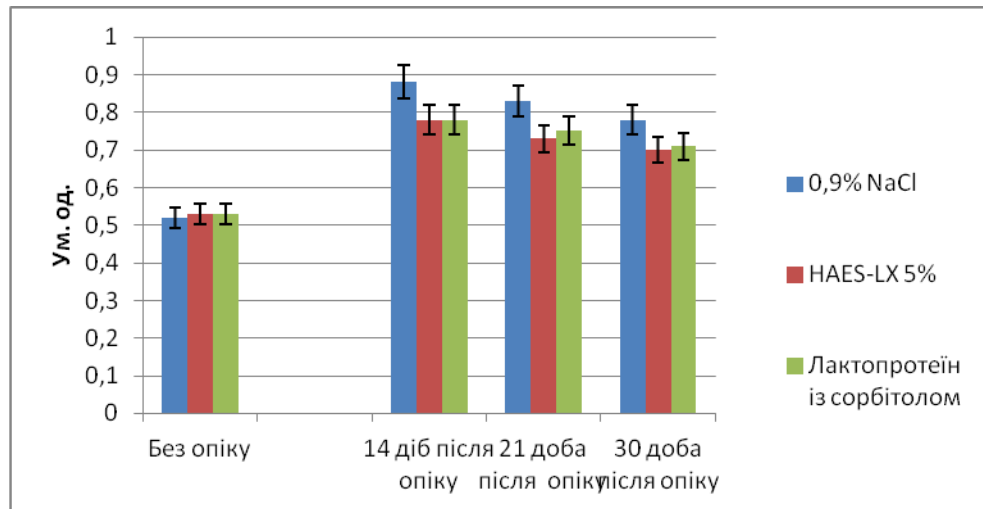


Рис. 5.16. Рівень молекул середньої маси (МСМ) після ОШ за умов здійснення інфузійної терапії.

При застосуванні лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5 % концентрація МСМ була статистично значуще менша на 14 добу (на 11,4 %) та 21 добу (на 12,1 %), порівняно з такою у щурів яким після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl у аналогічні терміни дослідження [57].

Для оцінки впливу ендогенної інтоксикації на зміни лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки щурів на пізніх стадіях опікової травми, ми провели кореляційний аналіз між показниками концентрації МСМ, ЛП у сироватці крові та показниками лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки.

Нами виявлена кореляційна взаємозалежність між показниками концентрації МСМ, ЛП та показниками лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки щурів на пізніх стадіях опікової травми в умовах застосування інфузійної терапії NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5 % (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

**Коефіцієнти кореляції між показниками ендогенної інтоксикації та розподілом лімфоцитів білої пульпи селезінки на пізніх стадіях опікової травми (ум. од.)**

Види клітин	Концентрація МСМ	ЛП
ВЛ	- 0,80*	- 0,93*
ШЛ – з низькою активністю	- 0,78*	- 0,86*
ШЛ – з високою неспецифічною активністю	0,75*	0,85*
ШЛ - з фагоцитарною активністю	0,84*	0,92*
ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням	0,81*	0,91*
Лімфобласти	0,80*	0,87*

Примітка. \* - вірогідність коефіцієнта кореляції  $p < 0,05$ .

Характеризуючи кореляційні зв'язки між розподілом лімфоцитів у білій пульпі селезінки та показниками ендогенної інтоксикації слід відмітити, що вміст лімфоцитів у білій пульпі селезінки статистично значуще залежав від рівня едогенної інтокикації. Серед клітин білої пульпи селезінки сильні прямі кореляційні зв'язки виявили між об'ємними частками ШЛ з високою неспецифічною активністю, ШЛ з фагоцитарною активністю, ШЛ з плазмоцитарним диференціюванням та показниками ЛП, концентрацією МСМ ( $r =$  від 0,78 до 0,92). Між об'ємними частками ВЛ, ШЛ з низькою активністю та показниками ЛП, концентрацією МСМ виявлені сильні зворотні кореляційні зв'язки ( $r =$  від - 0,78 до - 0,93).

Клітинний склад білої пульпи статистично значуще залежить від рівня едогенної інтоксикації. Серед клітин білої пульпи селезінки сильні прямі кореляційні зв'язки спостерігались між об'ємними частками ШЛ з високою неспецифічною активністю, ШЛ з фагоцитарною активністю, ШЛ з

плазмоцитарним диференціюванням та показниками ЛП, концентрацією МСМ ( $r =$  від 0,78 до 0,92). Між об'ємними частками ВЛ, ШЛ з низькою активністю та показниками ЛП, концентрацією МСМ виявлені сильні зворотні кореляційні зв'язки ( $r =$  від - 0,78 до - 0,93).

Результати цього розділу опубліковано у наступних працях:

1. Булько І.В. Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротеїну з сорбітолом / І.В. Булько // Галицький лікарський вісник - 2015. - Т.22. – число 3 (частина 1). - С.36 - 38.

2. Булько І.В. Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротеїну з сорбітолом / І.В. Булько // Науково - практична конференція з міжнародною участю присвяченій 75 - річчю з дня народження професора Шутки Богдана Васильовича Івано - Франківськ, 2015. – С. 19 - 20.

3. Булько І.В. Структурні зміни в селезінці щурів у пізніх стадіях опікової травми після корекції інфузійним розчином 5 % НАЕС-LX/ І.В. Булько // Вісник проблем біології і медицини. - 2016. – Вип. 2, Т. 1 - С. 360 - 363.

## РОЗДІЛ 6

ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ СЕЛЕЗІНКИ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ У ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННЯ 0,9 % РОЗЧИНУ NaCl, ЛАКТОПРОТЕЇНУ З СОРБИТОЛОМ ТА РОЗЧИНУ HAES-LX-5 %

Для диференційованої оцінки впливу опікової травми шкіри і розчинів NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5 % на стан клітинного циклу селезінки нами проведено дослідження показників проточної ДНК - цитометрії клітин селезінки у щурів без опікової травми шкіри на 14, 21 та 30 добу експерименту (табл. 6.1).

Таблиця 6.1

**Показники клітинного циклу клітин селезінки у щурів без опікової травми шкіри, яким протягом перших 7 діб вводили розчин NaCl, через 14, 21 і 30 добу від початку експерименту (M±σ)**

Доба	Показники клітинного циклу					
	G0G1	S	G2 + M	IP	SUB - G0G1	BP
14	84,03±1,33	4,48±1,48	11,48±1,74	15,96±1,33	4,35±0,97	0,39±0,02
21	85,40±1,88	3,85±0,69	10,75±1,77	14,60±1,89	4,09±0,54	0,36±0,04
30	86,39±3,38	3,95±0,78	9,64±1,85	13,59±2,37	5,09±0,64	0,40±0,04

Примітки: G0G1 – відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2с); S – відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2с та < 4с); G2 + M – відсоткове співвідношення фази G2+M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4с); IP – індекс проліферації, що визначається за сумою показників S+G2+M; BP – блок проліферації, що оцінюється за співвідношенням S/(G2 + M).

Отримані нами результати дослідження показали, що у клітинах селезінки тварин без ОШ, яким вводили 0,9 % розчин NaCl, вказують на переважання клітин у неактивну фазу G0G1, значно меншу кількість клітин, що перебувають у стані проліферації (S фаза, G2 + M фаза), та певну кількість клітин (SUB - G0G1) у стані апоптозу (рис. 6.1).

Достовірних відмінностей між аналогічними показниками клітинного циклу і фрагментації ДНК клітин впродовж усіх термінів дослідження (14,21 та 30 доба) виявлено не було.

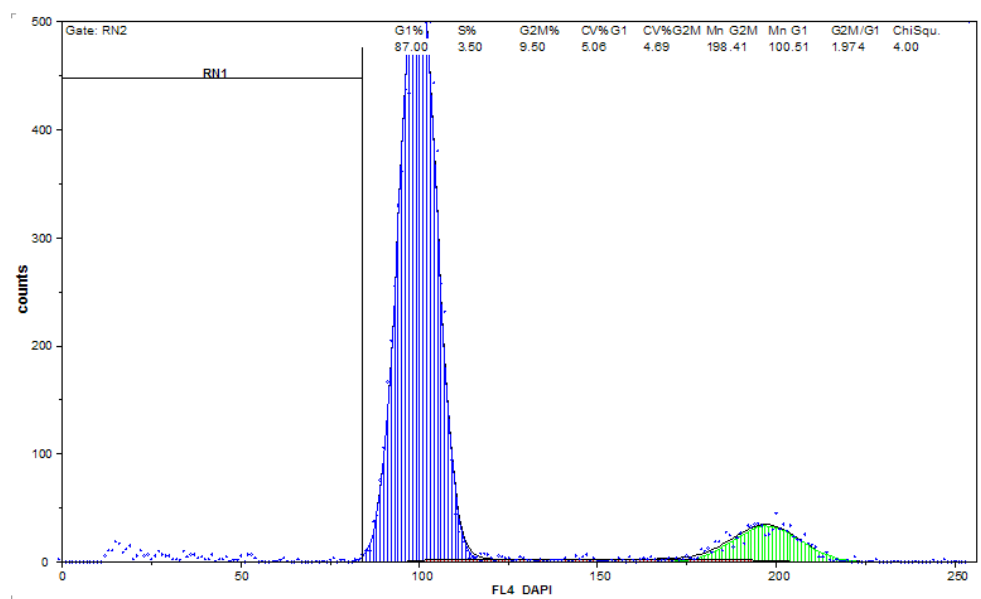


Рис. 6.1. ДНК - гістограма ядерної суспензії клітин селезінки щура без ОШ після застосування 0,9 % розчину NaCl, 30 доба дослідження. RN1 (фрагментація ДНК, SUB - G0G1) – 4,59 %

При застосуванні лактопротеїну з сорбітолом у тварин без ОШ також виявилось, що основна маса клітин селезінки щурів перебуває в фазах G0G1 та G2+M, що вказує на велику кількість клітин відповідно у стані відносного спокою та з підвищеним вмістом ДНК (табл. 6.2).



**Показники клітинного циклу клітин селезінки у щурів без опікової травми шкіри, яким протягом перших 7 діб вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, через 14, 21 і 30 добу від початку експерименту (M±σ)**

Доба	Показники клітинного циклу					
	G0G1	S	G2 + M	IP	SUB - G0G1	BP
14	85,23±1,65	4,75±0,74	10,03±1,24	14,78±1,51	5,49±1,21	0,47±0,08
21	85,62±2,04	3,36±0,67	11,03±1,79	14,39±1,27	4,21±0,78	0,31±0,08
30	85,90±1,32	3,79±0,62	10,30±1,44	14,09±1,35	5,19±0,82	0,37±0,05

Дані таблиці свідчать про існування певного балансу між процесами синтезу та фрагментації ядерної ДНК в неушкодженій тканині селезінки. Така картина спостерігається в усі терміни дослідження.

Достовірних розбіжностей значень окремих показників клітинного циклу у селезінці між групою тварин без ОШ, яким було здійснене введення розчину лактопротеїну з сорбітолом, та групою тварин без ОШ, яким вводили 0,9 % розчин NaCl, нами не встановлено ( $p > 0,05$ ).

На ДНК-гістограмах щурів без ОШ (рис. 6.2), які отримували лактопротеїн з сорбітолом, реєструвався невеликий відсоток подій, визначений в інтервалі (SUB - G0G1), що вказував на ядра з фрагментованою ДНК та на апоптотичні клітини. Показник інтервалу SUB - G0G1 складав (4,21 - 5,49) % від загальної кількості клітинних подій.

У результаті дослідження відмінностей між ефектами трьох розчинів (0,9 % розчин NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 %) у щурів без ОШ не встановлено, що дозволяє вважати їх нейтральними щодо процесів клітинного відновлення у інтактних тварин

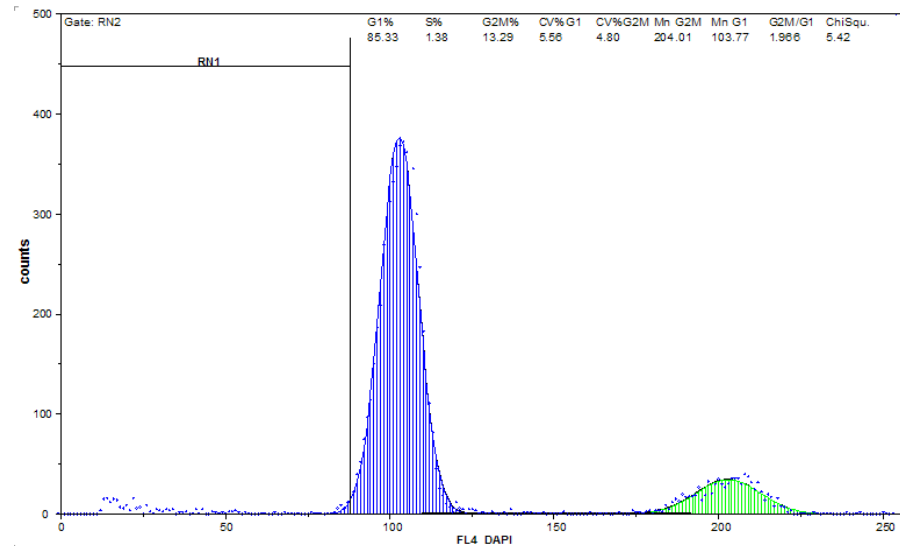


Рис. 6.2. ДНК - гістограма ядерної суспензії клітин селезінки щура без опікової травми шкіри після застосування розчину лактопротеїну з сорбітолом, 21 доба дослідження. RN1 (фрагментація ДНК, SUB - G0G1) – 4,02 %

Результати дослідження клітинного циклу клітин селезінки у щурів без опікової травми шкіри, яким протягом перших 7 діб вводили розчин НАЕС-LX-5 % (табл. 6.3), показали певну рівновагу групи клітин, які перебувають у S фазі та реєструються в інтервалі SUB - G0G1, що демонструє рівновагу у синтезі ДНК та апоптозу при відсутності термічного ураження шкіри.

Отримані нами дані засвідчили наявність практично ідентичної картини показників клітинного циклу клітин селезінки при застосуванні 0,9 % розчину NaCl, розчинів лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5 % в однакові терміни дослідження (спостерігаються лише поодинокі тенденції розбіжностей показників, як між різними препаратами в однакові терміни дослідження, так і між різними термінами дослідження), що свідчить про відсутність впливу даних препаратів на клітинний цикл клітин селезінки при відсутності патологічного впливу опікового ушкодження шкіри.

Таблиця 6.3

**Показники клітинного циклу клітин селезінки у щурів без опікової травми шкіри, яким протягом перших 7 діб вводили розчин НАЕС-LX-5 %, через 14, 21 і 30 добу від початку експерименту (M±σ)**

Доба	Показники клітинного циклу					
	G0G1	S	G2 + M	IP	SUB - G0G1	BP
14	87,74±3,83	3,71±0,74	8,54±2,85	12,25±3,12	5,71±1,29	0,43±0,08
21	85,84±1,65	3,58±0,68	10,59±1,76	14,17±1,64	5,35±0,84	0,34±0,06
30	80,80±4,18	4,54±0,75	14,65±3,73	19,19±5,45	6,39±1,92	0,31±0,08

Результати проведеного проточно - цитометричного дослідження клітинного циклу клітин селезінки у щурів без опікової травми шкіри, яким протягом перших 7 діб вводили розчин НАЕС-LX-5 %, свідчать про достатньо стабільну картину показників клітинного циклу селезінки без опікової травми, з переважанням, з одного боку, клітин, які знаходяться у фазі G0G1, і наявністю певного балансу між процесами синтезу ядерної ДНК та апоптозу (рис. 6.3).

Встановлено, що достовірних відмінностей між аналогічними показниками клітинного циклу і фрагментації ДНК клітин селезінки тварин досліджуваних груп (щури, які щоденно впродовж перших 7 діб отримували 0,9 % розчин NaCl, розчини лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5 %) впродовж усіх термінів дослідження (14, 21 та 30 доба) виявлено не було, що вказує на відсутність негативного впливу досліджуваних препаратів на перебіг нормальних процесів проліферації та апоптозу у селезінці щурів у віддалений період після їх внутрішньовенного введення.

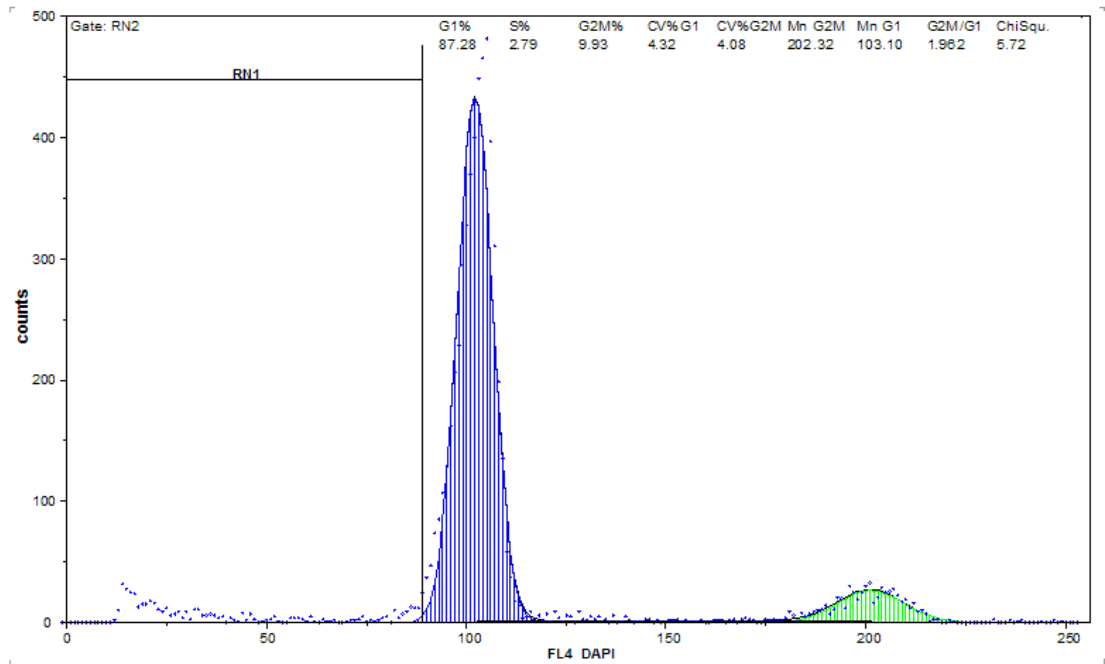


Рис. 6.3. ДНК - гістограма ядерної суспензії клітин селезінки щура без ОШ після застосування розчину НАЕС–LX-5 %, 14 доба дослідження. RN1 (фрагментація ДНК, SUB - G0G1) – 5,13 %

Таким чином, внутрішньовенна інфузія щурам без ОШ протягом 7 діб 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5 % не змінює показники клітинного циклу (G0G1 - фаза, S - фаза і G2+M - фаза) і фрагментації ДНК (інтервал SUB - G0G1 через 14, 21 та 30 добу спостереження).

Вплив опікової травми на динаміку показників клітинного циклу та фрагментації ДНК селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів вивчали на фоні корекції наслідків ОШ 0,9 % розчином NaCl.

На фоні термічного ураження шкіри та застосування впродовж перших 7 діб після опіку 0,9 % розчину NaCl у клітинах селезінки виявлялось суттєво значуще збільшення числа подій в інтервалі SUB - G0G1 (більше у 2,1 - 2,8 раза протягом усього періоду дослідження, у порівнянні з групою тварин без ОШ). Протягом усього віддаленого періоду після опікової травми шкіри (14 - 30 доба) реєструвались суттєво більші значення показників блоку проліферації ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками клітинного

циклу клітин селезінки тварин без ОШ, яким вводили 0,9 % розчин NaCl у відповідний термін експерименту (табл. 6.4).

Таблиця 6.4

**Показники клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів, яким протягом перших 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl ( $M \pm \sigma$ )**

Доба	Показники клітинного циклу					
	G0G1	S	G2 + M	IP	SUB - G0G1	BP
14	83,47±3,12	5,04±0,76	11,49±2,56	16,53±3,12	12,41±2,54 *	0,44±0,02 *
21	85,27±1,58	4,70±0,57	10,03±2,84	14,73±2,08	8,39±1,22 *	0,46±0,04 *
30	81,69±1,61 #	6,85±0,70 *#	11,47±1,28	18,32±1,41 *#	11,28±0,92 *#	0,59±0,04 *#

Примітки:

\* – статистично значущі відмінності ( $p < 0,05 - 0,01$ ) за критерієм Мана - Уїтні між показником клітинного циклу відповідної групи після опіку та аналогічним показником тварин без ОШ у той же термін експерименту;

# – статистично значущі відмінності ( $p < 0,05 - 0,01$ ) за критерієм Мана - Уїтні між показником клітинного циклу відповідної групи після опіку та аналогічним показником попереднього терміну дослідження;

На останньому етапі дослідження (30 доба) порівняно з попереднім етапом (21 доба) відзначено статистично значуще зменшення кількості клітин селезінки, що перебували у фазі G0G1 ( $p < 0,05$ ), а також реєструвались суттєво більші значення показників S - фази ( $p < 0,05$ ), інтервалу SUB - G0G1 ( $p < 0,01$ ), індексу та блоку проліферації ( $p < 0,05$ ). Одержані результати свідчать, що при стандартній корекції 0,9 % розчином NaCl у віддалений

період після опікового ураження шкіри відбувається суттєве порушення клітинного циклу селезінки, яке полягає у статистично значущому підвищенні числа подій в інтервалі SUB - G0G1 ( $p < 0,05$ ).

Характерні показники клітинного циклу клітин селезінки на 30 добу зафіксовані на ДНК – гістограмі ядерної суспензії клітин селезінки щура після ОШ та застосування 0,9 % розчину NaCl (рис. 6.4).

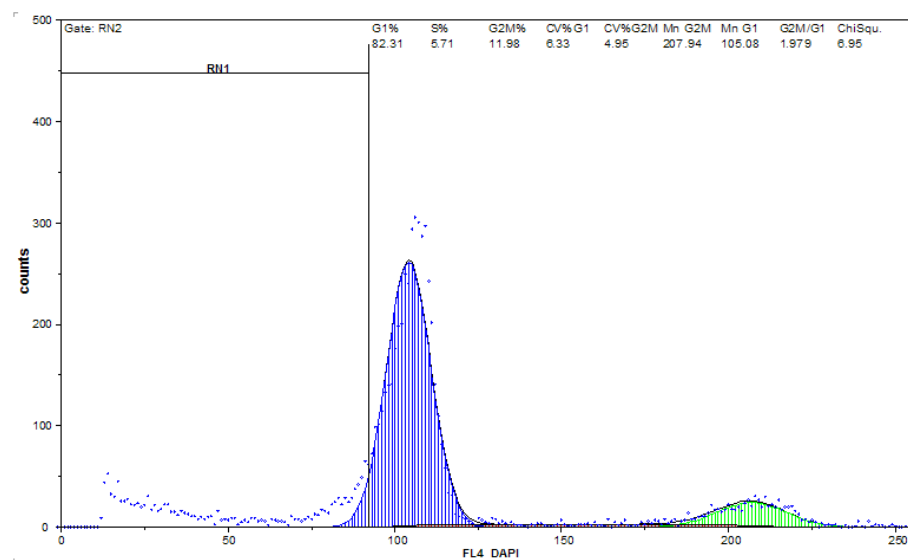


Рис. 6.4. ДНК - гістограма ядерної суспензії клітин селезінки щура після ОШ та застосування 0,9 % розчину NaCl, 30 доба дослідження. RN1 (фрагментація ДНК, SUB - G0G1) – 10,19 %

Аналіз показників клітинного циклу та фрагментації ДНК клітин селезінки через 14, 21 та 30 добу після опікового ушкодження шкіри на тлі застосування впродовж перших 7 діб розчинів лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5 % проводився у зіставленні з корекцією змодельованої патології 0,9 % розчином NaCl.

Одержані результати дозволяють констатувати, що через 14 діб після опікової травми шкіри на фоні використання розчинів лактопротеїну з сорбітолом, як і у разі застосування 0,9 % розчину NaCl у клітинах селезінки у щурів спостерігались певні зміни вмісту ядерної ДНК (табл. 6.5).

Таблиця 6.5

**Показники клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів, яким протягом перших 7 діб вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом ( $M \pm \sigma$ )**

Доба	Показники клітинного циклу					
	G0G1	S	G2 + M	IP	SUB - G0G1	BP
14	76,01±1,62 *Δ	5,79±0,54	18,20±2,21 *Δ	23,99±2,54 *Δ	7,03±1,06 Δ	0,31±0,02 *Δ
21	78,04±1,37 *Δ	5,57±0,48 *	16,39±1,58 *Δ	21,96±1,84 *Δ	3,80±0,67 #Δ	0,34±0,04 Δ
30	79,12±1,84 *	5,74±0,72 *	15,14±1,32 *Δ	20,88±1,73 *	3,80±0,59 Δ	0,38±0,04 Δ

Примітки:

\* – статистично значущі відмінності ( $p < 0,05 - 0,01$ ) за критерієм Мана - Уїтні між показником клітинного циклу відповідної групи після опіку на тлі застосування розчину лактопротеїну з сорбітолом та аналогічним показником тварин без ОШ у той же термін експерименту на тлі застосування розчину лактопротеїну з сорбітолом;

# – статистично значущі відмінності ( $p < 0,05 - 0,01$ ) за критерієм Мана - Уїтні між показником клітинного циклу відповідної групи після опіку на тлі застосування розчину лактопротеїну з сорбітолом та аналогічним показником попереднього терміну дослідження;

Δ – статистично значущі відмінності ( $p < 0,05 - 0,01$ ) за критерієм Мана - Уїтні між показником клітинного циклу відповідної групи після опіку на тлі застосування розчину лактопротеїну з сорбітолом та аналогічним показником після опіку на тлі застосування 0,9 % розчину NaCl.

При застосуванні лактопротеїну з сорбітолом через 14 діб після опіку значно меншими ( $p < 0,05$ ), у порівнянні з показниками щурів після опікового пошкодження шкіри на фоні попереднього введення протягом 7 діб експерименту 0,9 % розчину NaCl виявились показники фаз G0G1,



фрагментації ДНК (інтервалу SUB - G0G1) та блоку проліферації. Разом з тим, збільшилися показники фаз G2 + M та індексу проліферації. На 21 та 30 добу експерименту вище описані статистично значущі зміни продовжувалися (рис. 6.5), а фрагментація ДНК порівняно з 14 добою ще зменшилась у 1,85 раза ( $p < 0.05$ ).

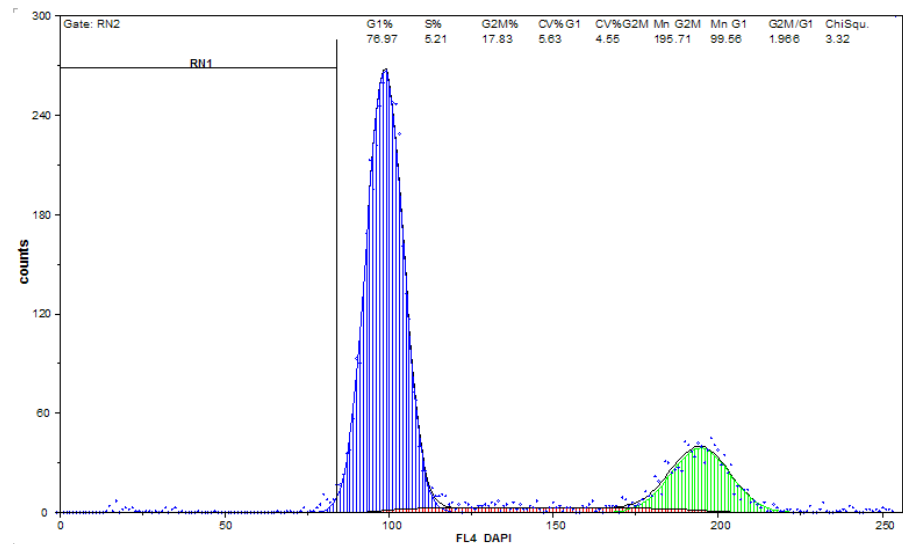


Рис. 6.5. ДНК - гістограма ядерної суспензії клітин селезінки щура після ОШ на тлі застосування 0,9 % розчину лактопротеїну з сорбітолом, 21 доба дослідження. RN1 (фрагментація ДНК, SUB - G0G1) – 3,29 %

Порівняно з показниками клітинного циклу клітин селезінки тварин без ОШ на тлі застосування розчину лактопротеїну з сорбітолом відмітили зменшення кількості клітин, які перебувають у фазі G0G1 ( $p < 0.05$ ), збільшення клітин у фазі S, фазі G2 + M та індексу проліферації ( $p < 0,05$ ).

Результати дослідження впливу розчину НАЕС-LX-5 % на показники клітинного циклу та фрагментації ДНК клітин селезінки щурів після ОШ наведені у табл. 6.6.

Вплив розчину НАЕС-LX-5 % подібний до того, який ми спостерігали при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом, коли через 14 діб після опіку значно меншими ( $p < 0.05$ ), у порівнянні з показниками щурів після опікового пошкодження шкіри на фоні попереднього введення протягом 7 діб

експерименту 0,9 % розчину NaCl виявились показники фаз G0G1, фрагментації ДНК (інтервалу SUB - G0G1) та блоку проліферації.

Таблиця 6.6

**Показники клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів, яким протягом перших 7 діб вводили розчин НАЕС-LX-5 % (M±σ)**

Доба	Показники клітинного циклу					
	G0G1	S	G2 + M	IP	SUB - G0G1	BP
14	69,8±1,47 *Δ□	5,8±0,48 *	24,3±1,85 *Δ□	30,1±2,36 *Δ□	4,5±0,52 Δ□	0,23±0,03 *Δ□
21	68,8±1,56 *Δ□	8,5±0,58 *#Δ□	22,6±1,63 *Δ□	20,2±1,92 *#Δ	6,4±0,64 #Δ□	0,4±0,04 #Δ
30	66,3±1,45 *Δ□	8,1±0,65 *□	25,6±2,05 *Δ□	33,7±2,42 *#Δ□	3,7±0,43 *#Δ	0,3±0,04 Δ

Примітки:

\* – статистично значущі відмінності ( $p < 0,05 - 0,01$ ) за критерієм Мана - Уїтні між показником клітинного циклу відповідної групи після опіку на тлі застосування розчину НАЕС-LX-5 % та аналогічним показником тварин без ОШ у той же термін експерименту на тлі застосування розчину НАЕС-LX-5 %;

# – статистично значущі відмінності ( $p < 0,05 - 0,01$ ) за критерієм Мана - Уїтні між показником клітинного циклу відповідної групи після опіку на тлі застосування розчину НАЕС-LX-5 % та аналогічним показником попереднього терміну дослідження;

Δ – статистично значущі відмінності ( $p < 0,05 - 0,01$ ) за критерієм Мана - Уїтні між показником клітинного циклу відповідної групи після опіку на тлі застосування розчину НАЕС-LX-5 % та аналогічним показником після опіку на тлі застосування 0,9 % розчину NaCl.

□ – статистично значущі відмінності ( $p < 0,05 - 0,01$ ) за критерієм Мана - Уїтні між показником клітинного циклу відповідної групи після опіку на тлі застосування розчину НАЕС-LX-5 % та аналогічним показником після опіку на тлі застосування розчину лактопротеїну з сорбітолом.

Разом з тим, збільшились показники фаз G2 + M та індексу проліферації. Проте, порівнюючи ступінь впливу, відмічено, що внутрішньовенне введення розчину НАЕС-LX-5 % порівняно з розчином лактопротеїну з сорбітолом на 6,13 % - 12,85 % більше знижувало кількість клітин у фазі G0G1 ( $p < 0.05$ ), збільшувало на 6,14 % - 10,47 % кількість клітин у фазі G2 + M, на 6,12 % - 12,83 % індекс проліферації. На 30 добу дослідження (рис. 6.6) порівняно з розчином лактопротеїну з сорбітолом додатково на 2,36 % ( $p < 0.05$ ) виявили збільшення кількості клітин у фазі S.

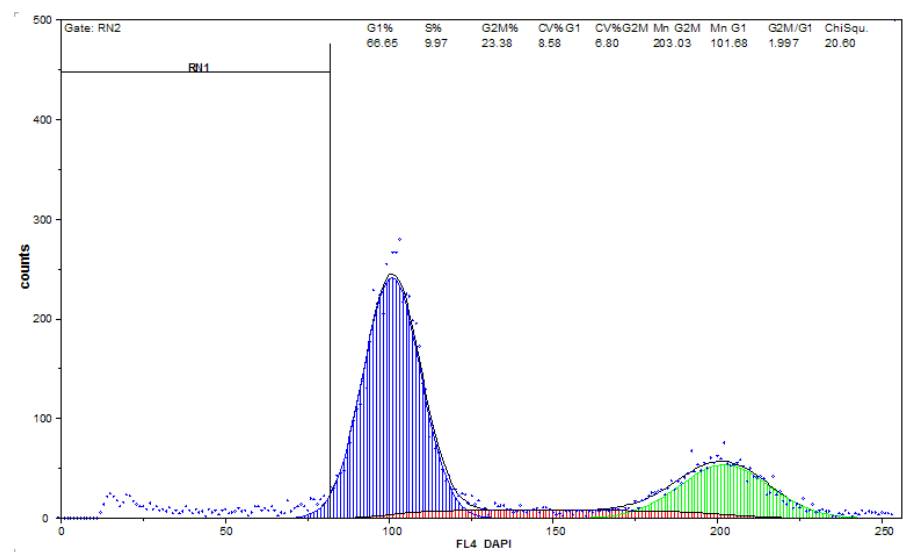


Рис. 6.6. ДНК - гістограма ядерної суспензії клітин селезінки щура після ОШ після застосування 0,9 % розчину НАЕС-LX-5 %, 30 доба дослідження. RN1 (Фрагментація ДНК, SUB - G0G1) – 5,61 %.

Оскільки при наявності різноманітних пошкоджень в організмі вірогідно збільшується синтетична активність селезінки, а патологічний вплив може реалізуватись шляхом активації апоптозу, тому, на наш погляд,

найбільш вираженими маркерами ушкодження селезінки серед показників клітинного циклу є саме показники S - фази та інтервалу SUB - G0G1.

Показники S - фази у клітинах селезінки у віддалений період після опікового ураження шкіри за умов використання розчинів лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % зростали порівняно з групою обпечених тварин, яким ввели 0,9 % розчин NaCl. Слід відмітити, що при дії лактопротеїну з сорбітолом кількість клітин у фазі S кількість клітин на 14, 21 та 30 добу була майже однаковою, в той час, коли при внутрішньовенному введенні HAES-LX-5 % на 21 добу порівняно з 14 добою вона зросла у 1,48 раза, а на 30 добу – в 1,4 раза (рис. 6.7), що може інтерпретуватись як адаптивна реакція.

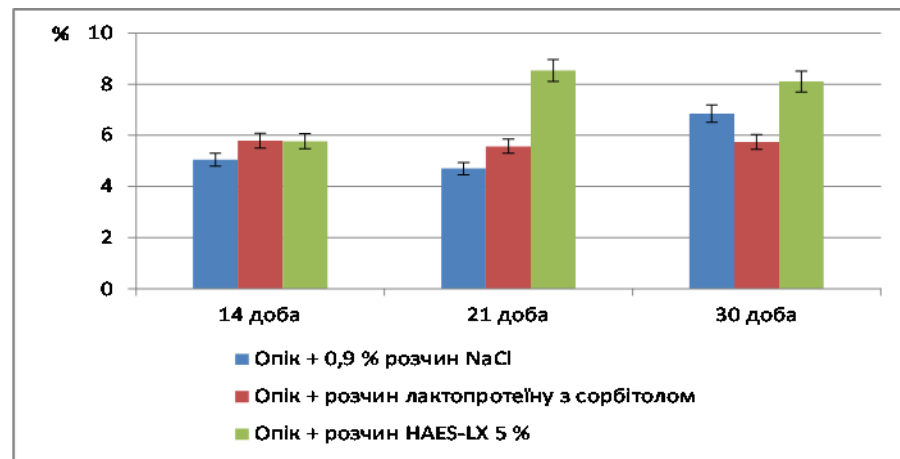


Рис. 6.7. Динаміка кількість клітин у фазі S при застосуванні 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % у віддалений період після опікового ураження шкіри.

Отже, розчин HAES-LX-5 % позитивно впливає на співвідношення показників клітинного циклу селезінки щурів у віддалений період після опікового ураження шкіри: підвищує кількість клітин у фазі проліферативної активності та зменшує кількість клітин з фрагментованою ДНК порівняно з аналогічними показниками у групі обпечених тварин, яким вводили 0,9 % розчин NaCl. Це підтверджує його цитопротекторні та антиапоптотичні

властивості.

Опікове ураження шкіри упродовж 14 – 30 доби експерименту на фоні інфузії 0,9 % розчину NaCl супроводжується суттєвим підвищенням показників інтервалу SUB - G0G1 клітин селезінки: через 14 діб у 2,85 рази, порівняно із аналогічною групою без ОШ,  $p < 0,01$ ); через 21 та 30 добу відповідно у 2,1 рази та в 1,25 рази, порівняно із аналогічною групою без ОШ,  $p < 0,01$  (рис. 6.8).

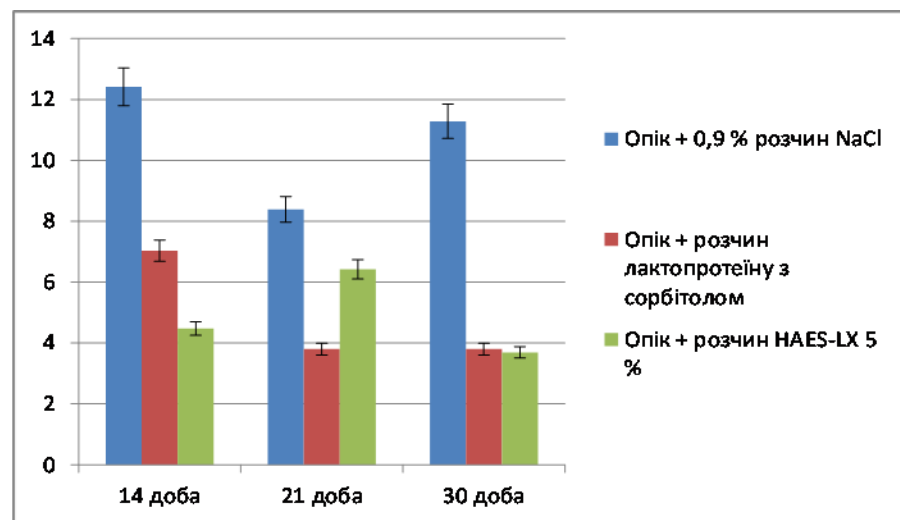


Рис. 6.8. Показники фрагментації ДНК при застосуванні 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % у віддалений період після опікового ураження шкіри.

Застосування розчинів лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % значно зменшує показники фрагментації ДНК уже на 14 добу в 1,77 рази та у 2,77 рази відповідно, порівняно з інфузією 0,9 % розчину NaCl. На 30 добу показники фрагментації ДНК були меншими у 2,97 рази та у 3,06 рази відповідно, порівняно з інфузією 0,9 % розчину NaCl у даний термін.

Показники індексу проліферації та блоку проліферації є даними, що не належать до прямих показників клітинного циклу, але вони вказують на загальні тенденції розвитку внутрішньоклітинних подій та поділу клітин на

фоні різноманітних патологічних станів та процесів. За даними ДНК - цитометрії опікове ураження шкіри щурів у віддалений період після опікового ураження шкіри на фоні інфузії 0,9 % розчином NaCl супроводжується змінами проліферативної активності селезінки у вигляді збільшення індексу проліферації ( $p < 0,05$ ). Застосування розчинів лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % збільшує показники індексу проліферації на 14 добу у 2,09 раза та у 2,43 раза відповідно, порівняно з інфузією 0,9 % розчину NaCl. На 30 добу показники індексу проліферації були більшими у 1,14 раза та у 2,98 раза відповідно, порівняно з інфузією 0,9 % розчину NaCl у даний термін.

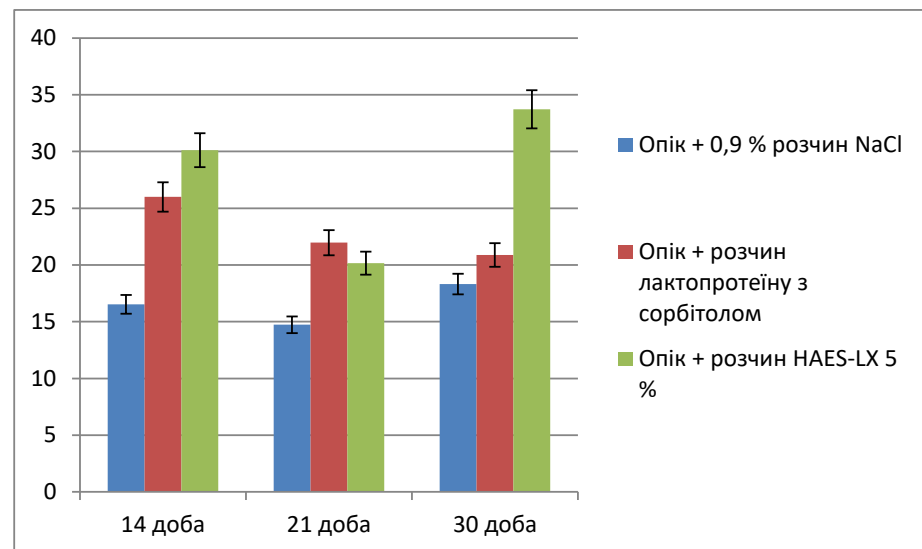


Рис. 6.9. Показники індексу проліферації при застосуванні 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % у віддалений період після опікового ураження шкіри.

Таким чином, внутрішньовенна інфузія щурам без ОШ протягом 7 діб 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 % не змінює показники клітинного циклу селезінки (G0G1 - фаза, S - фаза і G2+M - фаза) і фрагментації ДНК (інтервал SUB - G0G1) через, 14, 21 та 30 добу спостереження, що вказує на наявність певного балансу між процесами

синтезу ядерної ДНК та апоптозу.

Термічне ураження шкіри викликає збільшення кількості клітин селезінки, що перебували у фазі синтезу ДНК (S - фазі клітинного циклу) та показників фрагментації ДНК (активація апоптозу), що може засвідчувати наявність явищ активації репаративних процесів у селезінці.

Застосування лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5 % статистично значуще змінює кількість клітин у всіх фазах клітинного циклу селезінки: відбувається збільшення клітин у фазі S та G2+M ( $p < 0.05$ ), що збільшує індекс проліферації, зменшення фрагментації ДНК.

Використання розчину лактопротеїну з сорбітолом, та, особливо, розчину НАЕС-LX-5 % позитивно впливає на характеристики клітинного циклу клітин селезінки і є перспективним для удосконалення існуючих підходів щодо корекції ушкоджень селезінки на фоні ОШ.

Результати цього розділу опубліковано в наступних працях:

1. Булько І.В. Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів / Булько// Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2017. - Т. 16, № 3. - С. 76 -80.
2. Булько І.В. Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні розчину лактопротеїну з сорбітолом та розчину НАЕС-LX 5% /І.В. Булько// Матеріали науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології», присвяченої пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г.В., Роменського О.Ю., Когана Б.Й., Шапаренка П.П., Жученка С.П. (м. Вінниця, 21-22 вересня 2017року) - Вінниця. Друкарня «Тези», 2017. – С. 41-42.



## РОЗДІЛ 7

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Незважаючи на значні успіхи у вивченні патогенезу опікової хвороби та застосуванні нових ефективних методів лікування, проблема термічних опіків шкіри є надзвичайно актуальною. Актуальність проблеми підтверджується збільшенням в Україні кількості опікових травм, які виникають при техногенних катастрофах, військових діях, а також на підприємстві та у побуті [124].

Селезінка є найбільшим лімфоїдним органом в організмі людини і ссавців, який забезпечує клітинну та гуморальну імунні відповіді, вродженого і набутого імунітету, кількісний та якісний склад імуноцитів крові, лімфи й інших лімфоїдних органів [123, 146]. У селезінці лабораторних щурів переважає червона пульпа, саме тому її відносять до метаболічного (депонуючого) типу [116]. Завдяки прогресу фундаментальних наук, відбулись кардинальні зміни у трактуванні функцій селезінки та її взаємозв'язків з іншими органами та системами. У даний час селезінка вважається багатофункціональним і одним із основних імунокомпетентних органів, що виконує функцію утворення специфічних і неспецифічних антитіл [30]. Деякими авторами селезінка розглядається, як бактеріальний фільтр крові, що відіграє важливу роль у боротьбі з інфекціями. Крім того, селезінка є основним органом, який елімінує із кровотоку пошкоджені еритроцити, лейкоцити, тромбоцити та чужеродні елементи [245].

При термічних опіках шкіри у селезінці відбувається зміна співвідношення білої та червоної пульпи та їх клітинного складу, біохімічних, імунологічних та фізіологічних показників. [41, 43, 134]. При термічних опіках шкіри у макрофагах селезінки виявлено збільшення фактора некрозу пухлини - альфа. Величина і динаміка змін ФНП -  $\alpha$ , ІЛ - 1 -

β та ІЛ - 6 відображає тяжкість перебігу опікової хвороби і характер загоєння опіків [128, 223].

Завданням інфузійної терапії при опіковій травмі є зниження мікроциркуляторних порушень, особливо у внутрішніх органах, на тлі наростаючої гіповолемії. В експериментах на моделі токсичного гепатиту у кролів, при застосуванні розчину НАЕС-LX-5 % 10 мл/кг маси тіла виявили наявність дезінтоксикаційних властивостей препарату [102]. Однак дослідження дії інфузійного препарату НАЕС-LX-5 % після ОШ на структуру селезінки щурів у пізніх термінах спостереження (14, 21 та 30 добу) не проведено.

Тому метою нашого дослідження було встановити особливості морфологічних проявів пошкодження та компенсаторно - пристосувальних змін структурних компонентів селезінки щурів через 14, 21 та 30 добу після опікової травми шкіри, а також при застосуванні препарату НАЕС-LX-5 % або лактопротеїну з сорбітолом

В усіх термінах спостереження курсова інфузія щурам без ОШ 0,9 % розчину NaCl у дозі 10 мл на кг маси тіла не призводила до будь - яких структурних змін селезінки. Структурна організація селезінки щурів відповідала описаним у літературі даним щодо закономірностей будови селезінки білих щурів, інших тварин та людини [150]. У щурів без ОШ, яким перших 7 діб проводили інфузію розчину лактопротеїну з сорбітолом, у дозі 10 мл на кг маси тіла в усі терміни дослідження виявляли повнокровні просвіти кровоносних судин у білій та червоній пульпі селезінки щурів. Збільшена чисельність макрофагів у червоній та білій пульпі селезінки. Макрофаги гіпертрофовані, а їх цитоплазма містила гетерофаголізосоми. Гіперплазія та гіпертрофія макрофагів у білій та червоній пульпі селезінки є ознаками активації їх фагоцитарної функції у відповідь на дію лактопротеїну. Зважаючи на той факт, що макрофаги проявляють важливу роль у диференціюванні Т - та В-лімфоцитів у селезінці, а також у процесах фізіологічного руйнування еритроцитів та тромбоцитів, а при опіках

фагоцитують та руйнують ендотоксини, нерозчинні компоненти клітинного детриту, слід очікувати позитивний вплив лактопротеїну з сорбітолом, у корекції проявів наслідків опікової хвороби.

У щурів без ОШ, яким перших 7 діб проводили інфузію розчину НАЕС-LX-5 % у дозі 10 мл на кг маси тіла на 14, 21 та 30 добу виявляли незначне повнокрів'я судин кровоносного мікроциркуляторного русла червоної та білої пульпи селезінки. Ми не виявили активації Т - та В - залежних ділянок у лімфоїдних фолікулах та періартеріолярних піхвах білої пульпи, а також посилення фагоцитарної активності макрофагів, яке було виявлено у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту проводили інфузією розчину лактопротеїну з сорбітолом. Наші данні корелюють з отриманими даними Гумінським Ю. Й., Очеретною Н. П. (2013) [50] про вплив інфузії кровозамінника НАЕС-LX-5 % на 1, 3 та 7 добу спостереження.

Серед причин смертності пацієнтів при опіках шкіри переважають опіковий шок, ендотоксемія і системна запальна реакція. Однією із патогенетичних ланок ураження органів і систем при опіках є розвиток ендогенної інтоксикації і запальної реакції. У відповідь на місцеве термічне пошкодження клітин відбувається вивільнення значної кількості медіаторів запалення, прозапальних цитокінів, які здатні активувати розвиток системної запальної реакції [104, 120, 193]. Розвиток ендогенної інтоксикації виникає внаслідок значного збільшення кількості у крові середньомолекулярних пептидів, які виявляють системні цитотоксичні властивості [244]. Накопичення молекул середньої маси пов'язана з недостатньою активністю екзопептидаз, які здійснюють деградацію пептидів крові у нормі [129]. Відсутність чітких уявлень про походження і способи утворення, обмежені відомості щодо структури та біологічної активності молекул середньої маси не дозволяють сформулювати уяву про механізми виникнення функціональних розладів під впливом молекул середньої маси. Проте є ряд досліджень, що вказують на взаємодію молекул середньої маси з клітинними мембранами. Серед молекул середньої маси виділений ряд сполук, які мають властивості

біорегуляторів, детергентів, знижують потенціал спокою клітини та електричний опір клітинної мембрани. Важливо підкреслити відсутність суттєвих відмінностей вмісту токсинів у крові у щурів з ОШ та у щурів без ОШ, у зв'язку з чим було зроблено припущення, що участь біологічно активних молекул середньої маси крові у розвитку гострої опікової токсемії вторинна. Вважають, що в силу переваги гідрофобних амінокислотних залишків у складі середньомолекулярних пептидів, самі пептиди навряд чи присутні у значній кількості у плазмі крові та сечі, оскільки одразу після утворення вони зв'язуються ліпофільними структурами, які знаходяться у кровоносному руслі [145]. Прояви біологічної активності середньомолекулярних пептидів досить багаточисельні. Вони мають вазо - ,кардіо - ,нейро - та імунодепресивні властивості, чинять інгібуючий вплив на метаболічні процеси: дихання мітохондрій, синтез ДНК у гепатоцитах, синтез та утилізацію глюкози, синтез гемоглобіну, активність ряду ферментів. У крові обпечених тварин виявлений новий фактор (або група факторів) із групи середньомолекулярних пептидів, які активно впливають на функцію гематоенцефалічного бар'єру, тонус мікросудин та мікроциркуляцію.

Наші дослідження токсичності сироватки крові щурів з ОШ підтверджують висновки інших авторів [241], що опікова травма обов'язково викликає ендогенну інтоксикацію, що обумовлює розвиток інтоксикаційного стресу. Та свідчать, що на пізніх стадіях опікової травми - стадії токсемії та септикотоксемії (14, 21 доба), концентрація молекул середньої маси висока, та потребує медикаментозного корегування.

Рівень молекул середньої маси та лейкоцитарного індексу інтоксикації у щурів з ОШ, яким вводили розчини НАЕС-LX-5 % ,та лактопротеїну з сорбітолом у віддалений період опікової травми досягав свого максимуму через 14 діб, а мінімуму на 30 добу після термічного ураження. На 14 добу (стадія пізньої токсемії) лейкоцитарний індекс був статистично значуще вищим (у 3,2 раза) у щурів яким після ОШ 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl,

порівняно з таким у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl. На 21 добу (стадія септикотоксемії) лейкоцитарний індекс був статистично значуще вищим (у 2,2 раза). На 30 добу лейкоцитарний індекс не мав статистично значущої різниці у щурів з ОШ і без ОШ. У щурів з опіковою травмою розчин HAES-LX-5 % сприяв зниженню лейкоцитарного індексу інтоксикації ( $p < 0,05$ ) на 14 добу в 1,6 раза, на 21 добу – в 1,7 раза, на 30 добу - не мав статистично значущої різниці у порівнянні з таким у щурів без ОШ яким перших 7 діб експерименту вводили розчин HAES-LX-5 %.

При дослідженні молекул середньої маси виявили, що рівень ендогенної інтоксикації був статистично значуще нижчим у щурів без ОШ, ніж у щурів з опіком упродовж усього періоду спостережень ( $p < 0,05 - 0,001$ ) та статистично значуще вищим ( $p < 0,05$ ) у щурів з ОШ, яким вводили 0,9 % розчин NaCl, у порівнянні з таким у щурів, яким після ОШ проводили інфузію розчинів HAES-LX-5 % та референс препарату лактопротеїну з сорбітолом.

Отже, експериментальна опікова травма шкіри у щурів викликає характерну для опікової хвороби ендогенну інтоксикацію, рівень якої коригується і нормалізується інфузією застосованих комбінованих гіперосмолярних розчинів HAES-LX -5%. та референс препаратом лактопротеїном з сорбітолом.

Однією з найважливіших форм пристосування, що розвиваються в умовах патології, є компенсація - сукупність реакцій організму, що виникають при опікових пошкодженнях, спрямованих на відновлення порушених функцій [171]. Периферичні органи імунної системи лімфатичні вузли, селезінка і лімфоїдна тканина, що асоціюється з слизовими оболонками, є місцем зустрічі антигенів з імунокомпетентними клітинами, розпізнавання антигена і розвитку специфічної імунної відповіді, взаємодії імунокомпетентних клітин, їх проліферації, антиген - залежного диференціювання та накопичення продуктів імунної відповіді [72]. При дії

антигенів в імунокомпетентних органах: тимусі, селезінці, лімфатичних вузлах, червоному кістковому мозку, мигдаликах, лімфоїдних вузликах кишки, виникає реактивна, або захисна гіперплазія [14]. Причини реактивної гіперплазії різноманітні. Гіперплазія еритроцитарного ряду кісткового мозку пов'язана з підвищеним руйнуванням еритроцитів або тривалою гіпоксією, мієлоїдного - з підвищеною потребою організму у нейтрофілах, наприклад, при запаленні. Гіперплазія лімфатичних вузлів виникає у відповідь на антигенну стимуляцію. Гіперплазія білої пульпи та імунокомпетентних клітин у селезінці виявлена при септичних станах, а також в ранні терміни при опіках шкіри [50, 243]. Селезінка відіграє основну функцію в "очищенні" крові від бактеріальних [207] і вірусних частинок, які сорбуються клітинами селезінки набагато ефективніше, у порівнянні з іншими лімфоїдними органами, [243] за рахунок діяльності фіксованих мононуклеарів і дендритних клітин.

Нами встановлено характер і ступінь вираженості пошкоджень, а також пристосувальних та компенсаторних процесів у структурних компонентах селезінки через 14, 21 та 30 добу після експериментальної опікової травми шкіри.

На 14 добу експериментальної опікової травми шкіри у селезінці щурів яким вводили 0,9 % розчин NaCl виявили повнокров'я судин червоної та білої пульпи, крововиливи у судинних трабекулах. У червоній пульпі селезінки щурів, яким після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl на 14 добу виявляли значні осередки мієлопоезу. У білій пульпі селезінки щурів, яким після ОШ перших 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl, виявили типові атрофічні або токсикогенні інволютивні зміни. У лімфоїдних вузликах білої пульпи селезінки значно менші за розмірами гермінативні центри у них менша кількість лімфобластів та макрофагів, менша кількість лімфоцитів та макрофагів у періартеріальних зонах, значно менша чисельність лімфоцитів та макрофагів у маргінальних зонах, однак в останніх виявляли поодинокі гіпертрофовані макрофаги. Встановлені нами зміни селезінки щурів, яким

перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl можна трактувати, як зниження участі макрофагів у регуляції імунної відповіді. У червоній пульпі селезінки щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl, виявили звужені селезінкові тяжі. У них менша чисельність лімфоцитів, макрофагів, мегакаріоцитів у порівнянні з такими у щурів без ОШ яким перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl.

На 21 добу у червоній пульпі більше мегакаріоцитів, що є морфологічною ознакою активації екстрамедулярного тромбоцитопоезу, що слід розцінювати, як компенсаторний процес на вигоду загальмованість належного кістково - мозкового гемопоезу продуктами ендогенної інтоксикації з місця опіків [14]. Зменшена кількість лімфоцитів у періартеріальних зонах, та у періартеріолярних лімфоїдних піхвах. На 21 добу у періартеріолярних зонах лімфоїдних вузликів селезінки виявили більшу чисельність лімфоцитів та макрофагів, цитоплазма яких містила чисельні гетерофаголізосоми, що є ознакою їх функціональної активності у порівнянні з такими у щурів яким після ОШ 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl, на 14 добу. На 21 добу дослідження і на 30 добу спостерігаються розширені гермінативні центри лімфоїдних вузликів, в яких чимало макрофагів з фагоцитованими фрагментами лімфоцитів також розширені маргінальні зони, однак вони містили незначну кількість лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів, що може свідчити про активацію транспорту клітин у червону пульпу. Таким чином ми можемо зробити висновок, що у селезінці щурів яким після ОШ 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl на 30 добу спостереження не відбувається повного відновлення її структури та функції.

Необхідно відмітити, що виявлені нами морфологічні зміни у селезінці корелюють з структурними змінами у тимусі, виявлені Черкасовим Е.В. [172, 173], в аденогіпофізі, описані О. І. Ковальчуком [55, 56, 58, 85, 86, 91, 92, 93], у надниркових залозах, знайдені І. В. Дзевульською [66]. Ці зміни віддзеркалюють дисбаланс у нейроендокринній та імунній системі при опіковій хворобі [54] і відповідають сутності перебігу інтоксикаційного



стресу [7].

Аналізуючи морфологічні зміни селезінки при експериментальній опіковій травмі слід відмітити, структурні зміни багато в чому визначаються функціональним станом нейроендокринної системи [71]. Адекватна реакція організму на різноманітні пошкоджуючі впливи може здійснюватися тільки при функціональній єдності нейроендокринних систем і метаболічних процесів [105]. До числа найважливіших адаптаційних механізмів при опіковій хворобі відноситься реакція гіпоталамо - гіпофізарно - наднирникової системи. Глибокий опік шкіри при експериментальній опіковій хворобі і у клінічних умовах, викликає у перші дні після травми підвищення рівня стероїдних гормонів, а в більш пізні терміни зниження [107]. Опікову хворобу можна розглядати, як захворювання із вторинною імунологічною недостатністю, при якому особливо пригнічуються клітинні механізми захисту [130].

Зважаючи на той факт, що у щурів без ОШ яким вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом у вузликах білої пульпи Т – залежні періартеріальні зони переважали над гермінативними центрами. Чисельність макрофагів, які мали ознаки функціональної активності, в усіх зонах лімфоїдних вузликів а також у періартеріолярних лімфоїдних піхвах була більшою, ніж у щурів без ОШ, яким перших 7 діб експерименту вводили 0,9 % розчин NaCl. Ця функція, а саме утворення моноцитів, як відомо, притаманна селезінці, так само, як і утворення лімфоцитів [204]. А у щурів з ОШ гіпертрофія та гіперплазія макрофагів при дії розчину лактопротеїну з сорбітолом може вважатися позитивним фактом, оскільки макрофаги відіграють важливу роль в імуногенезі та у процесах фізіологічного руйнування еритроцитів у селезінці [229]. У цих клітинах синтезуються [238] значна кількість біологічно активних прозапальних цитокінів, фосфоліпаз, протеїназ, лізосомальних гідролаз, факторів комплементу, ейкозаноїдів, активних кисневих радикалів тощо. Лімфоїдна тканина представлена лімфоїдними вузликами, проксимальними і дистальними періартеріальними

півхами, що містять щільно запаковані агрегати лімфоцитів, макрофагів, ретикулярних, бластних клітин, отже є місцем реалізації клітинного диференціювання, кооперативних взаємодій Т- і В-лімфоцитів з фагоцитуючими антиген макрофагами, продукції нових генерацій лімфоцитів. Т-лімфоцити у періартеріальній зоні отримують інформацію про антиген від інтердигітуючих клітин периферії лімфоїдного вузлика. У періартеріолярних лімфоїдних півхах відростки макрофагів розташовані між лімфоцитами, що їх оточують, щільно контактують з ними та передають інформацію про стан мікрооточення, та стимулюють їх поділ [108, 187]. Активовані Т-лімфоцити 2 - 3 доби розмножуються та диференціюються у періартеріолярних зонах, а потім мігрують звідти у синуси маргінальної зони. Для клітинного імунітету притаманне: зростання чисельності Т-лімфоцитів у Т - залежних зонах білої пульпи селезінки, поява крупних базофільних клітин - імунобластів, фагоцитарна активність макрофагів.

Вплив лактопротеїну на щурів з опіками в якості протишокового, детоксикаційного засобу і такого, що сприяє нейтралізації метаболічного ацидозу, на 14, 21 та 30 добу призводить до більшої кількості лімфоцитів та функціонально активних макрофагів Т - залежної зони, більшої кількості лімфобластів лімфоцитів та плазмобластів у світлих гермінативних центрах та більшого числа Т - В-лімфоцитів, плазмоцитів у маргінальних зонах лімфоїдних вузликів, а також гіперплазії клітин періартеріолярних лімфоїдних півх білої пульпи, у порівнянні з такими у щурів, яким перших 7 діб після ОШ вводили 0,9 % розчин NaCl. Такі прояви опікової хвороби, як крововиливи у судинних трабекулах селезінки, тромби у трабекулярних венах селезінки характерні для цього терміну спостереження щурів, яким після ОШ 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl, у щурів, яким перших 7діб після ОШ вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом дані прояви не виявляли. Повнокрів'я синусоїдних судин червоної пульпи у щурів, яким перших 7діб після ОШ вводили розчин лактопротеїну було менше виражене .Посилення моноцитопоезу обумовлюють факторами макрофагів з вогнища запалення

зони ОШ [108, 183, 216]. У цілому, слід відзначити стимуляційний вплив лактопротеїну на лімфоїдні вузлики у селезінці з 14 - ої до 30 - ої доби. На 21 добу у періартеріолярних лімфоїдних піхвах виявляли гіперплазію В - лімфоцитів та плазмоцитів, що є морфологічною ознакою посилення гуморального імунітету. На 30 добу у лімфоїдних вузликах білої пульпи виявляли значно збільшені у розмірах періартеріолярні зони, які містили чисельні лімфоцити та гіпертрофовані макрофаги, що вказувало на збільшення структурної частки клітинної ланки імунітету.

Очеретна Н.П. виявила ультраструктурні зміни селезінки після ОШ 2 - 3 ступеню площею 21 - 23 % поверхні тіла та їх корекції інфузією розчину НАЕС-LX-5 %, у ранні терміни після опікової травми [134]. Через 3 доби у гермінативних центрах лімфоїдних вузликів селезінки виявляли чисельні лімфобласти на різних стадіях мітозу, що вказувало на підвищене утворення В-лімфоцитів, та вогнища плазмоцитів на різних стадіях диференціювання, що вказувало на посилення активності гуморального імунітету. В усіх зонах білої пульпи виявляли макрофаги, цитоплазма яких містила чисельні гетерофаголізосоми. У лімфоїдних вузликах селезінки, періартеріолярних лімфоїдних піхвах, і у червоній пульпі збільшена чисельність макрофагів, лімфоцитів та плазмоцитів. У нашому дослідженні на 14 добу, та більш на 21 добу, виявляли компенсаторне посилення тромбоцитопоезу у червоній пульпі селезінки. Відомо, що тромбоцити у зоні пошкодження при опіках шкіри наряду з макрофагами, служать основним джерелом провідного цитокіну репарації тромбоцитарного фактору росту. [128] На 21 добу та більше на 30 добу у розширених періартеріолярних Т - залежних зонах лімфоїдних вузликах селезінки виявляли чисельні лімфоцити та макрофаги, цитоплазма, яких містила гетерофаголізосоми, а також розширені маргінальні зони, які містили незначну кількість лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів, що свідчило про посилення транспортної і бар'єрної функції.

Таким чином, морфологічний аналіз динаміки структурних змін селезінки щурів з ОШ з корекцією його наслідків полягає у наступному, у

щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили у вену фізіологічний розчин на 14, 21 та 30 добу виявляли морфологічні прояви дистрофічних та деструктивних змін структурних компонентів білої та червоної пульпи селезінки.

У щурів, яким після ОШ перших 7 діб експерименту вводили у вену розчин НАЕС-LX-5 %, як і референс препарат лактопротеїн з сорбітолом на 14, 21 та 30 добу виявили статистично значущі зміни у кількості широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, з плазмоцитарним диференціюванням, кількість яких зменшувалась в 1,6; 1,5; 1,4 рази відповідно порівняно з показниками групи тварин аналогічного терміну після опікової травми при застосуванні фізіологічного розчину ( $p < 0,05$ ).

При корекції токсикогенних наслідків опіку у щурів препарат НАЕС-LX-5 %, як і референс препарат лактопротеїн з сорбітолом сприяв підтриманню помірного мієлопоезу, зростанню активації макрофагів у Т - та В – зонах лімфоїдних фолікулів та періартеріолярних лімфоїдних піхв селезінки, їх розширенню у другій половині терміну, що свідчило про відновлення балансу між ланками гуморального та клітинного імунітету.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання щодо визначення морфологічних змін селезінки у віддалений період після опікової травми та за умов корекції пошкоджень протягом перших 7 діб інфузійним розчином 0,9% NaCl та гіперосмолярними розчинами 5% HAES-LX і лактопротеїном з сорбітолом.

1. Інфузія інтактним щурам розчинів 0,9 % NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% в усіх термінах спостереження не впливала на макроморфометричні параметри: довжина селезінки дорівнювала –  $40,2 \pm 0,8$  мм; ширина –  $8,8 \pm 0,2$  мм; товщина –  $4,3 \pm 0,6$  мм, маса селезінки –  $1156 \pm 7,5$  мг. Введення розчину лактопротеїну з сорбітолом, на 14, 21 та 30 добу виявляли повнокрів'я, активацію Т- та В-залежних ділянок у лімфоїдних вузликах та періартеріолярних піхвах білої пульпи, адгезію та діapedез лімфоцитів у венулах лімфоїдних вузликів селезінки, гіперплазію та гіпертрофію макрофагів у білій та червоній пульпі селезінки, а також збільшення їх фагоцитарної активності. Введення HAES-LX-5% призводило до незначного повнокрів'я судин гемомікроциркуляторного русла червоної та білої пульпи.

2. У щурів після опіку шкіри, яким протягом перших 7 діб вводили 0,9 % розчин NaCl, на 14, 21 та 30 добу виявляли повнокров'я, активацію Т- та В- залежних ділянок у лімфоїдних вузликах та періартеріолярних піхвах білої пульпи, адгезію та діapedез лімфоцитів у венулах лімфоїдних вузликів селезінки, гіперплазію та гіпертрофію макрофагів у білій та червоній пульпі селезінки, а також збільшення їх фагоцитарної активності у відповідь на дію лактопротеїну. Довжина селезінки на 30 добу після опіку шкіри у порівнянні з контролем була більшою на 19,9% ( $p < 0,05$ ), ширина – на 19,3% більше

( $p < 0,05$ ), товщина та маса селезінки мали тенденцію до збільшення (відповідно на 4,7% та 8,3% при  $p > 0,05$ ). Кількість вузькоцитоплазматичних та широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю зменшена на 7,2% та 19,8%, відповідно. Кількість широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю збільшена на 38,7%, лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням на 45,2% та кількість лімфобластів на 38,2% ( $p < 0,05$ ).

3. Після опіку шкіри та внутрішньовенного введення впродовж перших 7 діб лактопротеїну з сорбітолом, виявлено морфологічні ознаки стимуляції активності гуморального та клітинного імунітету: гіпертрофію та гіперплазію макрофагів у білій та червоній пульпі, розширені гермінативні центри. На 14, 21, 30 добу спостереження у даних експериментальних тварин у порівнянні з групою, яка отримувала 0,9 % розчин NaCl, збільшена кількість вузькоцитоплазматичних лімфоцитів на 11,8 %, 5,4 %, 1,5% відповідно, та широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю на 1,5%, 1,4 % 2,9% відповідно ( $p < 0,05$ ).

4. Внутрішньовенне введення розчину HAES-LX-5 % після опіку шкіри протягом перших 7 діб експерименту, як і референтного препарату – лактопротеїну з сорбітолом, значно зменшує патологічні зміни у селезінці. Макрометричні параметри селезінки не мали суттєвих змін (не більше  $\pm 4$  %, при  $p > 0,05$ ) протягом усіх термінів спостереження. Чисельність лімфоцитів та макрофагів у гермінативних центрах, періартеріальній, мантийній та маргінальній зонах лімфоїдних вузликів та періартеріолярних піхвах білої пульпи, а також селезінкових тяжках червоної пульпи була більшою. У червоній пульпі збільшено число мегакаріоцитів. HAES-LX-5 % сприяє нормалізації лімфоцитарного складу білої пульпи селезінки. На 14 добу кількість вузькоцитоплазматичних лімфоцитів зменшена на 5,15%. Встановлено практично повне відновлення структури лімфоцитів білої пульпи селезінки на 30 добу спостереження, кількість вузькоцитоплазматичних, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою

активністю, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, лімфоцитів з плазмоцитарним диференціюванням та лімфобластів не відрізняється від контролю ( $p > 0,05$ ).

5. Клітинний склад білої пульпи статистично значуще залежить від рівня ендогенної інтоксикації. Серед клітин білої пульпи селезінки сильні прямі кореляційні зв'язки спостерігали між об'ємними частками широкоцитоплазматичних лімфоцитів з високою неспецифічною активністю, з плазмоцитарним диференціюванням та показниками лейкоцитарного індексу інтоксикації, концентрацією молекул середньої маси ( $r =$  від 0,77 до 0,92). Між об'ємними частками вузькоцитоплазматичних лімфоцитів, широкоцитоплазматичних лімфоцитів з низькою активністю виявлені сильні зворотні кореляційні зв'язки з аналогічними показниками ( $r =$  від -0,78 до -0,93).

6. Протягом усього віддаленого періоду після опікової травми шкіри (14-30 доба) на фоні термічного ураження шкіри та застосування впродовж перших 7 діб після опіку 0,9% розчину NaCl у клітинах селезінки виявляли статистично значуще збільшення числа подій в інтервалі SUB-G0G1 (більше у 2,1-2,8 рази протягом усього періоду дослідження, у порівнянні з групою тварин без опіку), а також реєстрували суттєво більші значення показників блоку проліферації ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками клітинного циклу клітин селезінки тварин без опіку шкіри. На останньому етапі дослідження (30 доба) порівняно з попереднім етапом (21 доба) відзначено статистично значуще зменшення кількості клітин селезінки, що перебували у фазі G0G1 ( $p < 0,05$ ), а також були зареєстровані суттєво більші значення показників S-фази ( $p < 0,05$ ), інтервалу SUB-G0G1 ( $p < 0,01$ ), індексу та блоку проліферації ( $p < 0,05$ ).

7. Застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% у порівнянні з 0,9 % розчину NaCl у віддалених термінах статистично значуще змінює кількість клітин у всіх фазах клітинного циклу селезінки: збільшення клітин у фазі S та G2+M, що підсилює індекс проліферації, зменшення



фрагментації ДНК на 14 добу у 1,77 та у 2,77 рази відповідно, на 30 добу – у 2,97 та у 3,06 рази, відповідно. Використання розчину лактопротеїну з сорбітолом, та, особливо, 5 % НАЕС-LX-5 % позитивно впливає на характеристики клітинного циклу клітин селезінки і є перспективним для удосконалення існуючих підходів щодо корекції ушкоджень селезінки.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Автандилов, Г. Г. (2002). *Основы количественной патологической анатомии*. Москва: Медицина.
2. Акмаев, И. Г., Быков, В. Л. & Волков, О. В. (Ред.) (2001). *Руководство по гистологии (частная гистология органов и тканей)* (Т. 1-2). Санкт-Петербург: СпецЛит.
3. Алексагин, М. Ю. (2006). Оценка качества жизни пациентов, перенесших термическую травму. *Скорая медицинская помощь*, 3, 221–222.
4. Алексеев, А. А. & Бобровников, А. Э. (2013). Регенеративная медицина в комбустиологии: состояние, проблемы, перспективы. *Комбустиология (электронный журнал)*, 147, 49–50.
5. Алексеев, А. А. & Лавров, В. А. (2009). Актуальные вопросы организации и состояние медицинской помощи пострадавшим от ожогов в РФ. В *Избранные труды по комбустиологии*. (с. 8–18). Саратов: Научная книга.
6. Алексеев, А. А., Бобровников, А. Е., Крутиков, М. Г., Тюрников, Ю. И. & Богданов, С. Б. (2010). *Местное консервативное лечение ран на этапах оказания помощи пострадавшим от ожогов (Клинические рекомендации)*. Москва: (б.и.).
7. Арион, В. Я., Зимина, И. В., Москвина, С. Н., Киселева, Н. М., Луканидина, Т. А., Быстрова, О. В. & Семочкин, С. В. (2008). Интоксикационный стресс и иммунокоррекция. *Аллергология и иммунология*, 9 (4), 438–440.
8. Асташова, Т. А., Анцырева, Ю. А., Казаков, О. В. & Морозов, С. В. (2005). Лимфатическая система в механизме окислительного гомеостаза при моделировании циркуляторных нарушений и их коррекции низкоэнергетическим лазерным излучением. *Бюллетень СО РАМН*, 1, 74–78.
9. Афанасьев, Ю. И. & Юрина, Н. А. (Ред.). (2012). *Гистология*,

*цитология и эмбриология* (6-е изд.). Москва: ГЭОТАР-Медиа.

10. Багрій, М. М., Діброва, В. А., Попадинець, О. Г. & Грищук, М. І. (Ред.). (2016). *Методики морфологічних досліджень*. Вінниця: Нова Книга.

11. Бебешко, Н. П. (2013). Динаміка морфологічних змін в селезінці щурів у через 1, 3 та 7 діб після ОШ при введенні фізіологічного розчину НАСЛ або лактопротеїну з сорбітолом. *Український медичний альманах*, 16 (3), 12–18.

12. Бережная, Н. М. & Сепиашвили, Р. И. (2009). Микроокружение и иммунореабилитация при различной патологии. *International Journal on Immunorehabilitation*, 11 (1), 5–9.

13. Бибик, Е. Ю. & Берест, А. Ю. (2011). Современные представления о морфогенезе первичного лимфоидного органа. *Украинский морфологический альманах*, 9 (3), 43–46.

14. Біловол, О. М., Кравчун, П. Г., Бабаджан, В. Д. & Кузнецова, Л. В. (Ред.). (2011). *Клінічна імунологія та алергологія*. Харків: Гриф.

15. Бобрышева, И. В. (2013). Морфологическая реактивность селезенки крыс различных возрастных периодов при иммуностимуляции. *Журнал клинических и экспериментальных медицинских исследований*, 1 (3), 315–321.

16. Боярська, Г. М. (2009). Інформативність імунологічних показників для оцінки ефективності проведення плазмаферезу у хворих з післяопіковими рубцевими деформаціями. *Військова медицина України*, 9 (2), 22–26.

17. Булько, І. В. (2017) Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 16(3), 76-80.

18. Булько, І. В. (2017) Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні розчину лактопротеїну з сорбітолом та розчину НАЕС-LX 5%. *Прикладні аспекти морфології. Матеріали науково-практичної конференції*,

присвяченої пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г.В., Роменського О.Ю., Когана Б.Й., Шапаренка П.П., Жученка С.П. Вінниця: Друкарня «Тези».

19. Булько, І. В. & Гумінський, Ю. Й. (2011). Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі. *Вісник морфології*, 17 (2), 227–230.

20. Булько, І. В. (2015). Динаміка гістологічних змін селезінки щурів у віддалений період після опікової травми шкіри. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 14, 2 (52), 29–32.

21. Булько, І. В. (2015). Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротеїну з сорбітолом. *Галицький лікарський вісник*, 22, 3 (1), 36–38.

22. Булько, І. В. (2015). Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротеїну з сорбітолом. *Фундаментальні науки — практичній медицині: морфо-функціональні методи дослідження онтогенетичних перетворень, фізіологічних та метаболічних процесів, змодельованих патологічних станів, при захворюваннях внутрішніх органів*, Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 75-річчю з дня народження професора Шутки Богдана Васильовича. Івано-Франківськ: (б.в.).

23. Булько, І. В. (2015). Морфологія селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри. *Природничі читання, Матеріали II науково-практичної конференції з міжнародною участю*. Чернівці: (б.в.).

24. Булько, І. В. (2016). Реакції пульпи селезінки на дію лактопротеїну з сорбітолом в умовах експерименту. *Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії, присвяченої 75-річчю від дня народження професора В.І.Проняєва*, Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. Чернівці: (б.в.).

25. Булько, І. В. (2016). Структурні зміни в селезінці щурів у пізніх стадіях опікової травми після корекції інфузійним розчином 5 % НАЕС-LX.

*Вісник проблем біології і медицини*, 2 (1), 360–363.

26. Булько, І. В. (2016). Структурні реакції пульпи селезінки на дію нового кровозамінника 5 % НАЕС-LX. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 15, 1 (55), 63–66.

27. Быков, В. Л. (2011). *Цитология и общая гистология (функциональная морфология клеток и тканей человека)*. Санкт-Петербург: СОТИС.

28. Вершигора, А. Ю., Пастер, Є. У., Колибо, Д. В., Позур, В. К. & Віхоть, М. Є. (2005). *Імунологія*. Київ: Вища школа.

29. Вишневская, Т. Я. & Капинус, В. В. (2011). Селезенка кошки в аспекте гистофизиологии лимфоидной ткани и микрососудов. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*, 3 (31), 2, 342–345.

30. Волков, В. П. (2015). Новый алгоритм морфометрической оценки функциональной иммуноморфологии селезенки. *Universum: Медицина и фармакология: электронный научный журнал*, 5–6 (18). Взято с URL: [7universum.com/ru/med/archive/item/2341](http://7universum.com/ru/med/archive/item/2341).

31. Волков, К. С. & Пасечко, Н. В. (2004). *Ультраструктура клітин і тканин (навчальний посібник-атлас)*. Тернопіль: Укрмедкнига.

32. Волков, К. С., Гетманюк, І. Б. & Небесна, З. М. (2005). Ультраструктурні зміни в міоендокринних клітинах вушок серця при тяжких опіках в експерименті. *Від фундаментальних досліджень — до прогресу в медицині, Матеріали науково-практичної конференції*. Харків: (б.в.).

33. Волков, К. С., Литвинюк, С. О. & Небесна, З. М. (2010). Структурні зміни нейроцитів гіпокампа при експериментальній термічній травмі. *Актуальні проблеми морфології, Матеріали конференції*. Тернопіль: Укрмедкнига.

34. Волков, К. С., Лучанко, Л. Д. & Самборський, М. В. (2006). Перебіг пристосувально-компенсаторних та регенераторних процесів у деяких органах травної системи при термічній травмі в умовах використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів. *Тернопіль: Вісник наукових*

досліджень, 78–79.

35. Волошин, М. А. & Таланова, О. С. (2013). Особливості розподілу глікопротеїдів у структурах селезінки в нормі та після внутрішньоутробної дії антигена. *Галицький лікарський вісник*, 20 (1), 17–19.

36. Волошин, Н. А. (2005). Лимфоцит — фактор морфогенеза. *Запорожский медицинский журнал*, 3, 122.

37. Волошин, Н. А., Григорьева, Е. А. & Куш, О. Г. (2005). Внутриутробное введение антигена — модель для изучения роли лимфоцитов в процессах морфогенеза внутренних органов. *Запорожский медицинский журнал*, 3, 120.

38. Воробьев, А. И. (Ред.). (2005). *Руководство по гематологии* (Т. 3). Москва: Ньюдиамед.

39. Габриэлян, Н. И., Левицкий, Э. Р., Щербанева, О. И. & Порядин, Н. Ф. (1983). Определение молекул средней массы у больных в критических состояниях. *Терапевтический архив*, 6, 76–78.

40. Гаврилюк-Скиба, Г. О. & Волков, К. С. (2011). Гістологічні і гістохімічні зміни селезінки в динаміці експерименту при термічній травмі. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 16, 31–34.

41. Гаврилюк-Скиба, Г. О. & Волков, К. С. (2011). Розподіл імуніцитів у структурних компонентах селезінки білих щурів у нормі. *Вісник морфології*, 17 (1), 89–92.

42. Гаврилюк-Скиба, Г. О. & Волков, К. С. (2013). Субмікроскопічні зміни структурних компонентів селезінки в ранні терміни після опікової травми в експерименті. *Світ медицини та біології*, 1 (36), 112–116.

43. Гаврилюк-Скиба, Г. О., Волков, К. С. & Довбуш, А. В. (2012). Субмікроскопічні зміни структурних компонентів селезінки при експериментальній термічній травмі. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини, Матеріали підсумкової науково-практичної конференції*. Тернопіль: Укрмедкнига.

44. Гаврилюк-Скиба, Г. О., Волков, К. С. & Небесна, З. М. (2013).

Динаміка змін макрометричних та морфометричних показників селезінки після експериментальної термічної травми. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 20, 45–48.

45. Гаврилюк-Скиба, Г. О., Волков, К. С., Шутурма, О. Я. & Довбуш, А. В. (2011). Структурні зміни селезінки в ранні терміни після опікової травми в експерименті. *Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології, Матеріали конференції*. Тернопіль: Укрмедкнига.

46. Гемонов, В. В. & Лаврова, Э. А. (2013). В Кузнецов, С. Л. (Ред.). *Гистология, цитология и эмбриология: атлас*. Москва: ГЭОТАР-Медиа.

47. Гербут, А. О. (2007). Характеристика плотности клеточных элементов структурных компонентов белой пульпы селезенки после антигенной стимуляции в эксперименте. *Клиническая анатомия и оперативная хирургия*, 6 (1), 56–58.

48. Гетманюк, І. Б. & Волков, К. С. (2010). Ультраструктурні зміни в передсердях та вушках серця при експериментальній термічній травмі. *Світ медицини та біології*, 3, 57–60.

49. Головацький, А. С., Гербут, А. О. & Кочмарь, М. Ю. (2008). Морфофункціональна характеристика періартеріальних лімфоїдних піхв селезінки білих щурів-самців різних вікових груп в нормі. *Науковий вісник Ужгородського університету, серія "Медицина"*, 34, 12–15.

50. Гумінський Ю. Й., & Очеретна Н. П. (2013) Динаміка морфологічних змін в селезінці щурів у ранні терміни після опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23 % поверхні шкіри та їх корекція інфузійним розчином НАЕС-LX-5%. *Biomedical and biosocial anthropology*, 21, 93-97.

51. Гумінський, Ю. Й. & Бебешко, Н. П. (2012). Ультраструктура селезінки щурів при інфузії колоїдно-гіперосмолярними розчинами. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 19, 114–118.

52. Гумінський, Ю. Й. & Булько, І. В. (2012). Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції. *Вісник морфології*, 18 (2), 49–53.



53. Гунас, І. В., Рудий, Ю. Й., Даценко, Г. В., Маєвський, О. Є. & Шаповал, О. М. (2003). Морфологічні прояви пошкоджень та компенсаторно-приспосувальних реакцій в легенях та печінці щурів у відповідь на наслідки локальної гіпер- та гіпотермії шкіри. *Вісник проблем біології і медицини*, 4, 73–75.

54. Гунас, І. В., Дзевульська, І. В., Черкасов, Е. В., & Ковальчук, О. І. (2014). Перебіг опікової хвороби та структурні зміни органів нейроімуноендокринної системи за умов застосування внутрішньовенної інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів. *Український морфологічний альманах*, 12 (1), 29–35.

55. Гунас, І. В., Ковальчук, О. І., Дзевульська, І. В. & Черкасов, Е. В. (2014). Патент України 92234. Київ: Державне патентне відомство України.

56. Гунас, І. В., Кондрацький, Б. О., Дзевульська І. В., Черкасов, Е. В., & Ковальчук, О. І. (2013). Структурні зміни органів нейроімуноендокринної системи при опіковій хворобі за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії гіперосмолярних розчинів. *Український морфологічний альманах*, 11 (4), 92–98.

57. Гунас, І. В., Кондрацький, Б. О., Радьога, Р. В., Нурметова, І. К., Дзевульська, І. В., Ковальчук, О. І. ... Ситнік, О. В. (2012). Динаміка змін рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів протягом місяця після ОШ II–III ступеня, площею 21–23 % поверхні тіла та її корекція інфузійними розчинами лактопротеїну з сорбітолом та 5 % НАЕС-LX. *Український морфологічний альманах*, 10 (4), 29–34.

58. Гунас, І. В., Черкасов, Е. В., Дзевульська, І. В. & Ковальчук, О. І. (2012). Динаміка різних типів клітинної смерті в тимусі, надниркових залозах, аденогіпофізі та зміни рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів при експериментальній опіковій хворобі за умов інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, 4, 10–13.

59. Гусак, В. К., Фисталь, Э. Ц., Сперанский, И. И. & Гринь, В. К.

(2000). Оценка тяжести эндогенной интоксикации и выбор метода детоксикационной терапии у обожженных по данным лейкоцитограммы и биохимического мониторинга. *Клиническая лабораторная диагностика*, 10, 36.

60. Гусак В. К., Шано В. П., Заяц Ю. В (2002) Ожоговый шок: оптимизация интенсивной терапии. *Український медичний часопис*. 5 (31). 84–88.

61. Гусак, В. К., Шано, В. П. & Миминошвили, О. И. (2000). К вопросу о диагностических критериях синдрома системного воспалительного ответа при ожоговом шоке. *Комбустиология на рубеже века, Материалы конгресса*. Москва: (б.и.).

62. Данилов, Р. К. (Ред.). (2010). *Руководство по гистологии* (2-е изд., испр. и доп.). (Т. 1). Санкт-Петербург: СпецЛит.

63. Дзевульская, И. В., Гунас, И. В., Черкасов, Э. В. & Ковальчук, А. И. (2014). Морфологическая характеристика гистогематических барьеров в органах нейроиммуноэндокринной системы при инфузионной терапии ожоговой болезни комбинированными гиперосмолярными растворами. *Хирургия. Восточная Европа*, 2 (10), 113–124.

64. Дзевульська І. В., Черкасов, Э. В. & Ковальчук, А. И. (2012) Динаміка клітинної смерті в гіпофізі, надниркових залозах і тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів та за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії лактопротеїну-С та НАЕС-LX-5%. Матеріали IV (66) Міжнародного науково-практичного конгресу студентів і молодих вчених «Актуальні питання сучасної медицини». – Український науково-медичний молодіжний журнал. Спецвип. 3, 208–209.

65. Дзевульская, И. В., Маликов, А. В. & Титаренко, В. Н. (2014). Влияние гиперосмолярных растворов на микроциркуляцию в коре надпочечников при термическом ожоге у крыс. *Вісник проблем біології і медицини*, 3, 2 (111), 289–293.

66. Дзевульська, І. В. (2015). Мікроскопічна картина надниркових залоз протягом місяця у щурів, яким протягом перших семи діб вводили розчин 5 % НАЕС-LX. *Вісник морфології*, 21 (1), 81–83.
67. Дзевульська, І. В., Черкасов, Е. В. & Ковальчук, О. І. (2012). Вплив внутрішньовенної інфузії лактопротеїну-С та 5 % НАЕС-LX при експериментальній опіковій хворобі на летальність у щурів. *Морфологія на сучасному етапі розвитку науки, Матеріали науково-практичної конференції*. Тернопіль: ТДМУ.
68. Жданов, В. В., Лукьянова, Т. А. & Кириєнкова, Е. В. (2002). Механізми кровотворення у бестимусних мишей. *Бюллетень експериментальної біології і медицини*, 133(5), 522–524.
69. Жернов, О. А., Осадча, О. І., Жернов, А. О., Назаренко, В. М. & Стаскевич, С. В. (2011). Лікування післяопікових та післяопераційних рубців із застосуванням засобів крем Карипаїн та гель Карипаїн Ультра. *Клинические исследования в Республиканском ожоговом центре*. Київ. Взято з [http://www.karipain.net.ua/ru/page/84/klynnycheskye\\_yssledovanyja\\_v\\_republykanskom\\_ozhegovom\\_tsentre\\_2011\\_g](http://www.karipain.net.ua/ru/page/84/klynnycheskye_yssledovanyja_v_republykanskom_ozhegovom_tsentre_2011_g)
70. Западнюк, І. П., Западнюк, В. І., Захарія, Е. А. & Западнюк, Б. (1983). *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте*. Київ: Вища школа.
71. Казаков, В. Н., Снегирь, М. А., Снегирь, А. Г. Гайдарова, Е. В., Ивнев, Б. Б. & Натрус, Л. В. (2004). Пути взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем в регуляции функций организма. *Архив клинической и экспериментальной медицины*, 13 (1), 3–10.
72. Калинина, Е. Ю. & Ягмуров, О. Д. (2015). Морфофункциональные изменения органов иммунной системы при отравлениях бытовым газом. *Современные проблемы науки и образования*, 3. Взято с URL: [www.science-education.ru/123-19884](http://www.science-education.ru/123-19884)
73. Кальф-Калиф, Я. Я. (1941). О лейкоцитарном индексе интоксикации и его практическом значении. *Врачебное дело*, 1, 31–33.

74. Капитонова, М. Ю., Нестерова, А. А. & Мураева, Н. А., Краюшкин, А. И., Хлебников, В. В, Чернов, Д. А. & Смирнова, Т. С. (2006). Соотношение иммуномодуляционных сдвигов в центральных и периферических органах иммунной защиты при хроническом стрессе. *Морфология*, 5, 49–50.
75. Каплін, М. М. (2002). *Імунна система: фізіологія і патологія*: навч. посіб. для студ. вищ. мед. закл. освіти. Суми: (б.в.).
76. Кащенко, С. А., Золотаревская, М. В., Станишевская, Н. В. & Войновская, Л. Г. (2013). Строение селезенки белых крыс подсосного возраста. *Таврический медико-биологический вестник*, 16 (1), 1, 104–106.
77. Клименко, М. О. & Нетюхайло, Л. Г. (2009). *Опікова хвороба (патогенез і лікування)*. Полтава: (б.в.).
78. Клименко, М. О., & Нетюхайло, Л. Г. (2005). Лейкоцитарна реакція крові та клітинні реакції ушкодженої шкіри в різні стадії експериментальної опікової хвороби. *Медицина сьогодні і завтра*, 2, 4–9.
79. Клименко, М. О., Суббота, Л. Г. & Нетюхайло, Л. Г. (2006). Клітинні реакції ділянки ушкодженої шкіри і периферичної крові в різні стадії опікової хвороби. *Експериментальна і клінічна медицина*, 2, 5–11.
80. Клименко, Н. А., Татарко, С. В. & Сорокина, И. В. (2008). Морфофункциональное состояние селезёнки в динамике вторичного хронического воспаления. *Експериментальна та клінічна медицина*, 3, 17–20.
81. Клименко, Н. А., Татарко, С. В. & Сорокина, И. В. (2008). Морфофункциональное состояние селезёнки в динамике первичного хронического воспаления. *Український морфологічний альманах*, 6, 52–54.
82. Клименко, Н. А., Татарко, С. В. & Сорокина, И. В. (2008). Морфофункциональное состояние селезёнки при остром инфекционном воспалении. *Експериментальна та клінічна медицина*, 2, 17–22.
83. Клименко, Н. А., Татарко, С. В. & Сорокина, И. В. (2009). Морфофункциональное состояние селезёнки в динамике хронического иммунного воспаления. *Експериментальна та клінічна медицина*, 1, 35–37.

84. Клименко М. О. Нетюхайло, Л. Г. (2012). Патобіохімія обміну речовин / М. О. Клименко, Л. Г. Нетюхайло. – Полтава, 2012. – 137 с.
85. Ковальчук, А. И., Черкасов, Э. В., Дзевульская, И. В., Черкасов, В. Г., Маликов, А. В., Титаренко, В. Н. & Лахтадыр, Т. В. (2014). Влияние комбинированных гиперосмолярных растворов на нанопроцессы в стенке кровеносных капилляров и в интерстициальном матриксе внутренних органов при ожоговой болезни. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, 2 (81), 5–10.
86. Ковальчук, О. І. (2012). Стан соматотропних клітин аденогіпофізащурів при експериментальній опіковій травмі шкіри та його корекції колоїдно-гіперосмолярними розчинами. *Український морфологічний альманах*, 10, 2, 202–205.
87. Ковальчук, О. І. (2013). Динаміка ультраструктурних змін капілярного русла аденогіпофіза за умов експериментальної опікової хвороби. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, 2 (73), 8–11.
88. Ковальчук, О. І. (2013). Показники клітинного циклу в аденогіпофізі у ранні терміни після опікової травми шкіри у щурів за умов окремої інфузії у перші 7 діб 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або HAES - LX 5 %. *Науковий вісник НМУ імені О.О. Богомольця*, 2 (41). 64–69.
89. Ковальчук, О. І. (2013). Ультраструктурна організація аденогіпофіза в гострому періоді опікової хвороби та застосуванні дезінтоксикаційних розчинів. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, 1, 14–18.
90. Ковальчук, О. І. (2013). Фармакокорекція патологічних змін при опіковій хворобі (експериментальні дослідження). *Науковий вісник НМУ імені О. О. Богомольця*, 3 (42), 132–137.
91. Ковальчук, О. І. (2015). Автофагія і кринофагія в аденогіпофізі щурів за умов лікування опікової хвороби інфузією лактопротеїну з сорбітолом. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, 3 (89), 15–

19.

92. Ковальчук, О. І. (2016). Патогенез опікової хвороби: сучасні аспекти. *East European Scientific Journal*, 1, 2 (6), 58–66.

93. Ковальчук, О. І., Дзевульська, І. В., Титаренко, В. М. & Гунас, І. В. (2013). Динаміка ультраструктурних змін капілярного русла аденогіпофіза та надниркових залоз за умов експериментальної опікової хвороби. *Морфологічні основи наукових досліджень у медицині, Матеріали наукової конференції, присвяченої 110-річчю з дня народження М. І. Зазибіна*. Київ: (б.в.).

94. Ковальчук, О. І., Дзевульська, І. В., Черкасов, Е. В. & Гунас, І. В. (2014). Механізми структурної трансформації гістогематичних бар'єрів органів нейроімуноендокринної системи за умов інфузійної терапії опікової хвороби. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 13 (2), 69–74.

95. Ковальчук, О. І., Черкасов, В. Г., Дзевульська, І. В. & Гунас, І. В. (2015). Морфологічні зміни гіпофізарно-адреналової системи шурів при термічній травмі. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, 1 (86), 10–16.

96. Ковальчук, О. І., Черкасов, Е. В., Дзевульська, І. В. & Гунас, І. В. (2014). Вплив ендогенної інтоксикації на структурні зміни органів нейроімуноендокринної системи за умов лікування опікової хвороби комбінованими гіперосмолярними розчинами. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, 1 (79), 42–46.

97. Козинець, Г. П., Коваленко, О. М. & Слесаренко, С. В. (2006). Опікова хвороба. *Мистецтво лікування*, 12, 9–15.

98. Козинець, Г. П., Коваленко, О. М., Повстяний, М. Ю. (2004). Ожоговая болезнь: современные методы лечения. *Журнал практичного лікаря*, 1, 19–23.

99. Кондрацкий, Я. Б. (2014). Токсикологическая характеристика нового коллоидно-гиперосмолярного инфузионного раствора. *Гематологія і переливання крові, Міжвідомчий збірник*, 37, 284–293. Київ: (б.в.).

100. Кондрацький, Б. О., Новак, В. Л. & Кондрацький, Я. Б. (2009). Патент України 93776С2. Київ: Державне патентне відомство України.
101. Кондрацький, Б. О., Новак, В. Л. & Кондрацький, Я. Б. (2011). Патент України 93776. Київ: Державне патентне відомство України.
102. Кондрацький, Б. О., Новак, В. Л. & Кондрацький, Я. Б. (2015). Вплив нового інфузійного препарату 5 % НАЕС-LX на перебіг експериментального токсичного гепатиту. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*, 2, 19–27.
103. Кострова, О. Ю., Стручко, Г. Ю., Меркулова, Л. М., Михайлова, М. Н. & Москвичев, Е. В. (2015). Влияние удаления селезенки у крыс-самок на морфофункциональное состояние надпочечников потомства. *Acta medica Eurasica*, 1–2, 6–11. Взято с URL: [acta - medica - eurasica.ru/single/2015/1/2/](http://acta-medica-eurasica.ru/single/2015/1/2/).
104. Кризина, П. С., Письменна, О. В., Кузнецов, М. Ю. & Лісовий, Д. Є. (2010). Застосування нанодисперсного феромагнетичного гелю для місцевого лікування опікових ран. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 9 (3), 45–47.
105. Кронберг, Г. М., Мелмед, Ш., Полонски, К. С. & Ларсен, П. Р. (2010). Дедов, И. И., Мельниченко, Г. А. (Ред.). *Нейроэндокринология*. Москва: ООО Рид Элсивер.
106. Крылов, К. М., Филиппова, О. В., Шлык, И. В. & Ильина, В. А. (2006). Роль раневой инфекции в развитии системного воспалительного ответа у пострадавших с тяжёлой термической травмой. *Скорая медицинская помощь*, 7 (3), 61–62.
107. Кузин, М. И. (2000). Синдром системного ответа на воспаление. *Хирургия*, 2, 54–60.
108. Кузнецова, Е. П., Линькова, Н. С., Дудков, А. В. & Войцеховская, М. А. (2013). Селезенка: онтогенез и старение. *Геронтология*, 2, 135–144.
109. Кузник, Б. И. & Максимова, О. Г. (2007). *Общая гематология*. Москва: Феникс.

110. Кухар, І. Д. & Камінська, Н. А. (2002). Зміни питомої площі та об'ємної щільності ядер спонгіоцитів кори наднирників після впливу опіку і кріодеструкції на шкіру тварин. *Вісник морфології*, 8 (1), 29–30.
111. Лапач, С. Н., Чубенко, А. В. & Бабич, П. Н. (2001). *Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel бизнесе*. Київ: МОРИОН.
112. Лапач, С. Н., Чубенко, А. В. & Бабич, П. Н. (2002). *Статистика в науке и бизнесе*. Київ: МОРИОН.
113. Литвинюк, С. О. & Волков, К. С. (2011). Морфологічні зміни гіпокампа при експериментальній термічній травмі. *Український морфологічний альманах*, 9 (3), 166–167.
114. Лопухин, Ю. М. (2003). *Биоэтика: избранные статьи и доклады (1993–2003)*. Москва: ГЭОТАР-МЕД.
115. Луцик, О. Д., Іванова, А. Й., Кабак, К. С. & Чайковський, Ю. Б. (2003). *Гістологія людини*. Київ: Книга Плюс.
116. Макалиш, Т. П. (2013). Морфофункціональні особливості селезенки при впливі на організм факторів різного генеза. *Тавричеський медико-біологічний вестник*, 16, 1 (1), 265–269.
117. Макарова, О. І. & Чайковський, Ю. Б. (2014). Особливості ультраструктурних змін в респіраторному відділі легень щурів у віддалений період після термічної травми за умов її корекції колоїдно-гіперосмолярним інфузійним розчином 5 % НАЕС-LX. *Світ медицини та біології*, 4 (46), 115–120.
118. Мельникова, В. І., Афанасьєва, М. А., Сапожников, А. М. & Захарова, Л. А. (2006). Динаміка апоптоза і проліферації в тимусі і селезенці крыс в перинатальному онтогенезі. *Онтогенез*, 37 (4), 286–291.
119. Миндюк, М. В., Качоровський, Б. В., Новак, В. Л., Винарчик, М. Й., Кондрацький, Б. О. & Орлик, В. В. (2000). Патент України 32467С2. Київ: Державне патентне відомство України.
120. Михальчик, Е. В., Питерская, Ю. А., Липатова, В. А.,



Пеньков, Л. Ю., Ибрагимова, Г. А. & Коркина, Л. Г. (2009). Активность антиоксидантных ферментов в ране при глубоких ожогах. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 147 (6), 696–699.

121. Молдавская, А. А. & Долин, А. В. (2005). Селезенка человека в эмбриональном периоде развития. *Современные наукоемкие технологии*, 7, 21–22.

122. Молдавская, А. А. & Долин, А. В. (2007). Морфофункциональные аспекты строения селезенки на этапах пренатального онтогенеза. *Морфологические ведомости*, 1–2, 281–284.

123. Мороз, Г. О. (2009). Динаміка відносної маси наднирникових залоз, тимуса і селезінки щурів під впливом гіпергравітації. *Морфологія*, 3 (2), 42–46.

124. Нагайчук, В. И. (2008). Теория и практика нейтрализации гипертермического экзо- и эндогенного факторов поражения. *Актуальные проблемы лечения термических поражений и их последствий, Материалы республиканской научно-практической конференции, посвященной 40-летию Белорусского республиканского ожогового центра на базе УЗ ГК БСМП*. Минск: ДокторДизайн.

125. Нагайчук, В. І. (2010). Сучасні підходи до надання допомоги хворим з опіками. *Мистецтво лікування*, 5, 24–27.

126. Назаров, И. П., Мальцева, М. А. & Колегова, Ж. Н. (2006). *Интенсивная терапия ожоговой болезни*. Красноярск: КГМА.

127. Небесна, З. М. (2015). Морфологічні та гістохімічні зміни легень у пізні терміни після експериментальної термічної травми. *Вісник морфології*, 1 (21), 106–110.

128. Нетюхайло, Л.Г. & Басараб, Я.О. (2014) Механізми запалення у обпечених (огляд літертури). *Young Scientist*, 4(07), 89-98.

129. Нетюхайло, Л. Г. (2005). Молекули середньої маси — маркери ендогенної інтоксикації в усі стадії експериментальної опікової хвороби. *Современные проблемы токсикологи*, 3, 57–58.

130. Нетюхайло, Л. Г., Харченко, С. В. & Костенко, А. Г. (2010). Патогенез опікової хвороби (Ч. 1). *Світ медицини і біології*, 1, 127–131.
131. Нетюхайло, Л. Г., Харченко, С. В. & Костенко, А. Г. (2011). Патогенез опікової хвороби (Ч. 1–2). *Світ медицини та біології*, 1, 127–131, 131–135.
132. Орлик, В. В. & Семененко, А. І. (2008). Інфузійно-трансфузійна терапія в комбустіології. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 12 (2), 459–463.
133. Островский, В. К., Макаров, С. В., Янголенко, Д. В., Родионов, П. Н. & Кочетков, Л. Н. (2006). Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях. *Клиническая лабораторная диагностика*, 6, 50–53.
134. Очеретна, Н. П. (2013). Динаміка ультраструктурних змін в селезінці щурів у ранні терміни (1, 3, 7 доба) після ОШ 2–3 ступеня площею 21–23 % поверхні тіла та їх корекція інфузійним розчином 5 % НАЕС-LX. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 17 (2), 460–464.
135. Очеретнюк, А. О., Гунас, І. В. & Небесна, З. М. (2013). Ультраструктурний стан респіраторного відділу легень в ранні терміни після експериментальної термічної травми за умов застосування інфузійного розчину 5 % НАЕС-LX. *Український морфологічний альманах*, 11 (2), 77–79.
136. Пастернак, Г. И. (2007). Патофизиологические аспекты длительности ожогового шока у детей. *Український журнал екстремальної медицини імені Г. О. Можасєва*, 8 (2), 52–54.
137. Пастернак, Г. И. (2010). Вплив термічної травми м'яких тканин на рівень концентрації циркулюючих імунних комплексів та його корекція 2% засобом „Кротозин”. *Світ медицини та біології*, 3, 75–78.
138. Пенкальський, О. О., Рошчін, Г. Г., Вершигора, А. В., Близнюк, М. Д., Лобода, Г. Г. & Гонтаренко, В. О. (2015). Сучасні підходи до проведення інфузійно-трансфузійної терапії на догоспітальному етапі.

*Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України, Матеріали IV Міжнародного медичного конгресу. Київ: (б.в.).*

139. Петренко, В. М. (2011). Морфогенез периваскулярних лимфоїдних узелков. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*, 3, 17–21.

140. Петров, Р. В., Михайлова, А.А., Фолина, Л.А. & Степаненко, Р. Н. (2001). *Миелопептиды*. Москва: Наука.

141. Пикалюк, В. С., Бойчук, Т. М., Антонюк, О. П. & Макаліш, Т. П. (2013). *Ембріологічний словник*. Сімферополь-Чернівці: (б.в.).

142. Півторак, В. І. & Булько, М. П. (2009). Морфологічні зміни селезінки при високій гострій кишковій непрохідності. *Актуальні проблеми функціональної морфології та інтегративної антропології, Матеріали науково-практичних конференцій з міжнародною участю, присвячених 30-річчю науково-дослідної лабораторії та генетики розвитку ВНМУ ім. М. І. Пирогова та пам'яті професорів морфологів Г. В. Терентьєва, О. Ю. Роменського, Б. Й. Когана*. Вінниця: (б.в.).

143. Півторак, В. І. & Булько, М. П. (2010). Структурні зміни селезінки при хірургічному лікуванні високої гострої тонкокишкової непрохідності в умовах ентеродетоксикації. *IV Міжнародні Пироговські читання, Науковий конгрес, присвячений 200-річчю з дня народження М. І. Пирогова; V з'їзд АГЕТ України, Матеріали конференції*. Вінниця: Нілан ЛТД.

144. Півторак, В. І., Булько, М. П. & Хурані, І. Ф. (2008). Клітинний склад імунокомпетентних зон селезінки при високій гострій обтураційній кишковій непрохідності та її хірургічній корекції. *Вісник морфології*, 14 (2), 297–300.

145. Повстяний, М. Ю., Шейман, Б. С. & Осадча, О. І. (2001). Динаміка токсометричних показників у хворих з тяжкими та вкрай тяжкими опіками. *Шпитальна хірургія*, 4, 53–56.

146. Прасолова, Л. А., Оськина, И. Н. & Шихевич, С. Г. (2004). Влияние рестрикционного стресса на некоторые морфофункциональные характеристики селезенки у крыс разного поведения. *Морфология*, 125, 59–63.
147. Ройт, А. Бростофф, Дж. & Мейл, Д. (2000). *Иммунология*. Москва: Мир.
148. Рябикина, А. И., Капитонова, М. Ю., Нестерова, А. А. & Морозова З. Ч. (2008). Онтогенетические аспекты стромально-паренхиматозных взаимоотношений в селезенке. *Морфология*, 132 (2), 58.
149. Сапин, М. Р. & Никитюк, Д. Б. (2000). *Иммунная система, стресс и иммунодефицит*. Москва: АПП Джаигар.
150. Сапин, М. Р. (2012). Лимфатическая система и ее роль в иммунных процессах. *Морфология*, 141 (3), 139.
151. Сахаров, С. П. & Иванов, В. В. (2010). Реакция иммунной системы у детей раннего возраста на ожоговую травму. *Фундаментальные исследования*, 7, 201–205.
152. Сахаров, С. П., Иванов, В. В., Зороастров, О. М. & Зороастров, М. О. (2010). Анализ летальных исходов у детей при ожоговой болезни. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*, 3 (3), 256–259.
153. Семененко, А. І., Кондрацький, Б. О. & Яковлева, О. О. (2010). Порівняльна оцінка терапевтичного ефекту колоїдно-гіперосмолярних розчинів в умовах опікової хвороби за динамікою показників біоенергетичних процесів в печінці. *Український журнал гематології та трансфузіології*, 10 (6), 21–24.
154. Семененко, А. І., Кондрацький, Б. О., Яковлева, О. О., Шеремета А. В. & Ходаківська О. Л. (2010). Вплив лактопротеїну з сорбітолом та 5% НАЕС-LX на динаміку деяких показників функціонування печінки при опіковій хворобі у щурів. *Вісник морфології*, 16 (2), 363–365.
155. Семененко, А. І., Пушкар, М. С. & Король, А. П. (2011). Морфологічні особливості печінки щурів на ранніх стадіях опікової хвороби

при інфузійній терапії колоїдно-гіперосмолярними розчинами. *Вісник морфології*, 17 (2), 285–289.

156. Семененко, А. І., Черешнюк, І. Л., Лисенко, Д. А. & Гунас, І. В. (2011). Порівняльна характеристика клітинного циклу та фрагментації ДНК клітин печінки на фоні опікової хвороби у щурів в залежності від фармакотерапії колоїдно-гіперосмолярними розчинами. *Вісник морфології*, 17 (3), 656–660.

157. Семененко, А. І., Яковлева, О. О. & Кондрацький, Б. О. (2009). Оцінка ефективності застосування лактопротеїну з сорбітолом у лікуванні опікового шоку в експерименті. *Український журнал гематології та трансфузіології*, 5, 29–33.

158. Слободян, О. М. (2008). Анатомія артеріальних судин панкреатодуоденального органокomплексу в перинатальному періоді онтогенезу. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 3, 75–80.

159. Слободян, О. М. (2012). Кровообіг підшлункової залози в перинатальному періоді онтогенезу людини. *Буковинський медичний вісник*, 16 (4), 158–161.

160. Спиридонова, Т. Г., Смирнов, С. В., Биткова, Е. Е. & Іванина, Т. А. (2006). Системный воспалительный ответ у обожженных: клинико-иммунологическая характеристика. *Медицина критических состояний*, 6, 22–30.

161. Труфакин, В. А., Шурлыгина, А. В. & Обинсон, М. В. (2005). Функциональная морфология клеток иммунной системы в эксперименте и клинике. *Морфология*, 128 (4), 20–23.

162. Тюрин, Ю. Н. & Макаров, А. А. (1998). Фигурнов, В. Э. (Ред.). *Статистический анализ данных на компьютере*. Москва: ИНФРА.

163. Улумбеков, Э. Г. & Чельшев, Ю. А. (Ред.). (1998). *Гистология: введение в патологию*. М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА.

164. Усов, В. В., Рева, И. В. & Обыденникова, Т. Н. (2005). *Современные аспекты активного хирургического лечения пациентов с*

*термической травмой*. Владивосток: Медицина ДВ.

165. Фисталь, Э. Я. & Солошенко, В. В. (2009). Современные возможности и результаты лечения шахтеров, пострадавших при взрывах метано-угольной смеси. *Медицина неотложных состояний*, 3, 22–23.

166. Фисталь, Э. Я., Козинец, Г. П., Самойленко, Г. Е., Носенко, В. М., Фисталь, Н. Н. & Солошенко, В. В. (2006). Комбустиология. Донецк: (б.в.).

167. Хаитов, Р. М. (2013). *Иммунология: учебник* (2-е изд., перераб. и доп.). Москва: ГЭОТАР-Медиа.

168. Чайковський, Ю. Б. & Черкасов, Е. В. (2016). Структурні модифікації тілець тимуса (тілець Гассалья) за умов експериментальної опікової хвороби та її лікування шляхом інфузії лактопротеїну з сорбітолом. *Вісник морфології*, 22 (1), 70–75.

169. Черкасов, В. Г., Гунас, И. В., Ковальчук, А. И., Дзевульская, И. В., Черкасов, Э. В., Маликов, А. В., ... Маткивская, Р. М. (2015). Ультраструктурные трансформации межклеточного вещества во внутренних органах при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперосмолярных растворов. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 14, 1 (51), 37–44.

170. Черкасов, В. Г., Ковальчук, А. И., Дзевульская, И. В., Черкасов, Э. В., Маликов, А. В., Титаренко, В.Н. ... Маткивская, Р. М. (2014). Структурные механизмы цитопротекции во внутренних органах при инфузионной терапии ожоговой болезни. *Biomedical and biosocial antropology*, 23, 6–12.

171. Черкасов, В. Г., Ковальчук, А. И., Дзевульская, И. В., Черкасов, Э. В., Маликов, А. В., Титаренко, В.Н. ... Маткивская, Р. М. (2014). Структурные особенности адаптации и компенсации нарушенных функций внутренних органов при инфузионной терапии ожоговой болезни. *Світ медицини та біології*, 4 (46), 165–170.

172. Черкасов, Е. В. (2011). Ультраструктура кровеносных сосудов тимуса при экспериментальной опіковій хворобі у щурів та її лікування

комбінованими гіперосмолярними розчинами. *Вісник морфології*, 17 (3), 458–463.

173. Черкасов, Е. В. (2012). Селективність автофагії в епітеліоретикулоцитах тимуса та її роль у клітинному виживанні і клітинній смерті в тимусі при опіковій хворобі. *Науковий вісник Ужгородського університету, серія Медицина*, 43, 122–126.

174. Черкасов, Е. В. (2012). Структурні зміни ендокринних епітеліальних клітин в тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії лактопротеїну-С. *Український морфологічний альманах*, 10 (2), 163–168.

175. Черкасов, Е. В. (2015). Клітинна смерть та клітинний цикл в тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, 2, 68–75.

176. Черкасов, Е. В., Гунас, І. В., Черешнюк, І. Л., Лисенко, Д. А. (2012). Особливості клітинного циклу клітин тимуса щурів після опікового ураження шкіри. *Український морфологічний альманах*, 10 (3), 109–113.

177. Черненко, Н. В. (2007). Характеристика микроциркуляторного русла печени крыс после спленэктомии на основе корреляционного анализа. *Структурные преобразования органов и тканей на этапах онтогенеза в норме и при воздействии антропогенных факторов*, Материалы международной конференции. Астрахань: (б.и.).

178. Чернышенко, Л. В., Семенова, Т. В., Сырцов, В. К. (1994). *Неизвестные ранее иммунные органы путей микроциркуляции*. Донецк-Киев: гортипография Донецкого облуправления по печати.

179. Шапкин, Ю. Г. (2009). Значение селезенки в иммунном статусе организма. *Анналы хирургии*, 1, 9–12.

180. Щеголев, А. И., Алексеев, А. А. & Чеботкова, Е. М. (2002). Патологическая анатомия и патогенез ожоговой травмы. *Актуальные проблемы термической травмы*, Материалы международной конференции.

Москва: (б.и.).

181. Якобисяк, М. (2004). Чопяк, В. В. (Ред.). *Імунологія*. Вінниця: Нова Книга.

182. Aghaeepour N., Finak G., The FlowCAP Consortium, The DREAM Consortium, Hoos H., Mosmann T. R. ... Scheuermann R. H. (2013) Critical assessment of automated flow cytometry data analysis techniques. *Nature Methods*, 10(3), 228–238.

183. Auerbach, A. (2014). *Diagnostic Pathology: Spleen*. Lippincott Williams & Wilkins.

184. Beck, G. C., Yard, B. A., Schulte, J., Haak, M., van Ackern, K., van der Woude, F. J. & Kaszkin, M. (2003). Secreted phospholipases A2 induce the expression of chemokines in microvascular endothelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 300 (3), 731–737. DOI: [10.1016/S0006-291X\(02\)02920-0](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)02920-0)

185. Bendall S. C., Nolan G. P., Roederer M. & Chattopadhyay P K. (2012) A deep profiler's guide to cytometry. *Trends Immunology*, 33(7), 323–332.

186. Bromley, S. K., Mempel, T. R. & Luster, A. D. (2008). Orchestrating the orchestrators: chemokines in control of T cell traffic. *Nat. Immunol.*, 9, 970–980.

187. Cesta, M. F. (2006). Normal structure, function and histology of the spleen. *Toxicologic Pathology*, 34, 455–465. DOI: [10.1080/01926230600867743](https://doi.org/10.1080/01926230600867743)

188. Cherkasov, V. G., Kovalchuk, A. I., Dzevulskaia, I. V. & Cherkasov, E. V. (2015). Evaluation of the effect of infusion of composite hyperosmolar solutions on the structure of neuroimmunoendocrine system organs in burn diseases. *European International Journal of Science and Technology*, 4 (9), 51–61.

189. Chun, Y. S. & Robu, V. G. (2011). Spectrum of primary vascular neoplasms of the spleen. *J. Clin. Oncol.*, 10 (29), 116–117. doi: [10.1200/JCO.2010.31.7230](https://doi.org/10.1200/JCO.2010.31.7230)

190. Cohen, M. J., Shankar, R., Stevenson J., Fernandez, R., Gamelli, R. L. & Jones, S. B. (2004). Bone marrow norepinephrine mediates development of



functionally different macrophages after thermal injury and sepsis. *Ann Surg.*, 240 (1), 132–141. doi: [10.1097/01.sla.0000130724.84914.d6](https://doi.org/10.1097/01.sla.0000130724.84914.d6)

191. Coico, R. & Sunshine, G. (2015). *Immunology: A Short Course*. (7-th ed.). Wiley-Blackwell. Retrieved from <https://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-111839691X,miniSiteCd-BSG.html>

192. Conti, E. (2013). Burns of the hand in children. *Chir. Main*, 32 (1), 63–71. doi: [10.1016/j.main.2013.05.005](https://doi.org/10.1016/j.main.2013.05.005)

193. Csontos, C., Csontos, C., Foldi, V., Fischer, T. & Bogar, L. (2007). Factors affecting fluid requirement on the first day after severe burn trauma. *ANZ J. Surg.*, 17, 745–748. DOI: [10.1111/j.1445-2197.2007.04221.x](https://doi.org/10.1111/j.1445-2197.2007.04221.x)

194. D'Elia, M., Patenande, J., Hamelin, C., Garrel, D. R. & Bernier, J. (2005). Corticosterone binding globulin regulation and thymus changes after thermal injury in mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 288, 852–860. DOI: [10.1152/ajpendo.00407.2004](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00407.2004)

195. Dai, Z. L., Wu, J., Meng, C., Zeng, F., Yang, Y. & Yao, S. L. (2012). Ringer's malate solution protects against the multiple organ injury and dysfunction caused by hemorrhagic shock in rats. *Shock*, 38 (3), 268–274. doi: [10.1097/SHK.0b013e318264e664](https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318264e664)

196. Ding, L. A., Li, J. S., Li, Y. S., Liu, F. N. & Tan, L. (2004). Prophylactic treatment with growth hormone improves intestinal barrier function and alleviates bacterial translocation in stressed rats. *Chin. Med. J. (Engl.)*, 117 (2), 264–269. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14975214>

197. Drayton, D. L. & Liao, S. (2006). Lymphoid organ development: From ontogeny to neogenesis. *Nature Immunology*, 7, 344–353. DOI: [10.1038/ni1330](https://doi.org/10.1038/ni1330)

198. Dzevulska, I. V. (2015). Monthly rates of cell cycle of rat adrenal cells in administration of 0,9 % NaCl solution, Lactoprotein with sorbitol or 5% HAES-LX during the first 7 day. *Biomedical and biosocial anthropolpoogy*, 25, 33–37.

199. Dzevulska, I. V. (2016). Monthly rates of cell cycle of rat adrenal

glands after burn and in administration of 0,9 % NaCl solution, Lactoprotein with sorbitol or 5 % HAES-LX. *Світ медицини та біології*, 55, 124–129.

200. Graves, K. K., Faraklas, I. (2012). Identification of risk factors associated with critical illness related corticosteroid insufficiency in burn. *J. Burn Care Res.*, 33 (3), 330–335.

201. Hubball, A., Martin, J. E., Lang, B., De Giorgio, R. & Knowles, C. H. (2009). The role of humoral autoimmunity in gastrointestinal neuromuscular diseases. *Prog. Neurobiol.*, 87 (1), 10–20. doi: 10.1016/j.pneurobio.2008.09.011

202. Jeschke, M. G., Gauglitz, G. G., Kulp, G. A., Finnerty, C. C., Williams, F. N., Kraft, R., ... Herndon, D. N. (2011). Long-term persistence of the pathophysiologic response to severe burn injury. *PLoS One*, 6 (7), 21245. doi: 10.1371/journal.pone.0021245

203. Jeschke, M. G., Williams, F. N., Finnerty, C. C., Rodriguez, N. A., Kulp, G. A., Ferrando, A. ... Herndon, D. N. (2012). The effect of ketoconazole on post-burn inflammation, hypermetabolism and clinical outcomes. *PLoS One*, 7 (5), 35465. Retrieved from <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035465>

204. Jutras, I., Desjardins, M. (2005). Phagocytosis: at the crossroads of innate and adaptive immunity. *Annu. Rev. Cell Develop. Biol.*, 21, 511–527. DOI: [10.1146/annurev.cellbio.20.010403.102755](https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.20.010403.102755)

205. Kamolz, L. P. (2010). Burns: learning from the past in order to be fit for the future. *Critical Care*, 14, 106–110. doi: 10.1186/cc8192

206. Keck, M., Herndon, D. H., Kamolz, L. P., Frey, M. & Jeschke, M. G. (2009). Pathophysiology of burns. *Wien Med. Wochenschr*, 159, 327–336. doi: 10.1007/s10354-009-0651-2

207. Kees, M. G., Pongratz, G., Kees, F., Schölmerich, J. & Straub, R. H. (2003). Via beta-adrenoceptors, stimulation of extrasplenic sympathetic nerve fibers inhibits lipopolysaccharide-induced TNF secretion in perfused rat spleen. *J. Neuroimmunol.*, 145 (1), 77–85. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14644033>

208. Kiss, F., Nemeth, N., Sajtos, E., Brath, E., Peto, K., Baskurt, O. K., ...

Miko, I. (2010). Examination of aggregation of various red blood cell populations can be informative in comparison of splenectomy and spleen autotransplantation in animal experiments. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 5 (2–4), 273–280. doi: 10.3233/CH-2010-1304

209. Klein, L., Hinterberger, M. & Wirnsberger, G. (2009). Antigen presentation in the thymus for positive selection and central tolerance induction. *Nat. Rev. Immunol.*, 9, 833–844.

210. Kovalchuk, O. I. & Cherkasov, V. G. (2014). Hyperosmolar solutions in the correction of degenerative changes in the adenohypophysis at thermal burns in rats. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*, 4 (84), 9–12.

211. Kraal, G. & Mebius, R. (2006). New insights into the cell biology of the marginal zone of the spleen. *Int. Rev. Cytol.*, 250, 175–215. DOI: [10.1016/S0074-7696\(06\)50005-1](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(06)50005-1)

212. Lacorre, D., Baekkvold, E. & Garrodo, I., Brandtzaeg, P., Haraldsen, G., Amalric, F. & Girard, J. P. (2004). Plasticity of endothelial cells: rapid dedifferentiation of freshly isolated high endothelial venule endothelial cells outside the lymphoid tissue microenvironment. *Hemostasis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 103 (11), 4164–4172. DOI: [10.1182/blood-2003-10-3537](https://doi.org/10.1182/blood-2003-10-3537)

213. Li, H. M., Liang, Z. Q. & Luo, Z. J. (2013). Clinical study on the postburn change in the hypothalamus–pituitary-adrenal hormones in severely burned patients. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*, 19 (3), 169–71. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12921623>

214. Liu, S. J., Xie, Y. F., Dai, L. B. & Du, G. W. (2011). Expression of secretions of hypothalamus - pituitary - adrenal axis in human hypertrophic scar. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*, 27 (6), 432–435. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22340789>

215. Lunin, S. M., Glushkova, O. V., Khrenov, M. O., Parfenyuk, S. B., Novoselova, T. V., Fesenko, E. E. & Novoselova, E. G. (2011). Thymus peptides regulate activity of RAW 264.7 macrophage cells: inhibitory analysis and a role of signal cascades. *Expert Opin. Ther. Targets*, 15 (12), 1337–1346.

doi: 10.1517/14728222.2011.641952

216. Maekawa, T., Kubo, M., Yokoyama, I., Ohta, E. & Obata, F. (2010). Age-dependent and cell-population-restricted LRRK2 expression in normal mouse spleen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 392 (3), 431–435. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.01.041

217. Mahapatra, S. K., Das, S., Bhattacharjee, S., Gautam, N., Majumdar, S. & Roy, S. (2009). In vitro nicotine-induced oxidative stress in mice peritoneal macrophages: a dose-dependent approach. *Toxicol. Mech. Methods*, 19 (2), 100–108. doi: 10.1080/15376510802255184

218. McGaha T. L., Chen, Y., Ravishankar, B., van Rooijen, N. & Karlsson, M. C. (2011). Marginal zone macrophages suppress innate and adaptive immunity to apoptotic cells in the spleen. *Blood*, 117 (20), 5403–5412. doi: 10.1182/blood-2010-11-320028

219. Mebius, R. E., Kraal, G. (2005). Structure and function of the spleen. *Nat. Rev. Immunol.*, 5, 606–616. DOI: [10.1038/nri1669](https://doi.org/10.1038/nri1669)

220. Mills, S. E. (Ed.). (2007). *Histology for pathologists*. Lippincott: Williams & Wilkins. Retrieved from <https://www.amazon.com/Histology-Pathologists-Stacey-Mills-MD/dp/145111303X>

221. Mogoianu, G. D. & Grumezescu, A. M. (2014). Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *Int. J. Pharm.*, 463 (2), 127–136.

222. Muthu, K., Deng, J., Romano, F., He L. K., Gamelli, R., Shankar, R. & Jones, S. B. (2005). Thermal injury and sepsis modulates beta-adrenergic receptors and cAMP responses in monocyte-committed bone marrow cells. *J. Neuroimmunol.*, 165 (1–2). – P. 129–138.

223. Noel, G., Guo, X., Wang, Q., Schwemberger, S., Byrum, D. & Ogle, C. (2007). Postburn monocytes are the major producers of TNF-alpha in the heterogeneous splenic macrophage population. *Shock*, 27 (3), 312–319. DOI: [10.1097/01.shk.0000239753.75088.5e](https://doi.org/10.1097/01.shk.0000239753.75088.5e)

224. Ozkurt, Z., Ertek, M., Erol, S., Altoparlak, U. & Akcay, M. N. (2005).

The factors for acquisition of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the burn unit. *Ertek Burns*, 31, 870–873.

225. Palmieri, T. L., Greenhalgh, D. G., Saffle, J. R., Spence, R.J., Peck, M. D., Jeng, J. C., ... Molitor, F. (2002). A multicenter review of toxic epidermal necrolysis treated in U.S. burn centers at the end of the twentieth century. *Journal of Burn Care & Rehabilitation*, 23 (2), 87–96. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11882797>

226. Porter, C., Herndon, D. N., Sidossis, L. S. & Børsheim, E. (2013). The impact of severe burns on skeletal muscle mitochondrial function. *Burns*, 39 (6), 1039–1047. doi: 10.1016/j.burns.2013.03.018

227. Pruitt, B. A. & Wolf, S. E. (2009). An historical perspective on advance in burn care over the past 100. *Clin. Plast. Surg.*, 36, 527–545. doi: 10.1016/j.cps

228. Rahmanian-Schwarz, A., Beiderwieden, A., Willkomm, L. M., Amr, A., Schaller, H. E. & Lotter, O. (2011). A clinical evaluation of Biobrane and Suprathel in acute burn and reconstructive surgery. *Burn*, 37 (8), 1343–1348. doi: 10.1016/j.burns.2011.07.010

229. Rawlingson, A. (2003). Nitric oxide, inflammation and acute burn injury. *Burns*, 29, 631–640. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14556720>

230. Roh, Y. S., Seo, C. H., Jang, K. U. (2010). Effect of a skin rehabilitation nursing program of skin status, depression, and burn-specific health in burn survivors. *Rehabil. Nurs*, 35 (2), 65–69. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20306614>

231. Ruddle, N. H. & Akirav, E. (2009). Secondary lymphoid organs: responding to genetic and environmental cues in ontogeny and the immune response. *J. Immunol.*, 183, 2205–2212. doi: [10.4049/jimmunol.0804324](https://doi.org/10.4049/jimmunol.0804324)

232. Samel, S., Neufang, T., Mueller, A., Leister, I., Becker, H. & Post, S. (2002). A new abdominal cavity chamber to study the impact of increased intraabdominal pressure on microcirculation of gut mucosa using video

microscopy in rats. *Crit. Care Med.*, 30, 1854–1858. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12163805>

233. Schneider, D. A. (2011). Dynamics of bovine spleen cell populations during the acute response to *Babesia bovis* infection: an immunohistological study. *Parasite Immunol.*, 33 (1), 34–44. doi: 10.1111/j.1365-3024.2010.01249.x

234. Schuetz, P. & Muller, B. (2006). The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in critical illness. *Endocrinol. Metab. Clin. North.*, 35 (4), 823–838. DOI: [10.1016/j.ecl.2006.09.013](https://doi.org/10.1016/j.ecl.2006.09.013)

235. Sheridan, R. L. (2003). Burns. *Crit. Care Med.*, 30 (11), 500–514. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12528792>

236. Shortmen, K. & Liu, Y. J. (2002). Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nature Reviews immunology*, 2 (3), 151–161. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11913066>

237. Slayton, W. B., Elenitoba-Johnson, K. S., Perry, S. S., Marx, M. & Spangrude, G. J. (2002). The spleen is a major site of megakaryopoiesis following transplantation of murine hematopoietic stem cells. *Blood*, 100 (12), 3975–3982. DOI: [10.1182/blood-2002-02-0490](https://doi.org/10.1182/blood-2002-02-0490)

238. Stanley, A. C. & Lacy, P. (2010). Pathways for cytokine secretion. *Physiology*, 25 (4), 218–219. doi: 10.1152/physiol.00017.2010

239. Stoecklein, V. M., Osuka, A. & Lederer, J. A. (2012). Trauma equals danger — damage control by the immune system. *J. Leukoc. Biol.*, 92 (3), 539–551. doi: 10.1189/jlb.0212072

240. Suttie, A. W. (2006). Histopathology of the Spleen. *Toxicol. Pathol.*, 34 (5), 466–503. DOI: [10.1080/01926230600867750](https://doi.org/10.1080/01926230600867750)

241. Turrin, N. P. & Rivest, S. (2004). Unraveling the Molecular Details Involved in the Intimate Link between the immune and Neuroendocrine Systems. *Experimental Biology and Medicine*, 229 (10), 996–1006. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15522835>

242. Vestweber, D. & Wild, M. K. (2008). A new player in lymphocyte homing. *Nat. Immunol.*, 9, 347–348. doi: 10.1038/ni0408-347

243. Warthan, M. D., Freeman, J. G., Loesser, K. E., Lewis, C. W., Hong, M., Conway, C. M. & Stewart, J. K. (2002). Phenylethanolamine N-methyl transferase expression in mouse thymus and spleen. *Brain. Behav. Immun.*, 16 (4), 493–499. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12096893>

244. Xiu, F. & Jeschke, M. G. (2013). Perturbed mononuclear phagocyte system in severely burned and septic patients. *Shock*, 40 (2), 81–88. doi: [10.1097/SHK.0b013e318299f774](https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318299f774)

245. Zhao, G., Yu, Yong-Ming, Kaneki, M., Bonab, A. A., Tompkins, R. G. & Fischman A, J. (2015). Simvastatin reduces burnin jury-induced splenic apoptosis via Down-regulation of the TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B pathway. *Ann. Surg.*, 261 (5), 1006–1012. doi: [10.1097/SLA.0000000000000764](https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000000764)

## Додаток А

Список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації.

12. Булько І.В. Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротейну з сорбітолом / І.В. Булько // Галицький лікарський вісник - 2015. - Т.22. – 3 (частина 1). - С.36 - 38.

13. Булько І.В. Структурні зміни в селезінці щурів у пізніх стадіях опікової травми після корекції інфузійним розчином НАЕС-LX-5% / І.В. Булько // Вісник проблем біології і медицини. - 2016. – Вип. 2, Т. 1 - С. 360 - 363.

14. Булько І.В. Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І.В. Булько, Ю.Й. Гумінський // Вісник морфології. – 2011. – № 17. –Т. 2. – С. 227–230.

15. Гумінський Ю.Й. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції / Ю.Й. Гумінський, І.В. Булько // Вісник морфології. – 2012. – № 18. –Т. 2. – С. 49–53.

16. Булько І.В. Динаміка гістологічних змін селезінки щурів у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2015. - Т. 14, № 2. (52) С. 29 - 32.

17. Булько І.В. Структурні реакції пульпи селезінки на дію нового кровозамінника НАЕС-LX-5% / І.В. Булько// Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2016. - Т. 15, № 1. (55) - С. 63 - 66.

18. Булько І.В. Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів / Булько// Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2017. - Т. 16, № 3. - С. 76 -80.

19. Булько І.В. Морфологія селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Матеріали II Науково - практичної



конференції з міжнародною участю. Природничі читання (м. Чернівці, 14–17 травня 2015 року) – Чернівці, 2015. – С. 92 - 93.

20. Булько І.В. Морфологічні зміни у селезінці щурів у пізні терміни після ОШ та застосування лактопротеїну з сорбітолом / І.В. Булько // Науково - практична конференція з міжнародною участю присвяченій 75 - річчю з дня народження професора Шутки Богдана Васильовича (Івано-Франківськ, 30 вересня-1 жовтня 2015 року) - Івано - Франківськ, 2015. – С. 19 - 20.

21. Булько І.В. Реакції пульпи селезінки на дію лактопротеїну з сорбітолом в умовах експерименту. / І.В. Булько // Матеріали науково - практичної конференції з міжнародною участю Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії, присвяченої 75 - річчю від дня народження професора В.І. Проняєва (м. Чернівці, 24-25 березня 2016 р.) – Чернівці, 2016. – С.67 - 69.

22. Булько І.В. Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів при застосуванні розчину лактопротеїну з сорбітолом та розчину НАЕС-LX-5% /І.В. Булько// Матеріали науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології», присвяченої пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г.В., Роменського О.Ю., Когана Б.Й., Шапаренка П.П., Жученка С.П. (м. Вінниця, 21-22 вересня 2017року) - Вінниця. Друкарня «Тези», 2017. – С. 41-42.

#### **Апробація результатів дисертації:**

- І науково-практичній конференції з міжнародною участю Природничі читання (Чернівці, 2015); – доповідь і публікація;
- науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 75-річчю з дня народження професора Шутки Б. В. (Івано–Франківськ, 2015) – доповідь і публікація;

- науково-практичній конференції з міжнародною участю Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії, присвяченій 75-річчю від дня народження професора В. І. Проняєва (Чернівці, 2016) – доповідь і публікація;
- науково-практичній конференції Індивідуальна анатомічна мінливість органів, систем, тканин людини і його значення для практичної медицини і стоматології, присвяченій 80 - річчю від дня народження професора М. С. Скрипнікова (Полтава, 2016) – доповідь і публікація;
- науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології», присвяченій пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г. В., Роменського О. Ю., Когана Б. Й., Шапаренка П. П., Жученка С. П. (м. Вінниця, 2017) – доповідь і публікація;

## Додаток Б

Акти впровадженнь результатів дисертації



ЗАТВЕРДЖУЮ  
Проректор з науково-педагогічної (навчальної) роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова

професор Ю.Й. Гумінський

«24» \_\_\_\_\_ 2016 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Назва роботи:** «Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті»

**1. Автор:** Булько Ірина Віталіївна, асистент кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

**2. Пропозиція до впровадження:**

У віддалений період опікова травма викликає глибоку гіперметаболічну відповідь внутрішніх органів. Унаслідок своєї здатності елімувати чужорідні антигени, власні мутантні та відмираючі клітини, селезінка виступає як могутній захисний орган імуногенезу. Селезінка більше не може розглядатися як другорядний орган, оскільки її нормальна функція сприяє утриманню повноцінної життєдіяльності організму.

**3. Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

**4. Джерела інформації:**

1. Булько І.В. Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І.В. Булько, Ю.Й. Гумінський // Вісник морфології. – 2011. – № 17. – Т. 2. – С. 227–230.
2. Гумінський Ю.Й. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції / Ю.Й. Гумінський, І.В. Булько // Вісник морфології. – 2012. – № 18. – Т. 2. – С. 49–53.
3. Булько І.В. Динаміка гістологічних змін селезінки щурів у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2015. - Т. 14, № 2. (52) С. 29-32.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

**5. Форма впровадження:** у матеріали лекцій та практичних занять оперативної хірургії і топографічної анатомії, а також в наукову роботу кафедри

**6. Ефективність впровадження, за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** успішно впроваджено.

**7. Зауваження, пропозиції:** зауважень немає, пропозиція: впровадження в навчальний процес.

**8. Термін впровадження:** жовтень 2015 - листопад 2016 року

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 5 від 22.11 2016 р.).

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри анатомії людини  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова,  
к.мед.н., доцент

В.О. Тихолаз



ЗАТВЕРДЖУЮ  
Проректор з науково-педагогічної (навчальної) роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова

професор Ю.Й.Гумінський

“14” “11” 2016 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Назва роботи:** «Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті»

**1. Автор:** Булько Ірина Віталіївна, асистент кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

**2. Пропозиція до впровадження:**

У віддалений період опікова травма викликає глибоку гіперметаболічну відповідь внутрішніх органів. Після застосування для лікування опікової травми 5% розчину НАЕС-LX на 14 добу в селезінці виникають процеси мієлопоезу, які посилюються на 21 добу. Характерною ознакою впливу НАЕС-LX є значне розширення маргінальної зони навколо лімфоцитарних осередків білої пульпи, починаючи з 14 доби спостереження.

**3. Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

**4. Джерела інформації:**

1. Булько І.В. Ультроструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І.В. Булько, Ю.Й. Гумінський // Вісник морфології. – 2011. – № 17. – Т. 2. – С. 227–230.
2. Гумінський Ю.Й. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції / Ю.Й. Гумінський, І.В. Булько // Вісник морфології. – 2012. – № 18. – Т. 2. – С. 49–53.
3. Булько І.В. Динаміка гістологічних змін селезінки шурів у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2015. - Т. 14, № 2. (52) С. 29-32.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра гістології та ембріології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

**5. Форма впровадження:** у матеріали лекцій та практичних занять оперативної хірургії і топографічної анатомії, а також в наукову роботу кафедри

**6. Ефективність впровадження, за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** успішно впроваджено.

**7. Зауваження, пропозиції:** зауважень немає, пропозиція: впровадження в навчальний процес.

**8. Термін впровадження:** жовтень 2015 - листопад 2016 року

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 3 від 13 жовтня 2016 р.).

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри гістології та ембріології  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова,  
д.мед.н., професор

Масівський О.Є.





ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної (навчальної) роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І.Пирогова

професор Ю.Й.Гумінський

“24” 11 2016 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Назва роботи:** «Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті»

**1. Автор:** Булько Ірина Віталіївна, асистент кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

**2. Пропозиція до впровадження:**

У віддалений період опікова травма викликає глибоку гіперметаболічну відповідь внутрішніх органів. Унаслідок своєї здатності елімінувати чужорідні антигени, власні мутантні та відмираючі клітини, селезінка виступає як могутній захисний орган імуногенезу. Селезінка більше не може розглядатися як другорядний орган, оскільки її нормальна функція сприяє утриманню повноцінної життєдіяльності організму.

**3. Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

**4. Джерела інформації:**

1. Булько І.В. Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І.В. Булько, Ю.Й. Гумінський // Вісник морфології. – 2011. – № 17. – Т. 2. – С. 227–230.
2. Гумінський Ю.Й. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції / Ю.Й. Гумінський, І.В. Булько // Вісник морфології. – 2012. – № 18. – Т. 2. – С. 49–53.
3. Булько І.В. Динаміка гістологічних змін селезінки шурів у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2015. - Т. 14, № 2. (52) С. 29-32.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра оперативної хірургії і топографічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

**5. Форма впровадження:** у матеріали лекцій та практичних занять оперативної хірургії і топографічної анатомії, а також в наукову роботу кафедри

**6. Ефективність впровадження, за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** успішно впроваджено.

**7. Зауваження, пропозиції:** зауважень немає, пропозиція: впровадження в навчальний процес.

**8. Термін впровадження:** жовтень 2015 - листопад 2016 року.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 10 від 15 листопада 2016 р.).

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри оперативної хірургії  
і топографічної анатомії Вінницького  
національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова,  
д.мед.н., професор

Костюк Г.Я.

**“Затверджую”**  
 Проректор з науково-педагогічної роботи  
 Вищого державного навчального  
 закладу України “Буковинський державний  
 медичний університет”  
 доп.  І. В. Геруш  
 2017 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиції для впровадження:** “Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті”.

**Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університету ім. М.І. Пирогова, асистент кафедри анатомії людини, Булько Ірина Віталіївна.

**Джерела інформації:**

1. Булько І.В. Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І.В. Булько, Ю.Й. Гумінський // Вісник морфології. – 2011. – № 17. – Т. 2. – С. 227–230.
2. Гумінський Ю.Й. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції / Ю.Й. Гумінський, І.В. Булько // Вісник морфології. – 2012. – № 18. – Т. 2. – С. 49–53.
3. Булько І.В. Динаміка гістологічних змін селезінки щурів у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2015. - Т. 14, № 2. (52) С. 29-32.
4. Булько І.В. Структурні реакції пульпи селезінки на дію нового кровозамінника НАЕС-LX-5% / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2016. - Т. 15, № 1. (55) С. 63-66.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії Вищого державного навчального закладу України “Буковинський державний медичний університет”.

**Термін впровадження:** жовтень 2015 - грудень 2016 року.

**Форма впровадження:** у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії для студентів, а також у наукову роботу кафедри.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 37 від 04 січня 2017 р.).

Завідувач кафедри анатомії людини  
 імені М.Г. Туркевича Вищого державного  
 навчального закладу України  
 “Буковинський державний  
 медичний університет”,  
 доктор медичних наук, професор

 В.В. Кривецький



**“Затверджую”**  
 Проректор з науково-педагогічної роботи  
 Вищого державного навчального  
 закладу України “Буковинський державний  
 медичний університет”  
 дон. 02016947 / У.К. 7  
 І. В. Геруш  
 “ 9 ” “ 15 ” 2017 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиції для впровадження:** “Морфологічні зміни в селезінці у віддалені терміни після локальної опікової травми шкіри та її корекції в експерименті”.

**Установа-розробник:** Вінницький національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, асистент кафедри анатомії людини, Булько Ірина Віталіївна.

**Джерела інформації:**

1. Булько І.В. Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І.В. Булько, Ю.Й. Гумінський // Вісник морфології. – 2011. – № 17. – Т. 2. – С. 227–230.
2. Гумінський Ю.Й. Аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки в пізніх стадіях опікової хвороби після фармакологічної корекції / Ю.Й. Гумінський, І.В. Булько // Вісник морфології. – 2012. – № 18. – Т. 2. – С. 49–53.
3. Булько І.В. Динаміка гістологічних змін селезінки щурів у віддалений період після опікової травми шкіри / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2015. - Т. 14, № 2. (52) С. 29-32.
4. Булько І.В. Структурні реакції пульпи селезінки на дію нового кровозамінника НАЕС-LX-5% / І.В. Булько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2016. - Т. 15, № 1. (55) С. 63-66.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії Вищого державного навчального закладу України “Буковинський державний медичний університет”.

**Термін впровадження:** жовтень 2015 - грудень 2016 року.

**Форма впровадження:** у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії для студентів, а також у наукову роботу кафедри.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 11 від 03 лютого 2017 р.).

**Завідувач кафедри анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії Вищого державного навчального закладу України “Буковинський державний медичний університет”, доктор медичних наук, професор**

**О.М. Слободян**