

© Маєвський О.Є., Міронов Є.В.

УДК: 616.001.1:572.524.1:615.384

Маєвський О.Є., Міронов Є.В.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

ДИНАМІКА ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНИХ ЗМІН ШКІРИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ РОЗЧИНУ НАЕС-LX-5%

Резюме. Проведені електронно-мікроскопічні дослідження встановили, що в ранні терміни після термічної травми за умов застосування розчину НАЕС-LX-5% у крайовій ділянці рани краще збережені гемокапіляри та менший набряк сполучної тканини дерми. Позитивний ефект застосування препарату був більш виразним через 7 та 14 днів експерименту. Субмікроскопічний стан шкіри в пізні терміни після опіку при застосуванні розчину НАЕС-LX-5% свідчить про значну нормалізацію її структурних компонентів. Регенераторні процеси призводять до епітелізації ранової ділянки, формуванню сполучної тканини дерми.

Ключові слова: термічний опік, шкіра, електронно-мікроскопічні дослідження, НАЕС-LX-5%.

Вступ

Термічні опіки шкіри, виникають у побуті та при аваріях на підприємствах, а також в військових конфліктах. Тому не зважаючи на значні успіхи у вивченні патогенезу опікової травми, застосуванні нових методів діагностики і лікування, проблема термічних опіків шкіри є надзвичайно актуальною [3]. Частими причинами смертності пацієнтів є опіковий шок, ендотоксемія і системна запальна реакція [5]. У зв'язку з тим, що токсичні речовини розповсюджуються в організмі хво-

рих серцево-судинною системою, при термічних опіках шкіри слід використовувати такі лікарські засоби, які корегують системні порушення гомеостазу [2, 4]. До таких лікарських засобів відноситься розчин НАЕС-LX-5%, який прискорює детоксикацію та посилює імунологічну функцію, що сприяє зниженню інтоксикації організму та швидкому загоєнню опікових ран [1]. В наукових дослідженнях автори приділяють достатньо уваги структурі та функції шкіри в нормі і при опіковій

травмі шкіри. Ряд авторів дослідили структуру епідерміса, дерми та судин кровоносного та лімфатичного мікроциркуляторного русла шкіри у післяопіковий період. Однак, дані про вплив розчину HAES-LX-5 % на перебіг регенерації шкіри при опіковій травмі шкіри відсутні. Тому таке дослідження є надзвичайно актуальним.

Мета роботи - вивчити мікроструктуру шкіри щурів при корекції наслідків опікової травми шкіри розчином HAES-LX-5 %.

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження виконані на білих нелінійних щурах самцях масою 160-180 г., які були отримані із віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України. Тварини були розподілені на групи по 8 щурів у кожній: I - щурі, котрим катетеризували стегнову вену без нанесення опіку (тварини без опіку); II - щурі з опіком та встановленим катетером у стегновій вені, яким проводили внутрішньовенну інфузію 0,9 % розчином NaCl протягом 5-6 хв. у дозі 10 мл/кг.

Опік викликали шляхом прикладання 4 мідних пластинок (по 2 пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом 6 хв. у воді з постійною температурою 100°C. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складає 21-23% при експозиції 10 сек, що є достатнім для формування опіку III ступеня та розвитку шокового стану середнього ступеня важкості [7]; III - щурі з опіком та встановленим катетером у стегновій вені, яким проводили внутрішньовенну інфузію розчином HAES-LX-5 % із сорбітолом протягом 5-6 хв. у дозі 10 мл/кг/добу у нижню порожнисту вену.

Інфузійні розчини вводили через 1 год після моделювання патологічного стану, а потім 1 раз на добу протягом 7 діб. Катетеризацію магістральних судин здійснювали в умовах пропофолового наркозу (60 мг/кг в/в). Тварин виводили з досліду (на 1, 3 та 7 добу експерименту) шляхом декапітації передозуванням ефіру. Дослідження виконані в науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії ВНМУ ім. М.І. Пирогова, сертифікованої МОЗ України (свідоцтво про переатестацію №002/10 від 11 січня 2010 р.).

Результати. Обговорення

Проведені електронно-мікроскопічні дослідження в ранні терміни після термічної травми (1, 3 доби) за умов застосування коригуючого препарату показали, що ультраструктурна реорганізація гемокапілярів дерми свідчить про їх реакцію на стресорний термічний фактор. Відмічається збільшення їх просвітів та кровонаповнення. Реорганізація ендотеліоцитів проявляється набряком цитоплазми, пошкодженням органел. Відбувається підвищення проникності кровоносних мікросудин та ушкодження гістогематичного бар'єру. Базальна мембрана кровоносних капілярів нерівномірна, нечітка. Відмічається набряк, просвітлення аморфного компо-

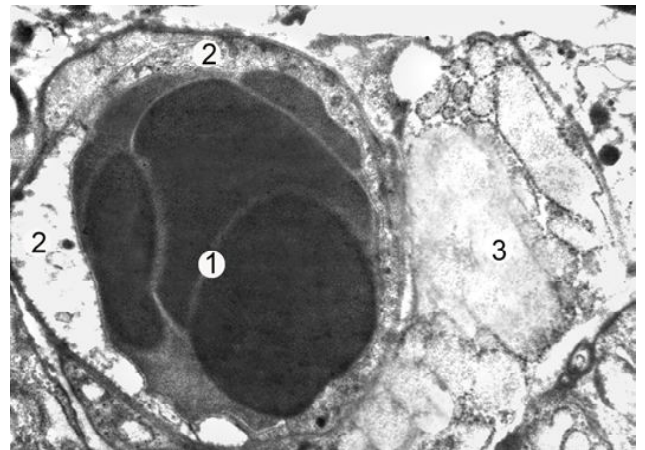


Рис. 1. Субмікроскопічний стан кровоносного капіляра дерми шкіри тварини через 3 доби після опікової травми при введенні HAES-LX-5 %. Просвіт гемокапіляра з еритроцитами (1), цитоплазма ендотеліоцита (2), периваскулярний простір (3). x10000.

ненту міжклітинної речовини сполучної тканини дерми (рис. 1).

Епідермоцити зернистого, остистого шарів та рогові лусочки ураженої термічним фактором ділянки деструктивно змінені. Пошкоджуються органели цитоплазми, вона набуває безструктурного вигляду з чергуванням неправильної форми електронно світлих та темних ділянок. Ядра пікнотично змінені, з осміофільною каріоплазмою, ядерні мембрани та перинуклеарний простір нечіткі. У поверхневих клітинах зернистого шару відмічаються великі, електронно щільні грудки кератогіаліну (рис. 2).

На 3 добу після травми при застосуванні розчину HAES-LX-5 % у периферійних ділянках спостерігаються менші зміни сосочкового шару дерми. Відмічається вогнищевий набряк аморфного компоненту міжклітинної речовини, фрагментація та лізис колагенових волокон. Частина волокнистих компонентів збережена. В ураженій ділянках

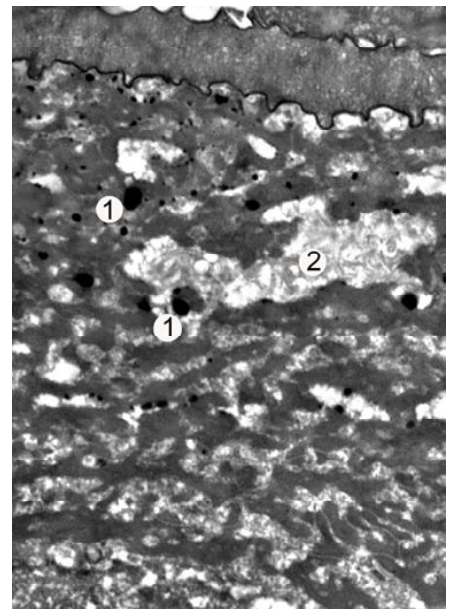


Рис. 2. Субмікроскопічний стан епідерміса шкіри тварини через 3 доби після опікової травми при введенні HAES-LX-5 %. Осміофільні грудки кератогіаліну (1), гомогенізована цитоплазма (2). x12000.

спостерігаються нейтрофіли, лімфоцити, також базофіли та макрофаги. Фібробласти деструктивно змінені. Їх відростки витончені, ядра пікнотичні, в цитоплазмі пошкоджені органели. Нерівномірно потовщені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, набряклі, з просвітленим матриксом мітохондрії, фрагментовані цистерни комплексу Гольджі (рис. 3).

На 7 та 14 добу досліджу за умов застосування коригуючого препарату у крайовій ділянці рани збільшується кількість епідермоцитів за рахунок їх мітотичного поділу і вони є джерелом епітелізації ранової поверхні. У базальному шарі наявні невеликі, чітко контуровані клітини. В них ядра займають значну площу цитоплазми, каріолема має інвагінації. В цитоплазмі епітеліоцитів спостерігаються гіпертрофовані мітохондрії із електронно світлим матриксом, у якому мало крист. Наявні тонофіламенти та добре виражені десмосомальні контакти.

У центральній ділянці та крайових зонах ураженої шкіри вже в ці терміни відмічається менша ступінь деструкції компонентів дерми. Субмікроскопічно у сосочковому шарі судини мікроциркуляторного русла не так значно пошкоджені. Розширені просвіти гемокапілярів і вони кровонаповнені, це переважно у центрі рани. Позитивний вплив введення розчину HAES-LX-5 % після термічної травми шкіри тварин більш виразний у крайовій ділянці рани. В сосочковому шарі дерми спостерігаються кровеносні капіляри з помірними просвітами та вмістом формених елементів крові. В складі стінки судин наявні ендотеліоцити подовгастої форми, які розташовані на базальній мембрані. Ядра таких клітин мають переважно еліпсоподібну форму, чітко контуровані, а каріолема з інвагінаціями. У цитоплазмі ендотеліоцитів парануклеарно виявляються рибосоми, невеликі мітохондрії, непротяжні каналці гранулярної ендоплазматичної сітки. У помірно потовщених цитоплазматичних ділянках наявні піноцитозні пухирці та кавеоли. Плазмолема ендотеліоцитів має випинання та інвагінації, наявні окремі мікроворсинки. Не такий значний периваскулярний набряк міжклітинної речовини пухкої сполучної тканини дерми та пошкодження волокнистих структур (рис. 4).

В опіковій рані, що загоюється, і, особливо біля кровеносних капілярів, розташовані фібробласти, які мають еухроматинові ядра з крупними ядерцями та каріолему з інвагінаціями. Наявні нечисленні широкі, протяжні відростки клітин. Цитоплазма включає розширені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, рибосоми, фрагменти комплексу Гольджі. Частина мітохондрій гіпертрофована, має електронно світлий матрикс і частково редуковані кристи (рис. 5).

У сполучній тканині ділянки запалення спостерігаються лімфоцити, нейтрофіли, макрофаги, тканинні базофіли. Їх ультраструктурна організація свідчить про менший ступінь деструктивних змін. Так у сегментодерних нейтрофілах наявні первинні і вторинні грану-

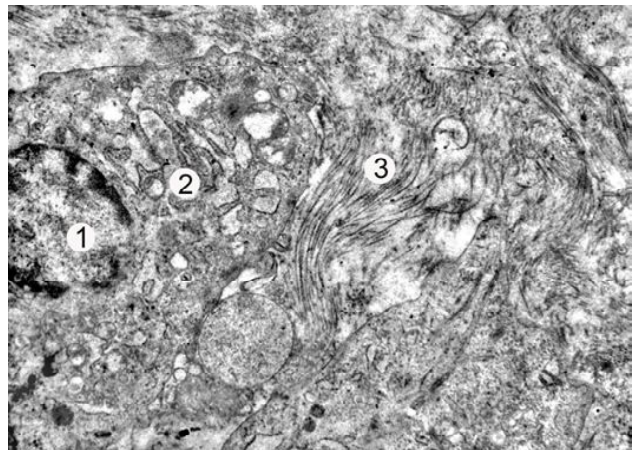


Рис. 3. Субмікроскопічний стан дерми шкіри тварини через 3 доби після опікової травми при введенні HAES-LX-5 %. Ядро (1) і цитоплазма (2) фібробласта, фрагменти збережених волокон (3) у міжклітинній речовині. x14000.

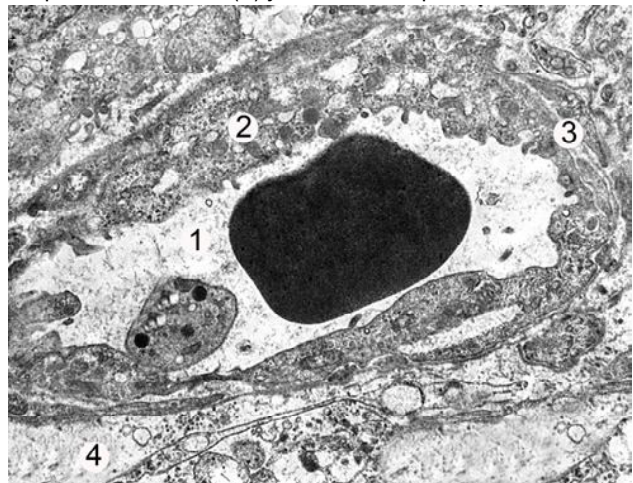


Рис. 4. Ультраструктура гемокапіляра дерми у крайовій ділянці рани шкіри тварини через 7 днів після опікової травми при введенні HAES-LX-5 %. Просвіт капіляра (1), цитоплазма (2) ендотеліоцита, базальна мембрана (3), периваскулярний простір (4). x8000.

ли, базофіли не так значно дегранульовані, макрофаги у цитоплазмі мають лізосоми та фаголізосоми.

Електронно-мікроскопічні дослідження через 21 і особливо 30 днів експерименту встановили наростання позитивного впливу застосування коригуючого чинника на загоєння опікової рани. У центральній її ділянці сполучна тканина, що формується, включає багато молодих та зрілих фібробластів. Малодиференційовані клітини мають невеликі розміри, подовгасту форму. Значну площу таких фібробластів займає ядро, у каріоплазмі наявний еухроматин та великі ядерця. У цитоплазмі спостерігаються непротяжні, нерівномірно потовщені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, цистерни комплексу Гольджі, рибосоми, невеликі мітохондрії (рис. 6).

Для ультраструктурної організації зрілих фібробластів характерним є значний об'єм цитоплазми, широкі відро-

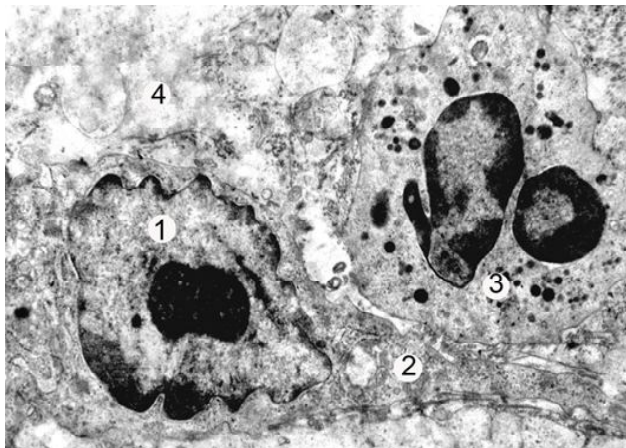


Рис. 5. Субмікроскопічний стан дерми крайової ділянки рани шкіри тварини через 14 днів після опікової травми при введенні HAES-LX-5 %. Ядро (1), цитоплазма (2) фібробласта, нейтрофіл (3), міжклітинна речовина (4). x12000.

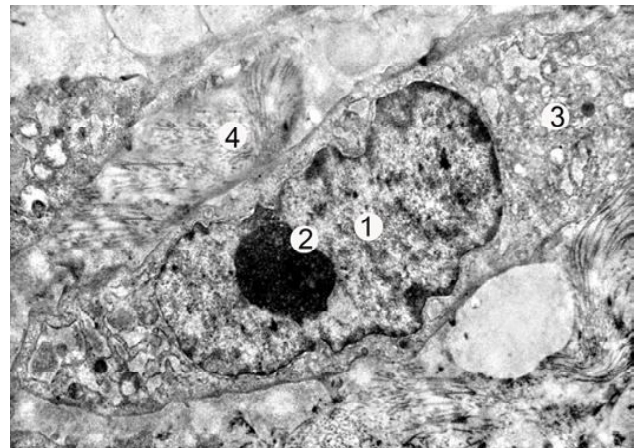


Рис. 6. Субмікроскопічний стан дерми центральної ділянки рани шкіри тварини через 21 добу після опікової травми при введенні HAES-LX-5 %. Ядро (1) з крупним ядерцем (2), цитоплазма фібробласта (3), міжклітинна речовина (4). x12000.

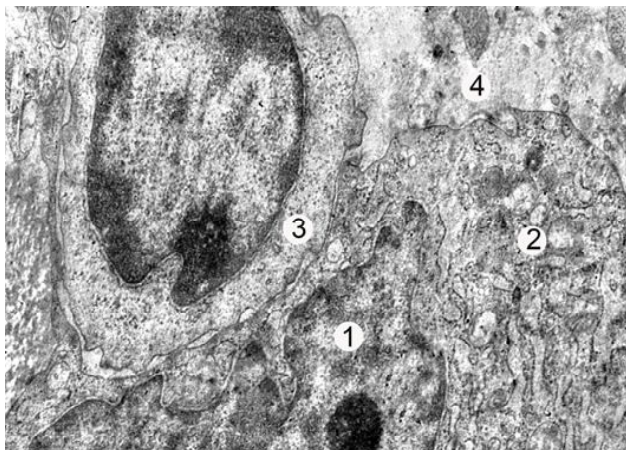


Рис. 7. Субмікроскопічний стан сполучної тканини крайової ділянки шкіри через 30 днів після опікової травми шкіри тварини при введенні HAES-LX-5 %. Ядро (1), цитоплазма (2) фібробласта, лімфоцит (3), міжклітинна речовина (4). x14000.

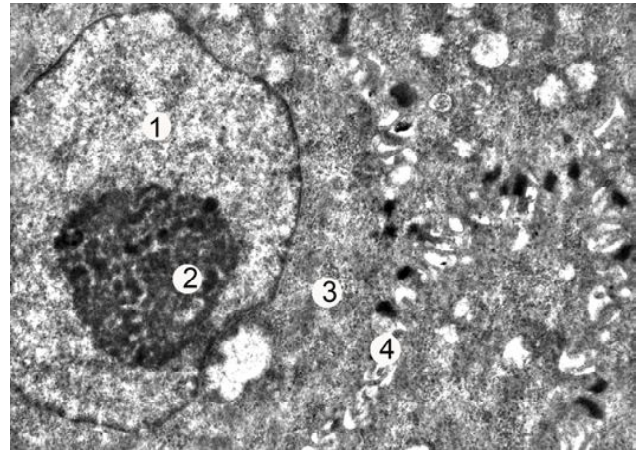


Рис. 8. Ультраструктура епідермісу центральної ділянки рани на 21 добу після опікової травми при введенні HAES-LX-5 %. Ядро (1) з великим ядерцем (2), цитоплазма (3) епідермоцита, міжклітинні контакти (4). x17000.

стки. Ядра клітин включають переважно еухроматин та одне - два ядерця. Каріолема має інвагінації, ядерні мембрани чітко контуровані, перинуклеарні простори помірні. У цитоплазмі зрілих фібробластів відмічається розвинена гранулярна ендоплазматична сітка, багато рибосом і полірибосом. У складі диктіосом комплексу Гольджі добре структуровані цистерни і вакуолі. Наявні як невеликі округло-овальні мітохондрії з чітко вираженими кристами, так і гіпертрофовані зі світлим матриксом органели. Спостерігається формування волокнистих структур у сполучній тканині дерми. Колагенові фібрили утворюють пучки волокон у сітчастому шарі дерми (рис. 7).

Ультраструктура нейтрофілів та базофілів у пізні терміни дослідження значно нормалізується, не відрізняється від таких клітин групи інтактних тварин. У цитоплазмі сегментоядерних нейтрофілів наявні первинні та вторинні гранули, у цитоплазмі базофілів крупні осмі-

офільні гранули.

Введення HAES-LX-5 % сприяє епітелізації ранової ділянки. У тонкому епітеліальному регенераті новоутворені епідермоцити мають добре контуровані ядра, в їх каріоплазмі розташовані гіпертрофовані ядерця та рибосомальні гранули. В цитоплазмі клітин багато рибосом, наявні тонофіламенти, частина мітохондрій гіпертрофована, з просвітленим матриксом. Міжклітинні простори помірно розширені, десмосомальні контакти чіткі, електронно щільні (рис. 8).

Для крайової ділянки рани характерне потовщення епідермісу, ознаки формування шарів епідермісу. У базальних кератиноцитах наявні великі округлі ядра, що мають крупні одне-два ядерця. В каріоплазмі розміщений еухроматин, каріолема чітка з поодинокими інвагінаціями. У цитоплазмі багато рибосом, помірно розвинена гранулярна ендоплазматична сітка, наявні мікрофіламенти. Для епідермоцитів остистого шару, що фор-

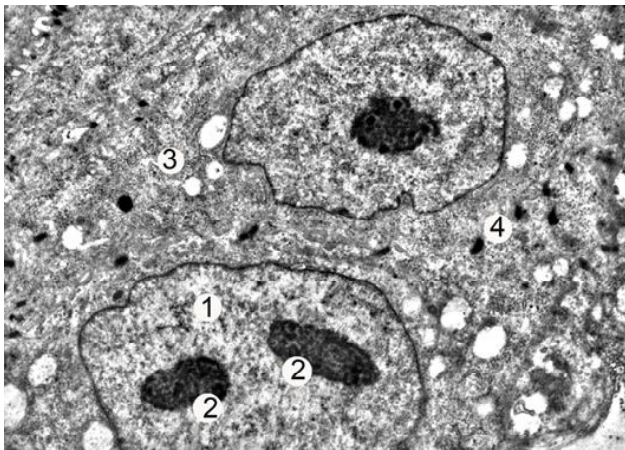


Рис. 9. Ультраструктура епідермісу крайової ділянки рани на 30 добу після опікової травми при введенні HAES-LX-5 %. Ядра (1) з великими ядерцями (2), цитоплазма (3) епідермоцита, міжклітинні контакти (4). $\times 15000$.

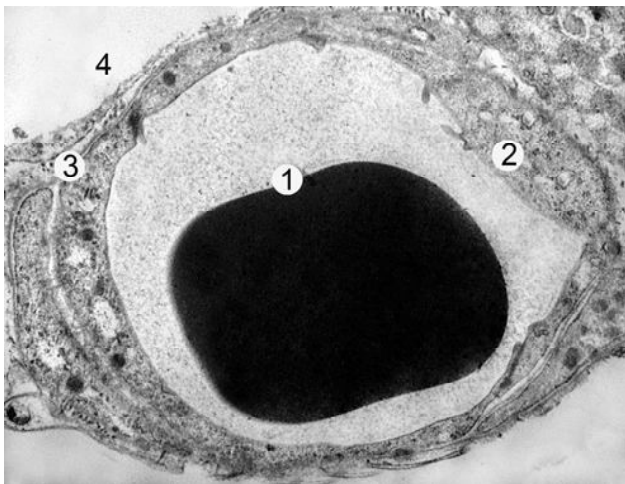


Рис. 10. Субмікроскопічна організація гемокапіляра сосочкового шару дерми шкіри в ділянці загоєння рани на 30 добу після опікової травми при введенні HAES-LX-5 %. Просвіт з еритроцитом (1), цитоплазма (2) ендотеліоцита, базальна мембрана (3), периваскулярний простір (4). $\times 12000$.

мується, характерним є менші розміри, вони чітко контуровані плазмолемами. Міжклітинні простори незначні, наявні чисельні міжклітинні контакти. У їх ядрах спостерігаються крупні ядерця, в каріоплазмі багато рибосомальних гранул. Проте, ядерні оболонки мають інвагінації, що збільшує площу поверхні ядра. Такий стан структурних компонентів ядра епідермоцитів характе-

ризує їх високу функціональну активність.

У цитоплазмі тонофіламенти розташовані неупорядковано, вони утворюють невеликі пучки біля десмосом. Частина мітохондрій гіпертрофовані, мають електронно світлий матрикс та небагато крист (рис. 9).

У пізні терміни дослідження в крайовій ділянці опікової рани виявляються кератиноцити зернистого шару. Їх небагато, клітини мають подовгасту форму та включають осміюфільні кератиносоми. На поверхні епідермального регенерату спостерігається неширокий шар рогових лусочок.

У крайовій ділянці також відмічаються ознаки формування сосочків пухкої сполучної тканини. Характерна хвиляста базальна мембрана нерівномірної товщини, під нею розташовані колагенові фібрили. Також спостерігаються кровоносні капіляри. Вони мають неширокі просвіти з форменими елементами крові, стінку складають мало змінені ендотеліоцити. Такі клітини мають подовгасті ядра, добре сформовані парануклеарну та цитоплазматичну ділянки. Периваскулярні простори помірні, що свідчить про відсутність набряку міжклітинної речовини сполучної тканини (рис. 10).

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Проведені електронно-мікроскопічні дослідження встановили, що в ранні терміни після термічної травми (через 1 і 3 доби) за умов застосування розчину HAES-LX-5 % субмікроскопічні зміни структурних компонентів ураженої шкіри подібні групі дослідних тварин, яким після опікової травми шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl. Проте, у крайовій ділянці рани краще збережені гемокапіляри та менший набряк сполучної тканини дерми.

2. Позитивний ефект застосування коригуючих чинників був більш виразним через 7 та 14 діб експерименту. У грануляційній тканині ураженої ділянки наявні активні фібробласти, нейтрофіли, лімфоцити, макрофаги. У периферійних ділянках наявні кровоносні капіляри, що забезпечують трофіку і сприяють крайовій епітелізації.

3. Субмікроскопічний стан шкіри в пізні терміни після опіку (21, 30 доби дослідження) при застосуванні розчину HAES-LX-5 % свідчить про значну нормалізацію її структурних компонентів. Регенераторні процеси призводять до епітелізації ранової ділянки, формуванню сполучної тканини дерми.

Список посилань

- Гунас, І. В., Кондрацький, Б. О., Нурметова І. К., Дзевульська, І. В., Ковальчук, О. В., Черкасов, Е. В. ... Галунко Г. М. (2012). Динаміка змін рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів протягом місяця після опіку шкіри II-III ступеня, площею 21-23% поверхні тіла та її корекція інфузійними розчинами лактопротеїну із сорбітолом та HAES-LX-5 %. *Український морфологічний альманах*. 10 (4), 29-33.
- Черкасов, В. Г., Ковальчук, О. І., Черкасов, Е. В., Дзевульська, І. В., Андрієнко, М. І., Шлапа, О. О., Христич М. М. (2015). Морфологічні ефекти застосування інфузії гіперосмолярних розчинів при опіковій травмі шкіри. *Науковий вісник Ужгородського національного університету*, 2(52), 30-37.
- Черкасов, В. Г., Ковальчук, А. І., Дзевульська, І. В., Черкасов, Е. В., Маликов, А. В., Титаренко, В. Н. ... Матківська Р. М. (2014). Структурные особенности адаптации и компенсации нарушенных функций

- внутренних органов при инфузионной терапии ожоговой болезни. *Світ медицини та біології*, 16(4), 165-170.
4. Choi, J.A., Choi, J.S., Joo, C.K. (2011). Effects of amniotic membrane suspension in the rat alkali burn model. *Mol. Vis.*, 5, 404-412.
5. Ribeiro, N. F., Heath, C. H., Kierath, J., Rea, S., Duncan-Smith, M., Wood, F. M. (2010). Burn wounds infected by contaminated water: case reports, review of the literature and recommendations for treatment. *Burns*, 1(36), 9-22. doi: 10.1016/j.burns.2009.03.002.

Маевский А.Е., Миронов Е.В.

ДИНАМИКА ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ КРЫС ПОСЛЕ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ РАСТВОРА HAES-LX-5 %

Резюме. Проведенные электронно-микроскопические исследования установили, что в ранние сроки после термической травмы в условиях применения раствора HAES-LX-5 % в области края раны лучше сохранены гемокapилляры и наблюдается уменьшение отека соединительной ткани дермы. Позитивный эффект применения препарата был более выражен через 7 и 14 суток эксперимента. Субмикроскопическое состояние кожи в поздние сроки после ожога при применении раствора HAES-LX-5 % свидетельствует о значительной нормализации ее структурных компонентов. Регенераторные процессы приводят к эпителизации раневого участка, формированию соединительной ткани дермы.

Ключевые слова: термический ожог, кожа, электронно-микроскопические исследования, HAES-LX-5 %.

Maievskiy A.Ye., Mironov Ye.V.

DYNAMICS OF ELECTRON MICROSCOPIC CHANGES IN SKIN OF RATS AFTER THERMAL TRAUMA BY THE CONDITIONS OF APPLICATION OF HAES-LX-5 % SOLUTION

Summary. Electron microscopic studies have established that in the early stages after the thermal trauma by the conditions of application of the HAES-LX-5 % solution hemocapillaries are better preserved in the wound edge area of the wound and a reduction in edema of the connective dermis tissue are observed. The positive effect of the drug was more pronounced at 7 and 14 days of the experiment. Submicroscopic skin condition in the late period after a burn with the use of a solution of HAES-LX-5 % indicates a significant normalization of its structural components. Regeneration processes lead to the epithelization of the wound site and formation of connective tissue of the dermis.

Key words: thermal trauma, skin, electron microscopic studies, HAES-LX-5 %.

Рецензент - д.мед.н., проф. Гунас І.В.

Стаття надійшла до редакції 4.07.2017р.

Маєвський Олександр Євгенійович - д.мед.н, зав. кафедри гістології ВНМУ ім. М.І. Пирогова; maevskyalex8@gmail.com
Міронов Євгеній Вікторович - асистент кафедри гістології НМУ ім. М.І. Пирогова; +38(063)0655718
