

MORPHOLOGIA



ISSN 1997-9665

2024 • Tom 18 • Homep 2

2024 • Volume 18 • Number 2

MORPHOLOGIA

2024 • Том 18 • Номер 2

Науковий фаховий електронний журнал Всеукраїнської громадської організації
«Наукове товариство анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України»
Періодичність видання 4 рази на рік

Засновники:

ВГО «Наукове товариство анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України»
Дніпровський державний медичний університет

Індексація журналу:

«NLM Catalog US National Library of Medicine» (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>)

«Medical Journals Links» (<http://www.medical-journals-links.com>)

«CiteFactor Academic Scientific Journals» (<http://www.citefactor.org>)

«Google Scholar» (<https://scholar.google.com>)

«Directory of Open Access Journals» (<http://doaj.org>)

Національна бібліотека України імені В.І. Вернадського (<http://www.nbuv.gov.ua>)

Атестований як періодичне електронне наукове видання в галузі медичних наук і включений до **Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»)**, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії (Наказ Міністерства освіти і науки України від 17.03.2020 р. № 409).

Свідоцтво про державну реєстрацію № 26 від 25.04.2014 р.

Головний редактор

Твердохліб І.В.

Редакційна колегія

Аппельханс О.Л., Бондаренко І.М., Бондаренко О.О., Жан Зі, Інджикулян А.А., Ковальчук О.І., Луговський С.П., Луцик О.Д., Маєвський О.Є., Медведєв М.В., Мельник Н.О., Мішалов В.Д., Погорєлов М.В., Сулаєва О.М., Туманський В.О., Шпонька В.І., Шпонька І.С.

Оглядіві, проблемні й оригінальні статті рецензуються. Журнал публікує наукові роботи морфологів, а також результати морфологічних досліджень фахівців інших спеціальностей.

Видається і рекомендується для вільного поширення мережею Internet згідно з рішенням вченої ради Дніпровського державного медичного університету (протокол № 14 від 25 червня 2024 року).

Підписано до друку 26.06.2024 р. Умовн. друк. арк. 11.

Адреса редакції: 49005, м. Дніпро, вул. Севастопольська, 19, редакція журналу „Morphologia”.
Тел.: +380974584284. E-mail: morphology.ivt@gmail.com

MORPHOLOGIA

2024 • Volume 18 • Number 1

Scientific specialized electronic journal of the Ukrainian public organization
“Ukrainian scientific Society of Anatomists, Histologists, Embryologists”

Periodicity quarterly

Founders:

Ukrainian scientific Society of Anatomists, Histologists, Embryologists
Dnipro State Medical University

Indexed by:

«NLM Catalog US National Library of Medicine» (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>)

«Medical Journals Links» (<http://www.medical-journals-links.com>)

«CiteFactor Academic Scientific Journals» (<http://www.citefactor.org>)

«Google Scholar» (<https://scholar.google.com>)

«Directory of Open Access Journals» (<http://doaj.org>)

Vernadsky National Library of Ukraine (<http://www.nbuv.gov.ua>)

Certificated and included in the List of scientific specialized editions in which the main results of scientific works may be published (Order of Ministry of Education and Science of Ukraine № 409 Mar 17, 2020).

Certificate of state registration № 26 Apr 25, 2014.

Editor-in-chief

Tverdokhlib I.V.

Editorial board

Appelhans O.L. (Odessa), Bondarenko I.M. (Dnipro), Bondarenko O.O. (Dnipro), Indzhukulian A.A. (Boston), Kovalchuk O.I. (Kyiv), Lugovskyj S.P. (Kyiv), Lutsyk O.D. (Lviv), Maievskiy O.Ye (Kyiv), Medvediev M.V. (Dnipro), Melnyk N.O. (Brno), Mishalov V.D. (Kyiv), Pogorielov M.V. (Sumy), Shponka I.S. (Dnipro), Shponka V.I. (Milwaukee), Sulaieva O.M. (Kyiv), Tumanskiy V.O. (Zaporizhzhia), Zhang Ze (Quebec City).

Reviews, critical and research articles are reviewed. Journal publishes scientific works of morphologists and also morphological works of specialists in other fields.

Published and recommended for distribution via the Internet according to the decision of the Academic Council of Dnipro State Medical University (protocol № 14 Jun 25, 2024).

Signed for publishing on Jun 26, 2024. Conventional printed pages 11.

Address: editorial office of journal “Morphologia”, 19 Sevastopolska Str., Dnipro, Ukraine, 49005.

Tel.: +380974584284. E-mail: morphology.ivt@gmail.com

*Оглядів та проблемні статті***Лозовська Ю.В.**

Сучасні тенденції застосування методу рідинної цитології для аналізу неоплазій різного генезу

Шепітько В.І., Білаш С.М., Устенко Р.Л., Ляховський В.І., Пілюгін А.В., Єрошенко Г.А., Саричев Я.В.

Морфофункціональна характеристика великого чепця та його роль в практичній медицині

Оригінальні дослідження

Адамович О.О., Криницький Р.П., Подолук М.В., Гресько Н.І., Чалий І.-В.Т., Камінська М.Я., Онутчак Т.А.

Дослідження закономірностей вікової динаміки симетричності структур лица у чоловіків

Гринь В.Г., Білаш В.П., Свінцицька Н.Л., Устенко Р.Л., Сербін С.І., Каценко А.Л., Пілюгін А.В.

Основні морфометричні параметри тонкої та товстої кишки при різних функціональних станах у щурів

Кулеш Д.В., Рожнова Р.А., Денисенко В.Д., Гриценко В.П., Наражайко Л.Ф., Галатенко Н.А.

Вивчення цитотоксичності та біосумісності ізоціануратвмісних пінополіуретансечовин наповнених дакарбазином для застосування в медицині

Мізякіна К.В., Дзяк Л.А.

Морфологічна характеристика фронтальної кори головного мозку щурів з різними нейрокогнітивними розладами після тяжкої черепно-мозкової травми

Нефьодова О.О., Шевченко О.С.

Вплив хронічного введення хлориду кадмію на морфологічні структури нижньої щелепи щурів

Понирко А.О., Бумейстер В.І.

Маркери ремоделювання кісткової тканини під час порушення кісткового метаболізму

Рудницька Х.І., Панкевич Л.В., Камінська М.Я., Поляниц А.В., Твердохліб І.В.

Стан судин кон'юнктиви ока щура у субхронічному та хронічному періодах експериментального стрептозотодинового цукрового діабету

*Reviews and topical articles***6 Lozovskaya Y.V.**

Current trends in the use of liquid cytology for the analysis of neoplasia of various genesis

22 Shepitko V.I., Bilash S.M., Ustenko R.L., Lyakhovskiy V.I., Piliuhin A.V., Yeroshenko G.A., Sarychev Ya.V.

Morphofunctional characteristics of the greater omentum and its role in practical medicine

Research, original papers

33 Adamovych O.O., Krynytskyi R.P., Podoliyk M.V., Hresko N.I., Chalyi I.-V.T., Kaminska M.Ya., Onutshak T.A.

Study of the age-related dynamics of facial structure symmetry in men

38 Gryn V.G., Bilash V.P., Svintsytska N.L., Ustenko R.L., Serbin S.I., Katsenko A.L., Pilyugin A.V.

Main morphometric parameters of the small and colon intestines in different functional states in rats

44 Kuliesh D.V., Rozhnova R.A., Denisenko V.D., Hrytsenko V.P., Narazhaiko L.F., Galatenko N.A.

Study of cytotoxicity and biocompatibility of isocyanurate-containing polyurethane foam filled with dacarbazine for application in medicine

55 Miziakina K.V., Dzyak L.A.

Morphological characteristics of the frontal cerebral cortex of rats with various neurocognitive disorders after severe traumatic brain injury

65 Nefodova O.O., Shevchenko O.S.

The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the mandible of rats

73 Ponyrko A.O., Bumeister V.I.

Markers of bone tissue remodeling in case of bone metabolism disorders

78 Rudnytska Kh. I., Pankevych L.V., Kaminska M.Ya., Polians A.V., Tverdokhlib I.V.

The condition of the conjunctival vessels of the rat eye in the subchronic and chronic periods of experimental streptozotocin diabetes

Челпанова І.В.

Порівняння динаміки змін щільності кісткової тканини нижньої щелепи кролика при застосуванні різних остеопластичних матеріалів

Юрик Я.І., Кузів О.Є., Юрик І.І., Небесна З.М.

Субмікроскопічні зміни секреторних кардіоміоцитів в проміжному та пізньому посткомпресійних періодах синдрому тривалого стиснення

Методологія наукових досліджень

Слободян О.М., Рудницька Х.І., Сімонов В.Ф., Гриценко А.П., Войценко К.І.

Мікроструктурна організація шарів рогівки щура в нормі

Новини, хроніка, історія

Науково-практична конференція з міжнародною участю «Досягнення та перспективи лектиноморфології»

Челпанова І.В., Ященко А.М.

До 70-річчя видатного вітчизняного гістолога Олександра Луцика

До відома авторів

84

Chelpanova I.V.

Comparison of bone density changes in rabbit mandible using different osteoplastic materials

91

Yuryk Ya.I., Kuziv O.E., Yuryk I.I., Nebesna Z.M.

Submicroscopic changes of secretory cardiomyocytes in the intermediate and late postcompression period of crush syndrome

Scientific research methodology

97

Slobodyan O.M., Rudnytska Kh.I., Simonov V.F., Hrytsenko A.P., Voytsenko K.I.

Microstructural organization of the layers of the rat cornea in norm

News, chronicle, history

102

Scientific-practical conference with international participation «Achievements and perspectives of lectinomorphy»

105

Chelpanova I.V., Yashchenko A.M.

On the 70th anniversary of the outstanding ukrainian histologist Alexander Lutsyk

108

Author guidelines

Ю.В. Лозовська

ТОВ «МіраЛаб»
Київ, Україна

Надійшла: 14.04.2024
Прийнята: 15.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.6-21>

УДК: 616-006:611.0181

СУЧАСНІ ТЕНДЕНЦІЇ ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ РІДИННОЇ ЦИТОЛОГІЇ ДЛЯ АНАЛІЗУ НЕОПЛАЗІЙ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

Lozovskaya Y.V.   Current trends in the use of liquid cytology for the analysis of neoplasia of various genesis. "MiraLab LLC", Kyiv, Ukraine

ABSTRACT. Actuality. The review highlights the peculiarities of preparation and analysis of samples of various biological materials using the liquid-based cytology (LBC) method. Morphological characteristics of different clinical materials obtained by LBC and traditional cytology (TC) methods are presented and compared. Several LBC slide preparation technologies are discussed and compared in the study: BD SurePath, ThinPrep, and HurePath. It is demonstrated that materials obtained by the LBC method do not contain clusters of hematogenous and locally derived cellular elements, which interfere with assessing their qualitative and quantitative changes. **Objective.** To identify all the advantages and disadvantages of using LBC technologies compared to TC for the analysis of benign and malignant neoplasia of various genesis. **Conclusion.** The expediency of using RC for the study of squamous epithelial neoplasia: urine sediment, sputum secretions, and effusions has been proved. It is recommended to use RC technology with caution when analysing material with glandular, follicular or parafoollicular structure, as changes in the morphological characteristics of neoplasms can lead to erroneous cytomorphological findings. In order to improve the quality of this type of material assessment, it is suggested to use both LBC and TC methods simultaneously.

Key words: liquid cytology, traditional cytology, neoplasia, mammary and thyroid glands, urine sediment, aspirate fluids, bronchoalveolar secretion.

Citation:

Lozovskaya YV. [Current trends in the use of liquid cytology for the analysis of neoplasia of various genesis]. Morphologia. 2024;18(2):6-21. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.6-21>

 Lozovskaya Y.V. 0009-0008-9613-1916

 e-mail: Lozovskaya.2012@ukr.net

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

На теперішній час у лабораторній практиці існує прірва між доступною інформацією щодо новітніх методологічних підходів та їх застосуванням на практиці. З метою запобігання помилок на преаналітичному етапі досліджень застосовуються певні сучасні критерії якості отримання та пробігготовки різного клінічного матеріалу [1-3]. Проте на жаль, досить часто інноваційні технології застосовують без урахування характеру біологічного матеріалу та особливостей обладнання або інструментів, які застосовуються для виконання певного виду досліджень. Так, в останні роки в лабораторіях України досить інтенсивно впроваджується метод рідинної цитології (РЦ), який на думку багатьох експертів, дозволяє отримати більш адекватний та інформативний

клінічний матеріал порівняно із традиційним методом [4, 5]. Відомо, що при застосуванні методу РЦ на відміну від традиційного, клітинний матеріал поміщають не на предметне скло, а у консервувальну рідину. Даний підхід дозволяє зберігати клітини у своєму природному стані досить тривалий час та водночас дає можливість їх використувувати не тільки для морфологічного аналізу, а й для імуноцитохімічних та молекулярних досліджень [6, 7]. У більшості випадків метод РЦ рекомендується застосовувати для раннього виявлення неоплазій різного генезу, оскільки технологія автоматичної обробки матеріалу дозволяє отримати рівномірне моношарове розташування клітин на певній площині предметного скла, що значно спрощує та скорочує процедуру аналізу. Поряд із цим, матеріал, отриманий методом РЦ не

містить скупчення клітинних елементів гематогенного та місцевого походження, які заважають оцінити його якісні та кількісні зміни. Згідно даних літератури метод РЦ можна застосовувати не тільки для аналізу уrogenітального матеріалу, а й пробігдготовки зішкрібів, випітних рідин, пункційного матеріалу, отриманого завдяки тонкогolkовій аспіраційній біопсії (ТАБ) щитоподібної залози, лімфовузлів, а також при плевральній, перикардальній пункції та дослідженні матеріалу порожнини суглоба та живота [8-11].

На теперішній час, саме технологія РЦ є сучасним варіантом цитологічного дослідження шийки матки, який має суттєві переваги в діагностиці передракових та злоякісних змін [12, 13]. Відомо, що Пап-тест методом РЦ дає змогу значно збільшити відсоток виявлення дисплазій різного ступеня ураження (від 60% до 100%) та більш ніж на 50% покращити диференціювання процесів запалення [13, 14]. У сучасній літературі накопичено вже достатньо інформації щодо особливостей застосування різних технологій пробігдготовки матеріалу методом РЦ для скринінгу раку шийки матки. У порівняльному аспекті доведено більш високу чутливість та специфічність методу РЦ порівняно із традиційною цитологією (ТЦ) [14, 15]. Дотепер тривають дискусії серед численних науковців та клініцистів щодо переваг та недоліків нової технології, але ми не будемо зупинятися на цьому питанні.

У своєму огляді ми спробуємо звернути увагу фахівців на особливостях пробігдготовки іншого спектру клітинного матеріалу із застосуванням методу РЦ.

Метою нашого огляду було не просування методу РЦ у клінічну лабораторну практику, а виявити можливі недоліки чи переваги порівняно із ТЦ. Деякими авторами показано, що застосування методу РЦ можуть змінювати морфологічні параметри клітин, що у свою чергу викликає труднощі в інтерпретації результату. У зв'язку з цим, у деяких джерелах інформації, матеріал рекомендується досліджувати із застосуванням двох методів, а при формуванні цитологічного заключення необхідно враховувати інформативність обох [15-17]. Слід відмітити, що одночасне отримання матеріалу для РЦ та ТЦ потребує дотримання чітких правил, оскільки вірогідність отримання неадекватного результату досить значна. Більшість авторів не підтримують ідею одночасного забору матеріалу для РЦ та ТЦ, але ми спробуємо у своєму огляді розглянути ці питання, керуючись досвідом провідних фахівців у цій галузі. Метод РЦ у порівнянні з традиційним має свої особливості, які необхідно враховувати при морфологічному аналізі: зміна фону, форми, розміру та розташування клітин, фрагментація великих клітинних скупчень, порушення епітеліально-стромального співвідношення.

Донині не вщухають дискусії щодо оцінки

цитоморфологічних характеристик випітних рідин, аспіраційних біопсій, осаду сечі, мокроти отриманих методом РЦ. Саме тому, нами було зроблено спробу проаналізувати досвід інших колег щодо застосування методу РЦ для різного біологічного матеріалу з урахуванням технологій, інструментального обладнання та фарбування, що може позначитись на адекватності кінцевого результату.

1. Застосування методу рідинної цитології для визначення цитоморфологічних особливостей новоутворень сечового міхура

Відомо, що цитологічне дослідження осаду сечі є одним із ранніх та неінвазивних методів діагностики новоутворень сечового міхура. Цитологічні препарати для даного виду біологічного матеріалу можуть бути приготовлені різними способами, що відповідно залежить від обладнання: від мембранної фільтрації до багаторазового центрифугування та внесенням концентратора клітин [17-19]. Дослідження спонтанно ексfolіативного клітинного матеріалу сечового міхура за допомогою методу РЦ дає змогу у повній мірі оцінити стан уротеліальної вистілки. Однак, деякі автори занепокоєні тим, що даний спосіб отримання матеріалу не дає можливості визначити тканину приналежності новоутворення та ступінь його диференціювання [19, 20]. Поряд із цим, існують недоліки щодо якості матеріалу отриманого методом ТЦ. Так, одним із суттєвих фактів є малоклітинність, що не дає можливості цитологу у повній мірі виявити морфологічні зміни та водночас потребує від спеціаліста більше часу для аналізу такого матеріалу. Крім того, існує висока вірогідність перекриття фону артефактами (запальним інфільтратом, слизом, бактеріями, кристалами солей та неравномірним розподілом матеріалу) [20, 21]. Велике сподівання багатьох фахівців націлене щодо застосування методу РЦ для раннього виявлення поверхневого раку сечового міхура (ПРСМ), оскільки 80% новоутворень припадає саме на дану нозологію. Загальновідомим є той факт, що у більшості випадків лікарі діагностують цю хворобу на більш пізніх стадіях, що відповідно позначається на високому відсотку частоти рецидивів та зниженні виживаності хворих [20]. ПРСМ характеризується екзофітним зростанням пухлини у порожнину сечового міхура, що дозволяє легко виявити у клітинному осаді сечі.

Згідно останніх рекомендацій ВООЗ, інформативним та неінвазивним методом виявлення ПРСМ є цитологічне дослідження сечі методом РЦ [18, 22]. Доцільність такого підходу доводять нещодавні дослідження, автори якого доводять більш високу якість та інформативність препаратів, отриманих методом РЦ у порівнянні із ТЦ [23]. Так, показано, що частота виявлення ПРСМ методом РЦ незалежно від ступеня злоякісності новоутворення є достовірно вищою (у 1,5 рази)

порівняно із ТЦ. Доведено, що можливою причиною низького виявлення злоякісних клітин у традиційних препаратах є фонові домішки крові та слизу.

Слід звернути увагу, що особливості обладнання для РЦ позначаються на якості отриманих препаратів. Так, при застосуванні BD cytorich red із наступним центрифугуванням та видаленням надосаду, внесенням осаду у пробірки процесора [20]. В результаті ми отримуємо концентрований, очищений від домішок клітинний осад, який і використовується для приготування препаратів. Препарати осаду сечі, які отримують методом BD sure-path відповідають вимогам, схвалених Управлінням з контролю за харчовими продуктами і лікарськими засобами США (FDA), і входить в протоколи цервікального скринінгу економічно розвинених країн світу [20-22].

Для наочності ми звернулися до ілюстративного матеріалу авторів публікації, щоб порівняти інформативність клінічного матеріалу хворих ПРСМ, отриманого методом РЦ та ТЦ. Так, на рисунках представлено та співставлено препарати з осаду сечі, що були отримані методом ТЦ (рис. 1) та методом РЦ (рис. 2) [20]. На рисунку 3 продемонстровано якісний препарат РЦ з осаду сечі хворого із ПРСМ, який дозволяє виявити виражені ознаки злоякісності уротелію [20].

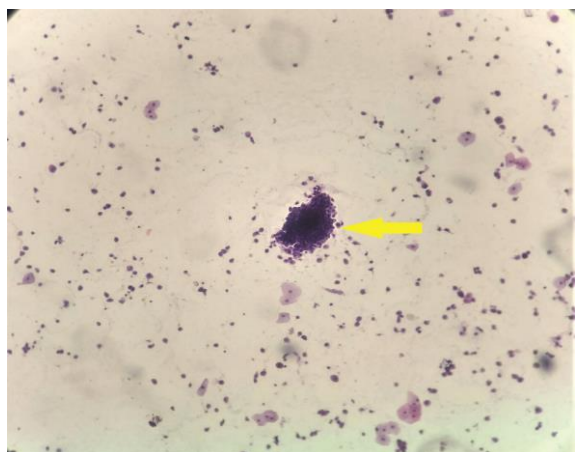


Рис. 1. Conventional cytology positive for malignant cells (dense inflammatory background). The arrow shows a cluster of malignant cells. Забарвлення Папаніколау. $\times 100$. Фото демонструє щільний запальний фон, який заважає цитологічному аналізу. Стрілкою вказано скупчення злоякісних клітин.

У більшості випадків для дослідження морфології клітин осаду сечі при використанні методів РЦ та ТЦ використовують забарвлення Папаніколау та Романовського-Гімза, оскільки вони дають змогу добре визначити особливості архітекtonіки ядер та цитоплазми клітин уротелію (рис. 3).

Також більшість авторів вважають, що структура ядра, ядерно-цитоплазматичне співвідно-

шення краще візуалізуються при застосуванні методу РЦ (рис 4. а, б). Мікроскопічне дослідження клітин із підозрою на злоякісну трансформацію (рис. 4) необхідно проводити з використанням імерсійної системи (окуляр 10х, об'єктив 100х, збільшення 1000) [23].

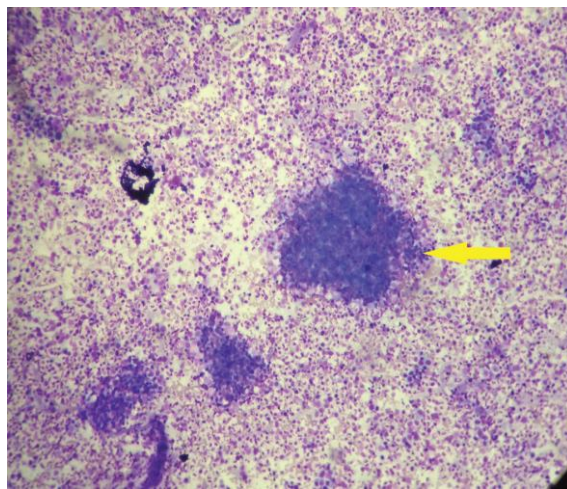


Рис. 2. Liquid-based cytology positive for malignant cells (clear background). The arrow shows a cluster of malignant cells. $\times 100$. Фото демонструє чистий фон. Стрілкою вказано скупчення злоякісних клітин.

Дещо відрізняються етапи пробіпідготовки препаратів РЦ при використанні процесора ThinPrep у порівнянні із BD sure-path, який також відповідає всім міжнародним вимогам стандартизації [24]. Так, кроки цієї технології наступні: 1) обертання фільтру у флаконі зі зразком для відокремлення домішок 2) збору клітин у фільтрі ThinPrep; 3) перенесення клітин через мембранний фільтр ThinPrep на предметне скло ThinPrep Microscope Slide у визначеній області. Авторами досліджень відмічено, що даний тип пробіпідготовки дозволяє добре візуалізувати клітинний матеріал та визначити характер анапластичних змін уротеліальних, залозистих та плоских клітин. При застосуванні даного методу оцінки осаду сечі не відбувається деформація клітинних структур, що дає змогу визначити їх цитоморфологічний статус (рис. 5, 6) [24].

У своїх роботах дослідники, які використовують методологію пробіпідготовки BD sure-path та ThinPrep для дослідження осаду сечі доводять, що цитоморфологічні зміни клітин, які пов'язані із літiazом, вірусною цитопатичною дією, дисплазією зберігаються при даному способі обробки матеріалу та не поступаються ТЦ. Також доведено, що кластерність злоякісно трансформованих клітин, їх розмір та структура хроматину добре зберігається при обох способах обробки матеріалу методом РЦ, що унеможливило помилковість результатів. Крім того, волога фіксація, чистий фон та відсутність домішок підвищують якість даного цитологічного матеріалу [20].

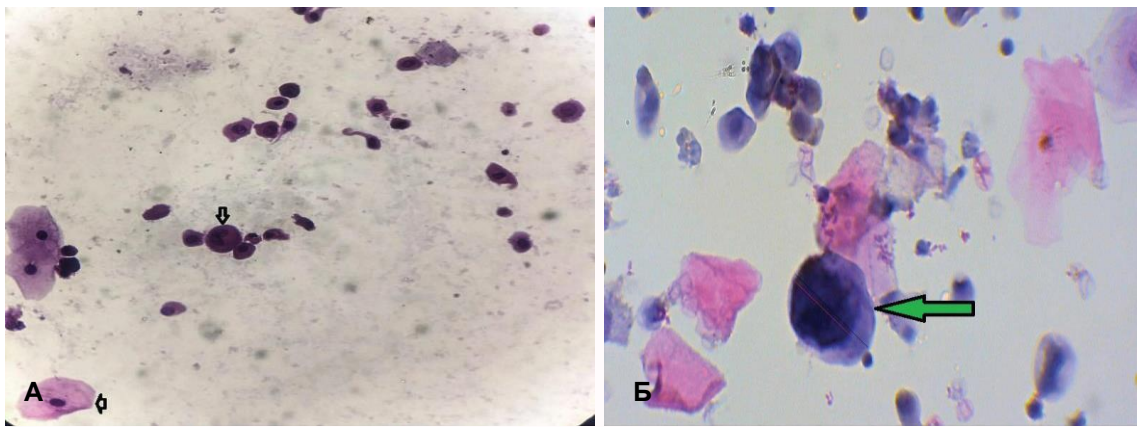


Рис. 3. Liquid-based cytology. The vertical arrow shows binucleate malignant cells (clear nuclear outline), and the horizontal arrow shows normal urothelial cells (a) and Liquid-based cytology. The arrow shows malignant cells with a high N/C ratio (б). Стрілкою відповідно вказано цитоморфологічні характеристики неопластичних змін. Забарвлення Папаніколау. $\times 200$ (a) та $\times 400$ (б).

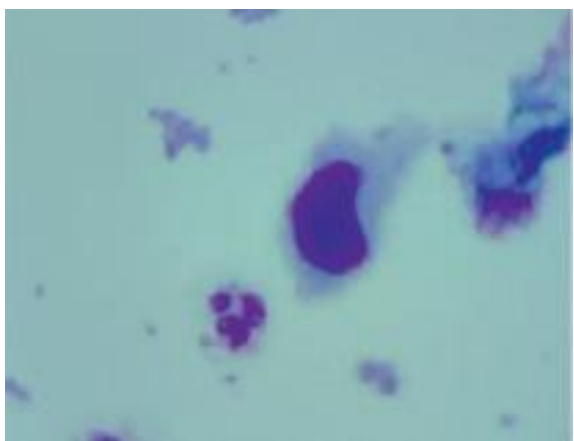


Рис. 4. Цитологічний мікропрепарат – перехідноклітинний рак сечового міхура. Забарвлення за Романов-Гімза. $\times 1000$.

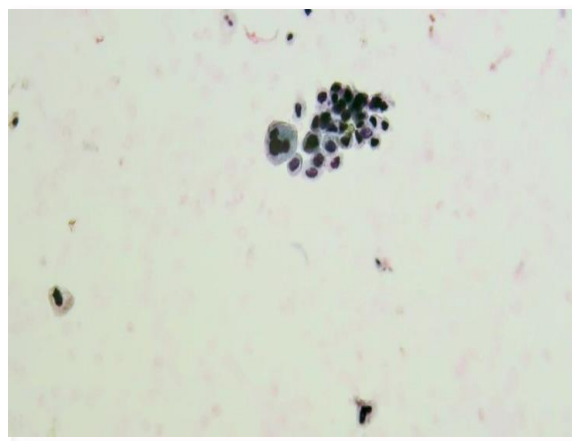


Рис. 6. Liquid-based cytology. AUC: Atypical urothelial cells. Забарвлення Папаніколау. $\times 100$. Атипові уротеліальні клітини.

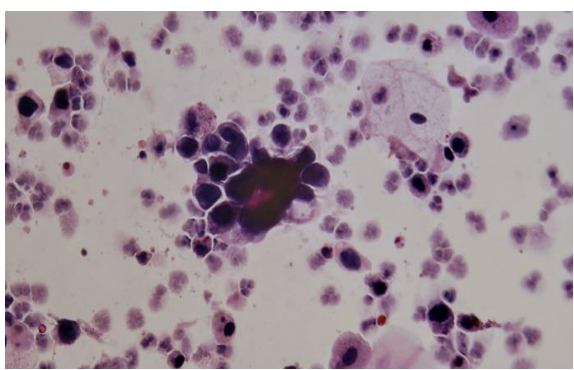


Рис. 5. Liquid-based cytology. HGUC: High-grade urothelial carcinoma. Забарвлення Папаніколау. $\times 200$. Уротеліальна карцинома високого ступеня злоякісності.

Слід відмітити, що застосування методу РЦ для пробігдготовки осаду сечі вирішує одну з головних проблем, що полягає у покращенні клітинності досліджуваного матеріалу.

Практично не поступається якістю препарати РЦ осаду сечі отримані із використанням приладу HURO PATH® S, який використовується у нашій лабораторії. При даному методі обробки матеріалу необхідне попереднє центрифугування певного об'єму матеріалу, занурення осаду у спеціальне транспортне середовище та фільтрація його через запатентований двомембранний фільтр. Препарат відбитку моношарових клітин досить зручний для подальшої фіксації та фарбування. Ілюстративний матеріал клітин осаду сечі отриманий методами РЦ із використанням технології HURO PATH® S доводить більшу інформативність порівняно із ТЦ (рис. 7, 8). Так, надлишок слизу та скупчення клітинних елементів на фоні паличкоподібної флори не дають змогу оцінити морфологічну картину епітеліальних клітин.

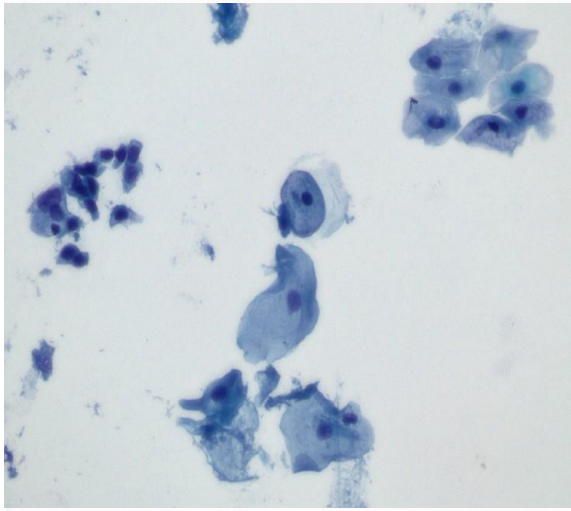


Рис. 7. Препарат осаду сечі отриманий методом РЦ SurePath. Забарвлення Папаніколау. $\times 200$. Клітини плоского та перехідного епітелію.

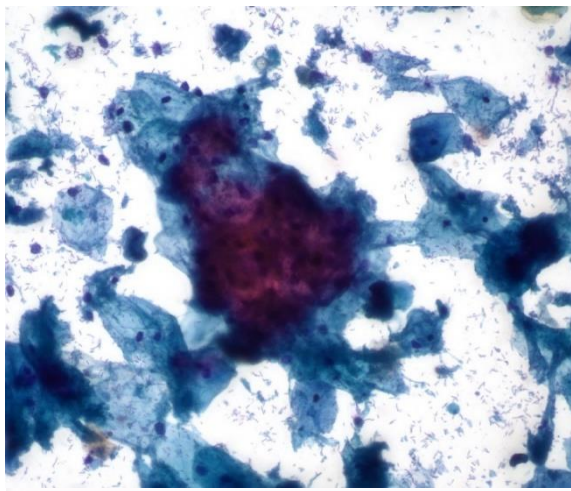


Рис. 8. Препарат осаду сечі отриманий ТЦ. Забарвлення Папаніколау. $\times 100$. Клітинні елементи перекриті слизом та бактеріальною флорою.

На думку деяких авторів, саме застосування методу РЦ з метою раннього виявлення злоякісних уротеліальних пухлин низького ступеня злоякісності дасть змогу зберегти тисячі життів [25, 26]. Також даний підхід буде доцільним для спостереження за пацієнтами, які пройшли лікування, і для оцінки мінімальної залишкової хвороби сечового міхура [27]. Таким чином, представлені способи пробігдготовки матерілу осаду сечі різними технологіями РЦ доводять більш високу інформативність матеріалу порівняно із методом ТЦ. Вибір технологій пробігдготовки препаратів РЦ залишається за кожною лабораторією, але завдяки використанню вище зазначеного обладнання можна отримати дійсно високоякісні препарати.

У наступному підрозділі ми спробуємо проаналізувати всі позитивні та негативні сторони застосування методу РЦ для дослідження секрету

мокроти з урахуванням досвіду провідних спеціалістів.

2. Застосування методу рідинної цитології для визначення цитоморфологічних характеристик мокротиння

Цитологічне дослідження мокротиння є необхідним для оцінки патологічних процесів, що проходять у легенях, бронхах і трахеї при захворюваннях, що супроводжуються кашлем і відхаркуванням. Мікроскопічне дослідження секрету мокроти застосовується для діагностики раку легень (виявляються у 85% пацієнтів), доброякісних новоутворень та туберкульозу [28-30]. Досить часто гній, серозна рідина, елементи гнильного процесу або розпаду тканин, кров, волокна фібрину заважають мікроскопічному аналізу клітин. Позбавлення від цих домішок сприяє застосування методу РЦ для дослідження мокротиння.

Як було зазначено у попередній частині огляду, завдяки технології SurePath можна отримати адекватний бронхоальвеолярний матеріал за допомогою ендобронхіальної щітки, яку після процедури забору занурюють у спеціальну консервувальну рідину. Згідно рекомендацій виробника, для розрідження слизу необхідно додавати муколітичний агент до віалі із матеріалом, який дозволить позбавитися слизу. Після центрифугування та видалення супернатанту можна отримати адекватний матеріал без артефактів [31]. Іншими авторами показано, що при підозрі на злоякісні утворення у легенях, досить інформативним є отримання матеріалу за допомогою методу ультразвукової трансbronхіальної голкової аспірації (EBUS-TBNA) та трансторакальної тонкогolkової аспірації (TTFNA) під контролем комп'ютерної томографії. Авторами було проведено порівняльне дослідження якості досліджуваного матеріалу отриманого методом ТЦ та РЦ. Так, для ТЦ робили звичайні мазки з аспірату, фіксуючи їх у 95% спиртї, а для РЦ матеріал вносили у спеціальний консервувальний розчин (CytoRich-RED із подальшою обробкою згідно технології SurePath) [32]. Авторами досліджень було проаналізовано широкий спектр доброякісних та злоякісних новоутворень системи органів дихання із застосуванням технології РЦ. Всі цитологічні заключення РЦ та ТЦ було порівняно із гістологічним описом (рис. 9).

Так, було показано, що вірогідність ідентифікації доброякісних утворень із застосуванням методу РЦ порівняно із ТЦ було у 5 разів вище, що повністю узгоджувалось із гістологічним заключенням. Крім того, результати виявлення злоякісних пухлин при застосуванні методу РЦ також були кращими відносно даних ТЦ [32]. Даний факти пояснювався тим, що при застосуванні технології РЦ для матеріалу бронхіальних аспіратів спостерігали збереження структури ядерця, текстури

хроматину та клітинного плеоморфізму (рис. 9). Однак, авторами виявлено зміни морфології ядер (подовження форми) у матеріалі хворих із дрібноклітинним раком легень, які були отримані методом РЦ. Також дослідники у своїй роботі зазна-

чили, що у матеріалі із підозрою на злоякісну трансформацію, отриманого методом РЦ може іноді змінюватись картина мікрооточення пухлинного осередку, що викликає певні труднощі в інтерпретації [32].

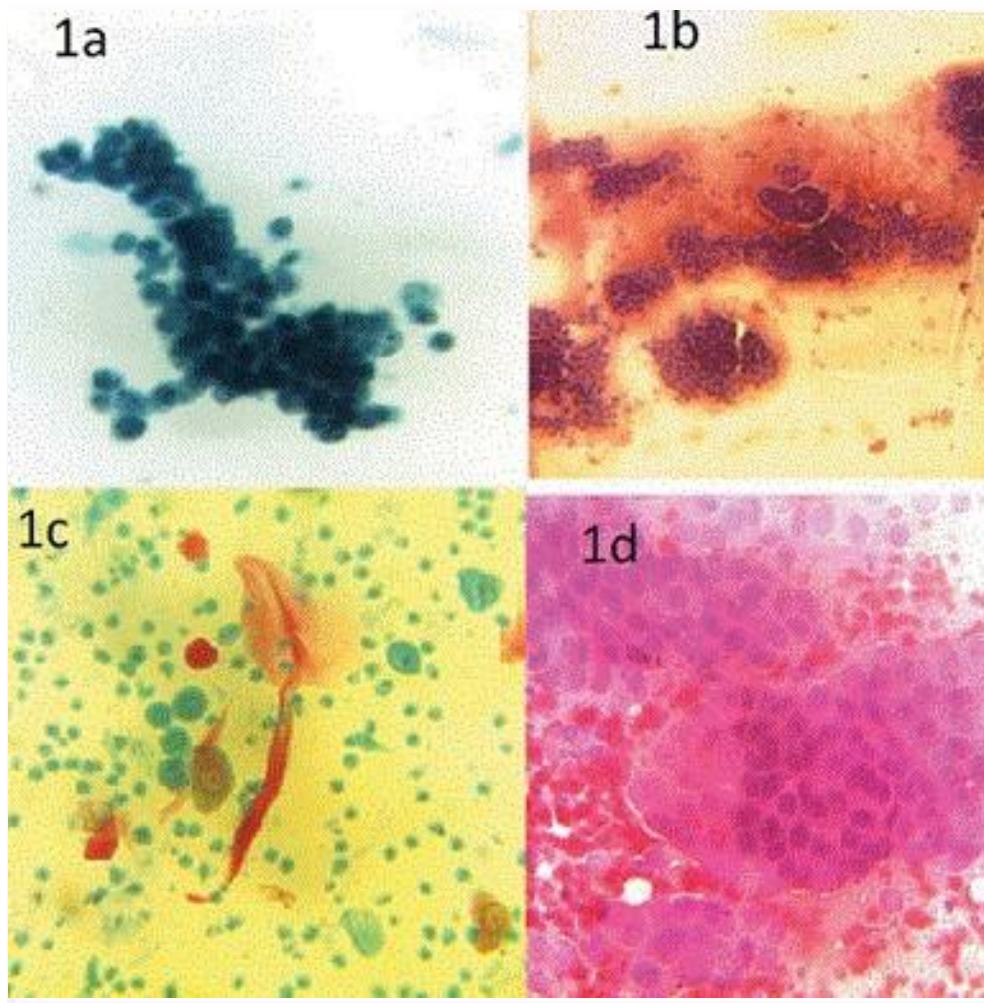


Рис. 9. a: LBC smear of Adenocarcinoma at X200, showing vesicular chromatin with prominent nucleoli. b: Conventional smear of Adenocarcinoma at X200, showing cells arrangement in acini pattern. c: LBC smear of Squamous cell carcinoma at X200, showing few atypical squamous cell. d: Conventional smear of Squamous cell carcinoma. $\times 200$.

Іншими авторами також було відмічено кращу якість препаратів з бронхіальної щітки, отриманого методом РЦ порівняно із ТЦ. Так, препарати РЦ мали моношарову площу для аналізу та більш чіткий фон і кращі стереоскопічні цитологічні особливості [31]. Діагностична чутливість для раку легень при використанні РЦ була вищою (71,6%), ніж при застосуванні методу ТЦ (57,8%, $p < 0,05$). Комбінація методів РЦ та ТЦ показала очевидно вищу діагностичну чутливість для виявлення аденокарцином (63,6%), пухлинних новоутворень центральної зони (85%) та уражень, що за розміром становлять більше 2 см (81,4%). Ілюстративний матеріал добре демонструє відмінності якості матеріалу отриманого методом РЦ та ТЦ (рис. 10-12).

На нашу думку, слід звернути увагу на інформативність препаратів РЦ, що були забарвлені за методом Папаніколау, оскільки поліхроматофільне фарбування дає змогу оцінити ступінь диференціювання клітин.

Крім того, автори зробили порівняльний аналіз цитоморфологічних критеріїв клітин секрету мокроти, отриманих методами РЦ та ТЦ [31]. Такий аналіз є досить доцільним, оскільки допомагає набутти досвід при роботі із препаратами РЦ (табл. 1).

Згідно даних статистичного аналізу доведено більш високу чутливість методу РЦ (76,5%) порівняно із ТЦ (57,5%) для діагностування аденокарцином та дрібноклітинного раку легень [31]. Клітинний моношар при РЦ показав більш чіткий

фон і сильні контрастні якості завдяки покращенню отримання зразків, підготовки предметного скла та фарбування. Таким чином, цитологам було легше зосередитися на скринінгу кож-

ного поля зору з помітним підвищенням ефективності скринінгу. Також відомо, що саме препарати, що були отримані методом РЦ можна використовувати для імуноцитохімічних досліджень експресії EGFR [33, 34].

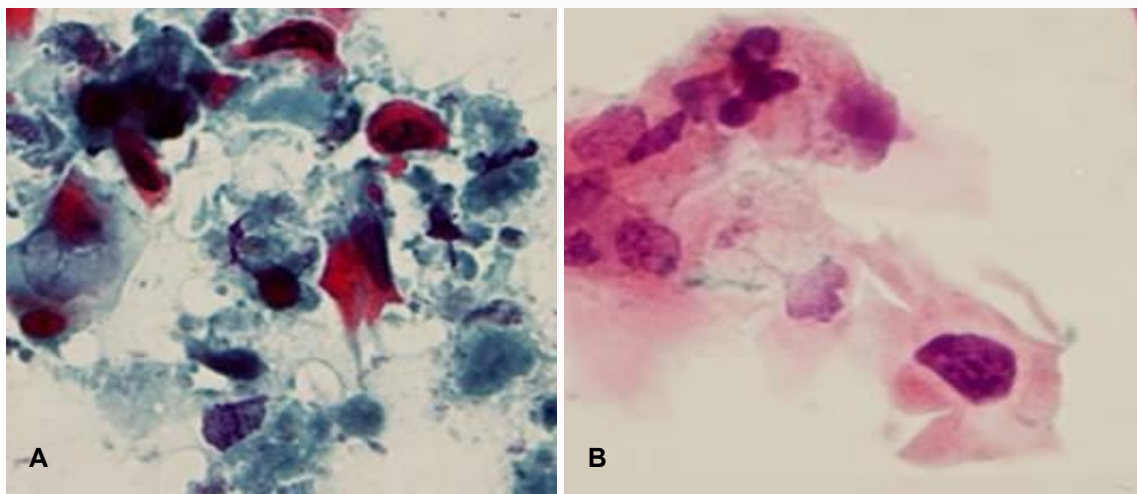


Рис. 10. Squamous cell carcinoma. a A slide prepared by the CPS method; b A slide from the same patient prepared with the LPT, showing homogeneous cell distribution in a perfect monolayer and absence of mucus. Papanicolaou stain. $\times 400$.

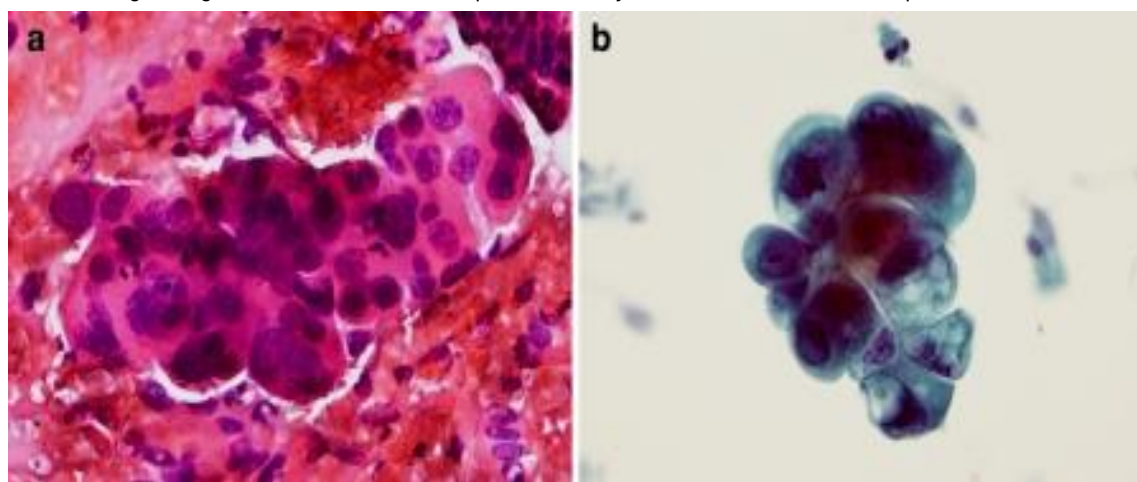


Рис. 11. Adenocarcinoma. a A slide prepared by the CPS method; b A slide from the same patient prepared with the LPT, showing a clearer background. The small aggregates of cancer cells are arranged in an acinic pattern. Papanicolaou stain. $\times 400$.

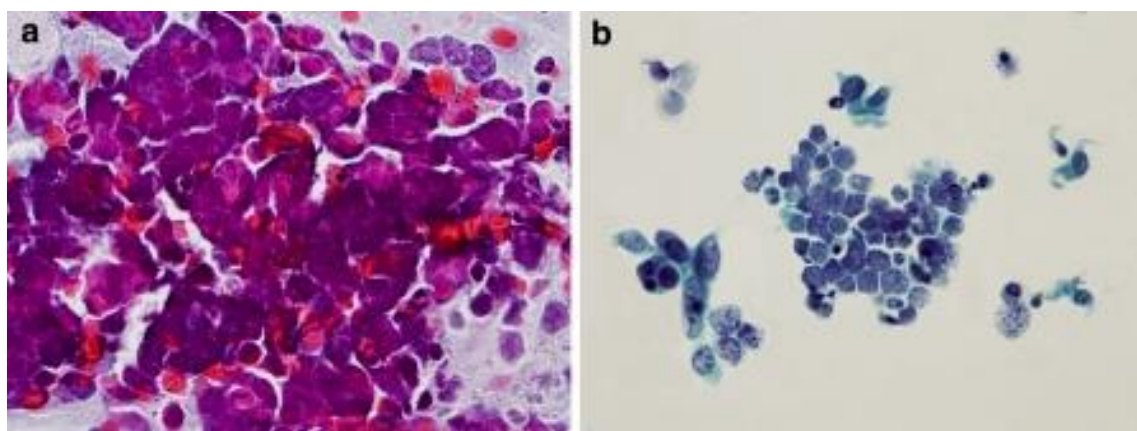


Рис. 12. Small cell lung carcinoma. a by the CPS method; b A slide from the same patient prepared with the LPT, showing a clearer background, crowded cell clusters, small uniform nuclei and scanty cytoplasm. Papanicolaou stain. $\times 400$.

Порівняльна характеристика морфологічних характеристик злоякісних клітин у секреті мокроти, отриманих методом ТЦ та РЦ

Тип новоутворення	Традиційний метод	Метод рідинної цитології
Плоскоклітинна карцинома	Серед клітин плоскоклітинної карциноми спостерігали велику кількість слизу, некротичного матеріалу, клітин запалення та еритроцитів	Оригінальні клітинні структури плоскоклітинної карциноми добре збережені, без слизу або лейкоцитів
Аденокарцинома	Навколо клітин аденокарциноми спостерігали слиз і клітини запалення, які мали веретеноподібні структури, схожі на шовкопряда	Невеликі агрегації клітин аденокарциноми розташовані у вигляді аденоїдів і мали стереоскопічну форму
Дрібноклітинний рак	Дисперсні клітини були розміщені у вигляді смугових структур	У щільно згрупованих клітинах виявлено шовковичні структури або інкрустації

Більшість фахівців дотримуються певного алгоритму підготовки матеріалу бронхіального аспірату при застосуванні методу ТЦ. У випадках із підозрою на дрібноклітинний рак та аденокарциному матеріал готують на 3-4 скельцях. Встановлено, що на першому скельці не можуть не виявлятися клітини карциноми. Ймовірно, це пов'язано з неглобулярною морфологією клітин дрібноклітинної карциноми, які не легко осідають і тому втрачаються під час центрифугування [31].

Таким чином, метод РЦ є корисним методом обробки бронхіального секрету, який раніше не використовувався в діагностичній цитології, і може бути потенційно потужним інструментом для діагностики злоякісних новоутворень. Проте, не слід забувати про складність діагностування дрібноклітинного раку легень, а особливо аденокарцином цим методом. Для початківців цитоморфологів та з метою зниження частоти хибнонегативного результатів рекомендовано одночасно оцінювати матеріал РЦ та ТЦ [31, 32].

Згідно нашого досвіду, процедура отримання препаратів бронхіального секрету із використанням обладнання з супутніми матеріалами HUORATH® S (Slide Sample Processor) є значно спрощеною. Проте на жаль, отримання відбитків даного матеріалу цим пристроєм поки ще не впроваджено у медичних закладах.

3. Порівняльні особливості отримання та інтерпретації препаратів тц та рц при аспіраційної біопсії молочної залози

Як відомо, тонкоголкова аспіраційна біопсія (ТАБ) є інформативним та найбільш безпечним методом ранньої діагностики новоутворень молочної залози (МЗ). Такі діагностичні заходи проводять з метою отримання клітин з підозрілої ділянки із подальшим мікроскопічним дослідженням матеріалу. В разі виявлення вузлового утворення даний метод використовують лише для диференційно діагностики між порожнистим (рідинним) та солідним (вузловим) вмістом. Згідно сучасних

діагностичних підходів застосування ТАБ при солідних новоутвореннях МЗ не застосовується, а виконується трепан-біопсія. Відомо, що деякі доброякісні пухлини мають високий потенціал переродження у злоякісне новоутворення. Тому, дуже важлива своєчасна рання діагностика пухлинного процесу у МЗ, особливо при фіброзно-кістозних змінах [35]. Це обумовлено тим, що в одних випадках вони здатні до переродження і потребують оперативного втручання, а в інших - дозволяють уникнути хірургічного лікування. Із впровадженням методу РЦ у різних галузях медицини виникають певні побоювання та непорозуміння щодо алгоритму поводження із матеріалом. Так, для отримання препаратів методом РЦ за технологією ThinPrep частину матеріалу занурювали у транспортне середовище. З іншої частини готували чотири традиційні препарати. Два предметних стекла отриманих методом ТЦ поміщали в розчин Карнуа для фіксації та фарбували за Папаніколау, а два інших висушували на повітрі та фарбували за методом Райта. Препарати порівнювалися за певними критеріями: адекватність (наявність епітеліального кластера або міоепітеліальних клітин), загальну клітинність, наявність окремих епітеліальних та міоепітеліальних клітин, епітеліальну архітектуру, ядерну атипію та запальний/білковий фон [36]. Цитологічні результати порівнювали з гістологічною картиною.

Слід зазначити, що клітинність цитологічних слайдів отриманих методом ТАБ переважно залежить від досвіду виконавця при заборі матеріалу. Відсоток кластерів був вищим при підготовці препаратів методом РЦ порівняно з методом ТЦ [36]. За розміром зупинення кластерів аспіратів, отриманих методом РЦ були меншими порівняно із методом ТЦ. Деякі дослідження констатували зменшення розмірів кластерів клітин та ядерця, які становлять цитологічну пастку для діагностики фіброаденоми (рис. 13). Також показано, що застосування РЦ може призвести до руйнування адипоцитів, що у свою чергу може спричинити труднощі у діагностиці ліпом та жирового

некрозу (рис. 13). Герхард і Шмітт заявили, що наявність змін розмірів кластерів та втрата когезії може призвести до помилкового діагнозу злоякісності [37]. Деякі дослідження показують, що клітинна морфологія змінюється при пробігдготовці препаратів методом РЦ. При застосуванні РЦ для матеріалу МЗ морфологія клітин змінюється:

вони стають більш округлими та меншими, а при ТЦ залишаються сплюсненими. Також була виявлена морфологічна зміна міоепітеліальних клітин при застосуванні методу РЦ, які у більшості зменшувались за розміром та ставали подібними до фібробластів.

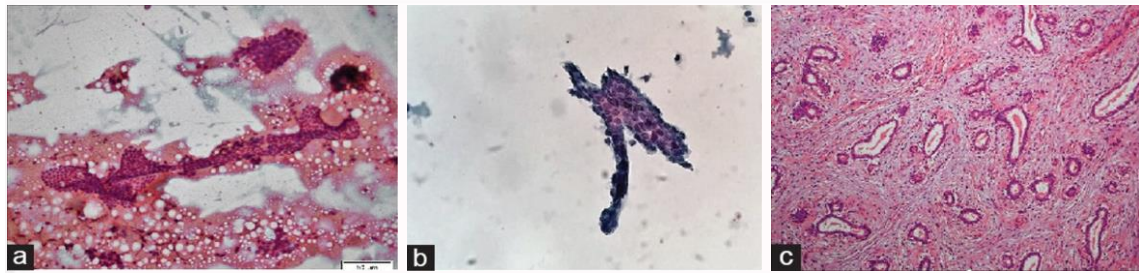


Рис. 13. (a-c) Cytology and histology of fibroadenoma (a) Conventional method, tight cluster with no atypia, (b) Liquid-based preparation reveals a tight epithelial cluster in a clean background, Papanicolaou stain, ×250 and ×400, respectively. (c) Haematoxylin and eosin, ×250.

Авторами відмічено, більш чистий фон аспіратів МЗ при застосуванні методу РЦ в порівнянні із ТЦ. Усунення затемнення фону робить аналіз препаратів простішим та і швидшим; а з іншого боку - усуває інформаційний фон, без якого неможливо визначити остаточний діагноз [36, 37]. Наприклад, у разі використання РЦ при аналізі муцинозної та медулярної карцином фон буде чітким, що значно погіршує діагностування. Крім

того, некротичний фон, який можна використовувати як цитологічний ознака злоякісності, буде також менш помітним при РЦ (рис. 14). Також при застосуванні методу РЦ спостерігалися помилки постановки діагнозу протокових карцином низького ступеня злоякісності за рахунок зменшення розміру ядер та зміни їх атипових ознак.

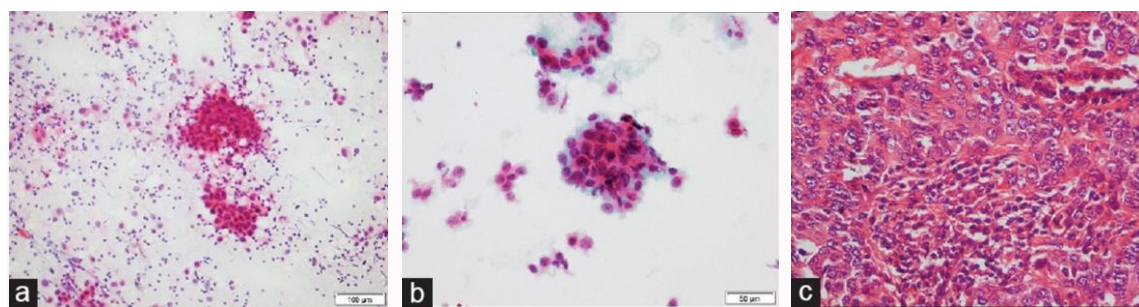


Рис. 14. (a-c) Cytology and histology of invasive ductal carcinoma with medullary features a: Conventional smear shows loose clusters of malignant cells in an inflammatory background, b: Loose clusters in a clean background in liquid-based preparation, Papanicolaou stain, ×100 and ×400, respectively. c: Haematoxylin and eosin, ×400.

Іншою групою дослідників також було проаналізовано морфологічні особливості матеріалу МЗ, отриманий методом ТАБ із застосуванням методу РЦ за технологією ThinPrep та ТЦ [38]. Порівняльне дослідження цитоморфологічних ознак клітин у препаратах РЦ та ТЦ цитологія виявили наступні відмінності:

1. Зменшення клітинних кластерів було більшим у матеріалі РЦ порівняно із ТЦ (рис. 15).
2. Збільшені ядра виявляли у препаратах РЦ порівняно із ТЦ (рис. 16).
3. Відмічено зниження якості препаратів РЦ при довготривалій фіксації матеріалу (розмиті фрагменти контур ядер).
4. Доведено більш високу інформативність

експресії імуногістохімічних маркерів у препаратах РЦ порівняно із гістологічним матеріалом (рис. 17).

Цей факт пояснюється більш агресивною фіксацією гістологічного матеріалу порівняно із клітинним матеріалом, що позначається на відмінностях умов активації епітопу антигену. Так, візуально можна виявити більш виражену експресію HER-2neu на матеріалі ТАБ молочної залози, підготовленим методом РЦ.

Таким чином, ми можемо із впевненістю сказати, що більшість авторів дійшли висновку, що зразки препаратів МЗ виконані методом РЦ є точним діагностичним інструментом, який дозволяє із високою ефективністю виявляти доброякісні та

злюкисні процеси. Однак, для правильної інтерпретації матеріалу аспірату МЗ, отриманого методом РЦ цитопатолог повинен здобути певний досвід роботи із ним, а при суперечливому діагнозі

рекомендовано оцінювати одночасно матеріал, отриманий метпдами ТЦ та РЦ [37, 38].

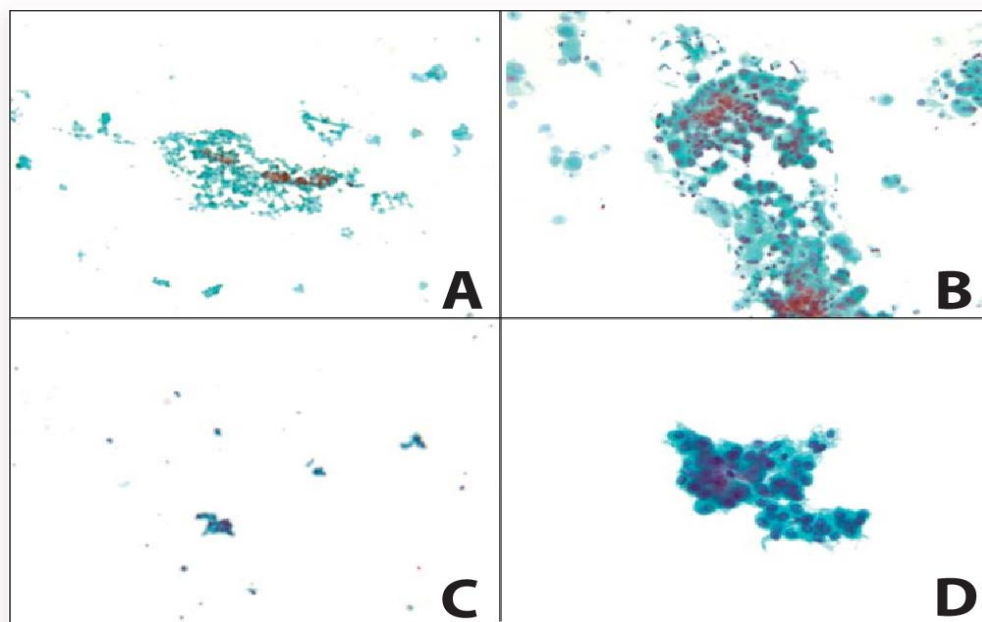


Рис. 15. (A) IDC, FNAC. (B) IDC, FNAC. (C and D) Shrinkage of cell clusters can be seen in LBC (Papanicolaou stain, A and C, $\times 10$; B and D, $\times 20$).

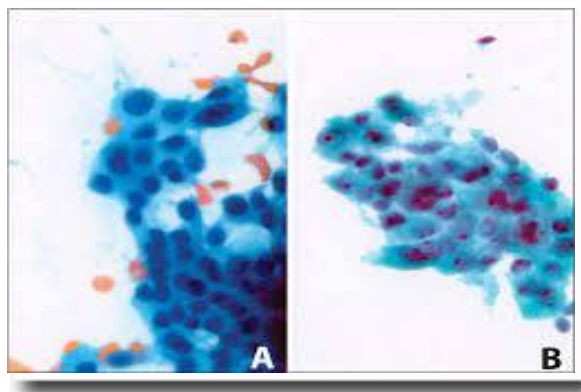


Рис. 16. (A) Invasive ductal carcinoma, FNAC. (B) Exaggerated nucleoli occasionally can be seen in LBC.

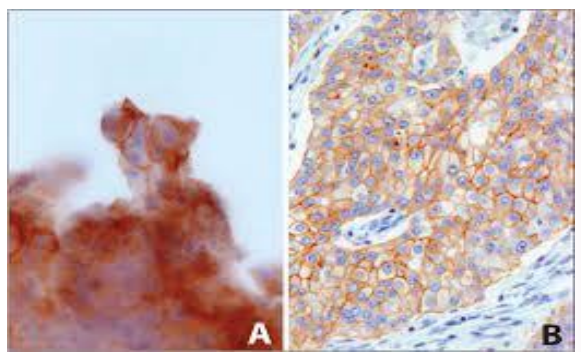


Рис. 17. (A) HER2 Score 3+ for ThinPrep. (B) HER2 Score 3+ for histology. (A, immunocytochemistry, $\times 40$; B, immunohistochemistry, $\times 20$).

4. Порівняльні особливості отримання та інтерпретації матеріалу щитовидної залози при застосуванні методів традиційної та рідинної цитології

Відомо, що золотим стандартом діагностики новоутворень щитовидної залози (ЩЗ) залишається ТАБ, яка дає змогу відібрати пацієнтів, які підлягають хірургічному лікуванню [39, 40]. Проте, у 15-30% випадків неможливо остаточно виставити діагноз. Деякі дослідники вважають, що з метою покращення виявлення злюкисних форм ЩЗ необхідно поєднувати методи ТЦ та РЦ. Згідно даних літератури значний відсоток неадекватного матеріалу при ТАБ ЩЗ отримується саме при застосуванні методу РЦ [41]. Однією із основних причин такого факту є дослідження матеріалу по остаточноному принципу: при повторній негативній пункції вузлового новоутворення максимально весь матеріал направляється на традиційне дослідження, а залишки піддавали пробпідготовці методом РЦ. Проте, у деяких роботах було отримано цікавий факт щодо високого відсотку виявлення злюкисних клітин у новоутвореннях ЩЗ методом РЦ у порівнянні із ТЦ [41, 42]. Проте, гіперклітинність зразка та складність в інтерпретації тримірних кластерних структур іноді стають ключовим помилковим фактором для постановки папілярного та фолікулярного раку. Показано, що при діагностуванні доброякісних аденом ЩЗ, які готували методом РЦ виявляють бі-

льший відсоток помилок із-за неправильної ідентифікації онкоцитів, які визначаються як макрофаги. У цих препаратах цитоплазма клітин Гюртле виглядає більш ніжною та блідою, що дозволяє помилково їх відносити до пеністих макрофагів (рис. 18).

Навпаки, при діагностуванні злоякісних форм новоутворень ЩЗ методом РЦ виявлено більш високу чутливість та специфічність (у 1,3 та 1,5 рази) порівняно із традиційним. Слід відмітити, що кількість складних випадків недиференційованого раку ЩЗ було виявлено саме завдяки методу РЦ [42]. Іншими авторами пропонується одночасно застосовувати методи ТЦ та РЦ, оскільки вони доповнюють один одного та дають

більш повну інформацію, особливо при діагностуванні папілярних карцином [43-45].

Цікавим є досвід інших колег щодо застосування методів РЦ та ТЦ для аналізу новоутворень ЩЗ. Згідно їх рекомендацій, з матеріалу аспіраційної біопсії необхідно робити 2 скельця для ТЦ (безпосереднє нанесення матеріалу) із наступним фарбуванням за Романовським та водночас готувати препарати для РЦ. Так, для отримання матеріалу із застосуванням РЦ рекомендують промивати кінчик голки у ізотонічному розчині, і тільки лише тоді вносити матеріал у транспортне середовище із наступним фарбуванням за Папаніколау [42, 43].

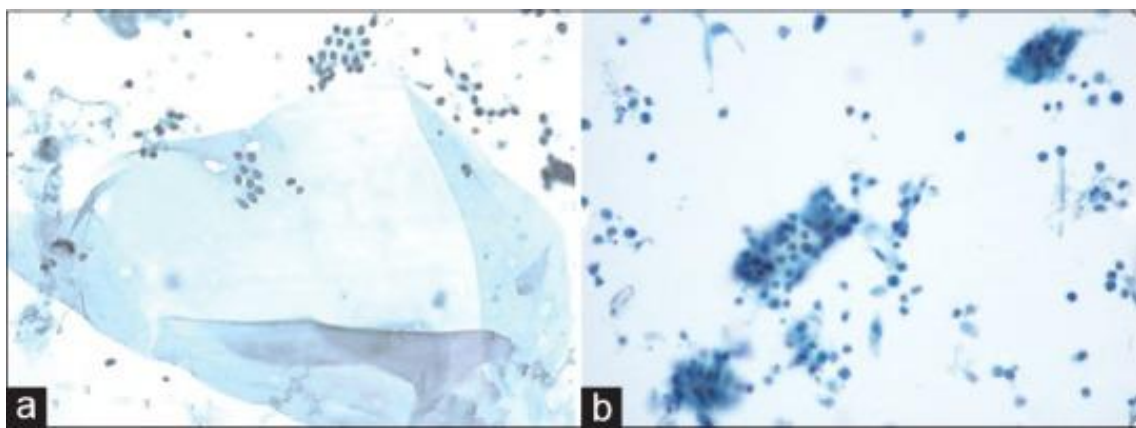


Рис. 18. а) LBC smear showing thin colloid as napkin fold appearance and thick colloid as dense droplet (Pap. $\times 40$). б) Hashimoto's thyroiditis showing a background rich in lymphocytes, infiltrating the follicular cells and histiocytic giant cell formation (Pap. $\times 40$).

Дуже цікавим є той факт, що при порівнянні різних методів РЦ для пробігпдготовки матеріалу ТАБ із ЩЗ не відрізняються якістю, що є свідченням широкого використання цих технологій в обробці матеріалу [44-46]. Для додаткових методик більшість авторів обирають матеріал, отриманий методом РЦ. Саме застосування імуноцитохімічних маркерів CK19, Galectin3, HMBE1, CD44 на матеріалі ЩЗ, підготовленого методом РЦ дають перевагу над ТЦ, оскільки краще візуалізується експресія маркерів. Однак, необхідно враховувати, що використання методу РЦ при фолікулярних новоутвореннях ЩЗ із колоїдним компонентом або аутоімунному тиреоїдиті може призвести до хибного діагнозу.

5. Застосування методу рідинної цитології для визначення цитоморфологічних характеристик випітних рідин

Дослідження випітних рідин нині має високу значущість у діагностиці патологічних станів [47, 48]. Отримані дані цього дослідження дозволяють лікарю-клініцисту отримати інформацію про патогенез утворення випоту та коректно впровадити лікувальні заходи. Однак, на шляху діагностики завжди виникають певні складнощі, які здатні

привести до діагностичної пастки. Необхідність у іноваційних методологічних підходах до оцінки цитоморфологічних характеристик випітних рідин виникла у зв'язку з зростаючою потребою у застосуванні їх для діагностики злоякісних новоутворень. За клітинним складом ексудати можуть містити елементи тканинного некрозу, запалення або неопластичні клітини. Велику проблему в інтерпретації цитограм створюють клітини мезотелію, які здатні під дією мікрооточення набувати ознаки атипії, які можна помилково прийняти за ознаки злоякісності. Саме тому, покращення методичних підходів щодо отримання якісних та інформативних препаратів з випітних рідин завдяки методу РЦ має важливе значення.

Спробуємо більш детально зупинитися на цитологічному дослідженні перитонеальної рідини, яка може утворюватися у випадках серозної аденокарциноми яєчників. Ступінь ураження сальника у цих випадках можна виявити завдяки цитологічному дослідженню. Відомо, що неправильна діагностика новоутворень, таких як метастатична карцинома, може призвести до подальшої прогресії новоутворення [49]. Морфологічні особливості прикордонних серозних пухлин яєчника

із накопиченням асцитної рідини також досліджують методом РЦ з використанням техніки SurePath [50, 51]. Було показано ефективність використання методу РЦ порівняно із ТЦ, при морфологічному дослідженні асцитної рідини, з ознаками злоякісності. Доведено, що у препаратах РЦ на відміну від ТЦ спостерігали кращу клітинність, та структурованість тривимірних 3D кластерних

структур, покращення фону, виражений ядерний поліморфізм (рис. 19). Авторами досліджень також підкреслено перевага фарбування матеріалу за Папапаніколау, оскільки даний вибір значно спрощує візуалізацію складних клітинних угруповань та дає змогу визначитись із морфологічними особливостями атипичних змін.

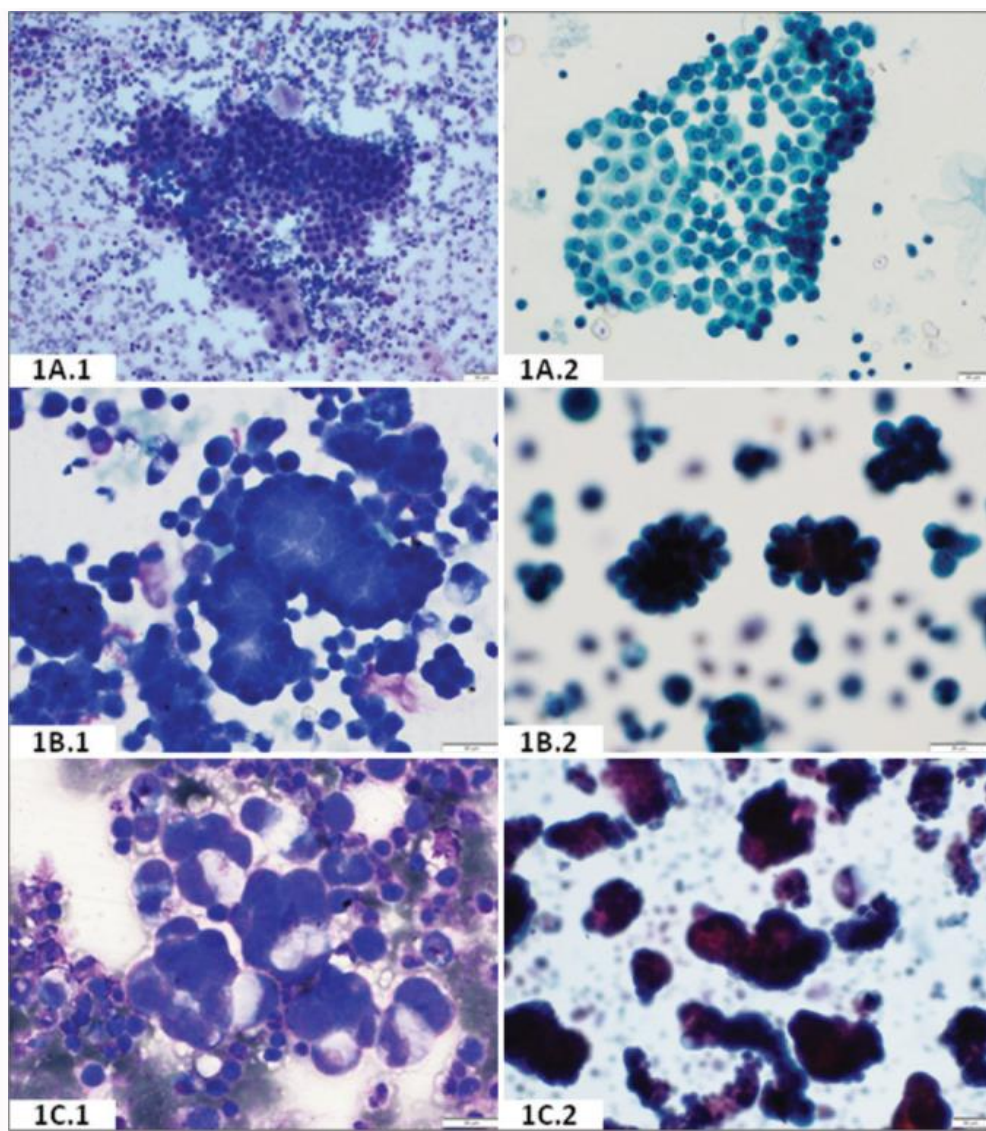


Рис. 19. A panel of microphotographs comparing the morphology of borderline serous tumors (BST)-, BST+, and serous carcinoma in conventional smears and liquid-based cytology (LBC); (a) 1. Conventional smear with monolayered sheets of mesothelial cells in BST- (May-Grunwald-Giemsa [MGG], $\times 100$); (a) 2. LBC smear showing mesothelial cells with minimal pleomorphism, regular nuclear membrane, and presence of intercellular windows (Pap, $\times 200$). (b) 1. Conventional smear with papillary clusters in BST+ (MGG, $\times 200$); (b) 2. LBC smear better highlights 3D clusters (Pap, $\times 200$); (c) 1. Conventional smear with papillary clusters and moderate nuclear pleomorphism in serous carcinoma (Giemsa, $\times 200$); (c) 2. 3D clusters better highlighted in LBC smears (Pap, $\times 200$). Borderline serous tumors (BSTs) of ovary in ascitic fluid have been rarely described. The aim of our study was to evaluate the morphologic features of BST with and without ascitic fluid involvement (BST+ and BST-, respectively).

Було зроблено висновок, що препарати РЦ з використанням техніки SurePath™ разом із гістопатологією сальника може значно підвищити виявлення перитонеальних злоякісних новоутворень на початкових етапах захворювання [50].

Досить цінним аргументом впровадження

методу РЦ для уточнюючої діагностики біологічного профілю пухлинних клітин у випітних рідинах є застосування імуноцитохімічних маркерів [49]. Так, для визначення первинного вогнища пухлинного процесу даний підхід було застосовано для діагностування раку шлунку, яєчників, раку

підшлунково-біліарного тракту, товстої кишки, легень та молочної залози. Фарбування на цитокератин СК7 та PAX8 із застосуванням тривимірних 3D кластерних моделей було використано для диференціації первинного походження новоутворень. Було виявлено різний характер експресії цих маркерів на 3D кластерних моделях асцитних рідин, отриманих методом РЦ для визначення первинного вогнищового осередку карциноми.

Обговорення

Таким чином, цитоморфологічний аналіз різного біологічного матеріалу методом РЦ має право зайняти своє почесне місце серед мікроскопічних методів діагностики, але брак досвіду фахівців може призвести до безліч помилкових результатів. Ми спробували узагальнити отриману інформацію у табличному форматі для кращого розуміння переваги або недоліків застосування методів РЦ та ТЦ (табл. 2).

Таблиця 2
Порівняльна характеристика цитоморфологічних параметрів різного біологічного матеріалу, підготовленого методами РЦ та ТЦ

	Осад сечі		
Цитоморфологічні параметри	РЦ=ТЦ	РЦ>ТЦ	РЦ<ТЦ
Клітинність	+	+++	-
Архітектоніка	++	+++	++
Цілісність форми клітинних структур: цитоплазми, ядра та ядерець	++	+++	++
Фон	+	+++	-
Адекватність	+	+++	-
	Бронхоальвеолярний матеріал		
Цитоморфологічні параметри	РЦ=ТЦ	РЦ>ТЦ	РЦ<ТЦ
Клітинність	+	++	+
Архітектоніка	++	+++	++
Цілісність форми клітинних структур: цитоплазми, ядра та ядерець	++	++	++
Фон	++	+++	-
Адекватність	+	++	++
	Аспіраційний матеріал молочної залози		
Цитоморфологічні параметри	РЦ=ТЦ	РЦ>ТЦ	РЦ<ТЦ
Клітинність	++	+++	+
Архітектоніка, кластерність	+	++	+++
Цілісність форми клітинних структур: цитоплазми, ядра та ядерець	++	++	+++
Фон	++	+++	-
Адекватність	++	+	+++
	Аспіраційний матеріал щитоподібної залози		
Цитоморфологічні параметри	РЦ=ТЦ	РЦ>ТЦ	РЦ<ТЦ
Клітинність	++	++	++
Архітектоніка, кластерність	++	+	+++
Цілісність форми клітинних структур: цитоплазми, ядра та ядерець	++	+	+++
Фон	++	+++	+
	Випітні рідини		
Цитоморфологічні параметри	РЦ=ТЦ	РЦ>ТЦ	РЦ<ТЦ
Клітинність	++	+++	+
Архітектоніка, кластерність	++	+++	++
Цілісність форми клітинних структур: цитоплазми, ядра та ядерець	++	++	++
Фон	+	+++	-

Примітка: РЦ-рідина цитологія, ТЦ-традиційна цитологія; (+++)-максимальна якість, (++)-середня якість, (+)-незначне покращення, (-)-незадовільна якість.

Аналіз даних таблиці показав, що на теперішній час різні технології методу РЦ є найбільш інформативними для аналізу осаду сечі, секрету

мокроти, випітних рідин. Результати пробігів вище зазначеного матеріалу методом РЦ за більшістю критеріїв є набагато кращим ніж при

застосуванні ТЦ. Фахівці у своїх дослідженнях з обережністю ставляться до обробки аспіратів МЗ та ПЗ методом РЦ. Для дослідження даного виду матеріалу пропонується одночасне використання методів РЦ та ТЦ з метою підвищення діагностичного рівня та мінімізації помилок.

Висновки

1. Встановлено, що метод РЦ можна застосовувати для широкого спектру біологічного матеріалу, але ключовим питанням залишається доцільності його застосування для клітин із залозистою, фолікулярною або парафолікулярною структурою із складною кластерною будовою. Зміна цитоморфологічних характеристик цих новоутворень спостерігається при застосуванні різних технологій РЦ, що може спричинити до помилкових результатів. Для підвищення якості діагностування даного типу матеріалу рекомендують одночасне застосування методів РЦ та ТЦ.

2. Відмічено, що метод РЦ є більш інформативним порівняно із ТЦ для мікроскопічного аналізу плоскоклітинних епітеліальних неоплазій, оскільки цитоморфологічні характеристики цих клітин та тривимірні кластери серозних карцином не змінюються, а кількість артефактів, які перекривають інформативний матеріал значно зменшується.

3. Доведено, що технологія РЦ дозволяє застосовувати додаткові методи дослідження матеріалу (імуноцитохімічні, молекулярні), які надають нам більше інформації щодо біологічного профілю новоутворень. Дана стратегія може допомогти клініцистам із вибором індивідуальної тактики лікування

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела

References

1. Huang C, Luo X, Wang S, Wan YU. Minimally Invasive Cytopathology and Accurate Diagnosis: Technical Procedures and Ancillary Techniques. *In vivo*. 2023;37(1):11-21.
2. Marszałek A, Bakinowska J, Grobelna M. Assessment of the diagnostic usefulness of liquid-based cytology. The impact of modifications. *Polish Journal of Pathology*. 2023;74(4):271-281. DOI:10.5114/pjp.2023.134320.
3. Ibrahim NE, Assar TM, Negm AA, Adel MM. Cytological and Bacteriological Assessment of the Cervix in Cases Having Nabothian Cysts. *Benha Medical Journal*. 2024;41(1):78-87. DOI:10.21608/bmfj.2024.258349
4. Waghe T, Acharya N. Advancements in the Management of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Comprehensive Review. *Cureus*. 2024;16(4):e58645. DOI:10.7759/cureus.58645.
5. Majidova NB, Gurbanova CF, Gurbanova FA. Importance of Cytological Screening in the Diagnosis of Cervical Diseases. *Ukrainian journal of medicine. Biology and sport*. 2022;7(3):159–164. DOI:10.26693/jmbs07.03.159.
6. Benevolo M, Ronco G, Mancuso P, Carozzi F. Comparison of HPV-positive triage strategies combining extended genotyping with cytology or p16/ki67 dual staining in the Italian NTCC2 study. *EBioMedicine*. 2024;104:e105149. DOI: 10.1016/j.ebiom.2024.105149
7. Boyko VV, Tkachenko VV, Sochnieva AL, Kritsak VV. Modern view on the problem of acute pleural empyema surgical treatment. *Wiad Lek*. 2024;77(2):327-337. DOI: 10.36740/WLek202402121.
8. Peña KB, Riu F, Hernandez A, Guilarte C, Elizalde-Horcada M. Study of liquid-based cytology

using next-generation sequencing as a liquid biopsy application in patients with advanced oncological disease. *Biomedicines*. 2023;11(6):1578. DOI:10.3390/biomedicines11061578.

9. Iwaya H, Tanimoto A, Toyodome K, Kojima I, Hinokuchi M. Next-Generation Sequencing Analysis of Pancreatic Cancer Using Residual Liquid Cytology Specimens from Endoscopic Ultrasound—Guided Fine-Needle Biopsy: A Prospective Comparative Study with Tissue Specimens. *Diagnostics*. 2023;13(6):2839. DOI:10.3390/diagnostics13061078.

10. Claire MW. Liquid-based cytology technique for thyroid cytology. In *Thyroid FNA Cytology: Differential Diagnoses and Pitfalls*; Singapore: Springer Nature Singapore. 2024:543-555. DOI:10.1007/978-981-13-1897-9_13.

11. Jain AK, Jain P, Jaggi K, Suresh A, Yadav M. Drug-Resistant Bone, Joint and Spine Tuberculosis: Evolution of Diagnosis and Treatment. *Indian Journal of Orthopaedics*. 2024;58:661–668.

12. Patel N, Bavikar R, Buch A, Kulkarni M, Dharwadkar A. A comparison of conventional Pap smear and liquid-based cytology for cervical cancer screening. *Gynecology and Minimally Invasive Therapy*. 2023;12(2):77-82. DOI: 10.3390/diagnostics13172839.

13. Dasgupta S. The Efficiency of Cervical Pap and Comparison of Conventional Pap Smear and Liquid-Based Cytology: A Review. *Cureus*. 2023;15(11):e48343. DOI 10.7759/cureus.48343.

14. Karisani N, Aminimoghaddam S, Kashanian M, Baradaran H. R. Diagnostic accuracy for alternative cervical cancer screening strategies: A systematic review and meta-analysis. *Health care for women international*. 2024;45(3):323-362.

15. Patel N, Bavikar R, Buch A, Kulkarni M, Dharwadkar A. A comparison of conventional Pap smear and liquid-based cytology for cervical cancer screening. *Gynecology and Minimally Invasive Therapy*. 2023;12(2):77-82. DOI: 10.4103/gmit.gmit_118_22.
16. Maheshwari Y, Handa U, Aggarwal P. Comparative Analysis of Conventional Cytology and Liquid-Based Cytology in the Detection of Carcinoma Cervix and its Precursor Lesions. *Journal of Cytology*. 2023;40(3):114-118.
17. Buch AC, Londhe MM, Patil TV, Rathod H, Dhaliwal S. Comparison of liquid-based cytology and conventional preparations in nongynecological cytology. *International Journal of Academic Medicine*. 2023;9(3):126-131. DOI: 10.4103/ijam.ijam_25_23.
18. Jain K, Datta C, Sengupta M, Pal DK. Quest to develop a standard screening method for urothelial carcinoma using liquid-based cytology (The Paris System) and CK20. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 2023;66(4):720-726. DOI: 10.4103/ijpm.ijpm_95_22.
19. Sakumo K, Morihashi K, Nakamura A, Nakaya T. The usefulness of nuclear area in the diagnosis of high-grade urothelial carcinoma cells in voided urine cytology. *Cytopathology*. 2023;34(4):295-301. DOI:org/10.1111/cyt.13229.
20. Kapoor K, Datta C, Pal DK. Is liquid-based cytology an alternative to conventional cytology for detection of malignant cells in urine of bladder cancer? Eastern Indian prospective observational study. *Turk J Urol*. 2019;45(5):351-356. DOI: 10.5152/tud.2019.19040.
21. Kalantari MR, Jahanshahi MA, Gharib M, Hashemi S. Direct Smear Versus Liquid-Based Cytology in the Diagnosis of Bladder Lesions. *Iranian Journal of Pathology*. 2022;17(1):56. DOI:10.30699/IJP.2021.528171.2646.
22. Wu S, Li R, Jiang Y, Yu J, Zheng J. Liquid biopsy in urothelial carcinoma: Detection techniques and clinical applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023;165:115027. DOI:10.1016/j.biopha.2023.115027.
23. Leonov MG, Alekseenko SN, Thagapso AA, Shadrynova MD, Teslenko LG. [Recurrences of urinary bladder cancer and possibilities of the cytological method of their diagnosis]. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2016;9(3):393-396. Russian.
24. Kalantari MR, Jahanshahi MA, Gharib M, Hashemi S. Direct Smear Versus Liquid-Based Cytology in the Diagnosis of Bladder Lesions. *Iranian Journal of Pathology*. 2022;17(1):56-64. DOI:10.30699/IJP.2021.528171.2646.
25. Linder J. Recent advances in thin-layer cytology. *Diagn Cytopathol*. 1998;18(1):24-32.
26. Lu DY, Nassar A, Siddiqui MT. High-grade urothelial carcinoma: comparison of SurePath liquid-based processing with cytospin processing. *Diagn Cytopathol*. 2009;37(1):16-20. DOI 10.1002/dc.20957
27. Kalantari MR, Jahanshahi MA, Gharib M, Hashemi S. Direct Smear Versus Liquid-Based Cytology in the Diagnosis of Bladder Lesions. *Iran J Pathol*. 2022;17(1):56-64. DOI: 10.30699/IJP.2021.528171.2646.
28. Goncalves B, Ukpai AE. Sputum induction and its diagnostic applications in inflammatory airways disorders: a review. *Frontiers in Allergy*. 2023;4:1282782.
29. Demirci N Y. Diagnostic Workup for Lung Cancer. In: *Airway diseases*. Cham: Springer International Publishing. 2023:1-16.
30. Cascio CM, Kaul V, Dhooria S, Agrawal A. Diagnosis of tuberculous pleural effusions: A review. *Respiratory medicine*. 2021;188:106607. DOI:https://doi.org/10.1016/j.rmed.2021.106607
31. Fan YB, Wang QS, Ye L, Wang TY. Clinical application of the SurePath liquid-based Pap test in cytological screening of bronchial brushing for the diagnosis of lung cancer. *Cytotechnology*. 2010; 62: 53-59. DOI: 10.1007/s10616-010-9261-5
32. Singh G, Agarwal P, Goel MM, Kumar M. Conventional vs. liquid based cytology in fine needle aspirates of lung and mediastinal masses. *J Pulm Respir Med*. 2017;7(400):2. DOI: 10.4172/2161-105X.1000400.
33. Hawkins P, Stevenson T, Powari M. Use of cytology fluid samples for predictive biomarker testing in lung cancer patients. *Cytopathology*. 2024;35(2):242-249. DOI:org/10.1111/cyt.13344
34. Park CK, Malinowski DP, Cho NH. Diagnostic algorithm for determining primary tumor sites using peritoneal fluid. *PLoS one*. 2018;13(7):e0199715 DOI:org/10.1371/journal.pone.0199715.
35. Paul P, Azad S, Agrawal S, Rao S. Systematic Review and Meta-Analysis of the Diagnostic Accuracy of the International Academy of Cytology Yokohama System for Reporting Breast Fine-Needle Aspiration Biopsy in Diagnosing Breast Cancer. *Acta Cytologica*. 2023;67(1):1-16. DOI: 10.1159/000527346.
36. Kord S, Mokhtari M. Comparison of Liquid-based and Conventional Cytology in Diagnosis of Breast Mass. *J Cytol*. 2019;36(1):22-27.
37. Gerhard R, Schmitt F. Liquid-based cytology in fine-needle aspiration of breast lesions: A review. *Acta Cytol*. 2014;58:533-42. DOI: 10.1159/000362805
38. Komatsu K, Nakanishi Y, Seki T, Yoshino A. Application of liquid-based preparation to fine needle aspiration cytology in breast cancer. *Acta cytologica*. 2008;52(5):591-596.
39. Oteri V, Piane S, Cocci E. The use of telecytology for the evaluation of thyroid nodules fine-needle aspiration biopsy specimens: a systematic review. *J Endocrinol Invest*. 2024;1-10. DOI:10.1007/s40618-024-02378-3.
40. Cosme I, Nobre E, Bugalho MJ. Repetition

of thyroid fine-needle aspiration cytology after an initial nondiagnostic result: Is there an optimal timing? *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*. 2024;71(5):216-220.

41. Reddy R, Prabhala S, Somalwar SB. Evaluation of Breast, Lymph Node, and Thyroid Fine Needle Aspiration Cytology by Liquid Based Smears and Conventional Smears. *J Exp Pathol*. 2023;4(1):34-44.

42. Geers C, Bourgain C. Liquid-based FNAC of the thyroid: A 4-year survey with SurePath. *Cancer Cytopathology*. 2011;119:58-67. DOI: 10.1002/cncy.20125, wileyonlinelibrary.com.

43. Lee SH, Jung CK, Bae JS, Jung SL, Choi YJ, Kang CS. Liquid-based cytology improves pre-operative diagnostic accuracy of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. *Diagn Cytopathol*. 2014;42(1):11–17. DOI:org/10.1002/dc.23007.

44. Chong Y, Baek KH, Kim JY, Kim TJ. Comparison of EASYPREP® and SurePath® in thyroid fine-needle aspiration. *Diagn Cytopathol*. 2016;44(4):283-290. DOI:org/10.1002/dc.23438.

45. Agarwal S, Jain M., Singh G. Cytomorphological differences between liquid-based cytology and conventional smears in fine-needle aspirates of thyroid lesions. *Journal of Cytology*. 2018;35(4):208-211. DOI: 10.4103/JOC.JOC_150_17

46. Arcolia V, Journe F, Renaud F, Leteurtre E. Combination of galectin-3, CK19 and HBME-1 im-

munostaining improves the diagnosis of thyroid cancer. *Oncology letters*. 2017;14(4):4183-4189. DOI: org/10.3892/ol.2017.6719.

47. Nagarjoge P, Sameer MA, Mulay P. Study of utility of body fluids cytology in detection of non neoplastic and neoplastic lesion. *Indian Journal of Basic & Applied Medical Research*. 2023;12(2):82. DOI: 10.36855/IJBAMR/2022/98215.5565

48. Saluja N, Jayant M, Sunita V. Comparing Conventional Cytology Smear and Cell Block Techniques for Ovarian Cancer Diagnosis: A Prospective Observational Study. *Journal of Clinical & Diagnostic Research*. 2023;17(9):11-15. DOI: org/10.7860/JCDR/2023/64078.18463.

49. Sudha Sharma et al. Cytology of peritoneal implants of borderline serous tumor of ovaries in ascitic fluid. *Cytojournal*. 2021;18:17. DOI: 10.25259/Cytojournal_56_2020.

50. Srinivasamurthy BC, Velu AR, Krishnan N, Patil AS. Ovarian serous borderline tumors with non-invasive and invasive peritoneal implants: A case report each. *J Cancer Res Ther*. 2015;11:646. DOI:10.4103/0973-1482.147707.

51. Sadeghi S, Ylagan LR. Pelvic washing cytology in serous borderline tumors of the ovary using ThinPrep: Are there cytologic clues to detecting tumor cells? *Diagn Cytopathol*. 2004;30:313–9. DOI: 10.1002/dc.20032.

Лозовська Ю.В. Сучасні тенденції застосування методу рідинної цитології для аналізу неоплазій різного генезу.

РЕФЕРАТ. Актуальність. В огляді висвітлено особливості підготовки та аналізу зразків різного біологічного матеріалу при застосуванні методу рідинної цитології (РЦ). Представлено та зіставлено морфологічні характеристики різного клінічного матеріалу, які були отримані методами РЦ та традиційної цитології (ТЦ). У роботі розглянуто та проаналізовано декілька технологій підготовки препаратів РЦ: BD sure-path, ThinPrep та HurePath. Доведено, що матеріал отриманий методом РЦ не містить скупчення клітинних елементів гематогенного та місцевого походження, які заважають оцінити його якісні та кількісні зміни. **Мета.** Виявити всі переваги та недоліки застосування технологій РЦ порівняно із ТЦ для аналізу доброякісних та злоякісних неоплазій різного генезу. **Результати та підсумок.** Доведена доцільність застосування РЦ для дослідження плоскоклітинних епітеліальних неоплазій: осаду сечі, секрету мокрот, випітних рідин. Рекомендовано з обережністю застосовувати технології РЦ для аналізу матеріалу із залозистою, фолікулярною або парафолікулярною структурою, оскільки зміна морфологічних характеристик новоутворень може призвести до помилкових цитоморфологічних заключень. З метою підвищення якості оцінки даного типу матеріалу пропонують одночасне застосування методів РЦ та ТЦ.

Ключові слова: рідинна цитологія, традиційна цитологія, неоплазії, молочна та щитоподібна залози, осад сечі, випітні рідини, бронхоальвеолярний секрет.

В.І. Шепітько
С.М. Білаш
Р.Л. Устенко
В.І. Ляховський
А.В. Пілюгін
Г.А. Єрошенко
Я.В. Саричев

Полтавський державний
медичний університет
Полтава, Україна

Надійшла: 21.04.2024

Прийнята: 12.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.22-32>

УДК 616.382-092

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВЕЛИКОГО ЧЕПЦЯ ТА ЙОГО РОЛЬ В ПРАКТИЧНІЙ МЕДИЦИНІ

Shepitko V.I. , Bilash S.M. , Ustenko R.L.  ✉, Lyakhovskiy V.I. , Piliuhin A.V. , Yeroshenko G.A. , Sarychev Ya.V.  Morphofunctional characteristics of the greater omentum and its role in practical medicine. Poltava State Medical University, Poltava, Ukraine.

ABSTRACT. Background. The greater omentum is an important organ of the peritoneal cavity with a unique anatomical structure and specific pathophysiological features. In the past, the greater omentum was considered as an inert, passive, and inactive adipose tissue that performed the function of insulating the peritoneal cavity. Currently, the greater omentum is recognized as an integral immunological organ, which is relevant for the protection of the body. **Objective.** To conduct a comprehensive analysis of the morphofunctional features of the greater omentum and to investigate its role in practical medicine through a bibliographic analysis of the literature. **Methods.** This bibliographic analysis is based on foreign and internal articles, books, and monographs. For the tasks of this systematic review, a literature search was carried out on the Internet in scientific and metric databases PubMed, Web of Science, Google Scholar, and the National Medical Library using the keywords: "greater omentum", "milky spots", "organs of the peritoneal cavity", "morphology". **Results.** The greater omentum develops from the dorsal mesentery and has a mesodermal origin. The mass of the greater omentum can reach up to 2000 g, and occupy an area of up to 1500 cm², with its length up to 36 cm and width up to 46 cm. Depending on such metric indicators as length and width, options for the greater omentum are described: long and wide; short and narrow; intermediate and middle. The shape of the greater omentum can be polygonal or multilobed, pentagonal-trapezoidal, quadrangular, triangular, irregular, semi-oval, and in the form of lace. Microscopically, the greater omentum consists of adipose tissue that contains adipocytes embedded in a well-vascularized connective tissue rich in blood vessels, milky spots, and thin fenestrated translucent areas formed by mesothelial cells. The greater omentum can serve as an alternative secondary lymphoid organ, due to the milky spots, which are composed of 70% macrophages, 10% B-lymphocytes and 10% T-lymphocytes, stromal and mast cells are also present. Also, one of the main properties of the greater omentum is its ability to change its shape and move within the peritoneal cavity, and as a result, it mechanically limits the spread of infection and isolates bacterial invasion. The greater omentum is used in various surgical specialties: in the practice of neurosurgeons, thoracic surgeons, cardiac surgeons, general surgery, in coloproctology, oncology, urology, gynecology, and in plastic surgery. **Conclusion.** The greater omentum occupies a central place in the mechanisms of protection of the peritoneum, which are achieved due to the possession of innate immune function, high absorptive capacity, and the ability to consolidate with adjacent structures to close defects of the gastrointestinal tract and promote their healing due to its pronounced angiogenic activity.

Key words: greater omentum, milky spots, serous membrane, adipocytes, stomach, duodenum, peritoneum, peritonitis.

Citation:

Shepitko VI, Bilash SM, Ustenko RL, Lyakhovskiy VI, Piliuhin AV, Yeroshenko GA, Sarychev YaV. [Morphofunctional characteristics of the greater omentum and its role in practical medicine]. Morphologia. 2024;18(2):22-32. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.22-32>

 Shepitko V.I. 0000-0001-5570-795X;  Bilash S.M. 0000-0002-8351-6090;
 Ustenko R.L. 0000-0001-9021-4472;  Lyakhovskiy V.I. 0000-0003-1551-4891;
 Piliuhin A.V. 0000-0003-0601-8036;  Yeroshenko G.A. 0000-0002-2074-0001;
 Sarychev Ya.V. 0000-0001-8118-139X

✉ r.ustenko@pdmu.edu.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

На сьогодні великий чепець є важливим органом очеревинної порожнини з унікальною анатомічною структурою та специфічними патофізіологічними особливостями. Це великий жировий орган, який звисає з великої кривизни шлунка та поперечної ободової кишки, на певну глибину очеревини, покриває органи очеревинної порожнини та є першою інтраабдомінальною структурою, з якою хірург стикається після лапаротомії. Основна тканина з якої складається великий чепець це жирова, але невід'ємними структурними компонентами великого чепця є: кровоносні та лімфатичні судини, а також імунокомпетентні клітини розташовані у молочних плямах [1-10]. У минулому великий чепець розглядали як інертну, пасивну та неактивну жирову тканину, яка виконувала функцію ізоляції очеревинної порожнини, або навіть називали рудиментарним органом, який заважає хірургам під час оперативних втручань та утворює небезпечний і тяжкий внутрішньоочеревний злуковий процес, що загрожує гострою кишковою непрохідністю та розвитком перитоніту [11-18].

Починаючи з античних часів великий чепець привертав увагу відомих стародавніх лікарів та філософів Гіппократа й Галена, які описували його анатомічну будову та функції. Клавдій Гален, зокрема вважав, що чепець захищає внутрішні органи, сприяє процесу травлення та зігріває кишечник. Хоча його уявлення були обмежені відсутністю сучасних методів дослідження і базувалися на випадку з гладіатором, коли останньому після поранення в живіт видали великий чепець, і гладіатор протягом життя страждав від холоду [19].

У середньовіччі знання про великий чепець не зазнали значних змін через обмежений доступ до анатомічних досліджень. Проте збереження та передача знань античних медиків сприяли поступовому накопиченню інформації. З розвитком анатомії в епоху Відродження великий чепець став об'єктом більш детальних досліджень. Видатні анатоми, такі як Андреас Везалій, детально описав поверхневий та глибокий шар чепця, його кровопостачання і вважав, що в ньому є залози які продукують рідину, сам чепець покриває кишечник і сприяє його захисту [20].

На даний час великий чепець визнаний невід'ємним імунологічним органом, який релевантний для захисту організму, шляхом фагоциткування запальних процесів, стримування розповсюдження патогенної мікрофлори з ушкоджених порожнистих органів, шляхом оточення, ізоляції, тампонади та створенням огорожувального валу навколо внутрішньоочеревинних вогнищ інфекції, утворенням антитіл під час антигенної стимуляції органів черевної порожнини, а також залучається до метастатичного ураження очеревинної порожнини. Тому на початку 20

століття, хірурги натякнули на його динамічні властивості, а Резерфорд Моррісон назвав його «поліцейським черевної порожнини». Але не дивлячись на дані особливості, до кінця роль великого чепця в імунологічних механізмах не вивчена [21-23].

Розуміння ембріонального розвитку великого чепця, його мікро та макроструктура, анатомічні взаємозв'язки з суміжними органами, участь в патологічних процесах, структурні зміни протягом онтогенезу, мають вирішальне значення для його повної та правильної оцінки.

Мета

Провести всебічний аналіз морфофункціональних особливостей великого чепця та дослідити його роль в практичній медицині шляхом бібліографічного аналізу літератури.

Матеріали та методи

Даний бібліографічний аналіз ґрунтується на закордонних та вітчизняних статтях, книгах та монографіях. Для поставлених задач цього системного огляду, пошук літератури здійснювався у мережі «Інтернет» у науково-метричних базах PubMed, Web of Science, Google Scholar, Національній медичній бібліотеці за ключовими словами: «greater omentum», «milky spots», «великий чепець», «органи очеревинної порожнини», «молочні плями», «морфологія». В дану роботу були включені джерела літератури які є фундаментальними та несуть значну наукову цінність.

Результати та їх обговорення

Макро- та мікроструктура великого чепця у функціональному аспекті. Великий чепець розвивається зі свого попередника – дорсальної брижі, та має мезодермальне походження і розвивається на 5-6 гестаційному тижні, коли шлунок обертається за годинниковою стрілкою навколо своєї довгої осі, дорсальна сторона шлунка росте швидше ніж черевна, утворюючи велику кривизну, від якої подвійним шаром вісцеральної очеревини та проксимальної частини дванадцятипалої кишки спускається великий чепець, покриваючи тонкий кишечник, іноді він досягає входу в малий таз, потім повертаючись підіймається до поперечної частини ободової кишки де охоплює її та формує шлунково-ободовокишкову зв'язку. На 8 тижні гестаційного віку великий чепець вже чітко можна локалізувати, як структуру подібну до фартуха, яка покриває органи очеревинної порожнини, та утворює з суміжними органами такі зв'язки: 1) шлунково-діафрагмальна (*ligamentum gastrophrenicum*); 2) шлунково-ободовокишкова (*ligamentum gastrocolicum*); 3) діафрагмально-селезінкова (*ligamentum phrenicosplenium*); 4) підшлунково-селезінкова (*ligamentum pancreaticosplenium*); 5) селезінково-ободовокишкова (*ligamentum splenocolicum*); 6) передселезінкова складка (*plica presplenica*); 7) шлунково-селезінкова (*ligamentum gastrosplenicum*); 8) печінково-ободовокишкова (*ligamentum hepatocolicum*); 9)

діафрагмально-ободовокишкова (*ligamentum phrenicocolicum*); 10) пілшлунково-ободовокишкова (*ligamentum pancreaticocolicum*) [13, 24-29].

Його довжина варіює від 14 до 36 см, ширина в свою чергу до 46 см. Маса великого чепця варіює від 300 до 2000 г, та займає площу від 300 до 1500 см², корелює з показниками вісцерального ожиріння, статури людини, віку та індексу маси тіла. Залежно від таких метричних показників, як довжина й ширина, описано варіанти великого чепця: довгий і широкий; короткий і вузький; проміжний та середній [14, 29-30].

Дослідники-морфологи виділяють різноманітні варіанти форми великого чепця в дорослих людей, такі як: багатокутна або багатолопатева, п'ятикутна – трапецієподібна, чотирикутна, трикутна, неправильна, півовальна та форма у вигляді мережива, але найчастішою формою великого чепця, яка траплялася при анатомічному аналізі, визнано чотирикутну, друге місце за частотою посідає трикутна форма, менш поширена п'ятикутна форма великого чепця; поодинокими є випадки неправильної, багатокутної (багатолопатевої) форм. Існує думка що форма великого чепця залежить від положення шлунка. При вертикальному положенні шлунка найчастіше зустрічається трикутний однолопатевий великий чепець, а при косому положенні шлунка візуалізується чотирикутна форма великого чепця [13, 31-32].

Деякі науковці пропонують іншу класифікацію форм великого чепця і пов'язують його форму з типом статури людини, вважаючи, що форма великого чепця визначається його вільною частиною і, своєю чергою, він може бути однолопатевим, дволопатевим і багатолопатевим. Згідно дослідження І. Л. Федорченка у людей другого зрілого, похилого і старечого віку форма і розміри великих чепців не залежали від типу статури тіла людей [33]. За вмістом жирової тканини великий чепець можна класифікувати на мереживну форму, що спричинена малим вмістом жирової тканини та горбисту форму, з випинанням жирових часточок [31, 34].

Мікроскопічно великий чепець не є однорідний за своєю природою та складається з двох типів тканин: збагачених жировими клітинами ділянок, які займають більшу частину чепця та тонких, фенестрованих напівпрозорих мембран, розташованих між жировими ділянками. Напівпрозора ділянка складається з двох протилежних шарів мезотеліальних клітин, які не розташовані на базальній мембрані та містять дифузні колагенові волокна й випадкові фібробластоподібні клітини. Найдивовижнішою особливістю визнано наявність численних, хаотично розташованих проміжків – вікон або фенестр розміром до 225 мкм, які створюють вигляд сітки, та забезпечують транспортування дрібних частинок клітин

між очеревинною порожниною та обома листками великого чепця. Мезотеліальні клітини вкриті мікроворсинками і містять везикули вздовж апікальної та базальної поверхонь. У відповідь на запальний процес збільшується кількість та щільність мікроворсинок [29, 35-40].

Натомість багата на жирову тканину ділянка переважно складається з адипоцитів, вбудованих у добре васкуляризовану сполучну тканину. Ця ділянка багата кровоносними судинами та надважливими імунокомпетентними клітинами, які формують молочні плями великого чепця або лімфоїдну тканину асоційовану з чепцем (OALT) [9, 37, 41-42].

Вперше молочні плями були описані Реклінгаузеном у 1863 році, як білі плями великого чепця. Продовжуючи дослідження структури молочних плям, учені виявили в них фагоцитуючі клітини [43]. Уперше диференціювали плями від лімфатичних вузлів у 1920 році. На думку Е. Seifert від лімфовузлів плями відрізняються тим, що лімфатичний вузол має капсулу, містить синуси і ростковий центр, а молочна пляма позбавлена цього, але має власну капілярну сітку, специфічний клітинний склад, а також покрита спеціалізованим мезотелієм [44]. Молочні плями – це невеликі, овоїдної, округлої або неправильної форми непрозорі ділянки чепця розміром від 139 до 1150 нм, виявляються у великому чепці, починаючи з середини ембріогенезу й існують у цьому органі протягом усього життя. Стромою молочної плями є мезотеліальні та ретикулярні клітини, які легко диференціюються. Існує три типи молочних плям: первинні – трапляються в плодів, новонароджених і дітей віком до 5 років; вторинні або активні, які включають велику кількість лейкоцитів, зокрема плазмочитів та пасивні, які складаються з жирових клітин. Активні плями наявні у великому чепці в нормі, але у зв'язку з патологічними станами в очеревинній порожнині їх кількість починає збільшуватися – має місце трансформація пасивних молочних плям у активні. Близько 70% молочної плями займають макрофаги, 10% В-лімфоцити та 10% Т-лімфоцити, також присутні стромальні та тучні клітини. Дані клітини розташовуються навколо чепцевих клубочків, які лежать безпосередньо під мезотелієм. Також варто відмітити, що великий чепець є місцем розвитку В-лімфоцитів. Деякі автори вважають, що великий чепець може слугувати як альтернативний вторинний лімфоїдний орган, хоча молочні плями можуть відрізнятися від вторинних лімфоїдних структур, але вони мають здатність функціонувати як такі структури. Тому існує думка що молочні плями – це гібрид між вродженим та набутих імунітетом, так як молочні плями структурно і функціонально призначені для виконання подвійної функції, одна з яких це механічна ізоляція бактерій і обмеження поширення інфекції, а інша, навіть одночасна функція,

яка полягає у створенні гуморальної та цитотоксичної імунної відповіді [10, 35, 45-49].

Також однією з головних властивостей великого чепця є його здатність змінювати свою форму й переміщатися в межах очеревинної порожнини, що деякі автори називають міграцією – а саме, пасивною міграцією, яка забезпечується перистальтичними рухами шлунково-кишкового тракту, рухами діафрагми, зміною положення тіла а також рух великого чепця до джерела запалення завдяки зміні потoku перитонеальної рідини.

Згідно проведеного морфологічного дослідження, колективом авторів кафедри анатомії людини Полтавського державного медичного університету під керівництвом професора В.Г. Гриня, з вивчення структур великого чепця білих щурів, а саме, напівпрозорих мембран, названих ними серозно-сіткоподібними перетинками, встановлено, що вони складаються з гладком'язових клітин або міофіброblastів, які орієнтовані уздовж петлястих тяжів, тому дані міоцитарні елементи при своєму скороченні мають викликати скорочення і зміни конфігурації відповідних петлястих тяжів, і як наслідок така міогенна активність може бути обмеженою або ж тією чи іншою мірою, поширюючись по всьому чепцю в тій чи іншій хвильовій спрямованості, що загалом надає йому мобільної пластичності [36, 50]. Саме цим можна пояснити різне його положення в очеревинній порожнині в нормі, під час патологічних процесів та властивість тампонування ранові ушкодження органів черевної порожнини та захоплення і поглинання сторонніх тіл та бактерій, що потрапляють до очеревинної порожнини [51-52].

Деякі хірурги спостерігали, що під час гострого апендициту у багатьох випадках великий чепець огортав патологічний червоподібний відросток; при гострому холециститі великий чепець огортав запалений жовчний міхур; при перфоративному дивертикуліті великий чепець тампонував пошкоджену стінку кишки, тим самим мобілізуючи патологічне джерело розвитку перитоніту [12, 17, 53].

Гринь В.Г. та співавтори провели експериментальне дослідження на білих щурах самцях для підтвердження пластичних властивостей та захисної імунологічної функції великого чепця, завдяки моделюванню асептичного запалення очеревини, шляхом імплантації в очеревинну порожнину клубка кетгutowої нитки, яка володіє антигенними властивостями; септичного запалення очеревини, шляхом перфорації сліпої кишки. У всіх випадках великий чепець виконував свою основну функцію та обмежував патологічне вогнище запалення, у вигляді захоплення стороннього тіла (нитки) або тампонади перфоративного отвору сліпої кишки для запобігання розвитку розлитого дифузного перитоніту [50-52].

Основним джерелом кровопостачання великого чепця є черевний стовбур аорти. Права

шлунково-чепцева артерія є гілкою шлунково-дванадцятипалої артерії, яка відходить від загальної печінкової артерії черевного стовбура. Ліва шлунково-чепцева артерія є гілкою селезінкової артерії, далі ці артерії огинають велику кривизну шлунка анастомозуючись між собою арками, зменшуються по мірі віддавання гілок в дистальні відділи чепця. У всіх ділянках чепця містяться численні капіляри, із переважанням їхньої кількості в ділянці його вільного краю. Кожна дуплікатура або пластинка великого чепця має власне кровопостачання, передня – кровопостачається за рахунок правої шлунково-чепцевої артерії, задня пластинка – нижньою підшлунково-дванадцятипалокишковою та середньою ободово-кишковою з басейну верхньої брижової артерії та лівою шлунково-чепцевою артеріями. Венозний відтік відбувається паралельно з артеріальним руслом однойменними венами, зазвичай кожен чепцеву артерію супроводжує вена. У більшості випадків шлунково-чепцева вена анастомозує з верхньою брижовою веною перед її впадінням у ворітну вену. Іноді вона впадає в початковий відділ селезінкової вени [15, 26, 54-55]. Атож, великий чепець є потужним органом з багатим джерелом ангіогенних факторів, які сприяють росту та проростання кровоносних судин в будь яку тканину, до якої він адгезується, він може бути безцінним органом в хірургічній практиці.

Застосування великого чепця в практичній медицині. Так як великий чепець може викликати потужну реваскуляризацію згідно експериментальних даних Н. Goldsmith після переміщення великого чепця на головний мозок, останній отримує посилений кровотік з оксигенацією, нейро-медіатори, такі як дофамін, норадреналін та ацетилхолін, а також нейротрофічні фактори [56]. Згідно досліджень Н. Rafael при тяжко контрольованій скроневої епілепсії, трансплантація вільного лоскута великого чепця з мікроанастомозом в ділянку лівої скроневої частки та передній перфорований простір головного мозку може зменшити або навіть припинити комплексні парціальні напади епілепсії, а також можна зупинити втрату нейронів та астроцитарний гліоз [57]. Також згідно даних Н. Rafael і співавторів, трансплантація великого чепця в зорову хіазму, біфуркацію сонної артерії та передній перфорований простір головного мозку може полегшити перебіг хвороби Альцгеймера [58]. Доведено про позитивний результат пацієнтам з ішемічними цереброваскулярними захворюваннями після застосування васкуляризованого чепцевого трансплантата [59]. Е. Normington в колегах представили клінічний випадок успішного закриття цереброспінальної нориці у зв'язку з хронічною цереброспінальною ринореєю шляхом переміщення вільного лоскуту великого чепця в клиноподібну пазуху [60]. Отже, трансплантація великого чепця

на поверхню головного мозку генерує неоангіогенез, що призводить до утворення численних неоваскулярних зв'язків, і як наслідок, підсилюється кровообіг та трофіка головного мозку [60-61].

Так як великий чепець є джерелом ангіогенних факторів трансплантація його на поверхню серця сприяє стимуляції ангіогенезу міокарда, особливо в поєднанні з аортокоронарним шунтуванням [62]. Великий чепець часто використовують для заповнення «мертвого» простору при хронічній емпіємі плеври, для лікування медіастиніту, під час обширних резекцій грудної стінки з метою її реконструкції, для закриття стравохідно-бронхіальних норниць, а також для зміцнення кукси головного бронху після пульмонектомії [63-66].

L. Pitts та ін. застосували транспозицію великого чепця в середостіння для огортання інфікованих аортальних трансплантатів, які не піддаються на даний момент хірургічній заміні, і встановили що це є позитивним рішенням для пацієнта [67].

Під час реконструктивних оперативних втручаннях на абдомінальній частині аорти, останню для запобігання утворення аортально-кишкових норниць, часто огортають тясмом великого чепця, а також з метою захисту трансплантата під час протезування. K. Ala-Kulju та L. Virkkula дослідили, що трансплантований чепцевий лоскут відіграє позитивну роль у лікуванні облітеруючого тромбангіїту [68]. Також можливість використовувати великий чепець під час артеріальних реконструкцій на стегновій ділянці, особливо пізніше час радикального та обширного дебрідменту даної ділянки та неможливістю прикрити м'якими тканинами оперативне поле, як наслідок в таких ситуаціях використовується трансплантат великого чепця в ділянку стегна для закриття місця реконструкції, усунення «мертвого» простору та створення поверхні для подальшого закриття дефекту шкірою [69]. Використання великого чепця, як трансплантата, для захисту аутогенної артеріальної реконструкції після інфікування протеза на стегновій артерії, що значно полегшує прояви переміжної кульгавості та болю, а також сприяє загоєнню ішемічних виразок та уповільнює прогресування гангрені нижніх кінцівок [69].

Для запобігання неспроможності анастомозів порожнистих органів, великий чепець огортають навколо створеного анастомозу забезпечуючи його зміцнення, надійність та попередження перфорації кишкового вмісту [70]. Під час реконструктивних втручаннях на верхніх відділах шлунково-кишкового тракту, а саме з приводу раку кардіального відділу шлунку та стравоходу, ряд авторів рекомендують у всіх випадках використовувати чепцеві лоскути для захисту анасто-

мозу, укріплення швів та обмеження мікроперфораций, запобігаючи його неспроможність та покращення інфекційного контролю у разі невдачі [71]. Великий чепець широко використовують для закриття перфоративної виразки шлунку та дванадцятипалої кишки, який сприяє швидшому загоєнню виразкової ділянки шляхом неоваскуляризації, грануляції та фіброзу з подальшою регенерацією стінки дванадцятипалої кишки [70, 72-73].

Ряд авторів рекомендують використовувати великий чепець з гемостатичною метою після резекції печінки або селезінки. А також використання великого чепця з метою запобігання рецидиву після видалення кіст селезінки та печінки, особливо ехінококових [61, 74-75]. Так як великий чепець має потужну васкуляризацію та високий вміст тромбопластину його рекомендують використовувати для лікування тяжких абсцесів черевної порожнини, шляхом укладання великого чепця на місце розкритого абсцесу [61, 76].

Широкого використання великий чепець набув в колоректальній хірургії, ряд авторів відмічали покращення результатів лікування та зменшення ускладнень у групі пацієнтів яким додатково після колоректальної резекції виконували оментопластику [77].

A. Di Giorgio запропонував методику ректопексії за допомогою тясма великого чепця з метою підтримки, ліфтингу та зміни аноректального кута прямої кишки з пролапсом, без використання хірургічних сіток і як наслідок досягається гарний результат функціонування як кишки так і сфінктера без виникнення інфекцій чи рецидиву [78].

Великий чепець залишається універсальним пластинчастим реконструктивним інструментом який широко використовується в пластичній та реконструктивній хірургії. Його можна використовувати для корекції різних дефектів обличчя, шкіри голови та шиї. Пацієнтам з деваскуляризованою скронево-тім'яною ділянкою була виконана тотальна реконструкція вуха з використанням чепцевих клаптів [79]. T. Narashina запропонував методику «чепцевого сендвіча», яка полягає в заміщенні широкого тотального дефекту щоки [80].

Після обширних операцій при злоякісних глотково-стравохідних утворень, великий чепець може бути використаний в реконструктивних цілях даної ділянки [81-82]. Великий чепець може бути використаний для закриття та відновлення дефектів великих розмірів передньої черевної стінки [12, 61].

В урологічній практиці великий чепець використовували під час порушення ниркового кровопостачання, як альтернативне джерело кровопостачання нирки для збереження її функції [83]. З метою профілактики сечових норниць показана чепцева інтерпозиція у випадках уражень сечоводу, а також для захисту піелоуретеростомії та

пієловезикулостомії. Після трансплантації нирки, одне з можливих ускладнень це формування лімфоцеле, для його лікування ряд авторів рекомендують перитонеальну фенестрацію у поєднанні з інтерпозицією великого чепця, що дає позитивний результат [83-84].

V. Mokhort запропонував оментовезикулопексію з метою лікування нейрогенних дисфункцій сечового міхура, яка досягається шляхом забезпечення реіннервації та реваскуляризації нейрогенного сечового міхура та як наслідок часткове відновлення його функції [85].

Великий чепець можна використовувати для закриття комплексних та комбінованих дефектів промежини, калитки, уретри та черевної стінки після перенесеної гангрені Фурньє [86].

Навіть дитячі лікарі в експериментальному дослідженні рекомендують додаткову оментотестикулопексію під час хірургічного лікування абдомінальної форми крипторхізму методикою Фовлера-Стефанса для покращення кровопостачання яєчка та зменшення частоти його атрофії та фертильності [87].

Гінекологи вважають, що після радикальної абдомінальної гістеректомії тампонада чепцевим лоскутом післяопераційної ділянки зменшує виникнення грізних післяопераційних ускладнень, таких як інфекція органів малого тазу, формування абсцесу та кишкової непрохідності. Також деякі лікарі використовують транспозицію великого чепця для лікування міхурово-вагінальних нориць. Після перенесеної тотальної ексцизації органів малого тазу з приводу гінекологічних злоякісних новоутворень, виникає потреба в неовагінальній реконструкції, яка може бути виконана за допомогою чепцевого циліндричного клаптя вистеленим шкірним графтом [88-89].

Патологія великого чепця. Первинні новоутворення чепця зустрічаються вкрай рідко і найчастіше виникають із мезодермальних елементів чепцевих судин і нервів та зазвичай вони злоякісні. До первинних пухлин великого чепця належать лейоміосаркома, гемангіоперицитома, саркома, міосаркома, фібросаркома, ретикулосаркома, ліпосаркома, рабдоміосаркома, лейоміома, ліпома, десмоїдна пухлина, фіброма, фіброматоз, мезотеліома, ендотеліома, міксома та дрібноклітинна пухлина [90-92].

Метастатичні ураження великого чепця зустрічаються набагато частіше, ніж первинні пухлини. Проте, майже будь-яка пухлина може вторинно вражати великий чепець, найбільш частими злоякісними ураженнями, які метастазують у великий чепець, є карцинома яєчників, а також метастази зі шлунка, підшлункової залози, жовчовивідних шляхів, нирок, матки та товстої кишки. Також описані поодинокі випадки як первинної так і вторинної лімфоми великого чепця, які зустрічаються вкрай рідко. Найчастіший шлях

метастатичного ураження великого чепця вважається гематогенний та шляхом фільтрації перитонеальної рідини. Описані випадки туберкульозу великого чепця, який може поширюватися на великий чепець лімфогенним шляхом або прямим шляхом через перитонеальну рідину. Можливий також розвиток абсцесу великого чепця, але як правило це після перенесених інфекцій очеревини, у зв'язку з патологічним пошкодженням органів очеревинної порожнини [90, 92-93].

Після тупої травми живота нерідко виникає гематома великого чепця у поєднанні з гемоперитонеумом. При сильних травмах можуть пошкоджуватися судини великого чепця та розвиватися інфаркт великого чепця. Також описані випадки перекруту великого чепця, який може бути як первинний, у зв'язку з перекручуванням та здавленням судин, так і вторинний, який виникає внаслідок наявності пухлин, гематом, кіст та залучення його тязма в патологічні процеси органів очеревинної порожнини, малого тазу та фіксація до післяопераційних рубців [94-97].

У пацієнтів з прогресуючою портальною гіпертензією нерідко розвивається варикозне розширення вен великого чепця. Часто тязмо великого чепця можна знайти як вміст грижового мішку під час хірургічного лікування кил, особливо у дітей при пахвинних грижах, також описані випадки наявності великого чепця при грижі Моргані та діафрагмальних грижах [98-99].

Підсумок

Концепція великого чепця, як «поліцейського очеревинної порожнини», очевидно, еволюціонувала з часів Резерфорда Моррісона. Тепер ми розуміємо, що він займає центральне місце в механізмах захисту очеревини. Він досягає цього завдяки своїй вродженій імунній функції, високій абсорбційній здатності та здатності консолідуватися з суміжними структурами, щоб закрити дефекти шлунково-кишкового тракту та сприяти їх загоєнню завдяки своїй вираженій ангіогенній активності. Завдяки цим характеристикам хірурги використовували великий чепець у різноманітних ситуаціях, від реконструкції дефектів м'яких тканин до захисту тканин від ускладнень. Підсумовуючи, слід сказати, що великий чепець слід розглядати як важливий та унікальний внутрішньочеревинний орган.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональне вивчення внутрішніх органів людини та лабораторних тварин в різних аспектах експериментальної медицини» (номер державної реєстрації 0121U108258).

1. Bahar SG, Rokkam VR. Omentum Tumors. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Venkata Rokkam declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.; 2023.
2. Gauthier BR, Rubio-Contreras D, Gómez-Rosado JC, Capitán-Morales LC, Hmadcha A, Soria B, et al. Human Omental Mesothelial Cells Impart an Immunomodulatory Landscape Impeding B- and T-Cell Activation. *Int J Mol Sci.* 2022;23(11) DOI: 10.3390/ijms23115924.
3. Raxmatovich NJ. Features of Anatomy of the Greater Omentum. *International Journal on Orange Technologies.* 2021;3(9):66-8.
4. Liu Y, Hu JN, Luo N, Zhao J, Liu SC, Ma T, et al. The Essential Involvement of the Omentum in the Peritoneal Defensive Mechanisms During Intra-Abdominal Sepsis. *Front Immunol.* 2021;12:631609 DOI: 10.3389/fimmu.2021.631609.
5. Liu M, Silva-Sanchez A, Randall TD, Meza-Perez S. Specialized immune responses in the peritoneal cavity and omentum. *Journal of leukocyte biology.* 2021;109(4):717-29 DOI: 10.1002/jlb.5mir0720-271rr.
6. Wang AW, Prieto JM, Cauvi DM, Bickler SW, De Maio A. The Greater Omentum - A Vibrant and Enigmatic Immunologic Organ Involved in Injury and Infection Resolution. *Shock.* 2020;53(4):384-90 DOI: 10.1097/shk.0000000000001428.
7. Krishnan V, Tallapragada S, Schaar B, Kamat K, Chanana AM, Zhang Y, et al. Omental macrophages secrete chemokine ligands that promote ovarian cancer colonization of the omentum via CCR1. *Communications Biology.* 2020;3(1):524 DOI: 10.1038/s42003-020-01246-z.
8. Di Nicola V. Omentum a powerful biological source in regenerative surgery. *Regenerative Therapy.* 2019;11:182-91 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reth.2019.07.008>.
9. Meza-Perez S, Randall TD. Immunological Functions of the Omentum. *Trends in immunology.* 2017;38(7):526-36 DOI: 10.1016/j.it.2017.03.002.
10. Havrlentová L, Faistová H, Mazur M, Humeňanská A, Polák Š. Omentum majus and milky spots as an important part of the immune system. *Rozhledy v chirurgii : mesicnik Ceskoslovenske chirurgicke spolecnosti.* 2017;96(9):383-6.
11. Hall JC, Heel KA, Papadimitriou JM, Platell C. The pathobiology of peritonitis. *Gastroenterology.* 1998;114(1):185-96 DOI: 10.1016/s0016-5085(98)70646-8.
12. Liebermann DM, Kaufmann M. Utilization of the greater omentum in surgery: a historical review. *The Netherlands journal of surgery.* 1991;43(5):136-44.
13. Liebermann-Meffert D. The greater omentum. *Anatomy, embryology, and surgical applications. The Surgical clinics of North America.* 2000;80(1):275-93, xii DOI: 10.1016/s0039-6109(05)70406-0.
14. Liebermann-Meffert D, White H, Vaubel E. The greater omentum: Anatomy, physiology, pathology, surgery with an historical survey: Springer; 1983.
15. Wilkosz S, Ireland G, Khwaja N, Walker M, Butt R, de Giorgio-Miller A, et al. A comparative study of the structure of human and murine greater omentum. *Anatomy and embryology.* 2005;209(3):251-61 DOI: 10.1007/s00429-004-0446-6.
16. Skandalakis JE, Skandalakis LJ, Skandalakis PN. Diaphragm. In: Skandalakis JE, Skandalakis LJ, Skandalakis PN, editors. *Surgical Anatomy and Technique: A Pocket Manual.* New York, NY: Springer New York; 2000. p. 229-55.
17. Weibel MA, Majno G. Peritoneal adhesions and their relation to abdominal surgery. A postmortem study. *American journal of surgery.* 1973;126(3):345-53 DOI: 10.1016/s0002-9610(73)80123-0.
18. Ryan GB, Grobety J, Majno G. Postoperative peritoneal adhesions. A study of the mechanisms. *The American journal of pathology.* 1971;65(1):117-48.
19. Galen. *Opera omnia.* Ed Kuhn CG — Leipzig: Cnobloch. 1821–1833;XIII:1.
20. Vesalius A. *De humani corporis fabrica* Book II. 1544;Ch. 24:268.
21. Epstein LI. The Abdominal Policeman. *JAMA.* 1967;201(13):1054- DOI: 10.1001/jama.1967.03130130080033.
22. Westenfelder C. Does the greater omentum ("policeman of the abdomen") possess therapeutic utility in CKD? *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* 2014;25(6):1133-5 DOI: 10.1681/asn.2014010127.
23. Maksymenko OS, Hryn VH. The Greater Omentum of White Rats: Structural and Functional Characteristics and its Role in Peritonitis. *JMBS* 2023, 8(1): 22–29. 2023 DOI: <https://doi.org/10.26693/jmbs08.01.022>.
24. Nakashima J, Bordoni B. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Hepatoduodenal Ligament. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Bruno Bordoni declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.
25. Suzuki D, Kim JH, Shibata S, Murakami G, Rodríguez-Vázquez JF. Topographical anatomy of the greater omentum and transverse mesocolon: a study using human fetuses. *Anatomy & cell biology.*

2019;52(4):443-54 DOI: 10.5115/acb.19.112.

26. Doom M, de Rooster H, van Bergen T, Gielen I, Kromhout K, Simoens P, et al. Morphology of the Canine Omentum Part 1: Arterial Landmarks that Define the Omentum. *Anatomia, histologia, embryologia*. 2016;45(1):37-43 DOI: 10.1111/ahe.12168.

27. Ba-Ssalamah A, Fakhrai N, Baroud S, Shirkhoda A. Mesentery, Omentum, Peritoneum: Embryology, Normal Anatomy and Anatomic Variants. In: Hamm B, Ros PR, editors. *Abdominal imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 1563-76.

28. Collins D, Hogan AM, O'Shea D, Winter DC. The omentum: anatomical, metabolic, and surgical aspects. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*. 2009;13(6):1138-46 DOI: 10.1007/s11605-009-0855-1.

29. Platell C, Cooper D, Papadimitriou JM, Hall JC. The omentum. *World journal of gastroenterology*. 2000;6(2):169-76 DOI: 10.3748/wjg.v6.i2.169.

30. Maksymenko O, Hryn V, Kostylenko Y. [General plan of the structure and principles of morphometric analysis of the greater omentum of white rats]. *APMM*. 2022;22(1):105-10. Ukrainian. DOI: 10.31718/2077-1096.22.1.105.

31. Fedorchenko IL, Stepanchuk AP. [Anatomy of the Greater Omentum in Elderly People]. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sport*. 2022;7(2):74-81. Ukrainian. DOI: 10.26693/jmbs07.02.074.

32. Stepanchuk A, Fedorchenko I, Pryshliak A, Piliuhin A, Shepitko K. The normal architectonics of the greater omentum vasculature in elderly people of both gender. *World of Medicine and Biology*. 2022;2(80):232-7 DOI: 10.26724/2079-8334-2022-2-80-232-237.

33. Fedorchenko IL, Stepanchuk AP. [Age-related external structure of human greater omentum]. *Actual Problems of the Modern Medicine: Bulletin of Ukrainian Medical Stomatological Academy*. 2020;20(3 (71)):222-8. Ukrainian. DOI: 10.31718/2077-1096.20.3.222.

34. Fedorchenko IL. [General characteristics of the main morphometric indicators of the shape and angioarchitecture of the human greater omentum]. *Actual Problems of the Modern Medicine: Bulletin of Ukrainian Medical Stomatological Academy*. 2019;19(4 (68)):148-53. Ukrainian. DOI: 10.31718/2077-1096.19.4.148.

35. Hryn V, Kostylenko Y, Maksymenko O, Tykhonova O, Tarasenko Y, Korchan N. Microscopic structure and the process of formation of milky spots of the greater omentum of white rats. *World of Medicine and Biology*. 2023;3(85):200-205 DOI: 10.26724/2079-8334-2023-3-85-200-205.

36. Hryn V, Maksymenko O. [Morphofunctional characteristics of the intermediate areas of the greater omentum of white rats]. *Scientific Bulletin of*

the Uzhhorod University Series «Medicine». 2023(1(67)):68-74. Ukrainian. DOI: 10.32782/2415-8127.2023.67.12.

37. Huyghe S, de Rooster H, Doom M, Van den Broeck W. The Microscopic Structure of the Omentum in Healthy Dogs: The Mystery Unravelling. *Anatomia, histologia, embryologia*. 2016;45(3):209-18 DOI: 10.1111/ahe.12189.

38. Bedford PA, Todorovic V, Westcott ED, Windsor AC, English NR, Al-Hassi HO, et al. Adipose tissue of human omentum is a major source of dendritic cells, which lose MHC Class II and stimulatory function in Crohn's disease. *Journal of leukocyte biology*. 2006;80(3):546-54 DOI: 10.1189/jlb.0905501.

39. Mutsaers SE. Mesothelial cells: their structure, function and role in serosal repair. *Respirology (Carlton, Vic)*. 2002;7(3):171-91 DOI: 10.1046/j.1440-1843.2002.00404.x.

40. Dux K. Anatomy of the greater and lesser omentum in the mouse with some physiological implications. In: Goldsmith HS, editor. *The Omentum: Research and Clinical Applications*. New York, NY: Springer New York; 1990. p. 19-43.

41. Shimotsu M, Shields JW, Simpson-Morgan MW, Sakuyama A, Shirasu M, Hagiwara A, et al. Morpho-physiological function and role of omental milky spots as omentum-associated lymphoid tissue (OALT) in the peritoneal cavity. *Lymphology*. 1993;26(2):90-101.

42. Savchenko L, Mykytiuk M, Cinato M, Tronchere H, Kunduzova O, Kaidashev I. IL-26 in the induced sputum is associated with the level of systemic inflammation, lung functions and body weight in COPD patients. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*. 2018;13:2569-75 DOI: 10.2147/copd.s164833.

43. Recklinghausen F. Über Eiter und Bindesgewebsskorperchen. *Virchows Arch A Pathol Anat*. 1863;28:157-97.

44. Seirfert E. Studien am Omentum majus des Menschen. *Langenbecks Arch Klin Chir*. 1923;123:608-83.

45. Kostylenko Y, Hryn V, Maksymenko O, Bilash V, Svintsytska N, Brovarnyk Y, et al. Similarities and differences between peyer's patches of the small intestine and milky spots of the greater omentum of white rats. *Azerbaijan Medical Journal*. 2023;4:126-33 DOI: 10.34921/amj.2023.4.018

46. Cleypool CGJ, Schurink B, van der Horst DEM, Bleys R. Sympathetic nerve tissue in milky spots of the human greater omentum. *Journal of anatomy*. 2020;236(1):156-64 DOI: 10.1111/joa.13077.

47. Schurink B, Cleypool CGJ, Bleys RLAW. A rapid and simple method for visualizing milky spots in large fixed tissue samples of the human greater omentum. *Biotechnic & Histochemistry*. 2019;94(6):429-34 DOI: 10.1080/10520295.2019.1583375.

48. Liu J, Geng X, Li Y. Milky spots: omental

functional units and hotbeds for peritoneal cancer metastasis. *Tumor Biology*. 2016;37(5):5715-26 DOI: 10.1007/s13277-016-4887-3.

49. Lambert FG. Milky spots in the greater omentum. *Cancer Immunol Immunother*. 1998;47:205-12.

50. Hryn V, Kostylenko Y, Maksymenko O. The greater omentum and similar serous formations of testis in male white rats. *Folia Morphologica*. 2023;82(4):854-61 DOI: 10.5603/FM.a2022.0095.

51. Hryn V, Maksymenko O. Morphological Characteristics of the Results of Experimental Modeling of Septic Peritonitis. *International Journal of Morphology*. 2024;42(2):446-51 DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022024000200446>.

52. Hryn V, Kostylenko Y, Maksymenko O. General Morphological Characteristics of the Results of Experimental Modeling of Aseptic Peritonitis. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*. 2023;250:152160 DOI: 10.1016/j.aanat.2023.152160.

53. Bass GA, Seamon MJ, Schwab CW. A surgeon's history of the omentum: From omens to patches to immunity. *The journal of trauma and acute care surgery*. 2020;89(6):e161-e6 DOI: 10.1097/ta.0000000000002945.

54. Silva PC, Jamel N, Refinetti RA, Manso EF, Schanaider A. [Development of blood vessels of the greater omentum in the hepatic lobe after vascular ligation. An experimental model in the rats]. *Acta chirurgica brasileira*. 2006;21(6):416-21 DOI: 10.1590/s0102-86502006000600011.

55. Settembre N, Labrousse M, Magnan PE, Branchereau A, Champsaur P, Bussani R, et al. Surgical anatomy of the right gastro-omental artery: a study on 100 cadaver dissections. *Surgical and radiologic anatomy : SRA*. 2018;40(4):415-22 DOI: 10.1007/s00276-017-1951-7.

56. Goldsmith HS, Chen WF, Duckett SW. Brain vascularization by intact omentum. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)*. 1973;106(5):695-8 DOI: 10.1001/archsurg.1973.01350170061015.

57. Rafael H, Mego R, Moromizato P, Garcia W. Omental transplantation for temporal lobe epilepsy: report of two cases. *Neurology India*. 2002;50(1):71-4.

58. Rafael H, Mego R, Moromizato P, Espinoza M. Omental transplantation for Alzheimer's disease. *Neurology India*. 2000;48(4):319-21.

59. Yoshioka N, Tominaga S, Suzuki Y, Yamazato K, Hirano S, Nonaka K, et al. Cerebral revascularization using omentum and muscle free flap for ischemic cerebrovascular disease. *Surgical neurology*. 1998;49(1):58-65; discussion -6 DOI: 10.1016/s0090-3019(97)00122-5.

60. Normington EY, Papay FA, Yetman RJ. Treatment of recurrent cerebrospinal fluid rhinorrhea with a free vascularized omental flap: a case report. *Plastic and reconstructive surgery*. 1996;98(3):514-9

DOI: 10.1097/00006534-199609000-00025.

61. Alagumuthu M, Das BB, Pattanayak S, Rasananda M, editors. *The omentum : A unique organ of exceptional versatility* 2006.

62. Kanamori T, Watanabe G, Yasuda T, Nagamine H, Kamiya H, Koshida Y. Hybrid surgical angiogenesis: omentopexy can enhance myocardial angiogenesis induced by cell therapy. *The Annals of thoracic surgery*. 2006;81(1):160-7 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2005.07.021.

63. Levashev YN, Akopov AL, Mosin IV. The possibilities of greater omentum usage in thoracic surgery. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 1999;15(4):465-8 DOI: 10.1016/s1010-7940(99)00041-x.

64. López-Monjardin H, de-la-Peña-Salcedo A, Mendoza-Muñoz M, López-Yáñez-de-la-Peña A, Palacio-López E, López-García A. Omentum flap versus pectoralis major flap in the treatment of mediastinitis. *Plastic and reconstructive surgery*. 1998;101(6):1481-5 DOI: 10.1097/00006534-199805000-00008.

65. Yasuura K, Okamoto H, Morita S, Ogawa Y, Sawazaki M, Seki A, et al. Results of omental flap transposition for deep sternal wound infection after cardiovascular surgery. *Annals of surgery*. 1998;227(3):455-9 DOI: 10.1097/0000658-199803000-00019.

66. d'Udekem Y, Lengele B, Noirhomme P, El Khoury G, Vanwijck R, Rubay JE, et al. Radical debulking and omental transposition for post sternotomy mediastinitis. *Cardiovascular surgery (London, England)*. 1998;6(4):415-8 DOI: 10.1016/s0967-2109(98)00019-2.

67. Pitts L, Pasic M, Wert L, Nersesian G, Kaemmel J, Buz S, et al. Mediastinal transposition of the greater omentum for treatment of infected prostheses of the ascending aorta and aortic arch. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2024;65(6) DOI: 10.1093/ejcts/ezae225.

68. Ala-Kulju K, Virkkula L. Use of omental pedicle for treatment of Buerger's disease affecting the upper extremities. A modified technique. *VASA Zeitschrift fur Gefasskrankheiten*. 1990;19(4):330-3.

69. Mendes D, Kahn M, Ibrahim IM, Sussman B, Fox R, Dardik H. Omental protection of autogenous arterial reconstruction following femoral prosthetic graft infection. *Journal of vascular surgery*. 1985;2(4):603-6 DOI: 10.1067/mva.1985.avs0020603.

70. Mulder WW, Arko-Cobbah E, Joubert G. Are admission laboratory values in isolation meaningful for predicting surgical outcome in patients with perforated peptic ulcers? *Surgery open science*. 2023;11:62-8 DOI: 10.1016/j.sopen.2022.11.003.

71. Thakur B, Zhang CS, Tan ZB. Omentoplasty versus no omentoplasty for esophagogastrotomy after surgery for cancer of cardia and esophagus. *Indian*

journal of cancer. 2004;41(4):167-9.

72. Madiba TE, Nair R, Mulaudzi T, Thomson S. Perforated gastric ulcer - Reappraisal of surgical options. South African journal of surgery Suid-Afrikaanse tydskrif vir chirurgie. 2005;43:58-60.

73. Raj BR, Subbu K, Manoharan G. Omental plug closure of large duodenal defects--an experimental study. Tropical gastroenterology : official journal of the Digestive Diseases Foundation. 1997;18(4):180-2.

74. Levy Y, Miko I, Hauck M, Mathesz K, Furka I, Orda R. Effect of omental angiogenic lipid factor on revascularization of autotransplanted spleen in dogs. European surgical research Europaische chirurgische Forschung Recherches chirurgicales europeennes. 1998;30(2):138-43 DOI: 10.1159/000008569.

75. Reza Mousavi S, Khoshnevis J, Kharazm P. Surgical treatment of hydatid cyst of the liver: drainage versus omentoplasty. Annals of hepatology. 2005;4(4):272-4.

76. Zbar AP, Hariharan S, Warner C. Omentoplasty for liver abscess complicating perforative colonic diverticulum. Techniques in coloproctology. 2003;7(3):222 DOI: 10.1007/s10151-003-0040-6.

77. Tocchi A, Mazzoni G, Lepre L, Costa G, Liotta G, Agostini N, et al. Prospective evaluation of omentoplasty in preventing leakage of colorectal anastomosis. Diseases of the colon and rectum. 2000;43(7):951-5 DOI: 10.1007/bf02237357.

78. Giorgio A, Biacchi D, Sibio S, Accarpio F, Sinibaldi G, Petrella L, et al. Abdominal rectopexy for complete rectal prolapse: Preliminary results of a new technique. International journal of colorectal disease. 2005;20:180-9 DOI: 10.1007/s00384-004-0650-0.

79. Park C, Roh TS, Chi HS. Total ear reconstruction in the devascularized temporoparietal region: II. Use of the omental free flap. Plastic and reconstructive surgery. 2003;111(4):1391-7; discussion 8-9 DOI: 10.1097/01.prs.0000049113.27514.b2.

80. Harashina T, Imai T, Wada M. The omental sandwich reconstruction for a full-thickness cheek defect. Plastic and reconstructive surgery. 1979;64(3):411-5.

81. Genden EM, Kaufman MR, Katz B, Vine A, Urken ML. Tubed gastro-omental free flap for pharyngoesophageal reconstruction. Archives of otolaryngology--head & neck surgery. 2001;127(7):847-53.

82. Righini CA, Bettega G, Lequeux T, Chafanjeon P, Lebeau J, Rey E. Use of tubed gastro-omental free flap for hypopharynx and cervical esophagus reconstruction after total laryngo-pharyngectomy. European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery. 2005;262(5):362-7 DOI: 10.1007/s00405-004-0828-7.

83. Möhring K, Pomer S. [Preventive use of pedicled omentum majus within the scope of kidney transplantation]. Helvetica chirurgica acta. 1991;58(3):265-70.

84. Dalela D, Gupta VP, Goel A, Singh KM. Omental wrap around the renal pedicle: an adjunctive step to minimize morbidity and recurrence after lymphorenal disconnection for chyluria. BJU international. 2004;94(4):673-4 DOI: 10.1111/j.1464-410X.2004.05021.x.

85. Mokhort VA, Makarov VN. [Omentovesicopexy with transposition of the bladder into the abdominal cavity in the treatment of neurogenic bladder]. Urologiia i nefrologiia. 1990(4):20-4.

86. Kamei Y, Aoyama H, Yokoo K, Fujii K, Kondo C, Sato T, et al. Composite gastric seromuscular and omental pedicle flap for urethral and scrotal reconstruction after Fournier's gangrene. Annals of plastic surgery. 1994;33(5):565-8 DOI: 10.1097/00000637-199411000-00018.

87. Shoshany G, Shofty R, Livne E, Hayari L, Mordechovitz D. Testicular neovascularization by "omentotesticulopexy": a possible adjuvant in the surgical correction of high undescended testes. Journal of pediatric surgery. 1996;31(9):1229-32 DOI: 10.1016/s0022-3468(96)90239-0.

88. Patsner B, Hackett TE. Use of the omental J-flap for prevention of postoperative complications following radical abdominal hysterectomy: report of 140 cases and literature review. Gynecologic oncology. 1997;65(3):405-7 DOI: 10.1006/gyno.1997.4700.

89. Kusiak JF, Rosenblum NG. Neovaginal reconstruction after exenteration using an omental flap and split-thickness skin graft. Plastic and reconstructive surgery. 1996;97(4):775-81; discussion 83-3 DOI: 10.1097/00006534-199604000-00013.

90. Sompayrac SW, Mindelzun RE, Silverman PM, Sze R. The greater omentum. AJR American journal of roentgenology. 1997;168(3):683-7 DOI: 10.2214/ajr.168.3.9057515.

91. Fataar S, Morton PC, Schulman A, Roman T, Harvey A. Radiological diagnosis of primary greater omental mass lesions. Clinical radiology. 1981;32(3):325-30 DOI: 10.1016/s0009-9260(81)80054-2.

92. Schwartz RW, Reames M, McGrath PC, Letton RW, Appleby G, Kenady DE. Primary solid neoplasms of the greater omentum. Surgery. 1991;109(4):543-9.

93. Chou CK, Liu GC, Su JH, Chen LT, Sheu RS, Jaw TS. MRI demonstration of peritoneal implants. Abdominal imaging. 1994;19(2):95-101 DOI: 10.1007/bf00203480.

94. Elsayed AZ, Alhadeethi AR, Khan S, Hassan ME, Al ali K. Omental torsion, an overlooked differential diagnosis of acute abdomen in children. A case series. Journal of Pediatric Surgery Case Reports. 2021;64:101684 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpesc.2020.101684>.

95. Alexopoulos V, Sinopidis X, Louta A, Damaskos C, Garmpis N, Tsourouflis G, et al. Primary Omental Torsion in Children in the Laparoscopy Era: What Have we Learned so far? In vivo (Athens, Greece). 2024;38(3):1030-41 DOI: 10.21873/in vivo.13536.

96. Konopliyskyi V, Pogoriliy V, Fomin O, Ksonz I, Yakymenko O, Horbatiuk L. et al. [Torsion of the greater omentum in a child: review of literature and own a case reports]. Paediatric surgery. 2019;2(63):84-91. Ukrainian. DOI: 10.15574/PS.2019.63.84.

97. Konopliyskyi VS, Pogoriliy VV, Ksonz IV, Olkhomiak OO, Sasiuk AI, Korobko YuYe. [Torsion

of the greater omentum: clinic, diagnosis and treatment (literature review)]. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2019(2 (1)):41-6 DOI: 10.29254/2077-4214-2019-2-1-150-41-46. Ukrainian.

98. Amanollahi O, Hesami S, Mehrabani M, Ghasemi S. Atypical Morgagni Hernia: A Case Study Report. Journal of Kermanshah University of Medical Sciences. 2019;In Press DOI: 10.5812/jkums.95397.

99. Amore D, Bergaminelli C, Di Natale D, Casazza D, Scaramuzzi R, Curcio C. Morgagni hernia repair in adult obese patient by hybrid robotic thoracic surgery. Journal of Thoracic Disease. 2018;10(7):E555-E9.

Шепітько В.І., Білаш С.М., Устенко Р.Л., Ляховський В.І., Пілюгін А.В., Єрошенко Г.А., Саричев Я.В. Морфофункціональна характеристика великого чепця та його роль в практичній медицині.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Великий чепець є важливим органом очеревинної порожнини з унікальною анатомічною структурою та специфічними патофізіологічними особливостями. У минулому великий чепець розглядали як інертну, пасивну та неактивну жирову тканину, яка виконувала функцію ізоляції очеревинної порожнини. На даний час великий чепець визнаний невід'ємним імунологічним органом, який релевантний для захисту організму. **Мета.** Провести всебічний аналіз морфофункціональних особливостей великого чепця та дослідити його роль в практичній медицині шляхом бібліографічного аналізу літератури. **Методи.** Даний бібліографічний аналіз ґрунтується на закордонних та вітчизняних статтях, книгах та монографіях. Для поставлених задач цього системного огляду, пошук літератури здійснювався у мережі «Інтернет» у науково-метричних базах PubMed, Web of Science, Google Scholar, Національній медичній бібліотеці за ключовими словами: «greater omentum», «milky spots», «великий чепець», «органи очеревинної порожнини», «молочні плями», «морфологія». **Результати.** Великий чепець розвивається із дорсальної брижі, та має мезодермальне походження. Маса великого чепця може сягати до 2000 г, займати площу до 1500 см², при його довжині до 36 см та ширині до 46 см. Залежно від таких метричних показників, як довжина й ширина, описано варіанти великого чепця: довгий і широкий; короткий і вузький; проміжний та середній. За формою великий чепець може бути багатокутний або багатолопатевий, п'ятикутний – трапецієподібний, трикутний, неправильний, півовальний та у вигляді мережива. Мікроскопічно великий чепець складається з жирової тканини яка містить в собі адипоцити, які вбудовані в добре васкуляризовану сполучну тканину, багату кровоносними судинами, молочними плямами та тонкими фенестрованими напівпрозорими ділянками, які утворені мезотеліальними клітинами. Великий чепець може слугувати як альтернативний вторинний лімфоїдний орган, за рахунок молочних плям, які мають у своєму складі 70% макрофагів, 10% В-лімфоцитів та 10% Т-лімфоцитів, також присутні стромальні та тучні клітини. Також однією з головних властивостей великого чепця є його здатність змінювати свою форму й переміщатися в межах очеревинної порожнини, і як наслідок, механічно обмежувати поширення інфекції та ізоляцію бактеріальної інвазії. Великий чепець використовується в різних хірургічних спеціальностях: в практиці нейрохірургів, торакальних хірургів, кардіохірургів, загальній хірургії, в колопроктології, онкології, урології, гінекології та пластичній хірургії. **Підсумок.** Великий чепець займає центральне місце в механізмах захисту очеревини, які досягаються завдяки володінню вродженої імунної функції, високій абсорбційній здатності та здатності консолідуватися з суміжними структурами, щоб закрити дефекти органів черевної порожнини та сприяти їх загоєнню завдяки своїй вираженій ангіогенній активності.

Ключові слова: великий чепець, молочні плями, серозна оболонка, адипоцити, шлунок, дванадцятипала кишка, очеревина, перитоніт.

О.О. Адамович¹, Р.П. Криницький¹,
М.В. Подоліук¹, Н.П. Гресько¹,
І.-В.Т. Чалий², М.Я. Камінська³,
Т.А. Онутчак⁴

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

² КНП «1 Територіальне Медичне Об'єднання» м. Львова ВП лікарня Святого Пантелеймона

³ КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня»

⁴ ВПНЗ Львівський медичний коледж «Монада»

Львів, Україна

Надійшла: 04.05.2024

Прийнята: 21.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.33-37>

УДК611.92-055.1-071.3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАКОНОМІРНОСТЕЙ ВІКОВОЇ ДИНАМІКИ СИМЕТРИЧНОСТІ СТРУКТУР ЛИЦЯ У ЧОЛОВІКІВ

Adamovych O.O. , Krynytskyi R.P. , Podoliyuk M.V. , Hresko N.I. , Chalyi I.-V.T. , Kaminska M.Ya. , Onutchak T.A.  Study of the age-related dynamics of facial structure symmetry in men. Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Municipal Non-Commercial Enterprise "1st Territorial Medical Association" of Lviv, St. Panteleimon Hospital, Municipal Non-Commercial Enterprise "Lviv Regional Clinical Hospital", Lviv Medical College "Monada", Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Asymmetry is a fundamental characteristic of the human body, reflecting the non-identical nature of the right and left halves of the human body due to differences in anatomical structure, topography, innervation, trophism and functional loads, among other factors. **Objective.** To investigate the frequency of physiological asymmetry in various facial structures and areas in males, and to elucidate the characteristics of their age-related dynamics. **Methods.** A total of 50 males (divided into five age groups with 10 individuals each according to age periodization) were examined. Symmetry was visually assessed for facial width, eye size and shape, eyebrows, eyelids, nasolabial folds, corners of the mouth, smile, nose position, nostril size and shape, ear size, shape and position, and the alignment of the midline between the central incisors of the upper and lower jaws. **Results.** It was found that in childhood and adolescence 30% of boys exhibited no visual signs of facial asymmetry, while in young adulthood this figure dropped to 10%. In adulthood, asymmetry was detected in all examined men. Asymmetry in one parameter was found in 40% of children, 50% of adolescents, 20% of young men, 40% of men in the first period of adulthood, and 30% of men in the second period of adulthood. Asymmetry in multiple parameters was observed in 30% of children, 20% of adolescents, 70% of young men, 60% of men in the first period of adulthood, and 70% of men in the second period of adulthood. **Conclusion.** Smile asymmetry was found in all age groups and was the most frequently observed parameter among all studied indices. Ear asymmetry was the least frequently observed and detected only in men of adulthood.

Key words: symmetry, asymmetry, face, men, age dynamics.

Citation:

Adamovych OO, Krynytskyi RP, Podoliyuk MV, Hresko NI, Chalyi IVT, Kaminska MYa, Onutchak TA. [Study of the age-related dynamics of facial structure symmetry in men]. Morphologia. 2024;18(2):33-7. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.33-37>

 Adamovych O.O. 0000-0001-5729-1118;  Krynytskyi R.P. 0000-0002-2764-8814;
 Podoliyuk M.V. 0000-0003-3490-8976,  Hresko N.I. 0000-0003-2439-713X;
 Chalyi I.-V.T. 0009-0007-4955-5372;  Kaminska M.Ya. 0009-0004-9099-1684;
 Onutchak T.A. 0009-0008-9528-2093

✉ adamovych.o@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Асиметрія є однією з основних характеристик людського організму, що передбачає неповну ідентичність правої та лівої половин тіла людини, пов'язану з особливостями їх анатомічної будови та топографії, іннервації, трофіки, функціональних навантажень тощо [1-3]. Багато досліджень присвячено вивченню впливу на асиметрію тулуба та кінцівок умов праці та соціально-економічного статусу людини [4, 5]. Улан А., Шинкарук О. описують моторні асиметрії, як сукупність ознак нерівнозначності функцій правої і лівої половин тіла, кінцівок та обличчя у формуванні загальної рухової активності людини [6]. При цьому автори наголошують на вираженій віковій динаміці моторної асиметрії, яка проявляється в дитячі роки, але найвищого рівня досягає в зрілому віці. Важливими чинниками розвитку функціональної асиметрії різні автори вважають «офісний синдром», гіподинамію, шкідливі звички та неадекватні фізичні навантаження [7-9].

Метою нашої роботи стало дослідження частоти фізіологічної асиметрії різних структур та ділянок лица у осіб чоловічої статі та з'ясування особливостей їх вікової динаміки.

Матеріали та методи

Робоча група, сформована методом рандомізації, включала 50 осіб чоловічої статі (5 груп по 10 осіб кожна згідно вікової періодизації – хлопчики другого періоду дитячого віку – 8-12 років; підліткового віку – 13-16 років; юнаки – 17-21 років; чоловіки першого періоду зрілого віку – 22-35 років та другого періоду зрілого віку – 36-60 років), які звертались за стоматологічною чи офтальмологічною допомогою. У всіх обстежуваних візуально визначали симетрію ширини обличчя, величини і форми очей, брів, повік, носогубних складок, кутів рота, усмішки, положення носа та величини і форми ніздрів, величини, форми та положення вух, а також співпадіння середньої лінії між центральними різцями верхньої та нижньої щелеп.

Результати та їх обговорення

У результаті проведеного дослідження в рандомізованій вибірці хлопчиків дитячого віку ознак асиметрії лица не було виявлено лише у 3 дітей (30% від загальної кількості оглянутих осіб даної вікової групи); асиметрію за одним показником спостерігали у 4 дітей (40%) і за кількома показниками – у 3 дітей (30%). В групі підлітків ознак асиметрії не виявлено також у 3 дітей (30%), асиметрію за одним показником спостерігали у 5 дітей (50%), за кількома показниками – у 2 дітей (20%). Серед обстежених юнаків лише у одного (10%) не спостерігали ознак асиметрії лица, у 2 (20%) виявлено асиметрію за одним показником і у 7 (70%) – за кількома показниками. Серед чоловіків зрілого віку осіб без ознак асиметрії виявлено не було. В першій групі

зрілого віку спостерігали 4 чоловіків (40%) з асиметрією за одним показником та 6 чоловіків (60%) з асиметрією за кількома показниками; в другій групі зрілого віку асиметрію за одним показником виявлено у 3 чоловіків (30%), за кількома показниками – у 7 чоловіків (70%).

Проведений аналіз вікової динаміки асиметрії анатомічних структур і орієнтирів у осіб чоловічої статі дав змогу встановити, що у хлопчиків дитячого віку з однаковою частотою в 10% виявлено візуальну асиметрію ширини лица, асиметрію носогубних складок, кута рота і положення носа з асиметрією ніздрів. У 40% хлопчиків даної групи виявлено асиметрію усмішки та у 50% – неспівпадіння середніх ліній між центральними різцями верхньої та нижньої щелеп (рис. 1).

В групі підлітків у 10% виявлено візуальну асиметрію ширини лица, ще у 10% – асиметрію повік. У 40% підлітків спостерігали асиметрію усмішки та у 50% – асиметрію положення носа та форми ніздрів.

По 10% обстежених юнаків мали встановлену асиметрію величини і форми очей, асиметрію брів, повік та ніздрів і положення носа. У 20% юнаків встановлено асиметрію кутів рота, у 30% – носогубних складок, у 40% – неспівпадіння середньої лінії між центральними різцями та у 50% – асиметрію усмішки.

Найбільшу кількість показників асиметрії та найбільшу частоту їх зустрічання було виявлено у чоловіків першого періоду зрілого віку. Серед осіб даної вікової групи з частотою 10% спостерігали асиметрію ширини лица, величини і форми очей, брів, повік, положення носа та ніздрів, а також величини, форми та положення вух. У 30% чоловіків спостерігали неспівпадіння середньої лінії між центральними різцями, у 40% – асиметрію кутів рота, у 50% – асиметрію носогубних складок та у 70% – асиметрію усмішки.

У 10% чоловіків другого періоду зрілого віку виявлено візуальну асиметрію ширини лица. З такою ж частотою спостерігали асиметрію величини та форми очей, величини, форми та положення вух. У 20% чоловіків даної вікової групи виявлено асиметрію брів, по 30% чоловіків мають асиметрію повік та неспівпадіння середньої лінії між центральними різцями верхньої та нижньої щелеп. Ще по 40% чоловіків мають виявлену асиметрію носогубних складок, кутів рота та усмішки (рис. 1).

Вивчення частоти виявлення асиметрії різних ділянок лица в осіб чоловічої статі різних вікових груп дало змогу з'ясувати, що візуальну асиметрію ширини лица з однаковою частотою (10%) спостерігали у дітей, підлітків та чоловіків обох груп зрілого віку. З такою ж частотою (10%) спостерігали асиметрію величини та форми очей у юнаків та чоловіків зрілого віку; асиметрію величини, форми і положення вух у чоловіків обох періодів зрілого віку. Асиметрію брів виявлено у

10% юнаків, 10% чоловіків першого періоду зрілого віку та 20% чоловіків другого періоду зрілого віку. Асиметрію повік мають 10% підлітків, 10% юнаків та 10% чоловіків першого періоду зрілого віку, а також 30% чоловіків другого періоду зрілого віку. Асиметрію носогубних складок спостерігали у 10% дітей, 30% юнаків, 50% чоловіків першого періоду та 40% чоловіків

другого періоду зрілого віку. Асиметрію кутів рота виявлено у 10% дітей, 20% юнаків та у 40% чоловіків обох періодів зрілого віку. Асиметрія усмішки мала найбільшу частоту виявлення – її спостерігали у 40% обстежених дітей, підлітків та чоловіків другого періоду зрілого віку, а також у 50% юнаків та 70% чоловіків першого періоду зрілого віку.

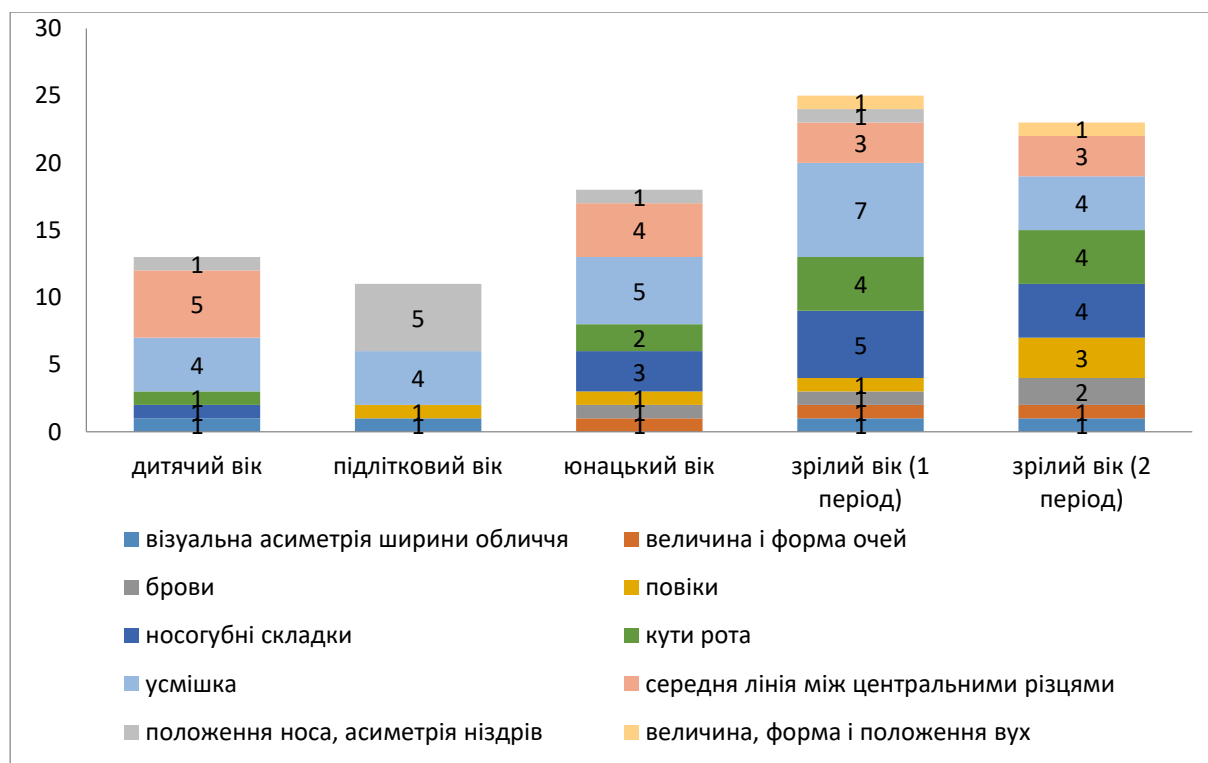


Рис. 1. Вікова динаміка асиметрії анатомічних структур і орієнтирів у осіб чоловічої статі.

Неспівпадіння середньої лінії між центральними різцями верхньої та нижньої щелепи мали 50% дітей, 40% юнаків та 30% чоловіків у обох періодах зрілого віку. Асиметрію ніздрів та положення носа було виявлено у 10% дітей, юнаків та чоловіків першого періоду зрілого віку, а також у 50% підлітків.

Найрідше в обстежуваній групі спостерігали асиметрію величини, форми і положення вух – її було виявлено лише у 10% чоловіків обох періодів зрілого віку (рис. 2).

Результати проведеного аналізу отриманих даних засвідчили найбільшу кількість показників асиметрії лица та їх частоти у чоловіків зрілого віку, зокрема – його першого періоду, що співпадає з даними наукової літератури щодо вікової динаміки моторної асиметрії, частота проявів якої сягає найвищого рівня в зрілому віці [6]. Саме тому контроль мімічних навантажень може стати одним з факторів впливу на формування та прогресування тих проявів асиметрії, які носять мімічний характер (положення брів, повік, носогубних складок, кутів рота та усмішки). Оскільки

серед досліджуваних показників асиметрії лица значний відсоток припадає на неспівпадіння середньої лінії між центральними різцями верхньої та нижньої щелеп, причиною якої найчастіше є часткова несиметрична адентія або патології прикусу, необхідно брати до уваги точку зору дослідників, які вважають, що асиметрія обличчя у пацієнтів із односторонніми зубощелепними аномаліями виражена більше, ніж у осіб з ортогнатичним прикусом [9, 10]. Отримані нами дані суттєво доповнюють інформацію щодо проявів асиметрії лица та закономірностей її вікової динаміки і мають важливе практичне значення для клінічної та естетичної медицини, оскільки дозволяють зрозуміти динаміку її виникнення, та запобігти прогресуванню.

Висновки

1. В дитячому та підлітковому віці візуальних ознак асиметрії лица не мають 30% хлопчиків, в юнацькому віці – 10%, в зрілому віці ознаки асиметрії було виявлено у всіх обстежуваних чоловіків.

2. Асиметрію за одним показником виявлено у 40% дітей, 50% підлітків, 20% юнаків 40% чоловіків першого періоду зрілого віку та у 30% чоловіків другого періоду зрілого віку; асиметрію за кількома показниками – у 30% дітей, 20% підлітків, 70% юнаків, 60% чоловіків першого пері-

оду зрілого віку та у 70% чоловіків другого періоду зрілого віку.

3. У всіх вікових групах обстежуваних виявлено асиметрію усмішки, яка має найбільшу частоту серед усіх досліджуваних показників. Найменшу частоту має асиметрія вух – її виявлено лише у чоловіків зрілого віку.

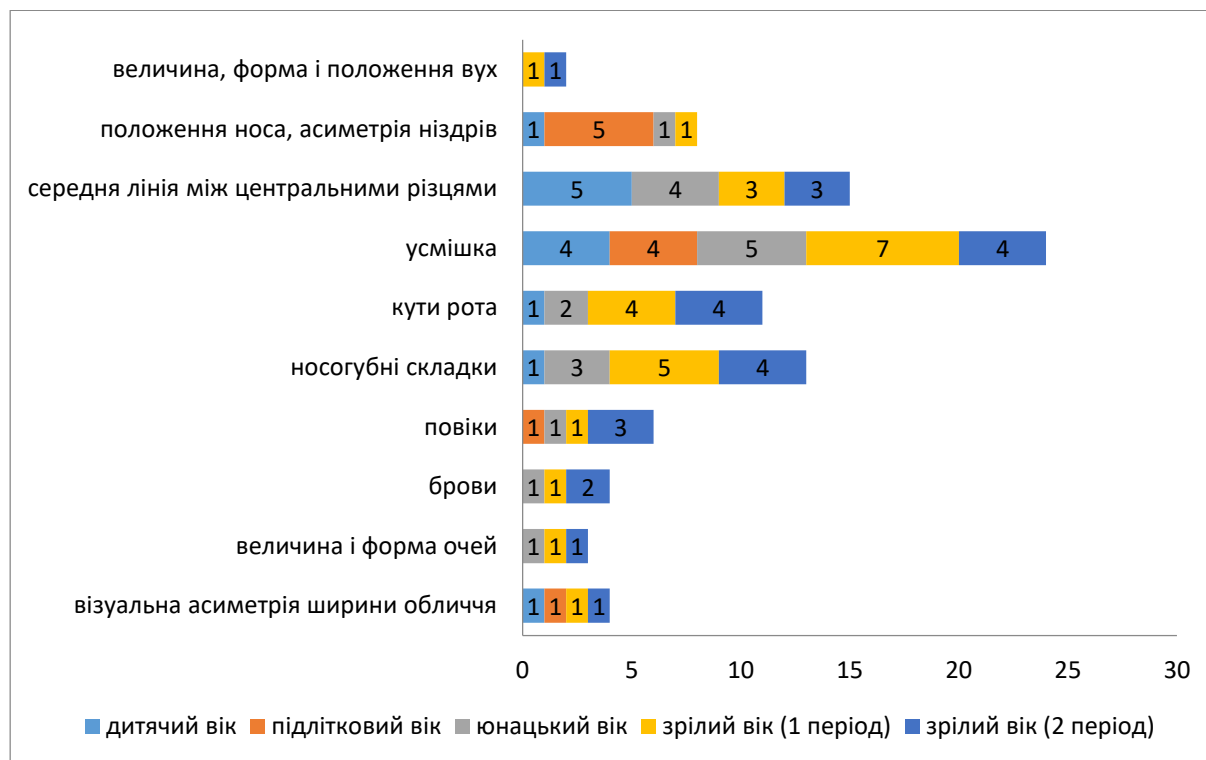


Рис. 2. Частота виявлення асиметрії різних ділянок лица в осіб чоловічої статі різних вікових груп.

Перспективи подальших досліджень

Подальше вивчення особливостей фізіологічної симетрії/асиметрії лица, її гендерних особливостей та вікової динаміки дозволить створити теоретичне підґрунтя для оптимізації за-

ходів профілактики прогресування ознак асиметрії та підвищення ефективності їх корекції.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела

References

1. Alyoshina AI, Vypasnyak IP, Kashuba VO. [Correction of the human body in the process of physical exercises: Theoretical and practical aspects]. Lutsk: Vesna-Druk. 2022;536 p. Ukrainian.
2. Kashuba VO, Popadyukha YuA. [Biomechanics of the spatial organization of the human body: modern methods and means of diagnosis and restoration of disorders: monograph]. Kyiv: Center for Educational Literature. 2018;768 p. Ukrainian.
3. Rudenko YuV. [Correction of disorders of the state of the biogeometric profile of the posture of mature men in the course of health fitness classes] (dissertation). Kyiv: NUFVSU. 2021;254 p. Ukrainian

4. Zener B. Biomechanical Pressures and upper Extremity Asymmetry: a study on young laborers. Coll Antropol. 2007;31(3):693-9.
5. Zener B. Fluctuating and directional asymmetry in young human males: effect of heavy working condition and socioeconomic status. Am J Phys Anthropol. 2010;143(1):112-20.
6. Ulan A, Shynkaruk O. [Functional asymmetry in sports: features of manifestation and approaches to use in the orientation process of fencers' training]. Science in Olympic sports. 2019;1:24-35. DOI:10.32652/Olympic2019.1-4. Ukrainian.
7. Lee SP, Hsu YT, Bair B, Toberman M, Chien

LC. Gender and posture are significant risk factors for musculoskeletal symptoms during touchscreen tablet computer use. *J Phys Ther Sci*. 2018 Jun;30(6):855-61.

8. Lazko O, Byshevets N, Plyeshakova O, Lazakovych Y, Kashuba V, Grygus I, et al. Determinants of office syndrome among working age women. *J Physical Education Sport*. 2021;21(5,suppl):2827-34. DOI: 10.7752/jpes.2021;53-76.

9. Balykov VV, Bidnyuk KA, Balykov RV.

Morphometric indicators of the temporomandibular joint in facial asymmetries and bite disorders. *Advances in biology and medicine*. 2017;(1):36-40. Ukrainian.

10. Makarova OM. [Asymmetry of lips and tooth rows in patients with unilateral II class according to E.H. Angle]. *Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy*. 2013;(2):35-8. Ukrainian.

Адамович О.О., Криницький Р.П., Подоліук М.В., Гресько Н.І., Чалий І.-В.Т., Камінська М.Я., Онутчак Т.А. Дослідження закономірностей вікової динаміки симетричності структур лица у чоловіків.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Асиметрія є однією з основних характеристик людського організму, що передбачає неповну ідентичність правої та лівої половин тіла людини, пов'язану з особливостями їх анатомічної будови та топографії, іннервації, трофіки, функціональних навантажень тощо. **Мета:** дослідження частоти фізіологічної асиметрії різних структур та ділянок лица у осіб чоловічої статі та з'ясування особливостей їх вікової динаміки. **Методи.** Обстежено 50 осіб чоловічої статі (5 груп по 10 осіб кожна згідно вікової періодизації). У всіх обстежуваних візуально визначали симетрію ширини обличчя, величини і форми очей, брів, повік, носо-губних складок, кутів рота, усмішки, положення носа та величини і форми ніздів, величини, форми та положення вух, а також співпадіння середньої лінії між центральними різцями верхньої та нижньої щелеп. **Результати.** З'ясовано, що в дитячому та підлітковому віці візуальних ознак асиметрії лица не мають 30% хлопчиків, в юнацькому віці – 10%, в зрілому віці ознаки асиметрії було виявлено у всіх обстежуваних чоловіків. Асиметрію за одним показником виявлено у 40% дітей, 50% підлітків, 20% юнаків 40% чоловіків першого періоду зрілого віку та у 30% чоловіків другого періоду зрілого віку; асиметрію за кількома показниками – у 30% дітей, 20% підлітків, 70% юнаків, 60% чоловіків першого періоду зрілого віку та у 70% чоловіків другого періоду зрілого віку. **Підсумок.** У всіх вікових групах обстежуваних виявлено асиметрію усмішки, яка має найбільшу частоту серед усіх досліджуваних показників. Найменшу частоту має асиметрія вух – її виявлено лише у чоловіків зрілого віку.

Ключові слова: симетрія, асиметрія, лице, чоловіки, вікова динаміка.

В.Г. Гринь ¹, В.П. Білаш ¹,
Н.Л. Свінцицька ¹,
Р.Л. Устенко ¹, С.І. Сербін ²,
А.Л. Каценко ¹, А.В. Пілюгін ¹

¹ Полтавський державний медичний
університет

Полтава

² Донецький національний медичний
університет

Лиман, Україна

Надійшла: 29.04.2024

Прийнята: 15.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.38-43>

УДК 616.341/345:612.08:599.323.4

ОСНОВНІ МОРФОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ТОНКОЇ ТА ТОВС- ТОЇ КИШКИ ПРИ РІЗНИХ ФУНК- ЦІОНАЛЬНИХ СТАНАХ У ЩУРІВ

Gryn V.G. , Bilash V.P. , Svintsytska N.L. , Ustenko R.L. , Serbin S.I. , Katsenko A.L. , Pilyugin A.V.  **Main morphometric parameters of the small and colon intestines in different functional states in rats.**

Poltava State Medical University, Poltava; Donetsk National Medical University, Lyman, Ukraine.

ABSTRACT. The aim of our study was to study the main morphometric parameters of the small and large intestine in different functional states in rats. **Methods.** The material for the study was 60 white rats of reproductive age, weighing 200.0±20.0 g, one half of which (n=30) were on daily fasting before vivisection, and euthanasia of the others (n=30) was performed immediately after morning feeding. First, after euthanasia by overdose of ether anesthesia, an autopsy and removal of the anterior abdominal wall of the abdomen was performed in all animals, followed by a total examination of the internal organs in their usual position. After photo-documentation of the internal organs, they proceeded to extract the total organ complex of the gastrointestinal tract from the abdominal cavity. **Results.** The direct distance between the pyloric sphincter and the ileocecal angle is quite small - approximately 35.0-40.0 mm, while the total length of the small intestine in some individuals of white rats reaches one meter with a thickness of about 3.0 mm. The general configuration of the loops of the small intestine, which are closely adjacent to each other, in each individual case after vivisection is presented differently due, most likely, to their peristaltic mobility. However, the individual variability of their shape cannot be rejected, which may depend, in turn, on the individual variable total length of the small intestine. In this regard, it should be noted that in the distal direction, i.e., as it approaches the ileocecal section, there is a gradual concentration of the food content, as a result of which its individual portions gradually turn into a mass that is relatively uniform in length. The task of our research was primarily to obtain basic metric data about the small and large intestine using the mathematical formula presented in the research materials and methods.

Key words: gastrointestinal tract, small intestine, large intestine, white rats, functional state.

Citation:

Gryn VG, Bilash VP, Svintsytska NL, Ustenko RL, Serbin SI, Katsenko AL, Pilyugin AV. [Main morphometric parameters of the small and colon intestines in different functional states in rats]. Morphologia. 2024;18(2):38-43. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.38-43>

 Gryn V.G. 0000-0001-5894-4416;  Bilash V.P. 0000-0002-7178-3394;

 Svintsytska N.L. 0000-0002-6342-6792;  Ustenko R.L. 0000-0001-9021-4472;

 Serbin S.I. 0000-0003-4162-9377;  Katsenko A.L. 0000-0002-6151-1483;

 Pilyugin A.V. 0000-0003-0601-8036

✉ vogrin034@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

У загальному плані анатомічної організації травна система білого щура схожа з травною системою людини [1, 2, 3]. Тільки їх метричні харак-

теристики незрівнянні, але це є позитивною особливістю при плануванні експериментальних досліджень порівняно з іншими великими лабораторними тваринами.

Інформацію про особливості анатомічної будови органів травної системи білих щурів можна почерпнути з праць багатьох авторів, які займаються експериментальним моделюванням різних патологічних станів травної системи [4, 5, 6].

Відомі в літературі загальні відомості про анатомічну будову тонкої та товстої кишки загалом підтверджуються результатами дослідження різних авторів [7, 8]. Проте вивчення органів травного тракту при різних функціональних станах травної системи тварин (після добового голодування і чергового годування) повинно розширити всебічне уявлення, підтвердивши фактичні дані виразнішими ілюстраціями та метричними параметрами даних структур в порівнянні з наявними в літературі.

Метою нашого дослідження було вивчення основних морфометричних параметрів тонкої та товстої кишки при різних функціональних станах у щурів.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження слугували 60 білих щурів репродуктивного віку, масою $200,0 \pm 20,0$ г, одна половина ($n=30$) з яких до вивісекції знаходилася в режимі добового голодування, а евтаназію інших ($n=30$) проводили відразу після ранкового годування. До вивісекції усі тварини перебували у стандартних умовах експериментально-біологічної клініки (віварій) Полтавського державного медичного університету, згідно з правилами утримання експериментальних тварин, встановлених Директивою Європейського Парламенту та Ради (2010/63/EU), наказом Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249 «Про затвердження порядку проведення науковими установами дослідів [9, 10].

Спочатку після евтаназії шляхом передозування ефірного наркозу у всіх тварин по черзі (на препарувальному пристрої в положенні тварин на спині) проводився розтин та видалення передньої черевної стінки живота, з подальшим тотальним оглядом внутрішніх органів у їх звичайному положенні [11, 12, 13, 14, 15].

Після фотодокументації внутрішніх органів приступали до вилучення з черевної порожнини живота органів шлунково-кишкового тракту, які, зі збереженням звичайного між ними положення, зрошували 10% розчином нейтрального формаліну і фотографували необхідні досліджувані об'єкти. Потім проводили відсікання петель тонкої кишки від шлунку (в ділянці пілоричного сфінктера) і сліпої кишки. Для вивчення товстої кишки в деяких випадках проводилося анатомічне препарування, яке полягало у відсіченні тих органів або окремих утворів, які ускладнюють розгляд вивчаемого об'єкта. У плані доцільності, дані маніпуляції будуть відзначені при описі результатів дослідження.

Всі вимірювання тонкої і товстої кишки проводили в їх розправленому вигляді на листі ламінованого міліметрового паперу з уточненням за допомогою металевої лінійки та електронного штангенциркуля «Miol» ШЦЦ-I.

Враховуючи, що тонка і ободова кишка є трубчастими утворами, для обчислення площі їх стінок цілком застосовні розрахунки, використовувані в математиці для визначення площі бічної поверхні циліндричних фігур, для чого необхідно знати тільки розмір діаметра цієї фігури, її висоту або довжину, що в принципі не складно виміряти на виділених і розпрямлених препаратах тонкої і ободової кишки білих щурів. Маючи в своєму розпорядженні ці дані, неважко було визначити загальну площу стінок кишок за формулою 1, яка використовується в математиці при обчисленні площі бічної поверхні циліндричних фігур:

(1)

$$S = 2\pi RL = \pi DL,$$

де S – площа, π – число пі (3.1415), R – зовнішній радіус кишки, D – зовнішній діаметр, L – подовжня довжина кишки [16, 17].

Отримані експериментальні дані оброблені на персональному комп'ютері пакетом прикладної і статистичної програми Statistica 13 та Microsoft Excel 2016 [18, 19]. Відмінність вважали достовірною, коли достовірність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ($p < 0,05$).

Результати дослідження. Як відомо, початком тонкої кишки є пілорична заслінка – кільцева складка слизової оболонки, що містить у своїй основі відповідної форми м'язовий сфінктер, який у білих щурів чітко виражений у вигляді різкого звуження каналу. Протилежним (дистальним) своїм кінцем тонка кишка в білих щурів, як і в інших ссавців, відкривається в ділянці ілеоцекального кута в товсту кишку на межі між сліпою кишкою і висхідною частиною ободової кишки [20]. Зазначимо, що пряма дистанція між цими двома пунктами (пілоричним сфінктером й ілеоцекальним кутом) зовсім невелика – приблизно 35,0-40,0 мм, тоді як загальна довжина тонкої кишки в деяких особин білих щурів досягає одного метра при товщині близько 3,0 мм (табл. 1).

За вказаної вище великої невідповідності між проксимально-дистально відстанню тонкої кишки білих щурів і її довжиною, уся вона поміщається в обмеженому просторі черевної порожнини за рахунок петлеподібного укладання, певна впорядкованість якого забезпечується за допомогою її брижі, фіксованої коренем до задньої стінки живота. При цьому загальна конфігурація петель тонкої кишки, які тісно прилягають одна до одної, в кожному індивідуальному випадку після вивісекції представлена неоднаковою за рахунок, найімовірніше, їхньої перистальтичної рухомості. Проте не можна відкидати й індивідуальну мінливість їхньої форми, що може залежати, своєю чер-

гою, від індивідуальної варіативної загальної довжини тонкої кишки (табл. 1), яка згідно з отриманими даними не має прямої кореляції з масою

тіла тварин.

Таблиця 1

Метричні параметри тонкої кишки білих щурів (n=60), M±m

№ з/п	Функціональний стан					
	Після ранкового годування n=30			Після добового голодування n=30		
	D (діаметр), мм	L (подовжня довжина), мм	S (площа), мм ²	D (діаметр), мм	L (подовжня довжина), мм	S (площа), мм ²
M±m	4,2±0,2	998,6±9,0	13127,0±644,3	4,2±0,2	1004,6±9,0	13313,3±638,3
Min	3,0	920,0	8666,4	3,0	902,0	8496,8
Max	6,0	1100,0	20724,0	6,0	1092,0	20573,3
Різниця між групами (p < 0,05)*				t, X		

Примітка. S – площа, D – діаметр, L – подовжня довжина, M – середнє значення, m – помилка середнього значення, Min – мінімальне значення, Max – максимальне значення; t – t-критерій Стюдента для незалежних вибірок, X – немає статистично значимих відмінностей між двома вибірками.

У звичайному стані, тобто у фізіологічній нормі, тонка кишка є дуже нерівномірною за товщиною трубкою, що складається зі звужень і розширень із перемінною довжиною різної вираженості, які відображають перистальтичне переміщення нею харчового вмісту. При цьому така картина повністю залежить від функціонального стану травної системи тварин. Наприклад, у них після добового голодування нерівномірність тонкої кишки виражена більшою мірою, ніж одразу після ранкового годування, причому у тварин, які голодували напередодні вівісекції, в розширених ділянках тонкої кишки різної форми і товщини містяться харчові порції, які, виділяючись темно-коричневим забарвленням, виразно контрастують із її порожніми ділянками (рис. 1).

У зв'язку з цим слід зазначити, що в дистальному напрямку, тобто з наближенням до клубово-сліпокишкового відділу, відбувається поступова концентрація харчового вмісту, унаслідок чого окремі його порції поступово перетворюються на відносно рівномірну за протяжністю масу.

Тому завдання було передусім отримати основні метричні дані про тонку і товсту кишку використовуючи математичну формулу представлену у матеріалах і методах дослідження. Отже для визначення площі стінки кишки отримане значення діаметра множимо на фактичну довжину тонкої кишки, яка виміряна по довготі відстані від пілоричного звуження до її впадання в сліпу кишку. У той же час за таким же алгоритмом виконано планіметричні обчислення і ободової кишки, довжину якої вимірювали в її розпрямленому вигляді від сліпої кишки до переходу в пряму. На підставі міркувань, що довжина і діаметр цих відділів шлунково-кишкового тракту експериментальних тварин можуть залежати від травного циклу, ці вимірювання виконано на двох їх вибірках, одна з яких напередодні вівісекції перебувала в режимі добового голодування, а іншу було відібрано відразу після ранкового звичайного раціону годування. Усі отримані метричні дані представлено в цифрових матрицях відповідних зведених таблиць (табл. 1, 2).

У процесі їх аналізу передусім привертає увагу те, що основні метричні параметри тонкої кишки тварин обох вибірок істотно не відрізняються між собою, знаходячись у межах статистичної погрішності, що цілком залежить від варіаційного розкиду кількісних показників (табл. 1). Так, за середньостатистичним значенням, діаметр тонкої кишки обох вибірок тварин фактично од-

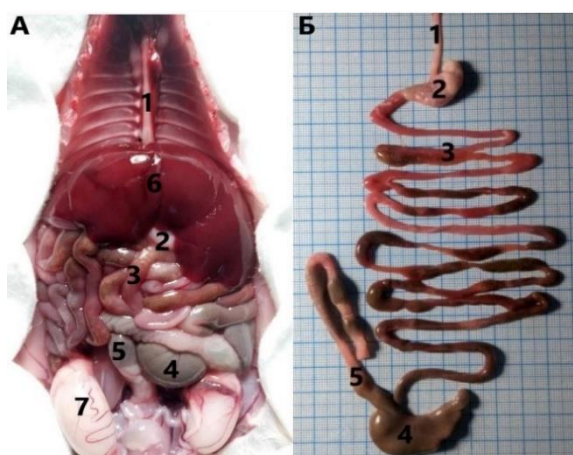


Рис. 1. Оглядовий знімок внутрішніх органів черевної порожнини (А) та тотальний препарат шлунково-кишкового тракту білих щурів (Б) після добового голодування. 1 – стравохід; 2 – шлунок; 3 – петлі тонкої кишки; 4 – сліпа кишка; 5 – ободова кишка; 6 – печінка; 7 – яєчка.

наковий. Істотною різницею між ними не відрізняється і подовжня довжина тонкої кишки. Цілком зрозуміло, що якщо ці початкові метричні показники (діаметр і довжина) тонкої кишки обох вибірок тварин істотно не відрізняються між собою, то і виконане обчислення з них загальної площі її стінки виявиться рівнозначним у межах індивідуальної варіативної.

При проведенні вимірювань такого непостійного за морфологічним станом відділу травного тракту, як тонка кишка, погрішності в результатах завжди неминучі, що цілком залежить від його функціонального стану напередодні вівісекції тварин, а також від їхнього індивідуального статусу і маси. У своїх дослідженнях останній чинник ми прагнули звести до мінімуму шляхом відбору тварин приблизно однакової маси (близько $200,0 \pm 20,0$ г). Крім того, для розширення повноти уявлень про морфофізіологічну специфіку травної системи білих щурів було сформовано дві вибірки тварин, особини однієї з яких були позбавлені вечірнього годування.

Так, у тварин після добового голодування сліпа кишка виглядає помітно розширеною, а тонка кишка – має, як було зазначено вище, нерівномірні за довжиною чергування здуття, що містять різної величини порції харчового хімусу, відокремлені одне від одного різними за вираженістю звуженнями. При цьому розмірна частота цього здуття підвищується в дистальному напрямку, тобто – до сліпої кишки (рис. 1). Зовсім протилежна картина наявна у тварин, евтаназію яких проводили відразу після ранкового годування. У них сліпа кишка була у зморщеному стані, тоді як тонка кишка відрізнялася в основному рівномірною товщиною. Звичайно, вимірюючи діаметр тонкої кишки у тварин після голодування довелося вдаватися до обчислення її середньої товщини по вимірах у ділянці кількох потовщень і звужень, унаслідок чого, як видно за відповідними цифро-

вими даними зведених таблиць, її метричні параметри у двох групах тварин однакові за незмінної в межах індивідуальної варіативної подовжньої довжини.

Питання про особливості форми і топографії товстої кишки в білих щурів заслуговує окремого розгляду. Аби розібратися в цьому, необхідно було вдаватися до традиційного принципу анатомічного препарування, який полягає у видаленні всього того, що заважає бачити потрібний утвір. Керуючись цим, довелося вибірково видалити петлі тонкої кишки, зберігши в звичайному положенні шлунок із дванадцятипалою кишкою і всю товсту кишку, як це показано на рисунку 2.



Рис. 2. Органи черевної порожнини щура, які залишилися після видалення петель тонкої кишки. 1 – шлунок; 2 – дванадцятипала кишка; 3 – сліпа кишка; 4 – ободова кишка.

Для повноти інформації про метричні параметри кишкового тракту білих щурів виконали за тим же алгоритмом аналіз і ободового відділу товстої кишки, який найбільше підходить для математичної обробки даних (табл. 2).

Таблиця 2

Метричні параметри ободової кишки білих щурів ($n=60$), $M \pm m$

№ з/п	Функціональний стан					
	Після ранкового годування $n=30$			Після добового голодування $n=30$		
	D (діаметр), мм	L (подовжня довжина), мм	S (площа), мм ²	D (діаметр), мм	L (подовжня довжина), мм	S (площа), мм ²
$M \pm m$	$5,8 \pm 0,1$	$140,5 \pm 1,0$	$2576,2 \pm 65,7$	$6 \pm 0,2$	$143,5 \pm 1,2$	$2712,4 \pm 89,9$
Min	5,0	130,0	2041,0	5,0	134,0	2103,8
Max	7,0	151,0	3319,0	8,0	158,0	3969,0
Різниця між групами ($p < 0,05$)*				t, X		

Примітка. S – площа, D – діаметр, L – подовжня довжина, M – середнє значення, m – помилка середнього значення, Min – мінімальне значення, Max – максимальне значення; t – t-критерій Стюдента для незалежних вибірок, X – немає статистично значимих відмінностей між двома вибірками.

Так, за середньостатистичним значенням, діаметр ободової кишки обох вибірок тварин фактично однаковий. Дещо відрізняється подовжня довжина ободової кишки, яка індивідуально варіативна. Виконане обчислення загальної площі її стінки виявилось теж з незначним переважанням у вибірці після добового голодування.

Підсумок

Розглядаючи тонку і ободову кишку як трубочасті утвори, для метричного аналізу якого застосовано формули обчислення поверхні циліндричних фігур, на підставі вимірювання їх діаметра і довжини отримали шукані метричні дані про площу їх стінок. Тонка кишка в білих щурів у процесі транзитивного переміщення харчового хімусу з шлунка в сліпу кишку піддається тільки рівномірній ізометричній деформації за збереження своїх базисних розмірних параметрів.

Установлено, що середньостатистичне значення діаметра тонкої кишки – $4,2 \pm 0,2$ мм, ($p < 0,05$). При цьому середньостатистичне значення подовжньої довжини – $998,6 \pm 9,0$ мм та $1004,6 \pm 9,0$ мм ($p < 0,05$). Загальна площа її стінки лежить в інтервалі середньостатистичного значення – $13127,0 \pm 644,3$ мм² та $13313,3 \pm 638,3$ мм² ($p < 0,05$) для першої і другої вибірки відповідно.

Середньостатистичне значення діаметра ободової кишки – $5,8 \pm 0,1$ мм та $6,0 \pm 0,2$ мм ($p < 0,05$), подовжня довжина ободової кишки в межах середньостатистичного значення $140,5 \pm 1,0$ мм та

$143,5 \pm 1,2$ мм ($p < 0,05$), загальна площа знаходиться в межах середньостатистичного значення – $2576,2 \pm 65,7$ мм² та $2712,4 \pm 89,9$ мм² ($p < 0,05$) для першої і другої вибірки відповідно.

Отримані результати згідно з якими основні метричні параметри як тонкої так і товстої кишки (їх діаметр, подовжня довжина і загальна площа стінки) у тварин після добового голодування дещо перевищують такі у тварин, які отримали напередодні вівісекції корм. Це можна пояснити тим, що в голодуючих тварин у переважній більшості в дистальних відділах кишечнику виявляються гранульовані калові маси.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується детальне вивчення морфометричної характеристики та морфологічної будови тонкої і товстої кишки при впливі зовнішніх чинників.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональне вивчення внутрішніх органів людини та лабораторних тварин в різних аспектах експериментальної медицини» (номер державної реєстрації 0121U108258).

Літературні джерела References

1. Shevchenko KV, Yeroshenko GA, Yakushko OS. Morphometric description of the exchange segment of microvasculature of rats' salivary glands in normal conditions and chronic ethanol intoxication. *Wiadomości Lekarskie*. 2019;72(3):323–326.
2. Hryn VH, Kostylenko YuP, Yushchenko YuP. [General comparative anatomy of human and white rat digestive systems: a bibliographic analysis]. *Anatomia porównawcza układu trawiennego człowieka i białego szczura. Analiza piśmiennictwa*. *Wiadomości Lekarskie*. 2018;LXXI(8):1599–1602. Polish.
3. Hryn VH, Kostylenko YuP, Yushchenko YuP. [Comparative histological structure of the gastrointestinal mucosa in human and white rat: a bibliographic analysis]. *Porównanie histologicznej struktury błony śluzowej przewodu pokarmowego człowieka i białego szczura: analiza bibliograficzna*. *Wiadomości Lekarskie*. 2018;LXXI(7):1398–1403. Polish.
4. Shepitko KV, Shepitko VI. Morphometric characteristic of rat small intestine wall in administration of cryopreserved placenta and aseptic inflammation of peritoneum. *Bulletin of problems of biology and medicine*. 2016;2:380–385.
5. Nagwa E. Effect of High Fat Diet on the Structure of the Ileum of Adult Female Albino Rat and The Role of Concomitant L-arginine Treatment. *Light and Scanning Electron Microscopic Study*. *Egyptian Journal of Anatomy*. 2016;39(2):1–17.
6. Akimov OY, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *Ukr Biochem J*. 2016;88(6):70–5. DOI: 10.15407/ubj88.06.070
7. Herbert F Helander & Lars Fändriks. Surface area of the digestive tract – revisited. *Scand J Gastroenterol*. 2014;49(6):681–9. DOI: 10.3109/00365521.2014.898326.
8. Pronina OM, Bilash SM, Kobeniak MM. Morphometric features of the structural components of the hemomicrocirculatory bed in the perivulnar region of the caecum in wound defect sutured with polyfilament suture material. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;LXXIV(6). 1382–1388. DOI: 10.36740/WLek202106118.
9. Nakaz Ministerstva osvity i nauky, molodi ta sportu Ukrainy № 249 vid 01.03.2012 r. [Order of the Ministry of Education and Science, Youth and Sports of Ukraine No. 249 dated 01.03.2012].

Ofitsiynyy visnyk Ukrainy. 06.04.2012;24:82. Ukrainian.

10. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes. 2010;276:0033:0079.

11. Nakatsu N, Igarashi Y, Aoshi T, Hamaguchi I, Saito M, Mizukami T, et al. Isoflurane is a suitable alternative to ether for anesthetizing rats prior to euthanasia for gene expression analysis. The Journal of toxicological sciences. 2017;42(4):491-7. DOI: 10.2131/jts.42.491.

12. Flecknell P. Chapter 1 - Basic Principles of Anaesthesia. In: Flecknell P, editor. Laboratory Animal Anaesthesia (Fourth Edition). Boston: Academic Press, 2016:1-75.

13. Hal'chyns'ka OK. Veterynarna farmakologiya: navchal'nyy posibnyk. Kyiv: Ahrarna osvita, 2013. 525 p. Ukrainian.

14. Patent 142955 Ukraine, МПК (2020.01) A61D 3/00 A61B 50/15 (2016.01). Operatsiynopreparuvanny stolik z fiksatoramy dlya laboratornykh shchuriv [Operating and preparation table with fixators for laboratory rats] / Hryn' VH, Brovarnyk YaO. (UA); zayavnik i vlasnik patentu UMSA (UA). № u201911032; zayavl 08.11.2019 ; opubl 10.17.2020. Byul № 13/2020. Ukrainian.

15. Patent 147218 Ukraine, МПК (2021.01) G09B 23/28 (2006.01) A61D 1/00. Sposib preparuvannya total'noho orhanokompleksu shlunkovo-

kyshkovoho traktu u bilykh shchuriv [Preparation method of the total organocomplex of the white rats' gastrointestinal tract] / Hryn VH., Kostylenko YuP., Sherstyuk OO., Svintsyts'ka NL. (UA); zayavnik i vlasnik patentu UMSA (UA). № u202007050; zayavl 03.11.2020 ; opubl 22.04.2021. Byul № 16/2021. Ukrainian.

16. Ister OS. Samostiyni ta tematychni kontrol'ni roboty z alhebyr ta heometriyi. Ternopil': Navchal'na knyha-Bohdan; 2019. 64 p. Ukrainian.

17. Kaplun O. Matematyka. Formuly, ponyattya, vyznachennya. Kharkiv: Vydavnytstvo ULA; 2014. 192 p. Ukrainian.

18. Fetisov VS. Paket statystychnoho analizu danykh STATISTICA : navch. posib. Nizhyn : NDU im. M. Hoholya; 2018. 114 p. Ukrainian.

19. Tanavalee C, Luksanaprukha P, Singhat-anadgige W. Limitations of Using Microsoft Excel Version 2016 (MS Excel 2016) for Statistical Analysis for Medical Research. Clinical spine surgery. 2016;29(5):203-4. DOI: 10.1097/BSD.0000000000000382.

20. Hryn VH. Makro-mikroskopicheskiye osobennosti rel'yefa slizistoy obolochki zheludochno-kishechnogo trakta belykh kryss. [Macro-microscopic features of the relief of the mucous membrane of the gastrointestinal tract of white rats]. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2019;70(4):188-93. DOI: 10.26724/2079-8334-2019-4-70-188-193. Russian.

Гринь В.Г., Білаш В.П., Свінцицька Н.Л., Устенко Р.Л., Сербін С.І., Каценко А.Л., Пілюгін А.В.
Основні морфометричні параметри тонкої та товстої кишки при різних функціональних станах у щурів.

РЕФЕРАТ. Метою нашого дослідження було вивчення основних морфометричних параметрів тонкої та товстої кишки при різних функціональних станах у щурів. **Методи.** Матеріалом для дослідження слугували 60 білих щурів репродуктивного віку, масою $200,0 \pm 20,0$ г, одна половина ($n=30$) з яких до вивісекції знаходилася в режимі добового голодування, а евтаназію інших ($n=30$) проводили відразу після ранкового годування. Спочатку після евтаназії шляхом передозування ефірного наркозу у всіх тварин по черзі проводився розтин та видалення передньої черевної стінки живота, з подальшим тотальним оглядом внутрішніх органів у їх звичайному положенні. Після фотодокументації внутрішніх органів приступали до вилучення з черевної порожнини тотального органокomплексу шлунково-кишкового тракту. **Результати та підсумок.** Пряма дистанція між пілоричним сфінктером й ілеоцекальним кутом зовсім невелика – приблизно 35,0-40,0 мм, тоді як загальна довжина тонкої кишки в деяких особин білих щурів досягає одного метра при товщині близько 3,0 мм. Загальна конфігурація петель тонкої кишки, які тісно прилягають одна до одної, в кожному індивідуальному випадку після вивісекції представлена неоднаковою за рахунок, найімовірніше, їхньої перистальтичної рухомості. Проте не можна відкидати й індивідуальну мінливість їхньої форми, що може залежати, своєю чергою, від індивідуальної варіативної загальної довжини тонкої кишки. У зв'язку з цим слід зазначити, що в дистальному напрямку, тобто з наближенням до клубово-сліпокишкового відділу, відбувається поступова концентрація харчового вмісту, унаслідок чого окремі його порції поступово перетворюються на відносно рівномірну за протяжністю масу. Завдання нашого дослідження було передусім отримати основні метричні дані про тонку і товсту кишку використовуючи математичну формулу представлену у матеріалах і методах дослідження.

Ключові слова: шлунково-кишковий тракт, тонка кишка, товста кишка, білі щури, функціональний стан.

Д.В. Кулеш
Р.А. Рожнова
В.Д. Денисенко
В.П. Гриценко
Л.Ф. Наражайко
Н.А. Галатенко

Інститут хімії високомолеку-
лярних сполук НАН України
Київ, Україна

Надійшла: 14.04.2024

Прийнята: 25.05.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.44-54>

УДК 57.089.67, 616-089.843, 678.664

ВИВЧЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ ТА БІОСУМІСНОСТІ ІЗОЦІАНУРАТВМІ- СНИХ ПІНОПОЛІУРЕТАНСЕЧОВИН НАПОВНЕНИХ ДАКАРБАЗИНОМ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ

Kuliesh D.V. , Rozhnova R.A. , Denisenko V.D. , Hrytsenko V.P. , Narazhaiko L.F. , Galatenko N.A.  Study of cytotoxicity and biocompatibility of isocyanurat-containing polyurethane foam filled with dacarbazine for application in medicine.

Institute of macromolecular chemistry of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. The development of new and modification of existing polymer materials in order to obtain implants with improved functional capabilities that can perform the function of carriers of biologically active substances and drugs is an urgent task. **Objective.** Study of the biocompatibility of isocyanurate-containing polyurethane foam filled with dacarbazine by medical and biological methods. **Methods.** The study of cytotoxicity and biocompatibility of isocyanurate-containing polyurethane foams filled with dacarbazine was carried out using the rat fibroblast culture method *in vitro* and using the implantation test *in vivo*. **Results.** According to the results of research conducted using the rat fibroblast culture method, it was established that the culture of fibroblasts, both in the control and in the study of composite materials with different percentages of dacarbazine, was in the stage of stable growth, which indicated the absence of a cytotoxic effect of the experimental samples on the cultured cells. Using the implantation test, biocompatibility and the development of cellular reactions to the implantation of composite materials based on isocyanurate-containing polyurethane foam with dacarbazine in the body of experimental animals were studied. It was shown that the cellular reactions of the tissues of experimental animals to the implantation of test samples of isocyanurate-containing polyurethane foams of various compositions were typical for the reaction of a living organism to the presence of a foreign body during subcutaneous implantation and did not lead to pathological processes in the surrounding tissues, and the porous structure promoted the migration of cellular elements into the deeply implanted samples. **Conclusion.** According to the results of medical and biological studies, it is shown that isocyanurate-containing polyurethane foams with dacarbazine do not have a pronounced cytotoxic effect, are biocompatible and promising materials for use in medicine and are recommended for further tests, including clinical ones.

Key words: isocyanurate-containing polyurethane foam, dacarbazine, culture of rat fibroblasts, implantation, biocompatibility.

Citation:

Kuliesh DV, Rozhnova RA, Denisenko VD, Hrytsenko VP, Narazhaiko LF, Galatenko NA. [Study of cytotoxicity and biocompatibility of isocyanurat-containing polyurethane foam filled with dacarbazine for application in medicine]. Morphologia. 2024;18(2):44-54. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.44-54>

 Kuliesh D.V. 0000-0002-0484-7853;  Rozhnova R.A. 0000-0003-3284-3435;
 Denisenko V.D. 0000-0003-3675-769X;  Hrytsenko V.P. 0000-0002-6001-5365;
 Narazhaiko L.F. 0000-0001-7031-9998;  Galatenko N.A. 0000-0002-5961-5750
✉ d_kulesh@ukr.net

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

На сьогоднішній день в Україні проводиться велика кількість офтальмологічних операцій на

окулоорбітальній ділянці через збільшення кількості травм внаслідок бойових уражень, техноген-

них катастроф, кримінальних травм, внутрішньочного раку та інших захворювань [1, 2, 3]. У разі серйозних окулоорбітальних травм та при важких онкологічних захворюваннях ока хірурги проводять видалення пошкодженого ока пацієнта, встановлюючи орбітальний імплантат в анофтальмологічний ямці з метою створення об'ємної та високо рухливої опорно-рухової кукси (ОРК) для подальшого очного протезування [4]. За останні декілька десятиліть дизайн орбітальних імплантатів і критерії вибору матеріалів, з яких вони виготовлені, прогресували від базових непористих полімерних сфер до пристроїв зі складнішими формами та функціями для забезпечення покращених довгострокових клінічних результатів [5]. Основними недоліками більшості орбітальних імплантатів є небезпека їх міграції, розвиток інфекції після хірургічного втручання та погана рухливість, перенесена на косметичний очний протез. Ефективними імплантаційними матеріалами зарекомендували себе керамічні та полімерні пористі імплантати [6], що застосовуються як пасивний каркас для фіброваскулярного вrostання. Такі імплантати мають комплекс визначених фізико-механічних показників, характеризуються високим ступенем біосумісності, що, в кінцевому результаті, приводить до якісного косметичного результату та рухливості ока.

Актуальною задачею є розробка нових та модифікація існуючих полімерних матеріалів з метою одержання імплантатів з покращеними функціональними можливостями, що можуть виконувати функцію носіїв біологічно активних речовин та лікарських препаратів [7], що дозволить досягти максимальної можливої та таргетованої біологічної дії (антибактеріальної, протизапальної, цитостатичної тощо) в місці застосування імплантату.

Перспективними матеріалами в цій області досліджень можуть бути поліуретани [8] та пінополіуретансечовини (ППУС) [9-13], які завдяки своїй біосумісності та експлуатаційним характеристикам є придатними для іммобілізації протипухлинних лікарських препаратів, зокрема дакарбазину (ДАК), який відноситься до алкілюючих цитостатичних засобів триазенової структури, механізм дії яких зумовлений здатністю основного метаболіту – діазометану утворювати ковалентні алкільні зв'язки з молекулами, що містять електронні центри, як наприклад, SH-групи. Оскільки препарат є структурним аналогом пуринових основ, він діє як антиметаболіт, пригнічуючи синтез ДНК у клітинах пухлин.

Важливим та завершальним етапом розробки біологічно активних полімерних матеріалів як імплантатів є дослідження їх біосумісності з використанням медико-біологічних методів випробування, одними з яких є метод культури фібробластів щурів, що дозволяє визначити

рівень цитотоксичності композицій та метод імплантаційного тесту, що дозволяє оцінити місцеві патологічні ефекти на структуру та функції тканин експериментальних тварин, викликані матеріалом при його імплантації. За результатами медико-біологічного оцінювання можуть бути надані рекомендації щодо перспективності застосування отриманих композицій в клінічних випробуваннях та їх подальшого впровадження в медичну практику.

Метою даної роботи було дослідження біосумісності ізоціануратвмісних пінополіуретансечовин наповнених дакарбазином медико-біологічними методами – методом культури фібробластів щурів в умовах *in vitro* та за допомогою імплантаційного тесту в умовах *in vivo*.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були ізоціануратвмісні пінополіуретансечовинні композиції з ДАК, синтезовані на основі поліоксипропіленгліколю та 2,4,6-триізоціанат-(трисгексаметилен)ізоціанурату (Tolonate HDT-LV, ТІЦУ) як описано в роботі [14]. Іммобілізацію ДАК здійснювали шляхом його розчинення в дистильованій воді з наступним веденням отриманого розчину у форполімер та інтенсивним перемішуванням. Спінювання і тужавіння отриманих композицій відбувалося в термошафі за температури 25°C. Одержані таким чином композиції являли собою еластичні дрібнопористі губки білого кольору та характеризувалися пролонгованим вивільнення лікарської речовини – ДАК з можливістю регулювання часу та кількості вивільненої лікарської речовини [14]. Вміст лікарської речовини ДАК в композиції складав 0,5 та 1 мас. %. Було проведено дослідження композиційних матеріалів такого складу: №1 – ППУС на ТІЦУ; №2 – ППУС на ТІЦУ + ДАК 0,5 мас. %; №3 – ППУС на ТІЦУ + ДАК 1 мас. %.

Метод культури фібробластів. При дослідженні цитотоксичності зразків полімерних композицій з ДАК був використаний метод культури фібробластів щурів, що дає змогу оцінити цитотоксичність полімерних матеріалів медичного призначення *in vitro* [15, 16]. Метод заснований на культивуванні в стандартних умовах підшкірної клітковини білих щурів лінії Wistar, що дає в умовах культивування ріст фібробластичних елементів.

Культуру клітин фібробластів щурів одержували шляхом експлантації шматочків підшкірно-жирової клітковини, які поміщали у флакони Карреля з живильною сумішшю, що складалася з твердої та рідкої фаз. Тверда фаза: плазма крові півня, екстракт курячого ембріону (отримували в умовах лабораторного експерименту). Рідка фаза: середовище 199 (ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», Україна), сироватка крові великої рогатої худоби (ТОВ «НДП «Ветеринарна ме-

дицина», Україна). Джерело росту фібробластичних елементів – культивована тканина (підшкірна клітковина білих щурів).

Підготовка культур клітин для експлантації. Вид тварин: білі щури породи Wistar будь-якої статі вагою 130-150 г. Групи експерименту: контрольна (культивовані тканини) і дослідна (на 3-ю добу культивування вносили зразки композицій з розрахунку 100 мг виробу на 1 мл рідкої фази). В кожній групі було по 3 експлантації.

Умови експлантації. Тварин виводили з експерименту ефірним наркозом. В стерильних умовах з задньої половини спинної частини тулуба виділяли фрагменти підшкірної клітковини розміром 1 x 1 см. Шматочки клітковини поміщали в фізіологічний розчин з доданням стрептоміцину (фарм.) з розрахунку на 10 см³ розчину 25 мл препарату. Після цього промивали потрійною порцією фізіологічного розчину без антибіотику. Вихідні шматочки клітковини розділяли на окремі експлантати шириною не більше 1,0-1,5 мм. Експлантат переносили в однакові за розмірами флакони Карреля з живильною сумішшю, що складалася з плазми півня і середовища 199. На дно кожного флакона рівномірно поміщали по 4-5 експлантатів. Додавали ембріональний екстракт, приготовлений з 10 добових курячих ембріонів. Після формування твердої фази в флакони вносили суміш сироватки великої рогатої худоби і середовища 199. Співвідношення інгредієнтів в живильному середовищі складало: середовище 199 – 50%, екстракт курячих ембріонів – 10%, плазма крові півня – 20%, сироватки великої рогатої худоби – 20% (для флаконів висотою 1 см, діаметр 3,5 см). Культуру інкубували за температури 37°C, рідку фазу замінювали кожні 3 доби. На 3-тю добу спостерігали за міграцією клітинних елементів. За умов міграції клітинних елементів в дослідні проби вносили випробний зразок з розрахунку 100 мг на 1 мл рідкого середовища. На 3, 7, 10 та 14 добу проводили спостереження за ростом компактної, сіткоподібної зони і зони мігруючих фібробластичних елементів, використовуючи мікроскоп Carl Zeiss Primo Star при збільшенні $\times 160$. Мікрофотозйомка проводилася за допомогою фотоапарату Canon PowerShot A640 з адаптером Soligor Adapter Tube for Canon A610/A620 52 mm Tele. Критерієм для виділення цих зон був характер розташування зростаючих фібробластичних елементів.

Проводили якісний аналіз зон росту з описом характеру росту клітинних елементів. До компактної зони відносили ділянки щільного розташування клітин, що ростуть, до сіткоподібної зони – ділянки розташування клітинних тяжів, що анастомозуються і галузяться. По вершинах ізольованих клітинних тяжів, що врастають в тверду фазу живильного середовища до місця розташування ізольовано лежачих клітин визначали зону мігруючих елементів.

Гістологічні методи дослідження. Вивчення клітинних реакцій м'яких тканин на імплантацію розроблених композиційних матеріалів та оцінку їх біосумісності проводили за допомогою імплантаційного тесту в організмі лабораторних щурів лінії Wistar. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводилися під наркозом, а також з дотриманням принципів принципів Хельсінкської декларації, прийнятої Генеральною Асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000), згідно з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших навчальних цілях» [17].

Модельні операції на лабораторних тваринах виконувалися в асептичних умовах. Після обробки операційного поля полімерні зразки складу ППУС на ТІЦУ без ДАК, ППУС на ТІЦУ з 0,5 мас. % ДАК та ППУС на ТІЦУ з 1 мас. % ДАК розміром 10x5x5 мм поміщалися субкутально в область міжлопаточного простору без додаткової фіксації, для виключення впливу шовного матеріалу на рановий процес. Така область характеризується малою рухливістю і недоступністю для самої тварини, що зводить до мінімуму ризик її втручання в експериментальний процес. Тварин виводили з експерименту на 7, 14, 30 та 90 добу після операції шляхом передозування хлороформом. Дослідний матеріал (полімерний зразок з оточуючою сполучною тканиною) фіксували в 10% розчині формаліну та заливали в парафін після проведеної гістологічної обробки за стандартною методикою [18, 19]. Парафінові зрізи, виготовлені за допомогою мікротому, товщиною 10-15 мкм, забарвлювали гематоксиліном і еозинном. Оцінка біосумісності імплантованих композиційних матеріалів проводилася шляхом аналізу гістологічних препаратів за допомогою світлової мікроскопії (мікроскоп Carl Zeiss Primo Star) при збільшенні $\times 200$, $\times 400$. Мікрофотозйомка проводилася за допомогою фотоапарату Canon PowerShot A640 з адаптером Soligor Adapter Tube for Canon A610/A620 52 mm Tele. Під час експерименту вивчалися поведінкова реакція тварин, їх зовнішній стан, післяопераційне поле.

Результати та їх обговорення

Дослідження біосумісності ізоціануратвмісних ППУС наповнених ДАК методом культури фібробластів щурів. Для вивчення особливостей динаміки росту та розвитку фібробластичних елементів був застосований метод клітинної культури, що дає змогу швидко та точно оцінити цитотоксичну дію хімічних сполук на клітини – фібробласти щурів, що мають важливе значення у взаємодії полімерний імплантат – сполучна тканина. Відомо, що фібробласти є складовою частиною строми паренхіматозних органів і беруть активну участь у морфогенезі, диференціюванні спеціалізованих клітин і, відповідно, дозволять екстраполювати дані, отримані в культурі фібробластів на дослідження *in*

vivo [15, 16]. На 3 добу після експлантації в контролі, що досліджували без внесення полімерних зразків у середовище культивування, спостерігалися перші ознаки росту, які проявлялися міграцією одиничних клітин витягнутої форми, а також поодинокими мігруючими фібробластичними елементами, що мали веретеноподібну форму (рис. 1, а). На 7 добу зони росту культури розділялися на три: компактну, що складалася з клітин веретеноподібної та полігональної форми, сіткоподібну та зону одиничних мігруючих елементів.

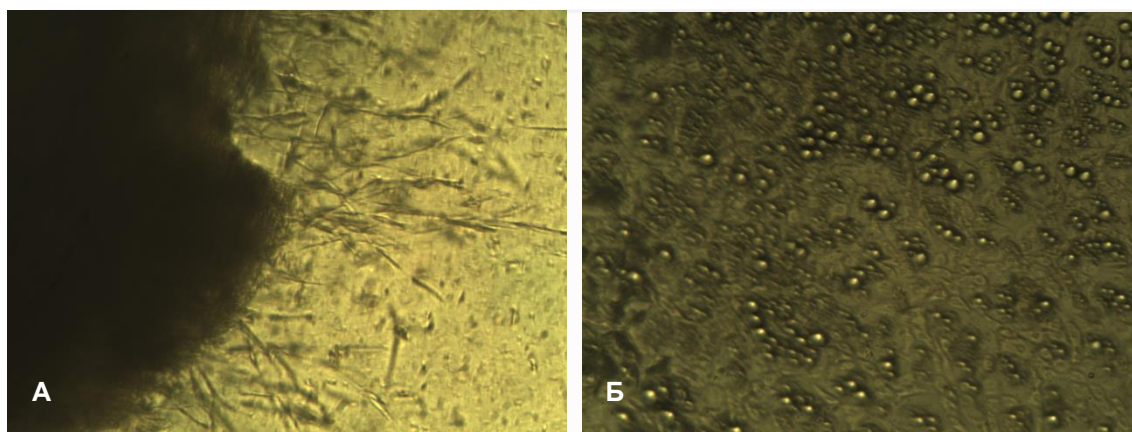


Рис. 1. Ріст культури фібробластів щурів в контролі. а) перші ознаки росту клітин на 3 добу культивування. $\times 160$; б) дегенеративні процеси в клітинах на 14 добу культивування. $\times 160$.

На 3 добу культивування в культурі клітин фібробластів щурів, в яку вносили екстракти з полімерних зразків ППУС на ТЦУ без ДАК, спостерігалася міграція фібробластичних елементів неправильної, полігональної форми (рис. 2).

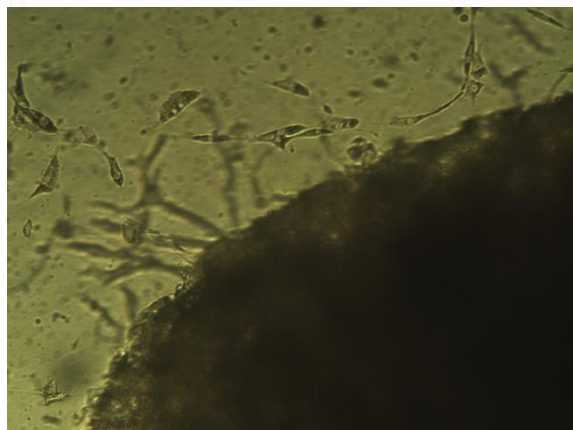


Рис. 2. Початок росту в культурі підшкірно-жирової клітковини щурів при внесенні в середовище зразка ППУС на ТЦУ без ДАК на 3 добу культивування. $\times 160$.

Подальше спостереження за ростом у цих флаконах не показало значних змін у швидкості росту та в структурі клітин в порівнянні з контролем.

Для полімерних зразків ППУС на ТЦУ з 0,5

Найбільша кількість клітин, що ділилися, спостерігалася в зоні одиничних мігруючих елементів. На 10 добу після експлантації відбувалося збільшення зон росту, спостерігався тканиноподібний ріст, а в компактній зоні виявлялися перші ознаки дегенеративних змін фібробластичних елементів. На 14 добу дослідження клітинна популяція клітин вступала в стадію вираженої дегенерації (рис. 1, б).

мас. % ДАК на 3 добу культивування зони росту були представлені фібробластоподібними клітинами більших розмірів неправильної форми в порівнянні з контролем (рис. 3, а). Слід відмітити наявність великої кількості ізолювано лежачих клітин полігональної форми на відстані від експлантата. На 7 добу культивування в дослідних флаконах спостерігалася формування трьох зон росту: компактною, що складалася з клітин веретеноподібної та полігональної форми, сіткоподібної та зони одиничних мігруючих елементів, що мали веретеноподібну та полігональну форму. Зони росту за площею не поступалися контрольним зразкам (рис. 3, б). При цьому характерною була міграція клітинних елементів у пористу структуру полімерного зразка, де спостерігалися клітини веретеноподібної та полігональної форм.

Спостереження за культурами клітин фібробластів щурів зі зразком ППУС на ТЦУ з 1 мас. % ДАК були схожі з розвитком культури фібробластів щурів, які містили зразки ППУС на ТЦУ з 0,5 мас. % ДАК. Слід зазначити, що характерними були клітинні форми від веретеноподібних до полігональних і спостерігалася велика кількість ізолювано лежачих клітин полігональної форми на відстані від експлантата, особливо в зоні одиничних мігруючих елементів (рис. 4, а). В подальшому відмічалася ущільнення клітин в зоні компактного розташування фібробластичних елементів, а зони росту відрізнялися від контролю більшим різноманіттям клітинних форм, більшість з

яких мали полігональну форму з численними відростками. Ріст полігональних клітин також був добре виражений поблизу полімеру (рис. 4, б). На 14 добу культивування клітинна популяція вступала у фазу дегенеративних змін з округленням

тіла клітин, повною втратою міжклітинних контактів, як в дослідних зразках з полімерами, так і в контрольних, що було характерно для даного терміну культивування культури.

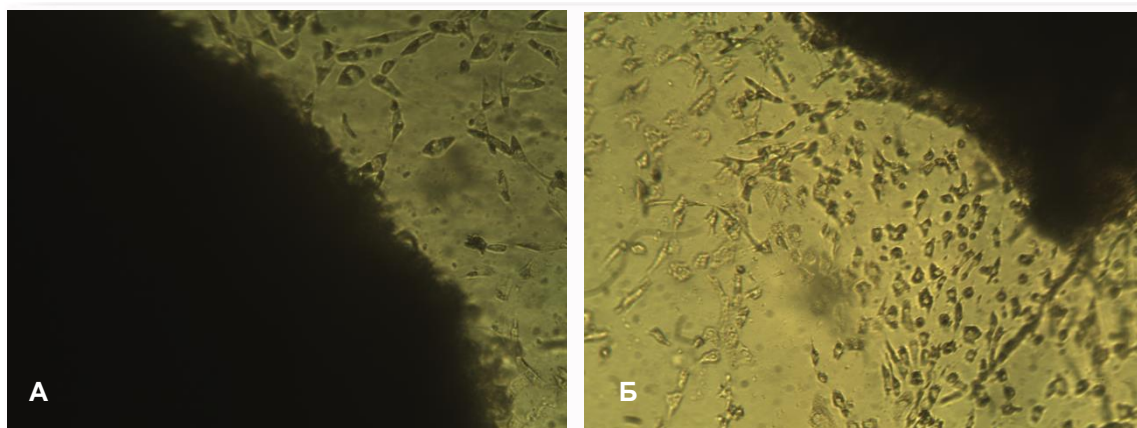


Рис. 3. Ріст культури тканин фібробластів при дослідженні полімерного зразка ППУС на ТІЦУ з 0,5 мас. % ДАК. а) фібробластоподібні клітини неправильних форм на 3 добу культивування. $\times 160$; б) формування зон росту клітин на 7 добу культивування. $\times 160$.

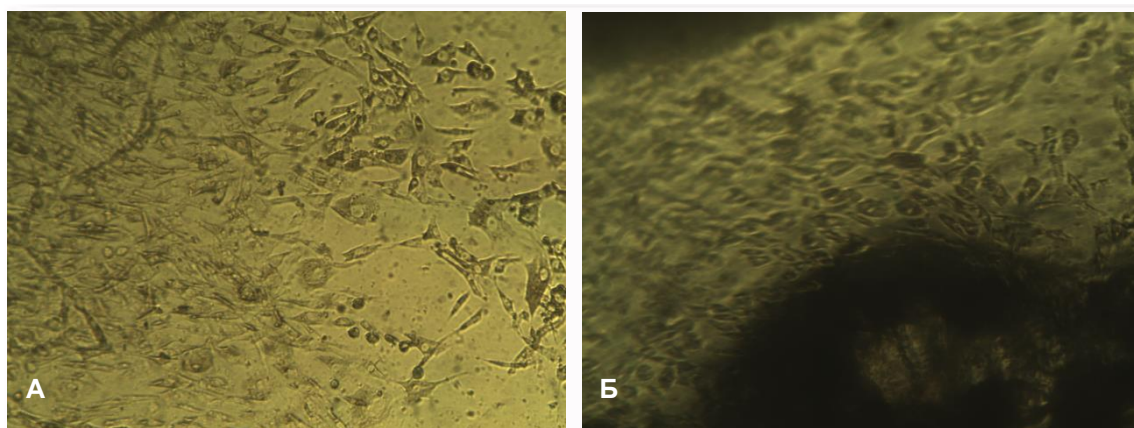


Рис. 4. Ріст культури тканин фібробластів при дослідженні полімерного зразка ППУС на ТІЦУ з 1 мас. % ДАК. а) різноманітність клітинних форм на 7 добу культивування. $\times 160$; б) ріст клітин полігональної форми на 10 добу культивування. $\times 160$.

Таким чином, проведені дослідження свідчать про те, що культура фібробластів шурів, як в контролі, так і при культивуванні полімерних зразків ППУС на ТІЦУ різного складу перебувала в стадії стабільного росту, що свідчить про відсутність цитотоксичного впливу компонентів дослідних зразків на клітини, що культивувались. Однак, в зонах росту при інкубації полімерних зразків ППУС на ТІЦУ з різною концентрацією ДАК спостерігалось збільшення кількості клітин полігональної неправильної форми, ніж в контрольних флаконах.

Дослідження біосумісності ізоціануратвмісних ППУС наповнених ДАК методом імплантаційного тесту

Щоденна візуальна оцінка реакції епітелію на операційному місці показала, що рана загоюва-

лася протягом 3 діб після операції без ознак запальної реакції. За морфологічними ознаками не було виявлено дегенеративних змін, пухлин, ні у короткочасному, ні у віддаленому післяопераційному періоді. Протягом всього часу експерименту всі імплантовані матеріали пальпувалися через шкіру тварин. Імплантація досліджуваних зразків не викликала агресії та змін у поведінці експериментальних тварин. Макроскопічно при заборі матеріалу для досліджень навколо всіх зразків спостерігалось формування сполучнотканинних капсул (СТК) без ознак вираженої запальної реакції. СТК оточували пористі імпланти, надійно фіксуючи їх в місці імплантації та унеможлилювали їх зміщення або міграцію в підшкірному просторі протягом всього терміну експерименту. В місці імплантації дослідних зразків були відсутні морфологічно видимі зміни оточуючих тканин,

некроз, ексудація, нагноєння тощо. Навколо всіх імплантованих зразків виявлялася густа сітка кровоносних судин та спостерігалася збільшення товщини та щільності окремих СТК на більш пізніх термінах дослідження.

Мікроскопічно через 7 діб після операції навколо імплантованих зразків ППУС на ТІЦУ без ДАК спостерігалася формування СТК, клітинний склад якої був представлений поліморфноядерними нейтрофілами, моноцитарно-макрофагальними елементами, молодими формами фібробластів (рис. 5, а). Локально на невеликих ділянках капсули були присутні фібробласти витягнутої веретеноподібної форми, що знаходилися в товщі пучків зрілих колагенових волокон. Кількість кровоносних судин була невеликою, а мікроциркуляторні процеси в них були без ускладнень. На даному терміні дослідження за рахунок наявності пор в структурі імплантованих зразків ППУС на ТІЦУ без ДАК починалася міграція та адгезія клітинних елементів на внутрішніх поверхнях пор. Це слугувало своєрідним каркасом для формування та проростання тяжів сполучної тканини

вглиб імплантованих зразків. Через 14 діб після операції навколо зразків ППУС на ТІЦУ без ДАК спостерігалася збільшення товщини СТК, яка характеризувалася більшим ступенем зрілості, ніж на попередньому терміні дослідження. Основними клітинними елементами капсули були витягнуті веретеноподібні фібробласти, що розташовувалися в товщі пучків зрілих колагенових волокон, та макрофаги, кількість яких істотно збільшувалася в порівнянні з попереднім терміном дослідження. Це могло свідчити про активацію проліферації паралельно з підсиленням фагоцитарного процесу. Крім того, спостерігалися локально виражена круглоклітинна реакція (поліморфноядерних нейтрофілів та лімфоцитів) та молоді форми фібробластичних елементів. На даному терміні характерним було більш глибоке проростання тяжів сполучної тканини вглиб імплантованих зразків (рис. 5, б). Кількість кровоносних судин була невисокою, мікроциркуляторні процеси в них були без порушень.

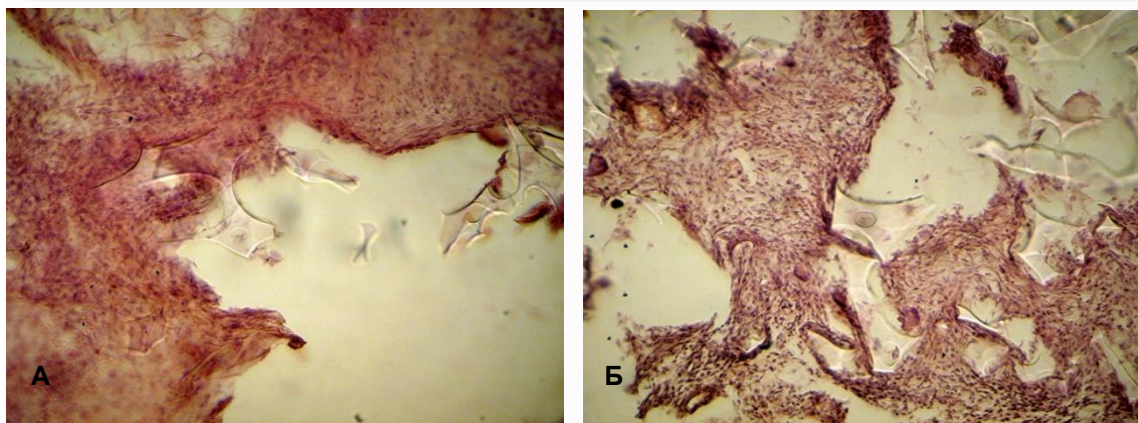


Рис. 5. СТК навколо імплантованих полімерних зразків ППУС на ТІЦУ без ДАК. а) круглоклітинна реакція на 7 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$; б) проростання тяжів сполучної тканини вглиб структури полімеру на 14 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

Через 30 діб після операції навколо зразка ППУС на ТІЦУ без ДАК спостерігалася дозрівання СТК за рахунок активного синтезу фібробластами колагенових волокон та компонентів екстрацелюлярного матриксу. Клітинний склад капсули характеризувався наявністю молодих форм фібробластичних елементів та фібробластами веретеноподібної форми, що знаходилися в товщі пучків зрілих колагенових волокон. подекуди спостерігалася локальна інфільтрація поліморфноядерними нейтрофілами, лімфоцитами, а також макрофагами з високою фагоцитарною активністю. Кількість кровоносних судин була невеликою, всі вони були без видимих порушень трофіки. Через 90 діб після операції навколо імплантованих зразків ППУС на ТІЦУ без ДАК спостерігалася більш повне проростання тяжів сполуч-

ної тканини вглиб імплантованих пористих зразків з утворенням локальних СТК, що мали високий ступінь зрілості та організації по всій своїй протяжності. При цьому не спостерігалася інтенсивних запальних реакцій, що свідчило про високий ступінь біоінтеграції імплантованих зразків з оточуючими тканинами. Капсули складалася з пучків хвилястих колагенових волокон з веретеноподібними фібробластами між ними, при цьому спостерігалася збільшення щільності капсул за рахунок синтетичної активності фібробластів. На окремих ділянках капсул характерними були незначні осередки макрофагів з високою фагоцитарною активністю. На даному терміні дослідження спостерігалася невелика кількість кровоносних судин, окремі з них характеризувалися порушенням мікроциркуляторних процесів в них. Зокрема, в поодиноких судинах було характерним крайове

стояння еритроцитів, а також стаз і тромбоз.

Через 7 діб після операції навколо імплантованих зразків ППУС на ТІЦУ з 0,5 мас. % ДАК спостерігалася відмежування імплантованого матеріалу від оточуючих тканин широким лейкоцитарним валом та більш товстою СТК, ніж навколо імплантованих зразків ППУС на ТІЦУ без ДАК. У складі капсули спостерігалися клітини круглоклітинного ряду, в основному, нейтрофіли та лімфоцити, а також була яскраво виражена моноцитарно-макрофагальна інфільтрація. Поряд були присутні молоді форми фібробластичних елементів, малодиференційовані клітини. На невеликих ділянках капсули характерними були веретеноподібні фібробласти, що лежали в товщі пучків зрілих колагенових волокон. Кровоносні судини були представлені у великій кількості, деякі з них були повнокровні та розширені, окремі судини були з елементами стазу та тромбозу. Через 14 діб після операції навколо імплантованих зразків ППУС на ТІЦУ з 0,5 мас. % ДАК спостерігалася більш тонка та сформована СТК, в порівнянні з капсулою, утвореною навколо цих імплантованих зразків на попередньому терміні дослідження. Внутрішній шар капсули характеризувався наявністю яскраво вираженої круглоклітинної реакції, в основному нейтрофілів та макрофагів, а подекуди і незначної лімфоцитарної інфільтрації. Зовнішній шар капсули складався з пучків зрілих хвилястих колагенових волокон та видовжених веретеноподібних фібробластів між ними (рис. 6, а). Кількість кровоносних судин була помірною, мікроциркуляторні процеси в них були без порушень. При імплантації зразків ППУС на ТІЦУ з 0,5 мас. % ДАК на даному терміні дослідження спостерігалася інтенсивне проростання тяжів сполучної тканини вглиб пористої структури матеріалів. Через 30 діб після операції навколо зраз-

ків ППУС на ТІЦУ з 0,5 мас. % ДАК спостерігалася збільшення інтенсивності запальних клітинних реакцій в пористій структурі імплантованих зразків. Відбувалося різке збільшення кількості нейтрофілів, лімфоцитів та макрофагів. Кількість кровоносних судин суттєво не зростала в порівнянні з попереднім терміном дослідження, а самі судини характеризувалися мікроциркуляторними процесами без патологічних відхилень. Спостерігалися поодинокі судини, просвіт яких був розширений, відмічався стаз та тромбоз таких судин. На даному терміні дослідження спостерігалася активна міграція клітинних елементів в пористу структуру імплантованих зразків та проростання тяжів сполучної тканини вглиб матеріалу з формуванням сполучної тканини різного ступеню зрілості. В цілому, на таких ділянках відкритої пористості спостерігалися клітини круглоклітинного ряду та молоді форми фібробластичних елементів з високою синтетичною активністю. Через 90 діб після операції навколо імплантованих зразків ППУС на ТІЦУ з 0,5 мас. % ДАК характерним було формування СТК досить високого ступеню зрілості. Клітини запального ряду були представлені в незначній кількості, а основними клітинними елементами були фібробласти веретеноподібної форми, що лежали в товщі пучків зрілих колагенових волокон. На окремих ділянках капсули характерними були незначні осередки макрофагів з високою фагоцитарною активністю (рис. 6, б), що може бути пояснено реакцією оточуючих тканин на наявність чужорідного для організму тіла, а також може бути свідченням активної процесу біодеструкції імплантованих зразків. Тяжі сполучної тканини ставали більш розгалуженими та проростали вглиб полімерних зразків. Кількість кровоносних судин була помірною, мікроциркуляторні процеси в них були в нормі.

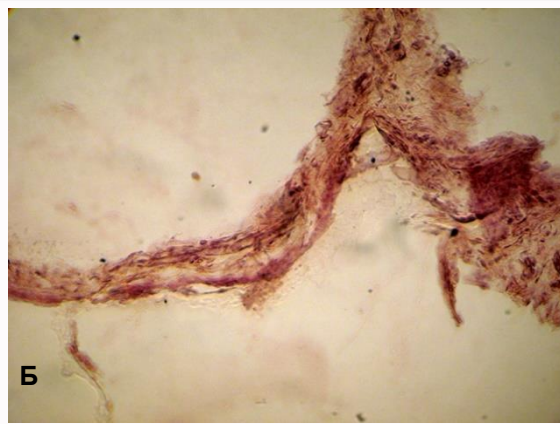
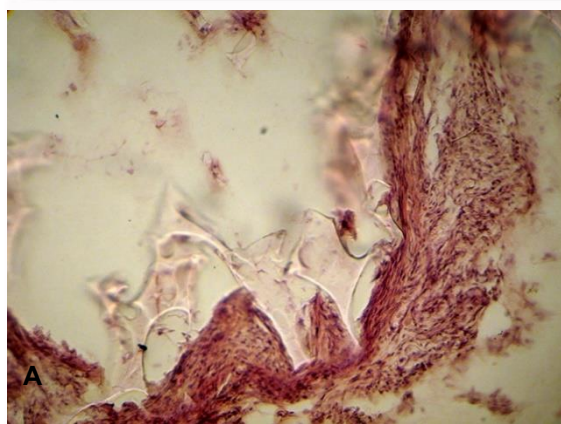


Рис. 6. СТК навколо імплантованих полімерних зразків ППУС на ТІЦУ з 0,5 мас. % ДАК. а) формування колагенових волокон на 14 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$; б) осередки макрофагів з високою фагоцитарною активністю на 90 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

Через 7 діб після імплантації навколо зразків ППУС на ТІЦУ з 1 мас. % ДАК спостерігалася формування досить сформованої СТК, клітинний

склад якої був представлений фібробластами витягнутої веретеноподібної форми, що знаходилися в товщі пучків зрілих колагенових волокон,

що свідчило про активацію проліферативних процесів. На окремих ділянках капсула характеризувалася меншим ступенем зрілості, основними клітинними елементами якої були нейтрофіли, макрофаги, а також молоді форми фібробластичних елементів. Кількість кровоносних судин була незначною, всі вони характеризувалися нормальними мікроциркуляторними процесами. Характерним для даного терміну дослідження було протяжне і велике скупчення жирових клітин навколо імплантованого зразку (рис. 7, а). Через 14 днів після операції навколо імплантованих зразків ППУС на ТЩУ з 1 мас. % ДАК спостерігалось

формування СТК різного ступеню зрілості. Так на одних ділянках капсула складалася з пучків хвилястих колагенових волокон та видовжених веретеноподібних фібробластів між ними, на інших була наявна інтенсивна нейтрофільна інфільтрація з одночасним посиленням реакції моноцитарно-макрофагальних елементів за рахунок міграції клітинних елементів та проростання тяжів сполучної тканини в пористу структуру імплантованого зразка (рис. 7, б). Кількість кровоносних судин була невеликою, мікроциркуляторні процеси в них були без порушень трофіки.

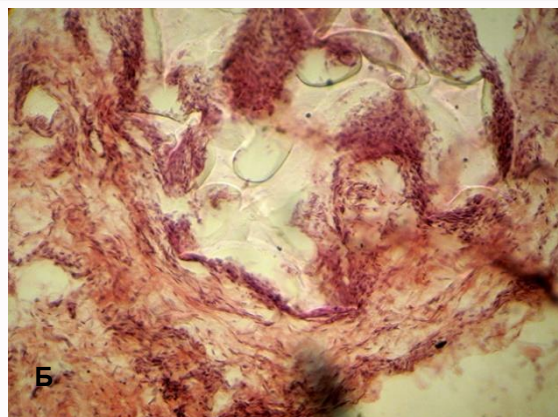
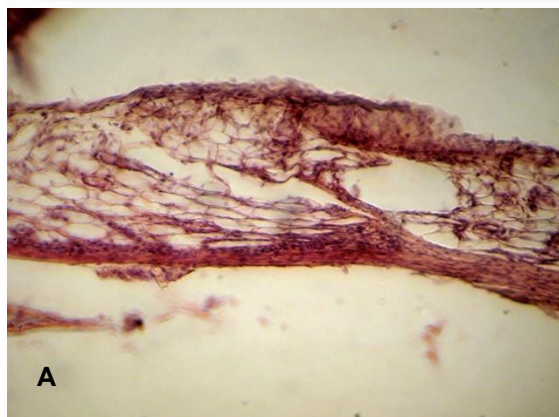


Рис. 7. СТК навколо імплантованих полімерних зразків ППУС на ТЩУ з 1 мас. % ДАК. а) жирові клітини поряд з СТК на 7 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$; б) нейтрофільна інфільтрація з яскраво вираженою реакцією моноцитарно-макрофагальних елементів на 14 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

Через 30 днів після операції навколо імплантованих зразків ППУС на ТЩУ з 1 мас. % ДАК спостерігалось, як і на попередньому терміні дослідження, інтенсивне проростання тяжів сполучної тканини вглиб пористої структури матеріалу з одночасним формуванням досить великою кількістю відокремлених СТК. Клітинний склад сполучної тканини, що проростала в пори імплантованих зразків був представлений фібробластичними елементами з посиленою синтетичною активністю, що активно продукували колаген та компоненти екстрацелюлярного матриксу. Кількість макрофагів залишалася досить високою на даному терміні дослідження (рис. 8). Кількість кровоносних судин була невеликою, мікроциркуляторні процеси в них були в нормі. Через 90 днів після операції навколо імплантованих зразків ППУС на ТЩУ з 1 мас. % ДАК спостерігалась клітинні реакції, подібні до реакцій навколо зразків ППУС з 0,5 мас. % ДАК на аналогічному терміні дослідження. Так, навколо імплантованих зразків характерною була зріла та сформована СТК по всій своїй протяжності. Клітини запального ряду були представлені в незначній кількості, а основними клітинними елементами були фібробласти веретеноподібної форми, що лежали в товщі пучків зрілих колагенових волокон.

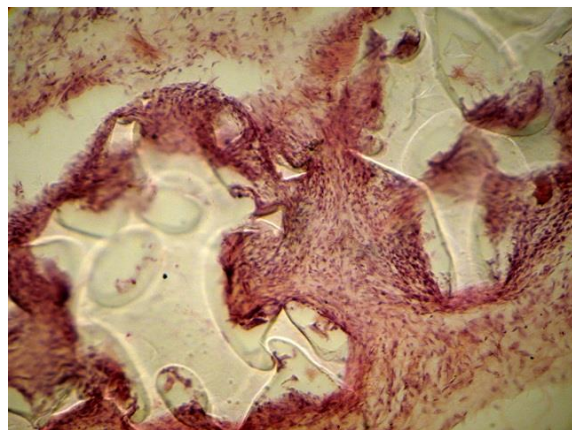


Рис. 8. Інтенсивна макрофагальна реакція в СТК навколо імплантованих зразків ППУС на ТЩУ з 1 мас. % ДАК на 30 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

На окремих ділянках капсули спостерігалися локальні осередки макрофагів з високою фагоцитарною активністю. Тяжі сполучної тканини ставали ще більш розгалуженими та проростали вглиб пористої структури імплантованих зразків. Спостерігалися поодинокі кровоносні судини, кількість яких була незначною, мікроциркуляторні процеси в них були порушені.

Таким чином, було проведено дослідження біосумісності розроблених композиційних матеріалів на основі ППУС на ТЩУ, що містили різну кількість ДАК (0,5 мас. % та 1 мас. %). За допомогою імплантаційного тесту вивчено вплив отриманих композиційних матеріалів на розвиток клітинних реакцій та формування СТК в експерименті. В цілому, клітинні реакції тканин експериментальних тварин на імплантацію зразків ППУС на ТЩУ різного складу не приводили до патологічних процесів в оточуючих тканинах. Гістологічними методами показано, що вже через 7 діб після операції відбувалося відокремлення імплантованих зразків від оточуючих тканин шляхом формування захисного широкого лейкоцитарного валу з одночасним утворенням СТК, що відмежовувала чужорідний для організму імплантаційний матеріал. Формування СТК навколо імплантованих зразків ППУС на ТЩУ різного складу було цілком закономірним, біологічно детермінованим і прогнозованим процесом. Клітинні реакції на ранніх термінах дослідження навколо зразків з ДАК мали більшу реактивність та інтенсивність, ніж навколо зразків ППУС на ТЩУ без ДАК. Характерними були яскраво виражені нейтрофільна та лімфоцитарна інфільтрації, спостерігалася інтенсивна моноцитарно-макрофагальна реакція. При цьому навколо всіх зразків відбувався активний процес ангиогенезу, що сприяв виведенню продуктів метаболізму з вогнища запалення. Можна припустити, що іммобілізований на ППУС на ТЩУ ДАК, пролонговано вивільнявся в оточуючі імплантований зразок тканини, проявляючи біологічну активність та збільшуючи тривалість запального процесу в зоні розміщення імплантату за рахунок підвищеної реактивності клітинних реакцій. Поступово, на більш пізніх термінах дослідження, спостерігалася нормалізація клітинних реакцій навколо всіх імплантованих зразків з формуванням зрілої СТК з фібробластами, що активно синтезували колагенові волокна та інші компоненти екстрацелюлярного матриксу. Пориста структура зразків ППУС на ТЩУ сприяла клітинам оточуючих тканин проникати вглиб імплантованих зразків, викликаючи розвиток різної за інтенсивністю нейтрофільної та лімфоцитарної інфільтрації в їх структурі, а також протікання вираженої макрофагальної реакції на всіх термінах дослідження. Макрофаги, брали активну участь у

процесі реалізації захисно-компенсаторних механізмів, реагуючи на наявність чужорідних тіл в організмі експериментальних тварин.

Висновки

1. Методом культури клітин встановлено, що культура фібробластів щурів, як в контролі, так і при дослідженні композиційних матеріалів на основі ізоціануратвмісних ППУС з ДАК перебувала в стадії стабільного росту, що свідчило про відсутність цитотоксичності дослідних зразків на клітини, що культивувались. При інкубації дослідних зразків з різною концентрацією ДАК спостерігалася збільшення кількості клітин полігональної неправильної форми.

2. За допомогою імплантаційного тесту вивчено біосумісність та розвиток клітинних реакцій на імплантацію композиційних матеріалів на основі ізоціануратвмісних ППУС з ДАК експериментальним тваринам. Показано, що клітинні реакції на імплантацію дослідних зразків ізоціануратвмісних ППУС різного складу не призводили до патологічних процесів в оточуючих імплантатах тканинах.

3. На ранніх термінах дослідження навколо ізоціануратвмісних ППУС з ДАК були характерними яскраво виражені круглоклітинні реакції, зокрема нейтрофільна та лімфоцитарна інфільтрації, спостерігалася інтенсивна моноцитарно-макрофагальна реакція, що може бути пояснено вивільненням ДАК з ППУС композицій на ранніх термінах спостереження та його впливом на оточуючі імплантат тканини, а пориста структура сприяла міграції клітинних елементів вглиб імплантованих зразків.

4. За результатами проведених медико-біологічних досліджень встановлено, що ізоціануратвмісні ППУС з ДАК не мають вираженої цитотоксичної дії, є біосумісними та перспективними матеріалами для застосування в медицині.

Перспективи подальших розробок

Проведення подальших медико-біологічних досліджень, направлених на визначення можливості застосування розроблених композиційних матеріалів в медичній практиці, проведення клінічних випробувань.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела References

1. Bhattacharjee K, Barman MJ, Ghosh S, authors; Chaugule, S, Honavar, S, Finger P, editor: Orbital Implants. Surgical Ophthalmic Oncology. 2019. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18757-6_13.
2. Bigun NM. The use of a polymer-carbohydrate implant during reconstructive operations on the

orbit in the peri-orbital area. Archives of Ophthalmology of Ukraine. 2016;4,2(6):86-90.

3. Lin C, Liao S. Long-term complications of different porous orbital implants. A 21-year review. British Journal of Ophthalmology. 2017;101:681-685.

4. Moshfeghi DM, Moshfeghi AA, Finger PT. Enucleation. *Surv Ophthalmol.* 2000;44(4):277-301. doi: 10.1016/s0039-6257(99)00112-5.
5. Chen XY, Yang X, Fan XL. The Evolution of Orbital Implants and Current Breakthroughs in Material Design, Selection, Characterization, and Clinical Use. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;9:800998. doi: 10.3389/fbioe.2021.800998.
6. Bairo F. Bioceramics and Composites for Orbital Implants: Current Trends and Clinical Performance. In: Antoniac, I. (eds) *Handbook of Bioceramics and Biocomposites.* Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-09230-0_60-1.
7. Ferrari G, Thives Mello A, Melo G, de Mello Roesler CR, Salmoria GV, de Souza Pinto LP, de Mello Gindri I. Polymeric implants with drug-releasing capabilities: a mapping review of laboratory research. *Drug Dev Ind Pharm.* 2021;47(10):1535-1545. doi: 10.1080/03639045.2022.2043354.
8. Galimova VU, Kulbaev ND, Ryzhova VA. The influence of the cosmetic effect of eye prosthetics on the quality of life of patients with anophthalmos, atrophy and subatrophy of the eyeball. *Refractive surgery and ophthalmology.* 2004;1:27-29.
9. Vislohuza T, Rozhnova R, Galatenko N. Development and research of polyurethane foam composite materials with albugin. *American Journal of Polymer Science and Technology.* 2021;3:38-43.
10. Galatenko NA, Rozhnova RA. [Biologically active polymer materials for medicine]. Kyiv: Naukova Dumka; 2013. 211 p. Ukrainian.
11. Galatenko NA, Rozhnova RA, Kuliesh DV, Visloguzova TV, Maletsky AP, Bigun NM. [Response of soft tissues and abdominal organs of rabbits and rats to implanting albugin-containing cross-linked polyurethane composite]. *Journal of ophthalmology.* 2020;6:30-37. Ukrainian. doi.org/10.31288/oftalmolzh202063037.
12. Galatenko NA, Kuliesh DV, Narazhaiko LF, Grytsenko VP, Zakashun TI, Maletsky AP, Bigun NM. [Assessing in vitro cytotoxicity and pH of extracts of synthetic polymers made of cross-linked polyurethane composite with immobilized albugin]. *Journal of ophthalmology.* 2020;4:56-61. Ukrainian. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh202045661>.
13. Galatenko NA, Rozhnova RA, Kuliesh DV, Denisenko VD, Maletsky AP, Bigun NM. [Rat tissue responses to dacarbazine-containing implants made of cross-linked polyurethane of different densities]. *J. ophthalmol.* 2022;4:40-8. Ukrainian. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh202244048>.
14. Denisenko VD, Galatenko NA, Rozhnova RA, Nechaeva LY. [Isocyanurate-containing polyurethane foams, filled with dacarbazine, for medicine]. In: [II International Scientific Conference "Theoretical and Experimental Aspects of Modern Chemistry and Materials TASH-2023", 2023, May 20; Dnipro, Ukraine]. 48-51. Ukrainian.
15. Burenko HV, Galatenko NA, Kabak KS, authors; Pkhakadze HA, editor: *Morfologicheskiye y byokhymicheskiye aspekty byodestruktsyy polymerov* [Morphological and biochemical aspects of polymer biodegradation]. Kyiv: Nauk. dumka; 1986. 152 p. Russian.
16. Lebedev EV, Konstantinov YuB, Galatenko NA, Yatsenko VP, Rozhnova RA, Maksymenko VB. [Toxicological, hygienic and preclinical studies of polymeric materials and products based on them for medical purposes]. Kyiv: Naukova dumka, 2009. Russian.
17. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg. 1986. 53 p.
18. Sarkisov DS, Petrova YuL. *Microscopic technique.* M.: Medicine, 1996. 542 p. Russian.
19. Bagriy MM, Dibrova VA, Popadynets OG, Hryschuk MI. [Methods of morphological research]. Vinnytsia: Nova Knyga, 2016. 328 p. Ukrainian.

Кулеш Д.В., Рожнова Р.А., Денисенко В.Д., Гриценко В.П., Наражайко Л.Ф., Галатенко Н.А. Вивчення цитотоксичності та біосумісності ізоціануратвмісних пінополіуретансечовин наповнених дакарбазином для застосування в медицині.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Розробка нових та модифікація існуючих полімерних матеріалів з метою одержання імплантатів з покращеними функціональними можливостями, що можуть виконувати функцію носіїв біологічно активних речовин та лікарських препаратів є актуальною задачею. **Мета.** Дослідження біосумісності ізоціануратвмісних пінополіуретансечовин наповнених дакарбазином медико-біологічними методами. **Методи.** Вивчення цитотоксичності та біосумісності ізоціануратвмісних пінополіуретансечовин наповнених дакарбазином проводилися за допомогою методу культури фібробластів щурів в умовах *in vitro* та за допомогою імплантаційного тесту в умовах *in vivo*. **Результати.** За результатами проведених досліджень методом культури фібробластів щурів встановлено, що культура фібробластів, як в контролі, так і при дослідженні композиційних матеріалів з різним відсотком дакарбазину перебувала в стадії стабільного росту, що свідчило про відсутність цитотоксичного впливу дослідних зразків на клітини, що культивувались. За допомогою імплантаційного тесту вивчено біосумісність та розвиток клітинних реакцій на імплантацію композиційних матеріалів на основі ізоціануратвмісних пінополіуретансечовин з дакарбазином в організм експериментальних тварин. Показано, що клітинні реакції тканин експериментальних тварин на імплантацію дослідних зразків ізоціануратвмісних пінополіуретансечовин різного складу були типовими для реакції живого організму на присутність чужорідного тіла при підшкірній імплантації та не

призводили до патологічних процесів в оточуючих тканинах, а пориста структура сприяла міграції клітинних елементів вглиб імплантованих зразків. **Висновки.** За результатами проведених медико-біологічних досліджень показано, що ізоціануратвмісні пінополіуретансечовини з дакарбазином не мають вираженої цитотоксичної дії, є біосумісними та перспективними матеріалами для застосування в медицині та рекомендовані для проведення подальших випробувань, в тому числі клінічних.

Ключові слова: ізоціануратвмісні пінополіуретансечовини, дакарбазин, культура фібробластів щурів, імплантація, біосумісність.

К.В. Мізякіна
Л.А. Дзяк

Дніпровський державний
медичний університет
Дніпро, Україна

Надійшла: 28.04.2024
Прийнята: 19.05.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.55-64>

УДК 591.481.1-001:57.012.4

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ФРОНТАЛЬНОЇ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ З РІЗНИМИ НЕЙРОКОГ- НІТИВНИМИ РОЗЛАДАМИ ПІСЛЯ ТЯЖ- КОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

Mizyakina K.V.  , Dzyak L.A.  **Morphological characteristics of the frontal cerebral cortex of rats with various neurocognitive disorders after severe traumatic brain injury.**

Dnipro state medical university, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Information about the sensitivity of different neurons and neuroglia cells to injury and their ability to recover depending on the location of the damage and the nature of hemomicrocirculation changes in the post-traumatic period require significant clarification. **The aim.** Determination of tissue and cellular posttraumatic changes in the structure of the precentral gyrus of the brain frontal lobe of rats with various neurocognitive disorders at different times after severe TBI. **Methods.** A "shock acceleration model" was used to reproduce severe TBI in rats. According to the results of neurological tests, the rats were divided into three groups: 1) the first – animals after TBI with neurocognitive disorders and memory disorders; 1) the second – animals after TBI with neurocognitive disorders without memory disorders; 3) comparison group – animals after TBI without neurocognitive disorders. A histological, morphometric and immunohistochemical study of the precentral gyrus of the frontal lobe was carried out using the markers β -tubulin, Synaptophysin, GAP43, NCAM1, N-cadherin, GFAP. **Results and conclusion.** 20 and 40 days after injury, neurons with limited synthetic activity and signs of neurodestruction are stably preserved in the cortex of rats with neurocognitive disorders, regardless of the degree of memory disorders, while in animals without cognitive deficits, damaged neurocytes in the pyramidal layers are not detected. 10 days after severe TBI, significant accumulation of protoplasmic astrocytes in pericapillary spaces is observed in the frontal cortex of animals of all groups, which is often associated with foci of edema and increased mitotic activity of gliocytes. At the same time, large areas of the neuropil with a low density of fibrous astrocytes are formed. After 20 and 40 days of the post-traumatic period, in animals with neurocognitive disorders, foci of astrocytic deficiency persist, in rats of the comparison group, they are very rare. 10 days after severe TBI in animals with neurocognitive disorders, a significant increase in the number of newly formed hemocapillaries with a typical structure is observed. A large number of densely packed protoplasmic astrocytes is found on the surface of damaged capillaries. 40 days after the injury, the number of damaged microvessels with layers of astrocytes on the outer surface significantly decreases. In contrast to these changes, in animals without neurocognitive deficits, the number of damaged microvessels surrounded by astrocytic conglomerates is significantly lower. In animals without neurocognitive disorders, 20 and 40 days after the injury, there is a noticeable reduction in microcirculatory damage.

Key words: traumatic brain injury, rats, neurocognitive disorders, memory impairment, neurodestruction, frontal cortex, morphometry, immunohistochemical markers.

Citation:

Mizyakina KV, Dzyak LA. [Morphological characteristics of the frontal cerebral cortex of rats with various neurocognitive disorders after severe traumatic brain injury]. *Morphologia*. 2024;18(2):55-64. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.55-64>

 Mizyakina E.V. 0000-0003-2130-6132

 Dzyak L.A. 0000-0002-2827-3663

 mizyakina.e@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Серед причин, що визначають ступінь інвалідизації після травматичного ушкодження головного мозку (ТУГМ), особливе значення мають розлади вищих психічних функцій. Доведено, що патогномонічність психопатологічних наслідків

мало залежить від тяжкості травми, глибини неврологічних розладів, особливостей макроструктурних пошкоджень мозку та може формуватися як у гострому, так і у віддаленому періоді черепно-мозкової травми (ЧМТ). Широкий спектр нейро-

когнітивних розладів формується у більшості хворих з ТУГМ, причому у 3-10% постраждалих, які мають в анамнезі тяжку травму (ТЧМТ), розвивається деменція [1, 2].

У вирішенні численних питань, пов'язаних із лікуванням та реабілітацією пацієнтів з ТУГМ, особливий інтерес представляє вивчення патоморфологічних механізмів, які визначають характер формування та динаміки нейрокогнітивних порушень у різні терміни після травми. Показано, що після ЧМТ запальна реакція, токсичність глутамату та інших медіаторів, утворення вільних радикалів, іонний дисбаланс і активація апоптотичних процесів спричиняють масовану вторинну загибель нейронів, тим часом призводячи до набряку мозку, пошкодження аксонів і аноксії, деструкції гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), посилення запалення, окислювального стресу та нейродегенерації, що обумовлює поглиблення когнітивних порушень [3-5]. Основною причиною нейрокогнітивних порушень є пошкодження нервових клітин, проте також активуються астроцити, олігодендроцити та мікроглія. Активація астроцитів викликає гіперплазію гліального рубця після ЧМТ та низку інших перебудов макроглії [6]. Пошкоджені олігодендроцити можуть впливати на мієлін, спричиняючи таким чином дисфункцію нервової провідності [7]. Поряд з цим активовані мікрогліальні клітини беруть участь у фагоцитозі та функціональному відновленні, а потім ініціюють подальші зміни судинної проникності, що викликає реакцію аноксії клітин [8, 9]. Було також показано, що активація імунної системи після ЧМТ призводить до міграції макрофагів та моноцитів у пошкоджену ділянку мозку з подальшим вивільненням медіаторів запалення (IL-1 β та IL-6) і додатковим ушкодженням нервових клітин [10].

Отже, ЧМТ викликає складний набір первинних і вторинних реакцій, які ушкоджують ділянки мозку, що обслуговують певні когнітивні функції. Вогнищеві контузії викликають стійкі когнітивні порушення, типи яких відносно нескладно зрозуміти на основі сучасних нейроанатомічних уявлень [11]. Крім того, ушкодження аксонів у поєднанні з цитотоксичними процесами є найпоширенішою патоморфологічною причиною посттравматичних когнітивних порушень і мають найбільший вплив на швидкість та ефективність обробки інформації. Деструкція та напруження аксонів також викликає різке підвищення рівня більшості церебральних нейромедіаторів, причому травматично індукований надлишок глутамату та ацетилхоліну є найбільш нейротоксичним [12]. Деструктивні наслідки такого надлишку нейромедіаторів виявляються найбільшими в тих областях, де ці нейромедіатори локалізовані сумісно – в структурах енторинально-гіпокампального комплексу, базальному відділі переднього мозку, смугастому тілі, фронтальній корі головного мозку

(ГМ). Ексайтотоксичні пошкодження призводять до порушення когнітивних функцій (збудження, швидкості обробки інформації, уваги, пам'яті тощо), які реалізуються за участі уражених ділянок мозку [13, 14]. З мірою того, як гострий нейромедіаторний дисбаланс поступово редукується або трансформується, довготривалий дефіцит розвивається в церебральних холінергічних системах і, можливо, також у катехоламінергічних структурах, що пролонгує або поглиблює порушення когнітивних функцій. Повідомляється також, що існує тісний зв'язок між нейродеструктивними процесами, когнітивними порушеннями та синаптичною передачею [12, 15-17].

Таким чином, дотепер уявлення про взаємозв'язок між послідовністю патогенетичних механізмів ТУГМ і характером когнітивних порушень після ЧМТ залишаються фрагментарними. Наразі суперечливими є відомості про динаміку віддалених посттравматичних змін міжклітинних взаємодій у різних відділах ГМ. Потребують суттєвих уточнень відомості про чутливість різних нейронів і клітин нейроглії до травми та їх здатність до відновлення в залежності від локалізації ушкоджень та характеру перебудов гомомікроциркуляції в посттравматичному періоді.

Мета

Визначення тканинних і клітинних посттравматичних змін структури передцентральної звинини лобової частки ГМ щурів з різними нейрокогнітивними розладами у різні терміни після ТЧМТ.

Матеріали та методи

Для моделювання ТЧМТ у дорослих нелінійних щурів-самців (віком від 4 до 6 міс) з вагою 300-400 г застосовували «модель ударного прискорення» [18, 19]. Перед нанесенням травми під загальною анестезією виконували сагітальний розріз шкіри голови завдовжки 2 см по середній лінії з оголенням брегми і лямбди та фіксували сталеву монету діаметром 1 см за допомогою ціанокрилового клею. Стандартизована ТЧМТ наносилась шляхом вільного падіння грузика вагою 450 г із висоти 170 см. Перед моделюванням ТЧМТ, а також через 10, 20 і 40 діб після нього щурам проводили комплексне загальне та неврологічне обстеження, що включало: 1) оцінку неврологічного дефіциту за шкалою mNSS (Modified Neurological Severity Scores) з проведенням тестів рівноваги на трубі, асиметрії розгинання лап та розміщення; 2) тест «відкрите поле»; 3) тест умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) [20-22].

За результатами неврологічних тестів щури були розподілені на три групи: 1) перша – тварини після ЧМТ з нейрокогнітивними розладами і порушеннями пам'яті; 1) друга – тварини після ЧМТ з нейрокогнітивними розладами без порушень пам'яті; 3) група порівняння – тварини після ЧМТ без нейрокогнітивних розладів. Контрольну групу складали інтактні щури віком $4,8 \pm 0,6$ міс з

вагою 347 ± 28 г.

Всі дослідження з лабораторними тваринами проводили із дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Ванкуверської декларації про проведення дослідів на тваринах, Постанови Першого Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001), Положення з біоетики МОЗ України від 1 листопада 2000 р. № 281, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3446-IV від 21 лютого 2003 р. згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [23, 24].

Для патоморфологічного дослідження мозок щурів після евтаназії вилучали з порожнини черепа, макроскопічно оцінювали стан м'яких оболонок, рельєфу, наявності крововиливів та локалізацію осередків забою. Для морфологічного дослідження великий мозок фіксували протягом 24 год у 10%-му розчині забуференого формаліну. Після фіксації мозок розрізали у фронтальній площині на частки на рівні лоової частки із сенсомоторною корою з подальшим виготовленням парапластових блоків. Гістологічні зрізи завтовшки 5–7 мкм із забарвленням їх за Нісслем (тіоніном із додаванням крезилвіолету) або імпрегнацією сріблом вивчали за допомогою світлооптичного мікроскопа AxioSkope A1 («Carl Zeiss», Німеччина).

Імуногістохімічне дослідження з використанням первинних антитіл (β -tubulin, Synaptophysin, GAP43, NCAM1, N-cadherin, GFAP – «Thermo Scientific», USA) виконували у відповідності до протоколу, який містив наступні етапи. Фіксовані на предметних скельцях гістологічні зрізи демаскувались упродовж 20 хв у мікрохвильовій печі при $+100^{\circ}\text{C}$ у цитратному буфері (pH 6,0). Для оцінки специфічності імуногістохімічного забарвлення проводили контрольні реакції. На наступному етапі із залученням системи візуалізації Lab Visison Quanto («Thermo Scientific», USA) проводили обробку скелець та препаратів мозку з кожним реагентом упродовж 10 хвилин з проміжним промиванням у Трис-буферному розчині. В якості хромогена використовували 3,3'-Diaminobenzidine («DakoCytomation», Данія). Для диференціювання кортикальних структур зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Майєра відповідно до загальних стандартів.

Проводили фотофіксацію досліджуваних ділянок передцентральної звивини лобової частки великого мозку за допомогою цифрової фотокамери AxioCam ERc 5s («Carl Zeiss», Німеччина). Обробку отриманих мікрофотографій проводили за допомогою програмного забезпечення AxioVs40 V 4.6.3.0 («Carl Zeiss Imaging Solutions

GmbH», Німеччина). Проводили підрахунок чисельної щільності нейронів, середнього діаметра перикаріона пірамідних нейронів зовнішнього та внутрішнього пірамідних шарів, чисельної щільності макрогліоцитів, мікрогліоцитів і гемокapілярів кори з використанням програмного пакету ImageJ 1,47v [25].

Варіаційно-статистична обробка отриманих результатів проводилася з урахуванням критерію t Стьюдента. У тому випадку, якщо отримане в дослідженні емпіричне розподілення не відповідало нормальному закону, оцінку відмінностей між вибірками оцінювали за допомогою непараметричного критерію Вілкоксона для пов'язаних вибірок та Манна-Уїтні для непов'язаних вибірок або із використанням рангового критерію Ван-дер-Вардена. При проведенні статистичної обробки отриманих квантифікованих результатів усі необхідні розрахунки виконували в оболонці електронної таблиці Excel при використанні відповідних формул і з використанням ліцензійного програмного пакету Statistica v6.1 (Statsoft Inc., USA) (серійний номер AGAR909E415822FA).

Результати та їх обговорення

При морфологічному дослідженні ГМ щурів всіх експериментальних груп через 10 діб після ТЧМТ у корі передцентральної звивини стабільно виявлялися характерні за структурою і клітинним складом гліальні рубці, які за локалізацією відповідали ділянці нанесення травми і значно варіювали за формою та розмірами. В усіх досліджуваних групах також зустрічалися випадки множинних рубцевих змін фронтальної кори. На межі між поверхнею гліального рубця і прилеглими ділянками кори з незміненою пошаровою будовою спостерігалось накопичення значної кількості мікрогліоцитів, проте будь-які сполучнотканинні або мікросудинні ознаки активного нейрозапалення у рубцевій ділянці через 10 діб після нанесення травми, а також на подальших термінах експерименту, були відсутні. Протягом наступних термінів експерименту об'єм і кількість рубцево змінених ділянок кори суттєво не змінювались в жодній з досліджуваних груп щурів, що свідчило про гальмування та завершення астроцитарної гіперплазії до кінця вивченого посттравматичного періоду.

У складі фронтальної кори зі збереженою цитоархітектонікою у тварин всіх груп дослідження через 10 діб після нанесення травми співвідношення за товщиною між шістьма шарами нейронів не відрізнялося від групи інтактних тварин, проте відбувалися численні нейродегенеративні та деструктивні зміни сірої речовини, які були наслідками посттравматичного цитотоксичного каскаду під час розвитку травматичної хвороби ГМ. Зокрема, спостерігалися ознаки помірного дифузного міжклітинного та периваскулярного набряку, масованої клітинної загибелі нейронів, різноманітні ушкодження мікроциркуляторного русла, дегенеративні зміни переважно пірамідних

нейронів.

Морфометричний підрахунок чисельної щільності нейронів всіх типів за допомогою імуногістохімічного визначення експресії β -тубуліну, який є елементом мікротрубочок виключно в нейроцитах і дозволяє їх чітко ідентифікувати, показав різке зменшення загального вмісту клітин в корі передцентральної звивини ГМ щурів першої і другої груп – на 50,2% ($p < 0,05$) і 47,5% ($p < 0,05$) відповідно, в той час як у групі порівняння параметр зменшувався у помірному ступені – на

25,9% ($p < 0,05$). При цьому у першій і другій групах тварин чисельна щільність нейронів коливалася в обмеженому діапазоні на всіх термінах експерименту та статистично вагомо поступалася показнику групи порівняння (табл. 1). Через 20 і 40 діб після ТЧМТ у групі порівняння спостерігалася поступове ущільнення нейронів і наближення до нормальних значень, вочевидь, за рахунок редукції перичелюлярного і периваскулярного набряку та інших тканинних ознак нейродеструкції.

Таблиця 1

Чисельна щільність нейроцитів кори передцентральної звивини, $\times 10^2 \text{ мм}^{-2}$ ($M \pm m$)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	$13,1 \pm 1,2$ * **	$13,8 \pm 1,1$ * **	$19,5 \pm 2,3$ *
20 діб	$12,4 \pm 0,9$ * **	$12,4 \pm 1,9$ * **	$21,7 \pm 3,0$
40 діб	$11,8 \pm 1,7$ * **	$12,1 \pm 1,3$ * **	$23,0 \pm 2,8$

Примітка: * – $p < 0,05$ при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів ($26,3 \pm 1,8 \times 10^2 \text{ мм}^{-2}$); ** – $p < 0,05$ при порівнянні з відповідним за терміном значенням у групі порівняння.

Загальна щільність і морфологія дрібних мультіполярних нейроцитів молекулярного шару, а також малих пірамідних, зірчастих і гальмівних нейронів зовнішнього зернистого шару кори передцентральної звивини не відрізнялися суттєво від нормальних характеристик навіть у тих ділянках, які були наближені до астроцитарних рубців, що утворилися після локального нанесення ТЧМТ. Переважна кількість збудливих зірчастих нейронів внутрішнього зернистого шару також мали незмінену морфологію в усіх групах тварин. В окремих спостереженнях через 10 діб після травми такі клітини мали ознаки часткового хроматолізу та редуковані дендрити.

Більшість великих і середніх пірамідних нейронів зовнішнього пірамідного шару після ТЧМТ зберігали характерну конічну форму, часто містили ознаки хроматолізу у всіх досліджуваних

групах тварин через 10 діб від початку експерименту. Через 20 і 40 діб після нанесення травми пірамідні нейрони з обмеженням синтетичної активності стабільно візуалізувалися в корі щурів першої та другої груп, в той час як у групі порівняння ушкоджені нейроцити у складі зовнішнього пірамідного шару не виявлялися.

Морфометричний аналіз показав, що за розмірами нейрони зовнішнього пірамідного шару істотно не різнилися між трьома експериментальними групами, проте суттєво поступалися нормальному значенню середнього діаметра перикаріону інтактних щурів на всіх термінах дослідження (табл. 2). При цьому найвиразніше зменшення розмірів нейроцитів спостерігалася в першій групі тварин через 20 і 40 діб після ТЧМТ – на 39,6% ($p < 0,05$) і 41,5% ($p < 0,05$) відповідно.

Таблиця 2

Середній діаметр перикаріона пірамідних нейронів зовнішнього пірамідного шару кори передцентральної звивини, мкм ($M \pm m$)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	$5,17 \pm 0,48$ *	$5,08 \pm 0,39$ *	$5,12 \pm 0,44$ *
20 діб	$4,46 \pm 0,41$ *	$4,76 \pm 0,44$ *	$5,07 \pm 0,51$ *
40 діб	$4,32 \pm 0,35$ *	$4,71 \pm 0,41$ *	$4,95 \pm 0,41$ *

Примітка: * – $p < 0,05$ при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів ($7,39 \pm 0,51$ мкм); ** – $p < 0,05$ при порівнянні з відповідним за терміном значенням у групі порівняння.

Великі й гігантські пірамідні клітини внутрішнього пірамідного шару, які утворюють екстракортикальні еферентні шляхи, за морфологією

значно різнилися. Поряд із поодинокими апоптично зміненими формами зустрічалися гіперхромні піраміди, звернені своїми вершинами до пове-

рхні кори. Переважали пірамідні нейрони, які містили ознаки хроматолізу.

Середній діаметр перикаріонів пірамідних нейронів внутрішнього пірамідного шару кори передцентральної звивини у всіх досліджуваних

групах тварин значно поступався нормальному значенню (табл. 3). Найбільша редукція розмірів нейроцитів спостерігалася через 20 діб після ТЧМТ у щурів першої (-46,3%; $p < 0,05$) і другої (-43,2%; $p < 0,05$) експериментальних груп.

Таблиця 3
Середній діаметр перикаріона пірамідних нейронів внутрішнього пірамідного шару кори передцентральної звивини, мкм ($M \pm m$)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	8,38 $\pm$ 1,21 *	9,14 $\pm$ 1,36 *	8,85 $\pm$ 0,94 *
20 діб	7,64 $\pm$ 0,86 *	8,08 $\pm$ 1,17 *	8,40 $\pm$ 0,61 *
40 діб	8,05 $\pm$ 1,02 *	8,23 $\pm$ 1,31 *	9,42 $\pm$ 1,18 *

Примітка: * – $p < 0,05$ при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів (14,23 $\pm$ 1,06 мкм); ** – $p < 0,05$ при порівнянні з відповідним за терміном значенням у групі порівняння.

Нейронний склад мультиформного шару не відрізнявся від типових нормальних характеристик і містив клітини Мартінотті, дрібні пірамідні та гальмівні горизонтальні нейроцити з незмінною морфологією. Будь-яких відмінностей по досліджуваних групах тварин або термінах експерименту не виявлялося.

При аналізі впливу ТЧМТ на синаптичний апарат фронтальної кори за допомогою моноклональних антитіл до синаптофізину (p38), який є трансмембранним глікопротеїном синаптичних везикул, у всіх тварин спостерігалася різке зниження експресії даного маркера у тканині передцентральної звивини через 10 діб після травми у порівнянні з інтактними тваринами. Дифузний характер розподілення p38-позитивних структур не відрізнявся між досліджуваними групами тварин. Через 20 і 40 діб після ТЧМТ експресія синаптофізину у фронтальній корі щурів першої групи суттєво не змінювалась, залишаючись на низькому рівні. Навпроти, у тварин другої експериментальної групи та групи порівняння відбувалося часткове відновлення щільності p38-позитивних синапсів протягом посттравматичного періоду.

Імуногістохімічне дослідження маркера GAP43, який локалізований у мембрано-зв'язаній або цитоплазматичній формах у синапсах під час їх активного новоутворення та віддзеркалює регенераторний потенціал аксонів, показало відсутність GAP43-позитивних структур у фронтальній корі як у інтактних щурів, так і в групах тварин першої та другої експериментальних груп протягом досліджуваного посттравматичного періоду. У щурів групи порівняння в передцентральної звивині ГМ через 20 і 40 діб після травми в окремих ділянках молекулярного і обох зернистих шарів фронтальної кори спостерігалася помірна експресія GAP43, що свідчило про можливість ремоделювання пресинаптичних терміналей аксонів.

З використанням маркерів CD56 (NCAM1) і N-кадгерину було встановлено, що інтенсивність

імуногістохімічної мітки на поверхні кожного нейроцита у фронтальній корі була подібною до характеру експресії цих маркерів на зовнішній мембрані інтактного нейрона, проте загальний ступінь специфічного забарвлення зрізів був суттєво меншим після травматичного ушкодження ГМ, ніж у інтактних щурів, за рахунок клітинної загибелі значної частки нейронів. Розподіл CD56-позитивних і N-кадгерин-позитивних нейроцитів у щурів першої та другої груп не змінювався протягом всього посттравматичного періоду.

При вивченні зразків кори передцентральної звивини після нанесення ТЧМТ у зонах зі збереженою цитоархітектонікою спостерігалися характерні ознаки апоптотичної загибелі значної кількості пірамідних нейронів. Найбільша їх частота відзначалася у тварин першої і другої груп на всіх термінах експерименту, що свідчило про реалізацію активного нейродегенеративного процесу шляхом апоптозу нейронів протягом всього експерименту. У щурів групи порівняння інтенсивна апоптотична загибель нейроцитів спостерігалася через 10 діб після ТЧМТ і в подальшому ставала менш вираженою. Некротично змінені нейрони у фронтальній корі не виявлялися в жодній групі тварин на всіх досліджуваних термінах після травми. Прояви аутофагії пірамідних нейроцитів внутрішнього пірамідного шару зустрічалися в поодиноких спостереженнях в усіх групах щурів; їх частота не залежала від строку після нанесення ТЧМТ.

Морфологічний аналіз гліального компонента кори передцентральної звивини ГМ щурів виявив суттєві морфогенетичні перебудови макрогліоцитів як за характером їх просторового перерозподілу, так і за проліферативними властивостями. Зокрема, через 10 діб після нанесення ТЧМТ у фронтальній корі тварин всіх експериментальних груп спостерігалася значне накопичення протоплазматичних астроцитів у перикапілярних просторах, що часто було асоційовано з

осередками набряку і підвищенням мітотичної активності гліоцитів. В той же час виявлялися значні за об'ємом ділянки нейропіля, в яких щільність розташування волокнистих астроцитів була помітно нижчою, ніж у інтактних щурів. В осередках астроцитарного дефіциту виявлялися поодинокі клітини, які мали довгі відростки, але не контактували з іншими астроцитами. Кількість відростків і ступінь їх розгалуження значно варіювали. Через 20 і 40 діб посттравматичного періоду у тварин першої і другої груп дослідження осередки астроцитарного дефіциту зберігалися, у щурів групи порівняння – зустрічалися лише в поодиноких спостереженнях.

Імуногістохімічне дослідження маркерів CD56 (NCAM1) і N-кадгерину, які експресуються на поверхні нейронів і гліоцитів і беруть участь в утворенні та підтримці міжклітинних контактів, показало нерівномірний розподіл імуногістохімічної мітки в корі передцентральної звивини ГМ тварин у всіх досліджуваних групах. Зокрема, через 10 діб після нанесення ТЧМТ ущільнені протоплазматичні астроцити навколо гемокапілярів активно експресували обидва означені маркери на

своїй поверхні, в той час як у нейропілі між мікроросудинами візуалізувалися відокремлені один від одного CD56-негативні і N-кадгерин-негативні волокнисті астроцити.

Морфометричний аналіз макрогліоцитів на гістопрепаратах з використанням моноклональних антитіл до GFAP показав, що через 10 діб від початку експерименту чисельна щільність клітин у фронтальній корі щурів поступалася нормальному значенню в першій групі – на 28,2% ($p < 0,05$), у другій – на 25,4% ($p < 0,05$), у групі порівняння – на 27,4% ($p < 0,05$). Через 20 діб після нанесеної травми у тварин першої і другої експериментальних груп ступінь астроцитарного дефіциту зростав; у щурів групи порівняння, навпроти, – ставав менш виразним і до кінця експерименту втрачав статистичну значущість при порівнянні з нормою (табл. 4). Через 40 діб після ТЧМТ у тварин першої групи параметр поступався показнику інтактних тварин на 49,0% ($p < 0,05$), показнику групи порівняння – на 43,6% ($p < 0,05$). У тварин другої групи чисельна щільність макрогліоцитів була нижчою за норму на 41,3% ($p < 0,05$), за рівень групи порівняння – на 35,1% ($p < 0,05$).

Таблиця 4

Чисельна щільність макрогліоцитів кори передцентральної звивини, $\times 10^2 \text{ мм}^{-2}$ ($M \pm m$)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	148 $\pm$ 19 *	155 $\pm$ 18 *	151 $\pm$ 14 *
20 діб	123 $\pm$ 17 * **	129 $\pm$ 16 * **	165 $\pm$ 12 *
40 діб	106 $\pm$ 13 * **	122 $\pm$ 14 * **	188 $\pm$ 16 *

Примітка: * – $p < 0,05$ при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів ($208 \pm 19 \times 10^2 \text{ мм}^{-2}$); ** – $p < 0,05$ при порівнянні з відповідним за терміном значенням у групі порівняння.

У різних шарах кори передцентральної звивини ГМ тварин досліджуваних груп спостерігалися неоднакові за морфологією мікрогліоцити. Переважна більшість цих клітин мала сплюснену форму та складно-розгалужені відростки, які занурювалися між нейронами або в глибину нейропіля. Також поблизу гемокапілярів зустрічалися мікрогліоцити кулястої форми з поодинокими довгими хвилеподібними відростками, які контактували з елементами ГЕБ. У тварин першої та другої експериментальних груп, на відміну від щурів групи порівняння, у пірамідних шарах периваскулярно розташовувалися типові циркулюючі макрофаги та поодинокі лімфоцити, що вказувало на латентний перебіг запального процесу в окремих ділянках кори за відсутності ознак навколосудинного набряку. Вочевидь, підвищення фагоцитарного потенціалу тканини за даних обставин свідчило не про індукцію імунної відповіді, а було пов'язано з необхідністю елімінації наслідків масованої нейродегенерації та деструкції нейронів після ТЧМТ.

Морфометрично загальна динаміка змін чисельної щільності мікроглії мала схожу спрямованість у трьох експериментальних групах – від різко підвищеної кількості мікрогліоцитів через 10 діб експерименту до помірного ущільнення мікроглії через 40 діб після ТЧМТ (табл. 5). Статистично значущих відмінностей параметра у першій і другій групах дослідження від показників групи порівняння не спостерігалося протягом усього посттравматичного періоду.

З одного боку, наявність периваскулярної амебоїдної мікроглії з малою кількістю відростків вказувала на взаємозв'язок їх структурної організації з виконанням захисної функції на рівні ГЕБ. З іншого боку, наявність рециркулюючих макрофагів у поєднанні з мікроглією свідчила про активацію процесів фагоцитозу та елімінації залишків різноманітних постклітинних структур внаслідок ТЧМТ.

Вивчення ГМЦР кори передцентральної звивини ГМ через 10 діб після ТЧМТ виявило низку мікроросудинних перебудов, які були залучені до

посттравматичного цитотоксичного каскаду і суттєво різнилися в досліджуваних експериментальних групах. Зокрема, у першій і другій групах тварин спостерігалось значне зростання кількості новоутворених гемокапілярів з типовою будовою ендотеліальної стінки і звичайним кровонаповненням, у супроводі астроцитарної глії і зі сформованим ГЕБ. Крім таких гемокапілярів з інтактною будовою, спостерігалася значна кількість ушкоджених мікросудин, з ознаками стазу і слалужування еритроцитів, інколи з частково або повністю облітерованим просвітом. За допомогою імуногістохімічного визначення експресії маркера GFAP на зовнішній поверхні ушкоджених капілярів виявлялася велика кількість загущено

упакованих протоплазматичних астроцитів. В окремих випадках астроглія утворювала клітинні нашарування на поверхні мікросудин у вигляді щільних муфт, що вказувало на блокування трансендотеліального транспорту і підтверджувалось результатами імуногістохімічного дослідження молекул клітинної адгезії – CD56 і N-кадгерину. Також виявлялися мікросудини з ознаками внутрішньосудинного мікротромбозу в оточенні дрібних осередків вторинних крововиливів, з плазматичним просоченням гемокапілярної стінки та периваскулярного простору. Зустрічалися поодинокі гемокапіляри з некрозом, деструкцією або фрагментацією ендотеліальної стінки.

Таблиця 5

Чисельна щільність мікрогліоцитів кори передцентральної звивини, мм⁻² (M ± m)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	3,08 ± 0,45 *	2,84 ± 0,33 *	2,96 ± 0,36 *
20 діб	2,41 ± 0,32 *	2,61 ± 0,40 *	2,39 ± 0,29 *
40 діб	2,38 ± 0,35 *	2,50 ± 0,34 *	2,27 ± 0,31 *

Примітка: * – p < 0,05 при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів (1,44 ± 0,17 × 10² мм⁻²); ** – p < 0,05 при порівнянні з відповідним за терміном значенням у групі порівняння.

Через 20 діб після ТЧМТ у корі передцентральної звивини ГМ щурів першої і другої експериментальних груп зберігалася значна кількість ушкоджених мікросудин з ознаками стазу і слалужування еритроцитів, що свідчило про залучення до деструктивного процесу новоутворених гемокапілярів. Через 40 діб після нанесення травми помітно зменшувалась кількість патологічно змінених мікросудин з нашаруваннями астроцитів на зовнішній поверхні; зустрічалися поодинокі фрагментовані гемокапіляри та дрібні осередки діapedезних крововиливів.

На відміну від першої і другої експериментальних груп, у тварин групи порівняння ушкоджені мікросудини в оточенні астроцитарних конгломератів у складі фронтальної кори зустрічалися у значно меншій кількості. Зруйновані або

некротизовані гемокапіляри, діapedезні або петехіальні крововиливи не виявлялися. Переважна кількість гемокапілярів мала інтактну структуру стінки й утворювала типовий за будовою ГЕБ. Через 20 і 40 діб після нанесення травми у тварин даної групи кількість патологічно змінених гемокапілярів помітно зменшувалась відносно 10-ї доби експерименту.

Морфометричне вивчення мікросудин фронтальної кори показало, що через 10 діб після ТЧМТ загальна чисельна щільність гемокапілярів у тварин першої групи на 48,3% (p < 0,05) перевищувала нормальне значення, другої групи – на 63,6% (p < 0,05). В обох випадках відмінності від групи порівняння не перевищували рівня статистичної значущості (табл. 6).

Таблиця 6

Чисельна щільність гемокапілярів кори передцентральної звивини, мм⁻² (M ± m)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	83,2 ± 10,6 *	91,8 ± 12,3 *	80,5 ± 10,9 *
20 діб	77,6 ± 9,8 * **	80,4 ± 10,1 * **	63,4 ± 8,3
40 діб	63,0 ± 8,2	61,2 ± 7,3	59,4 ± 8,8

Примітка: * – p < 0,05 при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів (56,1 ± 7,4 мм⁻²); ** – p < 0,05 при порівнянні з відповідним за терміном значенням у групі порівняння.

Через 20 діб від початку експерименту чисельна щільність гемокапілярів у тварин першої

групи перевищувала значення інтактних щурів на 38,3% (p < 0,05), показник групи порівняння – на

22,4% ($p < 0,05$). У другій експериментальній групі параметр перевищував нормальне значення на 43,3% ($p < 0,05$), показник групи порівняння – на 26,8% ($p < 0,05$). У тварин групи порівняння щільність кровоносних мікросудин через 10 діб після ТЧМТ зростала на 43,5% ($p < 0,05$) відносно величини інтактних тварин, але у подальші терміни експерименту поверталась до нормального рівня.

Підсумок

У складі фронтальної кори зі збереженою цитоархітектонікою поблизу зони удару через 10 діб після нанесення травми відбуваються численні нейродегенеративні та деструктивні зміни сірої речовини, які є наслідком посттравматичного цитотоксичного каскаду, за рахунок помірного дифузного міжклітинного та периваскулярного набряку, масованої апоптотичної загибелі нейроцитів, різноманітних ушкоджень мікроциркуляторного русла, дегенеративних змін переважно пірамідних нейронів. Через 20 і 40 діб після нанесення травми нейрони з обмеженням синтетичної активності та ознаки нейродеструкції стабільно зберігаються в корі шурів з нейрокогнітивними розладами незалежно від ступеня мнестичних порушень, в той час як у тварин без когнітивного дефіциту ушкоджені нейроцити у складі пірамідних шарів не виявляються.

Через 10 діб після ТЧМТ у фронтальній корі тварин всіх груп спостерігається значне накопичення протоплазматичних астроцитів у перикапілярних просторах, що часто асоційовано з осередками набряку і підвищенням мітотичної активності гліоцитів. При цьому утворюються значні за об'ємом ділянки нейропілія з низькою щільністю розташування волокнистих астроцитів. Через 20 і 40 діб посттравматичного періоду у тварин з нейрокогнітивними розладами осередки астроцитарного дефіциту зберігаються, у шурів групи порівняння – зустрічаються дуже рідко.

Через 10 діб після ТЧМТ у тварин з нейрокогнітивними розладами спостерігається значне зростання кількості новоутворених гемокапілярів

з типовою будовою ендотеліальної стінки і звичайним кровонаповненням, у супроводі астроцитарної глії і зі сформованим ГЕБ. На поверхні ушкоджених капілярів виявляється велика кількість загущено упакованих протоплазматичних астроцитів. В окремих випадках астроглія утворює клітинні нашарування на поверхні мікросудин у вигляді щільних муфт, що вказує на блокування трансендотеліального транспорту. Також виявляються мікросудини з ознаками внутрішньосудинного мікротромбозу в оточенні дрібних осередків вторинних крововиливів і поодинокі гемокапіляри з деструкцією ендотеліальної стінки. Через 20 діб після ТЧМТ до деструктивного процесу залучаються новоутворені гемокапіляри. Через 40 діб після травми помітно зменшується кількість ушкоджених мікросудин з нашаруваннями астроцитів на зовнішній поверхні. На відміну від цих змін, у тварин групи порівняння ушкоджені мікросудини в оточенні астроцитарних конгломератів зустрічаються у значно меншій кількості, переважна кількість гемокапілярів має інтактну структуру стінки й утворює типовий ГЕБ. У тварин без нейрокогнітивних розладів через 20 і 40 діб після травми відбувається помітна редукція мікроциркуляторних ушкоджень.

Перспективи подальших розробок полягають у з'ясуванні взаємозв'язку між патоморфологічними механізмами перетворень при ТУГМ і характером когнітивних порушень після ЧМТ. Актуальним також є дослідження чутливості нейронів і гліоцитів до травми та їх здатності до відновлення в залежності від локалізації ушкоджень та характеру перебудов гемомікроциркуляції в посттравматичному періоді.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Оптимізація діагностики та лікування гострих церебральних пошкоджень» (номер державної реєстрації 0122U000086).

Літературні джерела References

1. Howlett JR, Nelson LD, Stein MB. Mental Health Consequences of Traumatic Brain Injury. *Biol Psychiatry*. 2022;91(5):413-420. doi: 10.1016/j.biopsych.2021.09.024.
2. James SL, Theadom A, Ellenbogen RG. Global, regional, and national burden of traumatic brain injury, 1990-2016 a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2019;18(1):56-87. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30415-0.

3. Zohar O, Lavy R, Zi X, Nelson TJ, Hongpaisan J, Pick CG, Alkon DL. PKC activator therapeutic for mild traumatic brain injury in mice. *Neurobiol Dis* 2011;41(2):329-337. DOI: 10.1016/j.nbd.2010.10.001
4. Chary K, Nissi MJ, Nykänen O, Manninen E, Rey RI, Shmueli K, Sierra A, Gröhn O. Quantitative susceptibility mapping of the rat brain after traumatic brain injury. *NMR Biomed*. 2021;34(2):e4438. doi: 10.1002/nbm.4438.
5. Wu M, Wang C, Gong Y, Huang Y, Jiang L,

- Zhang M, Gao R, Dang B. Potential mechanism of TMEM2/CD44 in endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis in a rat model of traumatic brain injury. *Int J Mol Med*. 2023;52(6):119. doi: 10.3892/ijmm.2023.5322.
6. Di Giovanni S, Movsesyan V, Ahmed F. Cell cycle inhibition provides neuroprotection and reduces glial proliferation and scar formation after traumatic brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(23):8333-8338. DOI: 10.1073/pnas.0500989102
7. Jones NC, Cardamone L, Williams JP, Salzb erg MR, Myers D, O'Brien TJ. Experimental traumatic brain injury induces a pervasive hyperanxious phenotype in rats. *J Neurotrauma*. 2008;25(11):1367-1374. DOI: 10.1089/neu.2008.0641
8. Bachstetter AD, Zhou Z, Rowe RK. MW151 Inhibited IL-1 β Levels after Traumatic Brain Injury with No Effect on Microglia Physiological Responses. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149451. DOI: 10.1371/journal.pone.0149451
9. Wu W, Tian R, Hao S, Xu F, Mao X, Liu B. A pre-injury high ethanol intake in rats promotes brain edema following traumatic brain injury. *Br J Neurosurg*. 2014;28(6):739-745. DOI: 10.3109/02688697.2014.915007
10. Shaw BC, Anders VR, Tinkey RA, Habean ML, Brock OD, Frostino BJ, Williams JL. Immunity impacts cognitive deficits across neurological disorders. *J Neurochem*. 2023;10.1111/jnc.15999. doi: 10.1111/jnc.15999.
11. Nie L, He J, Wang J, Wang R, Huang L, Jia L, Kim YT, Bhawal UK, Fan X, Zille M, Jiang C, Chen X, Wang J. Environmental Enrichment for Stroke and Traumatic Brain Injury: Mechanisms and Translational Implications. *Compr Physiol*. 2023;14(1):5291-5323. doi: 10.1002/cphy.c230007.
12. Song H, Chen C, Kelley B, Tomasevich A, Lee H, Dolle JP, Cheng J, Garcia B, Meaney DF, Smith DH. Traumatic brain injury recapitulates developmental changes of axons. *Prog Neurobiol*. 2022;217:102332. doi: 10.1016/j.pneurobio.2022.102332.
13. Macks C, Jeong D, Bae S, Webb K, Lee JS. Dexamethasone-Loaded Hydrogels Improve Motor and Cognitive Functions in a Rat Mild Traumatic Brain Injury Model. *Int J Mol Sci*. 2022;23(19):11153. doi: 10.3390/ijms231911153.
14. Yang Z, Zhu T, Pompilus M, Fu Y, Zhu J, Arjona K, Arja RD, Grudny MM, Plant HD, Bose P, Wang KK, Febo M. Compensatory functional connectome changes in a rat model of traumatic brain injury. *Brain Commun*. 2021;3(4):244. doi: 10.1093/braincomms/fcab244.
15. Gu YL, Zhang LW, Ma N. Cognitive improvement of mice induced by exercise prior to traumatic brain injury is associated with cytochrome c oxidase. *Neurosci Lett*. 2014;570:86-91. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.04.004
16. Hui Y, Zhao H, Shi L, Zhang H. Traumatic Brain Injury-Mediated Neuroinflammation and Neurological Deficits are Improved by 8-Methoxypsoralen Through Modulating PPAR γ /NF- κ B Pathway. *Neurochem Res*. 2023;48(2):625-640. doi: 10.1007/s11064-022-03788-6.
17. Griffiths DR, Law LM, Young C, Fuentes A, Truran S, Karamanova N, Bell LC, Turner G, Emerson H, Mastroeni D, Gonzales RJ, Reaven PD, Quarles CC, Migrino RQ, Lifshitz J. Chronic Cognitive and Cerebrovascular Function after Mild Traumatic Brain Injury in Rats. *J Neurotrauma*. 2022;39(19-20):1429-1441. doi: 10.1089/neu.2022.0015.
18. Marmarou AI, Foda MA, van den Brink W. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg*. 1994;80(2):291-300. doi:10.3171/jns.1994.80.2.0291
19. Foda MA, Marmarou A. A new model of diffuse brain injury in rats. Part II: Morphological characterization. *J Neurosurg*. 1994;80(2):301-313. doi:10.3171/jns.1994.80.2.0301
20. Buresh Ja, Bureshova O, Hyuston DP. Metody i osnovnye eksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya [Methods and basic experiments for the study of the brain and behavior]. Moskva: High school, 1991. 399 p. Russian.
21. Kaluev AV. Problemy izucheniya stressovogo povedeniya [Problems of studying stress behavior]. Kyiv: CSF, 1999. 132 p. Russian.
22. Inozemtsev AN, Belnik AP, Ostrovskaya RU. Izucheniye uslovnogo refleksa passivnogo izbeganiya v modifitsirovannoy trekhkamernoy ustanovke. [Study of the conditioned reflex of passive avoidance in a modified three-chamber setup]. *Experimental and clinical pharmacology*. 2007;70(2):67-69. Russian.
23. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasburg: Council of Europe. 1986;123:52.
24. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010;53(L276):33-79.
25. Poslavska OV. Vyznachennyya liniynykh rozmiriv ta ploshch okremykh morfolohichnykh ob"yektiv na mikrofotohrafiyakh za dopomohoyu prohramy ImageJ. [Determination of linear dimensions and areas of individual morphological objects on photomicrographs using the ImageJ program]. *Morphologia*. 2016;10(3):377-381.

Мізякіна К.В., Дзяк Л.А. Морфологічна характеристика фронтальної кори головного мозку щурів з різними нейрокогнітивними розладами після тяжкої черепно-мозкової травми.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Потребують суттєвих уточнень відомості про чутливість різних нейронів і клітин нейроглії до травми та їх здатність до відновлення в залежності від локалізації ушкоджень та характеру перебудов гемомікроциркуляції в посттравматичному періоді. **Мета.** Визначення тканинних і клітинних посттравматичних змін структури передцентральної звивини лобової частки головного мозку щурів з різними нейрокогнітивними розладами у різні терміни після тяжкої ЧМТ. **Методи.** Для відтворення тяжкої ЧМТ у щурів застосовували «модель ударного прискорення». За результатами неврологічних тестів щури були розподілені на три групи: 1) перша – тварини після ЧМТ з нейрокогнітивними розладами і порушеннями пам'яті; 1) друга – тварини після ЧМТ з нейрокогнітивними розладами без порушень пам'яті; 3) група порівняння – тварини після ЧМТ без нейрокогнітивних розладів. Проводили гістологічне, морфометричне та імуногістохімічне дослідження передцентральної звивини лобової частки головного мозку з використанням маркерів β -tubulin, Synaptophysin, GAP43, NCAM1, N-cadherin, GFAP. **Результати та підсумок.** Через 20 і 40 діб після нанесення травми нейрони з обмеженням синтетичної активності та ознаки нейродеструкції стабільно зберігаються в корі щурів з нейрокогнітивними розладами незалежно від ступеня мнестичних порушень, в той час як у тварин без когнітивного дефіциту ушкоджені нейrocити у складі пірамідних шарів не виявляються. Через 10 діб після тяжкої ЧМТ у фронтальній корі тварин всіх груп спостерігається значне накопичення протоплазматичних астроцитів у перикапілярних просторах, що часто асоційовано з осередками набряку і підвищенням мітотичної активності гліоцитів. При цьому утворюються значні за об'ємом ділянки нейропілія з низькою щільністю розташування волокнистих астроцитів. Через 20 і 40 діб посттравматичного періоду у тварин з нейрокогнітивними розладами осередки астроцитарного дефіциту зберігаються, у щурів групи порівняння – зустрічаються дуже рідко. Через 10 діб після тяжкої ЧМТ у тварин з нейрокогнітивними розладами спостерігається значне зростання кількості новоутворених гемокапілярів з типовою будовою. На поверхні ушкоджених капілярів виявляється велика кількість загущено упакованих протоплазматичних астроцитів. Через 40 діб після травми помітно зменшується кількість ушкоджених мікросудин з нашаруваннями астроцитів на зовнішній поверхні. На відміну від цих змін, у тварин без нейрокогнітивного дефіциту порівняння ушкоджені мікросудини в оточенні астроцитарних конгломератів зустрічаються у значно меншій кількості. У тварин без нейрокогнітивних розладів через 20 і 40 діб після травми відбувається помітна редукція мікроциркуляторних ушкоджень.

Ключові слова: черепно-мозкова травма, щури, нейрокогнітивні розлади, порушення пам'яті, нейродеструкція, фронтальна кора, морфометрія, імуногістохімічні маркери.

О.О. Нефьодова
О.С. Шевченко

Дніпровський державний
медичний університет
Дніпро, Україна

Надійшла: 18.04.2024

Прийнята: 29.05.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.65-72>

УДК: 615.099:[546.48:546.81]:616.36-092.9-07-085.243.3

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО ВВЕДЕННЯ ХЛО- РИДУ КАДМІЮ НА МОРФОЛОГІЧНІ СТРУКТУРИ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ЩУ- РІВ

Nefodova O.O.  , Shevchenko O.S.  The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the mandible of rats.

Dnipro state medical university, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Cadmium, as a heavy metal, is part of many industrial wastes and can affect the environment and living organisms. One of the key systems exposed to cadmium is the skeletal system of humans and animals, particularly rats. **The aim** of the work was to reveal the specifics of the effect of chronic administration of cadmium chloride on the state of rat bones with a comparison of the effect of isolated administration of cadmium chloride on the morphofunctional state of the mandible in a chronic experiment on rats. **Methods.** Histological and morphogistometric study. **The results.** In order to fulfill the set goal and ensure a correct comparative analysis of the obtained results of exposure to cadmium chloride during experimental studies, we studied the features of the morphogenesis of the mandible in a control group of young male rats of puberty age in comparison to the group isolated exposure to cadmium chloride. Operative slaughter of animals to obtain samples took place on the 14th, 20th and 30th days of the experiment. After anesthesia, the bones were removed, weighed, measured for the protocol and fixed for further histological examination. Analyzing weight indicators, we determined the relative mass of the bone itself to the mass of the animal, which is more informative material for comparison between groups. **Conclusion.** Chronic exposure to cadmium chloride at a dose of 2.0 mg/kg in rats leads to an increase in the weight indicators of the mandible, which was confirmed by the calculation of the mandible mass index. Long-term exposure to cadmium chloride leads to changes in the structure of bone trabeculae of the mandible, which was manifested in microcracks of individual bone trabeculae and swelling of osteocytes against the background of increased angiogenesis of bone tissue. Violation of histogenesis of bone tissue is determined by the formation of centers of matrix homogenization, the occurrence of empty lacunae or lacunae with pyknotic osteocytes. Changes in the morphological structure of the articular cartilage of the head of the mandible after chronic administration of cadmium chloride are manifested in the damage to the architecture of the radial layers of the chondrocyte columns and the violation of the zonality of the articular cartilage. Histological studies revealed delayed differentiation of chondroblasts, swelling of cartilage cells and delayed differentiation of isogenic cells against the background of connective tissue delamination in an experiment on rats.

Key words: mandible, morphology, bone tissue, density, heavy metals, cadmium chloride, morphometric indicators.

Citation:

Nefodova OO, Shevchenko OS. [The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the mandible of rats]. Morphologia. 2024;18(2):65-72. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.65-72>

 Nefodova O.O. 0000-0002-1665-9032

 Shevchenko O.S. 0000-0003-4426-4393

 elenanefedova1803@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Комплекс досліджень, виконаних в першому двадцятиріччі XXI століття, показав, що однією з важливих «мішеней» негативного впливу кадмію є кістково-хрящова тканина: тривала експозиція токсиканта на організм призводить до збільшення крихкості скелета та зниження мінеральної щільності кісток [1-4].

Серед найбільш небезпечних техногенних забрудників довкілля пріоритетне положення займають важкі метали, а тривалий контакт з токсикантами призводить до порушення функціонування як дорослого організму, так і до формування внутрішньоутробних дизадаптивних процесів. Впливаючи на баланс мікроелементних систем, кадмій може накопичуватись в організмі людини та призводити до гострих та відстрочених

ускладнень [5-7]. Збільшення вмісту важких металів в об'єктах навколишнього середовища має вплив на баланс мікроелементних систем в організмі людини, викликаючи так звані мікроелементози. Проблема останніх надзвичайно актуальна в усіх країнах світу, її розв'язання, за визначенням ВООЗ, є головним завданням у забезпеченні здоров'я населення Землі в XXI ст. [8, 9]. Розроблення нових засобів для корекції та лікування мікроелементного дисбалансу стримується недостатністю знань про особливості обміну мікроелементів в організмі людей та норми добової потреби в них в умовах підвищеного техногенного навантаження, а також даних щодо балансу, форм і видів взаємодії мікроелементів та ультрамікроелементів у разі їх одночасного надходження [10, 11].

Кісткова тканина – головний компонент скелетної системи організму. Вона містить декілька типів клітин (остеобласти, остеокласти, остеоцити та клітини, що вистилають гаверсові канали) та кальцифікований позаклітинний матрикс, який складається з мінералів (50-70%), органічних речовин (20-40%) та води (5-10%). Близько 90% органічного компонента позаклітинного кісткового матриксу – це колаген типу I, який синтезується остеобластами і відкладається шарами в зрілій або пластинчастій кістці [12].

Кадмій, як важкий метал, входить до складу багатьох промислових відходів і може впливати на навколишнє середовище та живі організми. Однією з ключових систем, яка піддається впливу кадмію, є скелетний апарат людини та тварин [13, 14].

Метою роботи було виявлення змін морфофункціонального стану нижньої щелепи після хронічного впливу хлориду кадмію в експерименті на щурах.

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження проведені на білих статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar (розплідник «Далі-2001» місто Київ, Україна). Утримання експериментальних тварин здійснювалося відповідно до санітарно-гігієнічних норм віварію Дніпровського державного медичного університету (ДДМУ), м.Дніпро: температурний режим повітря 22 ± 2 °C, вологість не менш 50%, світлий / темний цикл 12 / 12 годин, їжа та пиття *ad libitum*. Тварини після транспортування та карантину (2 тижні) були здорові, активні, добре споживали їжу, не мали ушкоджень на шкіряних покриттях та вухах. Під час утримання, експерименту та оперативного вилучення тварин з експерименту ми дотримувались усіх етичних норм поводження з лабораторними тваринами.

Усі досліді проводили у відповідності до законодавства України (Закон України № 3447-IV, 2006), Міжнародного кодексу медичної етики (1983), «Загальним етичним принципам експериментів над тваринами», що затверджені І Націо-

нальним конгресом з біоетики (Київ, 2001), правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою (Council of Europe, Strasbourg, 1986). Комісією з біоетики ДДМУ встановлено, що проведені наукові дослідження експериментальних тварин відповідають етичним вимогам [15].

Моделювання впливу хлоридом кадмію на організм самців щурів проводили за наступним планом. Усі дослідні тварини були нами розділені на групи: перша - контрольна – щури, яким вводили фізіологічний розчин, друга дослідна – щури, яким ізольовано вводили розчин хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг. Обсяг введення не перевищував 0,5 мл, що не призводить до розтягування шлунку дослідного щура і не привносить побічного ефекту механічного впливу. Досліджувані розчини вводили щоденно в шлунок самцям зондуванням один раз на добу, в один і той же самий час впродовж 30 діб. Результати хронічного впливу досліджуваних чинників оцінювали на 14-ту, 20-ту і 30-ту доби дослідження, тварин виводили з експерименту способом передозування ефірним наркозом, вилучали нижню щелепу. Після вилучення кістки проводились її вимірювання, зважування, протоколювання. Дослідні зразки фіксували у нейтральному 10 % розчині формаліну для подальшого гістологічного та морфогістометричного дослідження.

Враховуючи специфіку поставлених задач, в даному дослідженні була проведена кількісна оцінка наступних морфологічних показників: вагові показники ізольованої нижньої щелепи щура (волога вага) (мг), $M \pm m$; індекс маси нижньої щелепи (%), $M \pm m$, який розраховувався нами – за формулою: $IMK = \frac{m}{M} \times 100\%$, де IMK – індекс маси кістки; m – маса кістки (г); M – маса щура (г).

Для виконання гістологічного дослідження фіксована у нейтральному формаліні нижня щелепа поділялась на фрагменти і проводили декальцинацію в 17% розчині етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA) при pH 7,5, дотримуючись співвідношення обсягу 20:1 і більше, згідно рекомендацій [16]. Вже декальціновані зразки кісток зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки для виготовлення гістологічних серійних зрізів.

Для отримання цифрових зображень з подальшим обчисленням розмірів структур кісткової тканини нами використовувалася камера для світлової мікроскопії фірми ZEISS AxioCam ERc 5s з адаптером P95-C 1/2" 0,5x, приєднана до мікроскопу Primo Star компанії ZEISS. Статистичне опрацювання та аналіз результатів виконані за загальноприйнятими методиками з використанням ліцензійних програм статистичного аналізу Statistica v.6.1 (StatSoft Inc., серійний № AGAR909E415822FA) та Microsoft Excel. Оцінку

вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності між групами вважалися достовірними при значенні $p < 0,05$ [17].

Результати та їх обговорення

У дослідженні визначались відносні маси нижньої щелепи до маси тварини, що було більш інформативним матеріалом для порівняння між групами. При порівнянні отриманих масометричних даних з контрольною групою, нами розраховувался Індекс маси кістки (ІМК) (табл. 1).

Таблиця 1
Динаміка зміни індексу маси нижньої щелепи щурів на трьох термінах експериментального дослідження при впливі хлоридом кадмію та в контролі

Експериментальна група	Доба експерименту		
	14 доба	20 доба	30 доба
Контрольна група	$0,49 \pm 0,03$	$0,58 \pm 0,02^*$	$0,56 \pm 0,02^*$
Група впливу хлоридом кадмію	$0,52 \pm 0,03$	$0,61 \pm 0,03^*$	$0,63 \pm 0,01^*$

Примітка: * - достовірність різниці $p \leq 0,05$ по відношенню до показника в даній групі на 14-ту добу.

Аналіз та порівняння розрахованих індексів маси нижньої щелепи продемонстрував збільшення вагових показників кістки при хронічному впливі хлоридом кадмію, починаючи з 14-тої доби експерименту. Результати макроанатомічного дослідження нижньої щелепи показали, що маса кістки тварин контрольної групи упродовж спостереження збільшувалася з $1,05 \pm 0,03$ г (14-та доба) до $1,75 \pm 0,04$ г (30 доба). В групі ізольованого введення хлориду кадмію маса нижньої щелепи тварин становила на 14-тій добі $1,34 \pm 0,04$ г, а на 20-ту добу показник зростав до $1,98 \pm 0,04$ г, та наприкінці експерименту (30 доба) вагові показники недостовірно збільшувались до $1,99 \pm 0,02$ г. Таким чином, при ізольованому впливі хлоридом кадмію показник середньої маси демонструє зростання маси нижньої щелепи на 14-ту добу експерименту у порівнянні до контролю. На 30-ту добу визначається найбільша вага щелепи, що продемонстрував і розрахунок та порівняння індексу маси кістки в порівнянні до контрольних показників на всіх досліджуваних термінах (табл. 1).

Остеометричні вимірювання нижньої щелепи та різця експериментальних тварин та контрольних щурів показали недостовірне зростання показників при впливі хлоридом кадмію наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу. Так, максимальна довжина щелепи збільшувалась з $22,28 \pm 0,06$ мм до $23,14 \pm 0,07$ мм, висоти гілки з $10,12 \pm 0,3$ мм до $10,71 \pm 0,6$ мм, висота тіла щелепи з $3,48 \pm 0,04$ мм до $3,86 \pm 0,2$ мм, а висота альвеолярного відростка з $2,21 \pm 0,08$ мм до $2,58 \pm 0,4$ мм. Вимірювання та порівняння висоти різця нижньої щелепи також продемонстрували недостовірне зростання показника з $1,03 \pm 0,07$ мм (контроль) до $1,11 \pm 0,06$ мм групи ізольованого впливу хлоридом кадмію.

Гістологічні дослідження кісткової тканини нижньої щелепи проводили відповідно до завдань і мети експериментальної роботи. В області головки нижньої щелепи досліджувалась також субхондральна кісткова тканина та результат змін в її

структурі при впливі хлоридом кадмію. В нормі (контроль) субхондральна кісткова тканина виросткової суглобової поверхні головки нижньої щелепи представлена кістковими трабекулами, які формували петлясту мережу. Зустрічаються ділянки з поодинокими кістковими трабекулами, між якими знаходились розширені міжтрабекулярні простори заповнені кістковим мозком (рис. 1).

Довготривалий вплив хлоридом кадмію призводив до змін в структурі кісткових трабекул, що віддзеркалювали порушення в організації міжклітинної речовини та клітин. На 30-ту добу експерименту визначались окремі кісткові трабекули, які мали мікротріщини та невеликі осередки гомогенізації матриксу. Нами також виявлялись на зрізах кісткової тканини поодинокі порожні лакуни або лакуни з пікнотичними остеокитами. Нами визначався спектр порушень остеогенезу при довготривалому впливі хлоридом кадмію, який на 30-ту добу призводив до руйнації трабекул кісткової тканини (рис. 2). Визначено також зміни в самій структурі кісткових трабекул, що віддзеркалювали порушення в організації міжклітинної речовини та клітин. Вплив кадмієм призводив до утворення мікротріщин в кісткових трабекулах, спостерігався також в незначному ступені процес гомогенізації матриксу на тлі зниження щільності остеокитів. Поблизу таких ділянок на кісткових трабекулах виявлялись поодинокі порожні лакуни або лакуни з пікнотичними остеокитами.

Вже з 14-тої доби експерименту відзначалось підвищення ангиогенезу кісткової тканини. Також на всіх термінах дослідження кісткової тканини в групах кадмієвого впливу визначався набряк остеокитів (рис. 3). На 20-тій добі експерименту виявляються малочисельні порожнини резорбції та поля безклітинної компакти з нерівномірною мінералізацією речовини.

При впливі хлоридом кадмію вже з 20-тої доби експерименту визначались зміни в структурі кісткового мозку в гістологічних зрізах. Високий

рівень кровонаповнення внаслідок гіпоксичного стану, який провокує введення кадмію, визначався в розширенні судин, а довготривалий рівень високого кровонаповнення на 30-ту добу призводив до локальних розширень судин, вони набу-

вали звивистої форми та помітними ставали розширення синусоїдів кісткового мозку у дослідних тварин, що підлягали кадмієвій інтоксикації (рис. 5).



Рис. 1. Зріз головки нижньої щелепи щура групи контролю на 20-ту добу експерименту. Трабекули кісткової тканини з судинами та червоний кістковий мозок. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 400$.

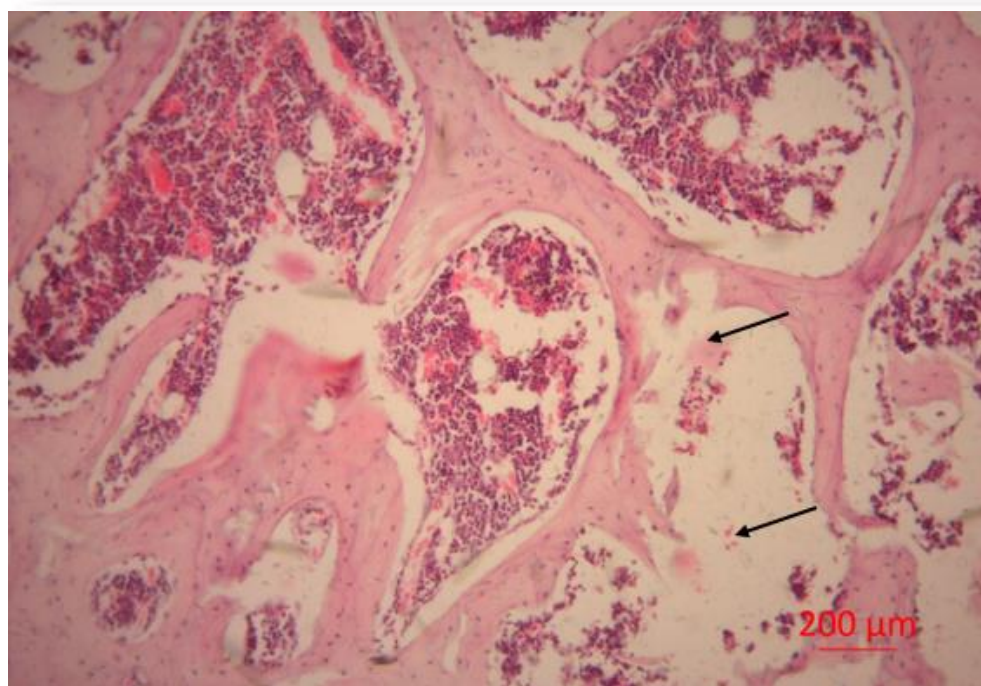


Рис. 2. Зріз головки нижньої щелепи щура групи ізолюваного впливу хлоридом кадмію на 30-ту добу експерименту. Руйнація трабекул кісткової тканини (вказано стрілками) з судинами та червоний кістковий мозок. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 400$.

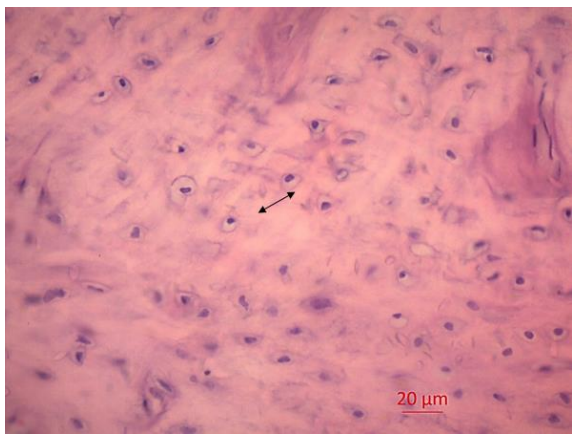


Рис. 3. Зріз головки нижньої щелепи щура групи впливу хлоридом кадмію на 20-ту добу експерименту. Набряк остеокитів вказано стрілками. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 400$.

Таким чином при впливі хлоридом кадмію відстежувалось зниження щільності кісткових трабекул в області субхондральної кістки та виявлялось порушення будови самих кісткових трабекул і набряк остеокитів на тлі високого рівню кровонаповнення судин.

У порожнинах і комірках кісткової тканини головки нижньої щелепи міститься червоний кістковий мозок, який є джерелом кровотворення і містить гемопоетичні острівці. Строма складається з кісткових балок та ретикулярної тканини, в якій розташовані власні кровоносні судини та синусоїдні капіляри, що містять гемопоетичні клітини на різних стадіях диференціювання (рис. 4).

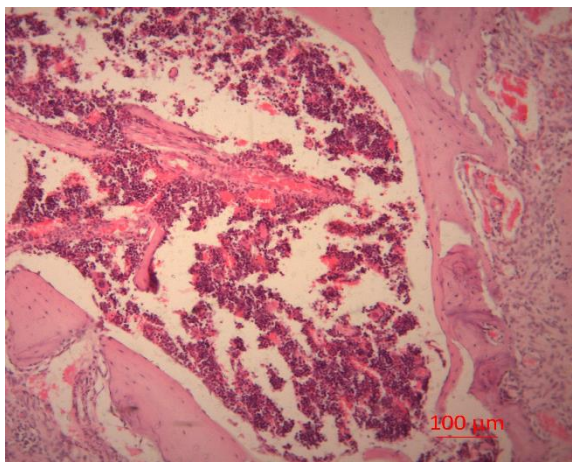


Рис. 4. Зріз головки нижньої щелепи щура групи контролю на 20-ту добу експерименту. Кісткова тканина з судинами та червоний кістковий мозок з синусоїдами. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 100$.

Вплив хронічного введення хлориду кадмію визначався і на структурах суглобового хряща. Суглобовий хрящ міцно зростається з кісткою, що підлягає. У проміжній зоні хряща проходять потужні пучки колагенових фібрил, які утворюють складну мережу, переважно орієнтовані майже

перпендикулярно до суглобової поверхні і можуть формувати аркади. В результаті переплетення колагенових волокон утворюються лакуни, в яких лежать хондроцити першого та другого типів. Вони продукують колаген, глікопротеїни та протеоглікани, а крім того, здатні до поділу. В результаті їх поділу утворюються колонки та ізогенні групи хондроцитів. В контрольних зразках на всіх термінах дослідження витримується архітектура суглобового хряща, що зберігає зональність та складається з колон утворення та розвитку хондроцитів, формування ізогенних груп. Диферон хондроцитів у вигляді радіальних колон добре визначається на гістологічних зрізах (рис. 6).

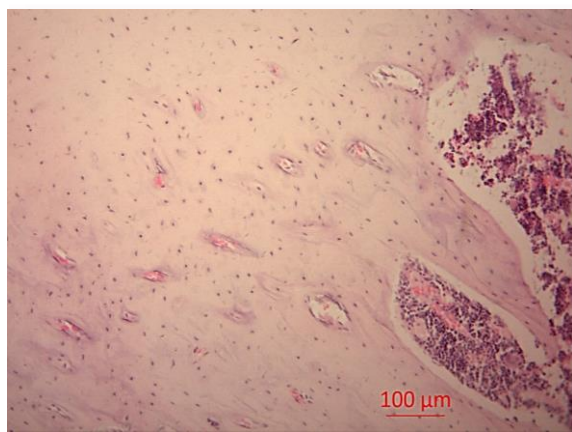


Рис. 5. Зріз головки нижньої щелепи щура групи впливу хлоридом кадмію на 30-ту добу експерименту. Червоний кістковий мозок з розширеними судинами та синусоїдами. Підвищений рівень кровонаповнення судин. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 100$.

Серед змін структур хрящової тканини відмічались невеликі ділянки без хондроцитів та деградація поодиноких клітин. Виявлено неоднорідне забарвлення матриксу, що може свідчити про порушення біосинтезу макромолекул. При впливі хлоридом кадмію зустрічались вже на 14-ту та 20-ту добу експерименту ознаки гістоструктурних перетворень хондроцитів з розвитком у них дистрофічних змін. При цьому виявляються численні порожнини резорбції, значні поля безклітинної компакти та нерівномірність осифікації основної речовини. Визначались також зміни архітектури тканини у вигляді вкорочення колон хондроцитів, їх ущільнення та зміни напрямків, часто спостерігались порожні лакуни хрящової тканини (рис. 7).

Найбільш виразні ознаки змін у порушенні формування геометрії хрящової тканини виявлені у зонах активного росту, яка зростається на 8,34% ($p \leq 0,05$) після місячного експерименту. 30-ти добовий термін впливу призводить до резорбтивних змін у зоні суглобового хряща, що зумовлює розшарування хрящових волокон, їх дезорганізацію та порушення формоутворення хрящової тканини

нижньої щелепи під впливом негативної дії на організм солі важкого металу кадмію (рис. 8). Наприкінці експерименту зони порушувалась зональність суглобового хряща, значно звужувалась поверхнева зона та затримувалась диференціація

хондробластів, що проявлялась у набряках клітин хряща та зсувах утворення колонок і затримці дозрівання ізогенних клітин. У 42,7% випадків чітко визначалось розшарування колагенових фібрил (рис. 8).

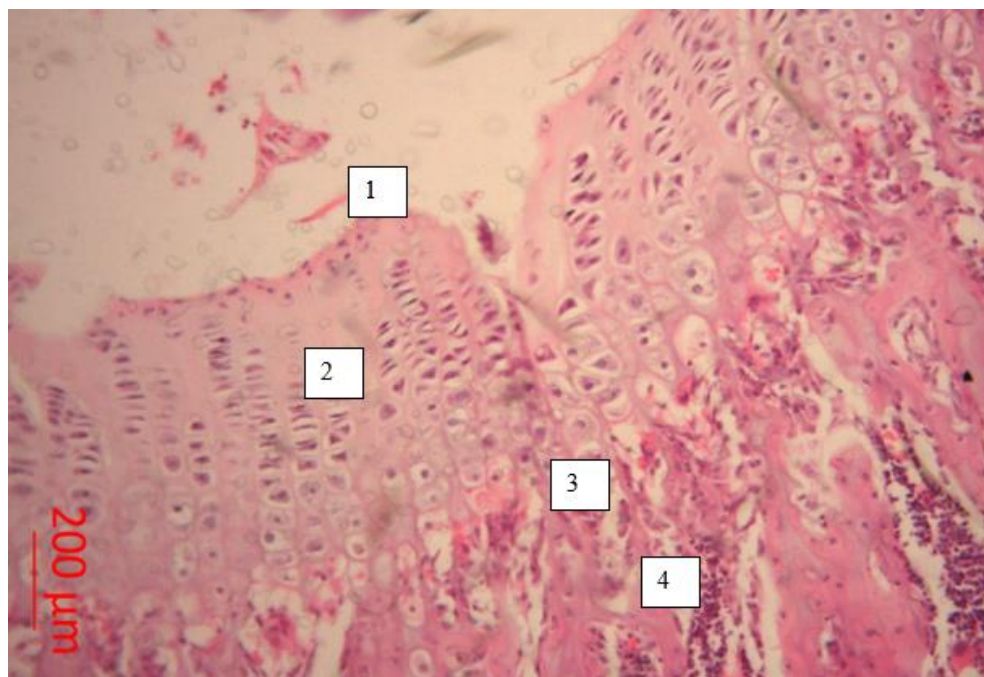


Рис. 6. Зріз головки нижньої щелепи щура групи контролю на 20-ту добу дослідження. Суглобовий хрящ. Позначення: 1. Поверхнева зона хряща; 2. Проміжна зона з ізогенними групами клітин; колони хондроцитів; 3 Межа кальцифікації; 4 Глибокий кальціфікований шар. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 100$.

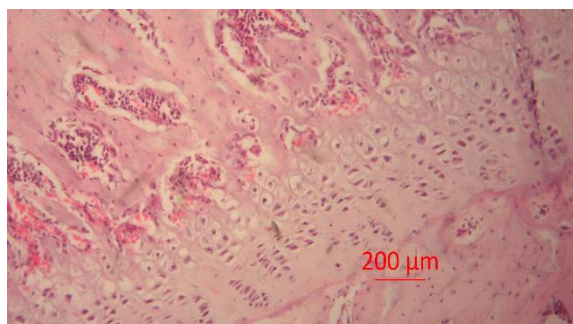


Рис. 7. Зріз головки нижньої щелепи щура групи впливу хлоридом кадмію на 20-ту добу дослідження. Суглобовий хрящ. Дезорганізація колон хондроцитів, порожні лакуні. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 100$.

Таким чином, органометричні та гістоморфометричні показники нижньої щелепи за умов хронічної дії на організм хлориду кадмію засвідчують розвиток глибоких та стійких структурних змін, які характеризуються гальмуванням росту досліджуваних тканин, розвитком резорбтивних процесів у кістковій тканині, зниженням мінералізації, порушенням архітектурної будови суглобового хряща в експерименті на щурах.

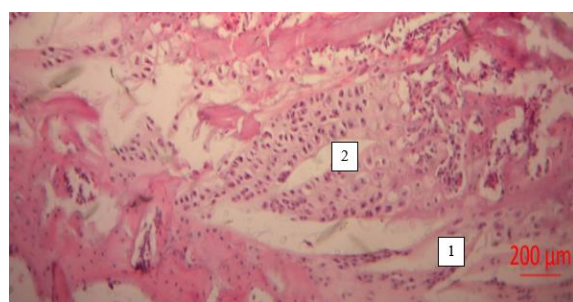


Рис. 8. Зріз головки нижньої щелепи щура групи впливу хлоридом кадмію на 30-ту добу дослідження. Суглобовий хрящ. Дезорганізація колон хондроцитів (1) та розшарування хрящової тканини (2). Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 100$.

Підсумок

Хронічний вплив хлоридом кадмію в дозі 2,0 мг/кг на щурів призводить до збільшення вагових показників нижньої щелепи, що було підтверджено розрахуванням показнику індексу маси нижньої щелепи.

Довготривалий вплив хлоридом кадмію призводить до змін в структурі кісткових трабекул нижньої щелепи, що проявлялось у мікротріщинах окремих кісткових трабекул та набряку остеокитів на тлі підвищення ангиогенезу кісткової

тканини. Порушення гістогенезу кісткової тканини визначається формуванням осередків гомогенізації матриксу, виникненням порожніх лакун або лакун з пікнотичними остеоцитами.

Зміни в морфологічній будові суглобового хряща головки нижньої щелепи після хронічного введення хлориду кадмію виявляються в ушкодженні архітектури радіальних шарів колонок хондроцитів та порушенні зональності суглобового хряща. Гістологічні дослідження виявили затримку диференціації хондробластів, набряках клітин хряща та затримку диференціювання ізогенних клітин на тлі розширення сполучної тканини в експерименті на щурах.

Перспективи подальших розробок полягають у продовженні наукової роботи з встановлення можливих коректорів токсичного впливу техногенних поллютантів на організм людини.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональний стан органів та тканин під впливом зовнішніх і внутрішніх чинників» (номер державної реєстрації 0120U105219).

Літературні джерела References

1. Romaniuk AM, Sikora VV, Lindina YM, Lindin MS. [Prevalence of heavy metals in the environment and their role in the vital activity of the organism (literature review)]. Bukovyna Medical Herald. 2017;21(82):163-168. Ukrainian.
2. Lee WK, Thévenod F. Cell organelles as targets of mammalian cadmium toxicity. Arch Toxicol. 2020;94(4):1017-1049. doi:10.1007/s00204-020-02692-8.
3. Kim JJ, Kim YS, Kumar V. Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. J Trace Elem Med Biol. 2019;54:226-231. doi:10.1016/j.jtemb.2019.05.003.
4. Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. Cadmium: Human health and environmental toxicology. Int. Environ. Res. Public Health. 2020;17:679.
5. Nefodov OO, Bilyshko DV, Kushnaryova KA, Shevchenko OS, Shatorna VF. [Determination of the effect of cadmium on embryogenesis indicators when administered alone and in combination with selenium and germanium citrates]. Medychni perspektyvy. 2020;25(1):24-31. Ukrainian.
6. Nefodova OO, Shatorna VF, Galperin OI, Nefodov OO, Yeroshenko GA, Tverdokhlib IV. Cardiogenesis changes under the impact of cadmium chloride in rat embryogenesis. Svit medytyny ta biolohiyi. 2019;3(69):209-213.
7. Nefodova OO, Yeroshenko GA, Zadesenets IP, Shatorna VF, Nefodov OO, Kuznetsova OV. [Effect of low doses of cadmium citrate on the cardiogenesis of rat embryos]. Svit medytyny ta biolohiyi. 2019;1(67):166-170. Ukrainian.
8. Shatorna VF, Kononova II, Garets VI, Nefodova O.O, Lomyha LL. Search of new bioantagonists of embryotoxicity of cadmium chloride in a chronic experiment on rats. Visnyk problem biolohiyi i medytyny. 2023;1(168):92-96.
9. Rodríguez J, Mandalunis PM. A Review of Metal Exposure and Its Effects on Bone Health. J Toxicol. 2018;2018:4854152. doi:10.1155/2018/4854152.
10. Nasoori A. Formation, structure, and function of extra-skeletal bones in mammals. Biol Rev Camb Philos Soc. 2020;95(4):986-1019. doi:10.1111/brv.12597.
11. Udagawa N, Koide M, Nakamura M, Nakamichi Y, Yamashita T, Uehara S, Kobayashi Y, Furuya Y, Yasuda H, Fukuda C, Tsuda E. Osteoclast differentiation by RANKL and OPG signaling pathways. J Bone Miner Metab. 2021;39(1):19-26. doi:10.1007/s00774-020-01162-6.
12. Engström A, Michaëlsson K, Vahter M, Julin B, Wolk A, Åkesson A. Associations between dietary cadmium exposure and bone mineral density and risk of osteoporosis and fractures among women. Bone. 2012;50(6):1372-1378. doi:10.1016/j.bone.2012.03.018.
13. Wallin M, Barregard L, Sallsten G, Lundh T, Karlsson MK, Lorentzon M, Ohlsson C, Mellström D. Low-Level Cadmium Exposure Is Associated With Decreased Bone Mineral Density and Increased Risk of Incident Fractures in Elderly Men: The MrOS Sweden Study. J Bone Miner Res. 2016;31(4):732-41. doi:10.1002/jbmr.2743.
14. Nishijo M, Nakagawa H, Suwazono Y, Nogawa K, Kido T. Causes of death in patients with Itai-itai disease suffering from severe chronic cadmium poisoning: a nested case-control analysis of a follow-up study in Japan. BMJ Open. 2017;7(7):15694. doi:10.1136/bmjopen-2016-015694.
15. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg: Council of Europe. 1986;123:52.
16. Bagrii MM, Dibrova VA, Popadinets OG, Hryshchuk MI, authors. Metodyky morfolohichnykh doslidzhen` [Methods of morphological research]. Vinnytsya: Nova knyha; 2016. 328 p. Ukrainian.
17. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN, authors. Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispol'zovaniyem Excel

Нефьодова О.О., Шевченко О.С. Вплив хронічного введення хлориду кадмію на морфологічні структури нижньої щелепи щурів.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Кадмій, як важкий метал, входить до складу багатьох промислових відходів і може впливати на навколишнє середовище та живі організми. Однією з ключових систем, яка піддається впливу кадмію, є скелетний апарат людини та тварин, зокрема щурів. **Метою** роботи було визначення особливостей впливу хронічного введення хлориду кадмію на стан кісток щура із проведенням порівняння впливу ізольованого введення хлориду кадмію на морфологічний стан нижньої щелепи в хронічному експерименті на щурах. **Методи.** Гістологічне та морфометричне дослідження. **Результати.** Для виконання поставленої мети та забезпечення коректного порівняльного аналізу отриманих результатів впливу хлориду кадмію під час експериментальних досліджень ми провели вивчення особливостей морфогенезу нижньої щелепи в контрольній групі молодих самців щурів статевозрілого віку в порівнянні до групи ізольованого впливу хлоридом кадмію. Оперативний забій тварин для отримання зразків відбувався на 14-тій, 20-тій та 30-тій добі експерименту. Після наркозу вилучались кістки, зважувались, вимірювались для протоколу і підлягали фіксації для подальшого гістологічного дослідження. Аналізуючи вагові показники, нами визначались відносні маси самої кістки до маси тварини, що є більш інформативним матеріалом для порівняння між групами. **Підсумок.** Хронічний вплив хлоридом кадмію в дозі 2,0 мг/кг на щурів призводить до збільшення вагових показників нижньої щелепи, що було підтверджено розрахуванням показнику індексу маси нижньої щелепи. Довготривалий вплив хлоридом кадмію призводить до змін в структурі кісткових трабекул нижньої щелепи, що проявлялось у мікротріщинах окремих кісткових трабекул та набряку остеоцитів на тлі підвищення ангиогенезу кісткової тканини. Порушення гістогенезу кісткової тканини визначається формуванням осередків гомогенізації матриксу, виникненням порожніх лакун або лакун з пікнотичними остеоцитами. Зміни в морфологічній будові суглобового хряща головки нижньої щелепи після хронічного введення хлориду кадмію виявляються в ушкодженні архітектури радіальних шарів колонок хондроцитів та порушенні зональності суглобового хряща. Гістологічні дослідження виявили затримку диференціації хондробластів, набряках клітин хряща та затримку диференціювання ізогенних клітин на тлі розшарування сполучної тканини в експерименті на щурах.

Ключові слова: нижня щелепа, морфологія, кісткова тканина, щільність, важкі метали, хлорид кадмію, морфометричні показники.

**А.О. Понирко
В.І Бумейстер**

Сумський державний університет,
Навчально-науковий медичний інститут
Суми, Україна

Надійшла: 04.05.2024

Прийнята: 15.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.73-77>

УДК 611.716.018.4.-001-019:616-073.75

МАРКЕРИ РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПІД ЧАС ПОРУШЕННЯ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ

Ponyrko A.O. , Bumeister V.I.  Markers of bone tissue remodeling in case of bone metabolism disorders. Sumy State University, Medical Institute, Sumy, Ukraine.

ABSTRACT. Introduction. Diabetes mellitus belongs to the group of debilitating metabolic diseases, as evidenced by the changes that occur in the organs and systems of the body. Today, experimental diabetology is of great importance for studying the pathogenesis of this disease. Functional and physiological restructuring of bone tissue occurs due to balanced processes of modeling and remodeling that run in parallel to each other. The article presents the results of the study of changes in biochemical markers of bone metabolism in rats with persistent hyperglycemia. **The aim** of the study was to determine the relationship between the level of metabolic changes in osteogenic cells and the secretion of bone remodeling markers in rat bones under conditions of experimental hyperglycemia. **Methods.** The study was conducted on 36 white laboratory rats. The rats were induced into a state of chronic hyperglycemia by a single intraperitoneal injection of alloxan dihydrate solution at a dose of 150 mg/kg body weight in 0.9% sodium chloride solution. The blood glucose level was determined by the glucose oxidase method. The level of glucose in urine was determined by the rapid method using test strips. The rats were withdrawn from the experiment every 30 days by decapitation under light thiopental-sodium anesthesia. The duration of the experiment was 60 days. Femurs were removed for the study. The study of osteogenic cells was performed by immunohistochemical analysis (IHC). The expression of osteopontin and RANKL in bone tissue was analyzed using a light microscope and the Allred scale. Statistical processing of the study results was performed using the Statistica v.10 program. **Results.** Persistent hyperglycemia leads to the development of destructive changes in osteogenic cells of the experimental group. These changes were manifested in a slowdown in bone remodeling, inhibition of osteogenic cells and their differentiation, which in turn leads to impaired growth and bone mineral density. In this case, in the rats of the experimental group, significant changes occurred already on day 30 of observation. **Conclusion.** It has been proved that in rats with a constantly high level of hyperglycemia there is a marked decrease in bone remodeling processes.

Key words: bone tissue, osteoblasts, osteoclasts, hyperglycemia, RANKL, osteopontin, metabolism.

Citation:

Ponyrko AO, Bumeister VI. [Markers of bone tissue remodeling in case of bone metabolism disorders]. Morphologia. 2024;18(2):73-7. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.73-77>

 Ponyrko A.O. 0000-0002-1799-7789

 Bumeister V.I. 0000-0001-8604-4458

✉ a.ponyrko@med.sumdu.edu.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Відомо, що гіперглікемія має значний негативний вплив на метаболізм кісткової тканини (КТ), що підвищує ризик перелому. Високі концентрації глюкози в організмі сповільнюють ріст клітин та мінералізацію кісток, сприяють накопиченню адипоцитів у червоному кістковому мозку, що в свою чергу впливає на зменшення кількості остеобластів [1, 2].

До маркерів ремоделювання КТ належать як клітинні, так і позаклітинні компоненти кісткової

тканини, які виділяються в кров під час резорбції та формування нової КТ [3]. Рівень кісткових маркерів безпосередньо пов'язаний із рівнем активності остеогенних клітин, таких як остеобласти та остеокласти. Порухення кісткового метаболізму може виникати при різних станах, таких як остеопороз, хронічні хвороби нирок, цукровий діабет I та II типів та ін [4, 5].

Порушення секреції інсуліну лежить в основі цукрового діабету, це призводить до ряду патологічних порушень, структурних та функціональних

особливостей майже всіх тканин організму за рахунок підвищення глюкозотоксичності з розвитком ускладнень в подальшому [6-8]. Унаслідок зменшення рівня інсуліну в організмі відбувається підвищення рівня глюкози (гіперглікемія), це сприяє розвитку патологічних змін у кістках [9]. Патологічна дія гіперглікемії порушує метаболічну функцію остеобластів, що впливає на зменшення синтезу остеокальцину, остеонектину, остеопонтину [10, 11].

Остеобласти експресуючи рецептор–активатор ядерного фактору RANKL – активізують остеокласти, який зв’язуючись з рецепторами на мембрані остеокластів запускає процес їх активації та диференціації [12-14]. Як наслідок, активовані остеокласти розпочинають процес резорбції КТ, спочатку розчиняючи неорганічні та органічні компоненти соляною кислотою і катепсином К [15, 16].

Кальцинація та декальцинація кісткової тканини відбувається протягом усього життя. Одночасно з руйнацією відбувається інтенсивний синтез та накопичення міжклітинної речовини [17]. Остеобласти синтезують остеопонтин, що приймає активну участь у процесах мінералізації клітинного матриксу. Остеопонтин також стимулює диференціювання остеокластів до зрілих клітин. Відтак, регуляція ремоделювання КТ є наслідком синхронної взаємодії між остеобластами та остеокластами [18].

Дослідження останніх років говорять, що регуляція ремоделювання кісткової тканини здійснюється гормонами, серед них: паратгормон, соматотропін, кальцитонін, тироксин, кортизол. Вони мають безпосередній вплив на процеси

остеогенезу та резорбції кісткової тканини [18, 19].

Сучасні дослідження визначають КТ як таку, що має активний метаболізм та значний ступінь реактивності, для неї характерні явища безперервної перебудови за рахунок процесів резорбції та постійної проліферації кісткових клітин [20]. Знання в цьому напрямку вкрай важливі дивлячись на розвиток сучасного світу відносно впливу екзогенних та ендогенних чинників на кісткову тканину, серед яких особливе місце займає гіперглікемія.

Метою дослідження було визначення зв’язку між рівнем секреції остеопонтину і RANKL та рівнем метаболічних змін у кістках щурів за умов експериментальної гіперглікемії.

Матеріали та методи

Дослідження було проведено на 36 білих лабораторних щурах масою 90-140 г. (віварій ННМІ СумДУ). Щури методом випадкової вибірки були розділені на дві групи: експериментальну (n = 18) та контрольну (n = 18). Щурів групи експерименту вводили у стан гіперглікемії за допомогою одноразової інтраперитонеальної ін’єкції розчину дигідрату алоксану в дозі 150 мг/кг маси тіла на 0,9% розчині хлориду натрію (за методикою Н.А. Пальчикової).

Щурів виводили з експерименту на кожну 30 добу (загальна тривалість - 90 діб) шляхом декапітації під легким тіопентал-натрієвим наркозом.

Для дослідження вилучали стегнові кістки щурів. Дослідження остеогенних клітин проводили за допомогою імуно-гістохімічного аналізу (ІГХ). Аналіз експресії остеопонтину та RANKL у кістковій тканині проводили із застосуванням світлового мікроскопа і шкали Allred (табл.1).

Таблиця 1

Панель антитіл для ІГХ-дослідження

Антитіло	Імунізована тварина	Клон	Розведення	Локалізація в клітині
Остеопонтин	Кролик	Поліклон	1:200	Цитоплазма
RANKL	Кролик	Поліклон	1:200	Цитоплазма+мембрана

Рівень глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом з використанням діагностичних наборів, рівень глюкози в сечі визначали на 2, 30, 60, 90-ту добу експерименту експрес-методом за допомогою тест-смужок.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою програми Statistica v.10. Достовірно вважали різницю при значенні $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Починаючи з 2-ї доби експерименту, у щурів групи експерименту спостерігалася значна полідипсія та поліурія, середній показник рівня глюкози в крові перевищував норму у декілька раз, та становив $18,9 \pm 2,10$ ммоль/л.

Вже на 30 добу експерименту вага тварин на

$9,8 \%$ була меншою порівняно з контролем, і становила $(93,34 \pm 1,08)$ г ($p < 0,001$).

Рівень глюкози в крові щурів експериментальної групи був $(19,30 \pm 1,69)$ ммоль/л ($p < 0,001$), що у 3 рази більше за показники щурів групи контролю.

Для визначення рівня експресії остеопонтину та RANKL у кістках щурів було проведено ІГХ дослідження, під час якого ми спостерігали високий рівень експресії остеопонтину, який на $8,9 \%$ був меншим порівняно з контролем. Проте рівень експресії RANKL у щурів із гіперглікемією був більшим за показники щурів групи контролю на $15,9 \%$. Частка позитивно забарвлених клітин була на $9,0 \%$ менше порівняно з контролем. Інтенсивність забарвлення цитоплазми в клітинах – сильна (+++).

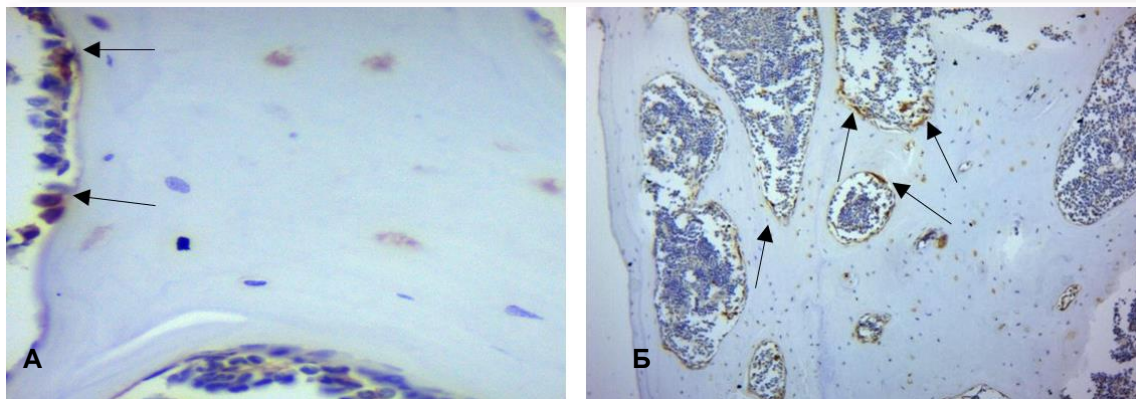


Рис. 1. Позитивна експресія остеопонтину (а) та RANKL (б) на 30-ту добу експерименту, ІГХ з гематоксином Майєра. а) $\times 400$; б) $\times 200$.

На 60 добу експерименту маса щурів дещо збільшилася та становила $(118,31 \pm 0,92)$ г ($p < 0,001$), але дефіцит маси тіла експериментальних щурів порівняно з контролем становив 10,7 %.

Рівень глюкози в крові все ще тримався високий $(13,9 \pm 1,43)$ ммоль/л, ($p < 0,001$), що у 3 рази більше за показники щурів групи контролю.

ІГХ – дослідження зразків кісток щурів показало, що відбувається зниження частки позитивно забарвлених клітин, що експресують остеопонтин та зростання показника RANKL на 15,4 %, який був більшим за показники щурів групи контролю, що може свідчити про активізацію резорбційних процесів у кістках.

Відповідно до шкали Allred було відмічено, що частка імунопозитивних клітин за показником остеопонтину відзначалась як висока, однак, вона

на 8,8 % була нижчою за показники щурів контрольної групи. Інтенсивність забарвлення цитоплазми була підвищена в трабекулярній кістковій тканині, можливо це зумовлено різною інтенсивністю метаболічних процесів кортикальної та трабекулярної кістки. Щільність кісткової тканини в деяких місцях була порушеною, про що свідчить наявність тріщин і щілин у кістковій тканині та зон кісткової резорбції.

У процесі імуногістохімічного аналізу ми спостерігали високий рівень експресії остеопонтину та RANKL в досліджуваних кістках. Проте показник експресії RANKL збільшується зі збільшенням терміну експерименту, а показники експресії остеопонтину поступово зменшувались порівняно з контролем. За дефіциту остеопонтину спостерігається сповільнення утворення КТ та прискорення втрати кісткової маси.

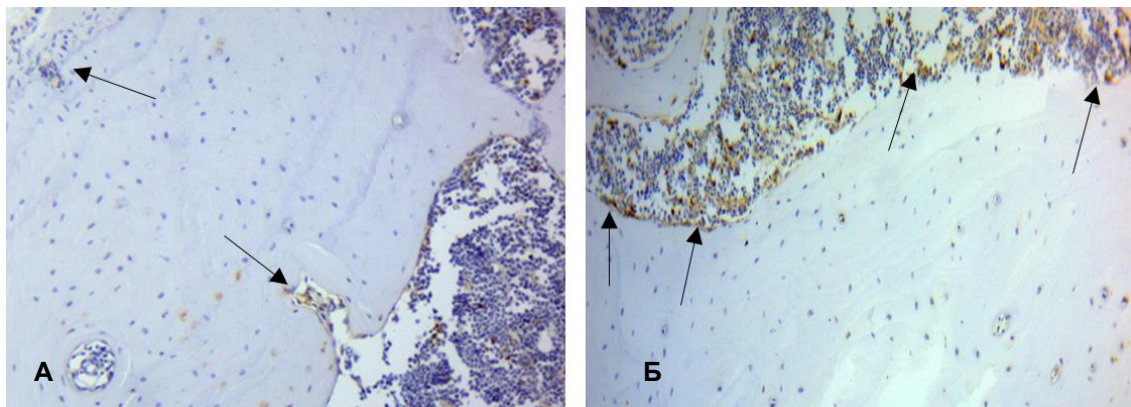


Рис. 2. Позитивна експресія остеопонтину (а) та RANKL (б) у щурів на 60-ту добу експерименту, ІГХ з гематоксином Майєра. $\times 200$.

Отримані результати показників маси тіла тварин на 90 добу експерименту вказують на достовірне зменшення показників та становили $(135,3 \pm 2,65)$ г ($p < 0,001$), що на 11,2 % менше порівняно з контролем.

Рівень глюкози в крові стабільно високий

$(13,8 \pm 1,48)$ ммоль/л, ($p < 0,001$), що також у 3 рази перевищує показники норми та підтверджує наявність стійкої гіперглікемії.

Експресія остеопонтину в різних локусах досліджуваних кісток встановила, що частка пози-

тивно забарвлених клітин була різною, що свідчить про помірну проліферативну активність клітин. Інтенсивність забарвлення клітин сильна (+++). У кістковій тканині стегнових кісток спос-

терігалася наявність тріщин та зон кісткової резорбції.

Експресія RANKL сильна та була на 15,4 % вища за показники норми. Інтенсивність забарвлення цитоплазми помірна (++)

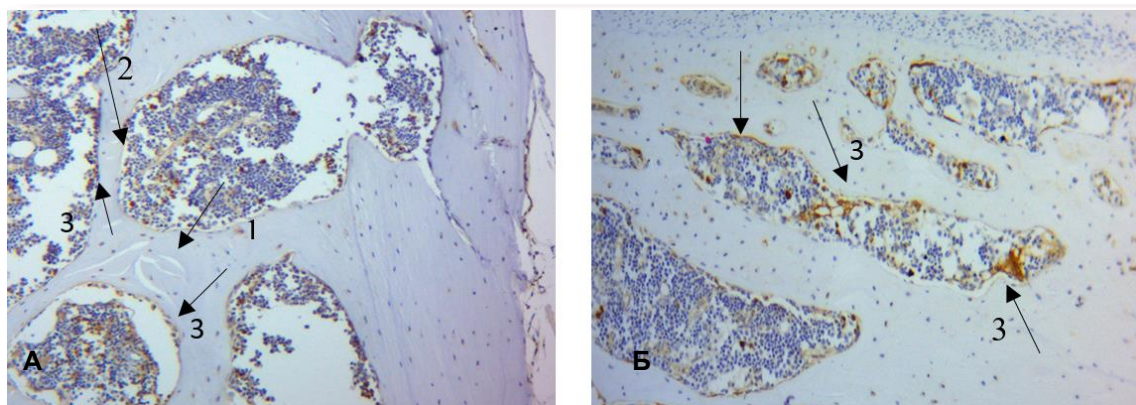


Рис. 3. Позитивна експресія остеопонтину (а) та RANKL (б) на 90-ту добу експерименту, ІГХ з гематоксиліном Майєра. 1 – тріщини КТ; 2 – наявність кісткової резорбції; 3 – експресовані клітини. ×400.

Підсумок

У проведеному дослідженні було виявлено високий рівень експресії остеопонтину в кістках, проте він був нижчий порівняно з контролем. Зниження позитивно імунореактивних клітин негативно впливає на процес ремоделювання кісткової тканини та її метаболізм.

Показники експресії RANKL навпаки – найменший показник прояву спостерігався на початку з подальшим посиленням зі збільшенням терміну спостереження. Що говорить про посилення резорбційних процесів за умов стійкої гіперглікемії.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується порівняти ступінь

структурних змін довгих трубчастих кісток щурів у віковому аспекті за умов хронічної гіперглікемії.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування. Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи «Морфологічні аспекти експериментальної патології внутрішніх органів та опорно-рухового апарату» (номер державної реєстрації 0123U101135).

Літературні джерела References

1. Zhang X, Krishnamoorthy S, Tang CT, Hsu WW, Li GH, Sing CW, Tan KC, Cheung BM, Wong IC, Kung AW, Cheung CL. Association of Bone Mineral Density and Bone Turnover Markers with the Risk of Diabetes: Hong Kong Osteoporosis Study and Mendelian Randomization. *J Bone Miner Res.* 2023;38(12):1782-1790. doi: 10.1002/jbmr.4924.
2. Hofbauer LC, Busse B, Eastell R, et al. Bone fragility in diabetes: novel concepts and clinical implications. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2022;10(3):207–220.
3. Capulli M, Ponzetti M, Maurizi A, et al. A complex role for lipocalin 2 in bone metabolism: global ablation in mice induces osteopenia caused by an altered energy metabolism. *J Bone Miner Res.* 2018;33(6):1141–1153.
4. Cheung CL, Tan KCB, Kung AWC. Cohort profile: the Hong Kong osteoporosis study and the follow-up study. *Int J Epidemiol.* 2018;47(2):397–398f.
5. Chau YP, Au PCM, Li GHY, et al. Serum metabolome of coffee consumption and its association with bone mineral density: the Hong Kong osteoporosis study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(3):dgz210.
6. Li GH, Cheung CL, Au PC, Tan KC, Wong IC, Sham PC. Positive effects of low LDL-C and statins on bone mineral density: an integrated epidemiological observation analysis and Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol.* 2020;49(4):1221–1235.
7. Cheung CL, Sing CW, Lau WCY, et al. Treatment with direct oral anticoagulants or warfarin and the risk for incident diabetes among patients with atrial fibrillation: a population-based cohort study. *Cardiovasc Diabetol.* 2021;20(1):71.

8. Luk AOY, Ke C, Lau ESH, et al. Secular trends in incidence of type 1 and type 2 diabetes in Hong Kong: a retrospective cohort study. *PLoS Med.* 2020;17(2):e1003052.
9. Morris JA, Kemp JP, Youlten SE, et al. An atlas of genetic influences on osteoporosis in humans and mice. *Nat Genet.* 2019;51(2):258–266.
10. Mahajan A, Spracklen CN, Zhang W, et al. Multi-ancestry genetic study of type 2 diabetes highlights the power of diverse populations for discovery and translation. *Nat Genet.* 2022;54(5):560–572.
11. Liu Z, Asuzu P, Patel A, Wan J, Dagogo-Jack S. Association of bone mineral density with pre-diabetes risk among African-American and European-American adult offspring of parents with type 2 diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:1065527.
12. Matsumoto T, Endo I. RANKL as a target for the treatment of osteoporosis. *J Bone Miner Metab.* 2021 Jan;39(1):91-105.
13. Ming J, Cronin SJF, Penninger JM. Targeting the RANKL/RANK/OPG Axis for Cancer Therapy. *Front Oncol.* 2020 Aug 7;10:1283.
14. Györi DS, Mócsai A. Osteoclast Signal Transduction During Bone Metastasis Formation. *Front Cell Dev Biol.* 2020 Jun 19;8:507.
15. Wu M, Ai W, Chen L, Zhao S, Liu E. Bradykinin receptors and EphB2/EphrinB2 pathway in response to high glucose-induced osteoblast dysfunction and hyperglycemia-induced bone deterioration in mice. *Int J Mol Med.* 2019 Apr;43(4):1920.
16. Guo H, Wang C, Jiang B, et al. Association of insulin resistance and beta-cell function with bone turnover biomarkers in dysglycemia patients. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:554604.
17. Starup-Linde J, Lykkeboe S, Handberg A, et al. Glucose variability and low bone turnover in people with type 2 diabetes. *Bone.* 2021;153:116159.
18. Frost M, Balkau B, Hatunic M, Konrad T, Mingrone G, Hojlund K. The relationship between bone turnover and insulin sensitivity and secretion: cross-sectional and prospective data from the RISC cohort study. *Bone.* 2018;108:98–105.
19. Picke AK, Campbell G, Napoli N, Hofbauer LC, Rauner M. Update on the impact of type 2 diabetes mellitus on bone metabolism and material properties. *Endocr Connect.* 2019 Mar 1;8(3):R55-R70.
20. Wang L, Li T, Liu J, Wu X, Wang H, Li X, et al. Association between glycosylated hemoglobin A1c and bone biochemical markers in type 2 diabetic postmenopausal women: a cross-sectional study. *BMC Endocr Disord.* 2019 Mar 12;19(1):31.

Понирко А.О., Бумейстер В.І. Маркери ремоделювання кісткової тканини під час порушення кісткового метаболізму.

РЕФЕРАТ. Вступ. Цукровий діабет належить до групи виснажливих метаболічних захворювань, про це свідчать зміни, що виникають у органах та системах організму. На сьогоднішній день експериментальна діабетологія має велике значення для вивчення патогенезу цього захворювання. Функціональна та фізіологічна перебудова кісткової тканини відбувається завдяки врівноваженим процесам моделювання та ремоделювання, що проходять паралельно один одному. В статті наведено результати дослідження зміни біохімічних маркерів кісткового метаболізму у щурів зі стійкою гіперглікемією. **Метою** дослідження було визначення зв'язку між рівнем метаболічних змін остеогенних клітин та секрецією маркерів кісткового ремоделювання у кістках щурів за умов експериментальної гіперглікемії. **Методи.** Дослідження було проведено на 36 білих лабораторних щурах. Щурів вводили у стан хронічної гіперглікемії за допомогою одноразової інтраперитонеальної ін'єкції розчину дигідрату алоксану в дозі 150 мг/кг маси тіла на 0,9% розчині хлориду натрію. Рівень глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом. Рівень глюкози в сечі визначали експрес-методом з використанням тест-смужок. Щурів виводили з експерименту на кожну 30 добу шляхом декапітації під легким тіопентал-натрієвим наркозом. Тривалість експерименту 60 діб. Для дослідження вилучали стегнові кістки. Дослідження остеогенних клітин проводили за допомогою імуно-гістохімічного аналізу (ІГХ). Аналіз експресії остеопонтину та RANKL у кістковій тканині проводили із застосуванням світлового мікроскопа і шкали Allred. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою програми Statistica v.10. **Результати.** Стійка гіперглікемія призводить до розвитку деструктивних змін у остеогенних клітинах щурів експериментальної групи. Вказані зміни проявлялися у сповільненні ремоделювання кісткової тканини, пригніченні остеогенних клітин та їх диференціації, що в свою чергу призводить до порушення ростових показників та мінеральної щільності кісткової тканини. При цьому у щурів експериментальної групи достовірні зміни виникають вже на 30 добу спостереження. **Підсумок.** Доведено, що у щурів на тлі постійно високого рівня гіперглікемії спостерігається виражене зниження процесів ремоделювання в кістковій тканині.

Ключові слова: кісткова тканина, остеобласти, остеокласти, гіперглікемія, RANKL, остеопонтин, метаболізм.

Х.І. Рудницька ¹, Л.В. Панкевич ¹,
М.Я. Камінська ², А.В. Поліянц ³,
І.В. Твердохліб ⁴

¹ Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького

² КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна
лікарня», Львів

³ Київська обласна клінічна лікарня, Київ

⁴ Дніпровський державний медичний
університет
Дніпро, Україна

Надійшла: 11.05.2024

Прийнята: 22.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.78-83>

УДК:611.841.019:611.13.16\616.379-008.64-036.12-092.4.

СТАН СУДИН КОН'ЮНКТИВИ ОКА ЩУРА У СУБХРОНІЧ- НОМУ ТА ХРОНІЧНОМУ ПЕ- РІОДАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬ- НОГО СТРЕПТОЗОТОЦИНО- ВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Rudnytska Kh. I. , Pankevych L.V. , Kaminska M.Ya. , Poliiants A.V. , Tverdokhlib I.V.  ✉ The condition of the conjunctival vessels of the rat eye in the subchronic and chronic periods of experimental streptozotocin diabetes.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University; Lviv Regional Clinical Hospital, Lviv; Kyiv Regional Clinical Hospital, Kyiv; Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Diabetes mellitus is a significant medical and social issue. This is due to the challenges in early diagnosis, its widespread prevalence, and the severity of its complications, despite advancements in treatment. Despite the widespread adoption of cutting-edge diagnostic and therapeutic technologies, diabetic retinopathy remains a leading cause of vision impairment among the working population. Even today, eye complications from diabetes pose a substantial medical and social challenge worldwide. **The aim** of our study was to investigate the features of the conjunctival hemomicrocirculatory bed in rats during subchronic and chronic periods of experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus. **Methods.** The study was conducted on 25 adult, non-pedigree white male rats weighing 120-130 g. The work used 2 groups of animals: group 1 (10 animals) with developing diabetes mellitus (2 weeks after streptozotocin administration); group 2 (10 animals) with established diabetes mellitus (6 weeks after streptozotocin administration); group 3 was a control group (5 animals) that received injections of 0.9% saline solution for 6 weeks. Microscopic studies and photographing of the preparations were performed using a MBI-1 microscope and a Nikon D 3100 digital camera. **Results.** Our studies showed that the capillary network is denser in the area of the lower transitional fold of the conjunctiva of the rat eyeball. Visually, individual capillaries with a linear direction of location are observed, or separate areas of the capillary network in the form of one or several loops. Quite often, the loops of the capillary network of the conjunctiva have a polygonal shape. In patients with experimental diabetes induced by streptozotocin, characteristic manifestations in the conjunctiva include the appearance of capillary microaneurysms, predominantly in the venous bend, the appearance of tortuosity, a decrease in the density of the capillary network, and, as a consequence, obliteration of part of the capillaries. It can be clearly stated that diabetes is associated with a decrease in the lumen of the capillaries. This study will provide a pathomorphological basis for establishing optimal timeframes, from the perspective of experimental morphology, for future pharmacologic correction of changes in the vascular structures of the rat eyeball during subchronic and chronic periods. This is crucial for stabilizing the emerging and progressively worsening manifestations of diabetic microangiopathy.

Key words: eye, conjunctiva, hemomicrocirculatory bed, capillary, angiopathy, experiment, diabetes, rat.

Citation:

Rudnytska KhI, Pankevych LV, Kaminska MYa, Poliiants AV, Tverdokhlib IV. [The condition of the conjunctival vessels of the rat eye in the subchronic and chronic periods of experimental streptozotocin diabetes]. Morphologia. 2024;18(2):78-83. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.78-83>

 Rudnytska Kh.I. 0000-0002-9474-7863;  Pankevych L.V. 0000-0001-8687-7628;

 Kaminska M.Ya. 0009-0004-9099-1684;  Poliiants A.V. 0000-0003-2611-0294;

 Tverdokhlib I.V. 0000-0002-8672-3773

✉ ivt@dmu.edu.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Проблема цукрового діабету має велике медичне та соціальне значення. Це зумовлено труднощами ранньої діагностики, широким розповсюдженням та важкістю наслідків хвороби, незважаючи на успіхи її лікування. Згідно світової статистики, цукровим діабетом хворіють 1 - 4 % усього населення а за іншими даними – від 15 – 20 %. Міжнародна діабетична федерація наголошує, що 537 млн дорослих у світі живуть з цукровим діабетом, на цю хворобу хворіє кожен 10-й. За прогнозами, до 2030 року їх кількість може зрости до 643 млн або навіть 700 млн. Кількість людей з діабетом у віці 20-79 років в Україні складає 2 млн 325 тисяч. Такі дані 10-го видання Diabetes Atlas Міжнародної діабетичної федерації станом на 2021 рік [1]. Сто років тому цукровий діабет був смертельним вироком. Наукові відкриття та винаходи у лікуванні цукрового діабету на сьогоднішній день кардинально змінили якість життя пацієнтів [2]. Судинним змінам у сітківці передують порушення мікроциркуляції в судинах кон'юнктиви, які можна виявити з допомогою біомікроскопії практично в усіх хворих на цукровий діабет. Незважаючи на широке впровадження новітніх технологій діагностики та лікування, діабетичної ретинопатії займає пріоритетне місце серед причин інвалідності за зором серед працездатного населення. Навіть сьогодні очні ускладнення цукрового діабету є величезною медичною та соціальною проблемою у світі [3- 10]. Офтальмологічний аспект проблеми пов'язаний не тільки з активною участю окулістів у ранній діагностиці та контролі за перебігом цукрового діабету, а також з підвищенням ефективності лікування та попередження розповсюдження проявів хвороби [11-15].

Враховуюче вищезгадане, діабетичне ураження структур очного яблука і надалі залишається актуальною проблемою розвитку діабетичного ураження судин кон'юнктиви.

Мета дослідження: з'ясувати особливості гемомікроциркуляторного русла кон'юнктиви ока щура на ранніх термінах експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 25 статевозрілих безпородних білих щурах-самцях, масою 120-130 г. Експериментальний цукровий діабет викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозототину фірми "Sigma" з розрахунку 6 мг на 100 г маси тіла (приготованому на 0,1 моль цитратному буфері, pH=4,5). Розвиток цукрового діабету контролювали впродовж 2 тижнів за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили з другого тижня експерименту на тваринах з рівнем глюкози понад 13,48 ммоль на 1 л. У роботі використовували 2 групи тварин: 1 - група (10 тварин) - з цукровим діабетом, що

розвивається (2 тижні після введення стрептозототину); 2 - група (10 тварин) - з цукровим діабетом, що розвинувся (6 тижні після введення стрептозототину); 3 - група була контрольною (5 тварин), отримували ін'єкції 0,9% фізіологічного розчину упродовж 6 тижнів.

Усі тварини знаходились в умовах віварію і процедури, що стосувалися питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [16, 17]. Комісія з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01. 11. 2000 року. Перед забором матеріалу дослідної ділянки тварину виводили з експерименту за допомогою диетологічного ефіру. Для мікроскопічного дослідження використовували кон'юнктиву і очні яблука щурів. Препарати, попередньо контрастовані (тушю), вивчали під бінокулярною лупою у прохідному світлі. Мікроскопічні дослідження та фотографування препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа МБІ – 1 і цифровим фотоапаратом Nikon D 3100.

Результати та їх обговорення

При макроскопічному огляді кон'юнктива блідо рожевого коляру, помірно зволожена з ділянками локальної гіперемії у тварин контрольної групи патологічні зміни не візуалізувались.

При мікроскопічному дослідженні кон'юнктиви ока щура у гострому та субхронічному періоді перебігу стрептозототиніндукованого цукрового діабету виявлено, що відбувається порушення мікроциркуляції кон'юнктиви з появою морфологічних змін мікросудин, розлади мікрогемодинаміки та зміни реологічних показників крові. У мікросудинах бульбарної кон'юнктиви було виявлено мікроаневризми, розширення венул, звуження артеріол, ампулоподібні розширення мікросудин, звивистість капілярів їх облітерація, без судинної поля, зони запустіння, агрегація еритроцитів, мікрогеморагії (Рис.1). Наявність агрегації тільки в просвіті венул не можна розглядати як ознаку, що однозначно вказує на патологію. За даними наших досліджень поруч з вище переліченими ознаками характерною для діабетичної мікроангіопатії є виникаюча своєрідна зви-

вистість капілярної частини гемомікроциркуляторного русла. Контури капілярів при цьому нерідко набувають вигляд нерівномірних зубців. Слід відзначити, що вищезазначені патоморфологічні прояви суттєво змінюються по частоті та глибині проявів і не завжди корелюють з рівнем глюкози та тривалістю діабету. Таким чином у тварин на даному терміні експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету частота зустрітваності мікроаневризм кон'юнктивальних судин була у 10 разів більшою, ніж у судинах кон'юнктиви тварин контрольної групи. Наявність зон ішемії в ділянці бульбарної кон'юнктиви, як правило є наслідками облітерації капілярів (Рис.2). Вони були присутні у тварин з експериментальним стрептозототиніновим цукровим діабетом у 5 разів частіше ніж у тварин контрольної групи, а процес агрегації еритроцитів у просвіті судин бульбарної кон'юнктиви нами спостерігався у 7 разів частіше. Явища мікрогеморагій за ходом судин були присутні у 6 - ти з десяти тварин на даному етапі перебігу експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету, у тварин контрольної групи це явище було відсутнє повністю.

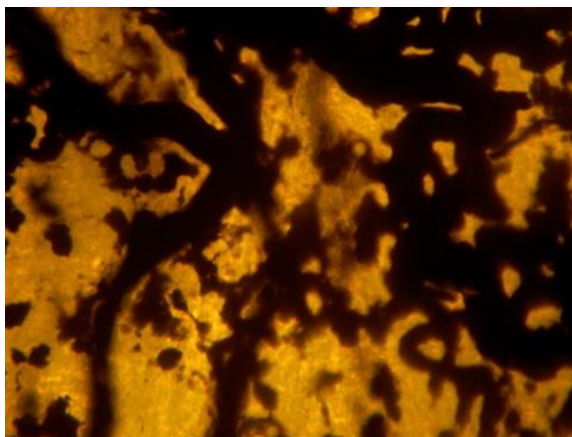


Рис. 1. Судини бульбарної кон'юнктиви у субхронічному періоді експериментального стрептозототинінового цукрового діабету.

Більшість з виявлених нами ознак не є специфічними тільки для цукрового діабету. Однак, виявлені нами патоморфологічні прояви були більш характерними для експериментальної моделі стрептозототиніндукованого цукрового діабету, ніж при інших системних судинних патологіях. У щурів у гострому та субхронічному періоді перебігу при стрептозототиніндукованому цукровому діабеті також відмічалися явища дилатації венул, збільшення мікроаневризм капілярів та венул бульбарної кон'юнктиви та перилімбальної судинової сітки, поява мікрогеморагій за ходом мікросудин. В ділянці перилімбальної судинової сітки нами відмічалась часткова облітерація капілярів з подальшим формуванням ішемізованих ділянок, в

кон'юнктиві склери були присутні аналогічні зміни. Виникали звуження та нерівномірність просвітів артеріол з явищами агрегації у венулах. Артеріоло – венулярний коефіцієнт як правило зменшений.

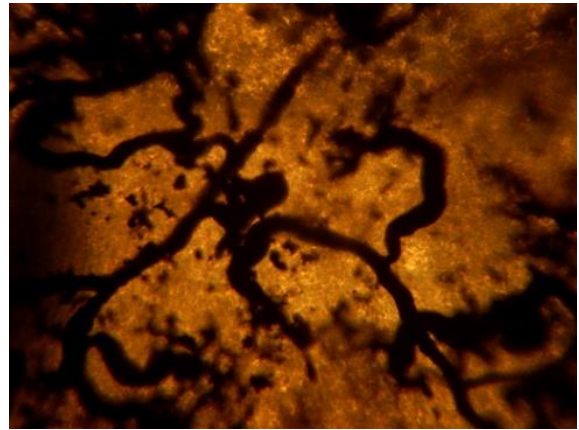


Рис. 2. Ішемічні зони у бульбарній кон'юнктиві у субхронічному періоді експериментального стрептозототинінового цукрового діабету.

Мікрогеморагії бульбарної кон'юнктиви за ходом судин на даному терміні експерименту були присутні у всіх тварин крім тварин контрольної групи.

За нашими спостереженнями найбільш ранніми проявами загальної мікроангіопатії при експериментальному стрептозототиніновому цукровому діабеті є розширення венул бульбарної кон'юнктиви і венозних мікросудин перилімбальної сітки, а також, формування мікроаневризм.

У більшості випадків нами була відмічена особливість між тривалістю цукрового діабету і характером зміни судин кон'юнктиви. При мікроскопічному дослідженні судин кон'юнктиви окочура у хронічному періоді перебігу стрептозототиніндукованого цукрового діабету виявлено, що відбувається різко виражене явище звуження просвіту артеріол, збільшення ішемічних зон бульбарної кон'юнктиви як наслідок розповсюдженної облітерації капілярів (Рис.3). У мікросудинах сітки ділянки лімба збільшується кількість облітерованих капілярів, це явище супроводжується процесами деформації аркад та розширенням ділянок ішемії, сповільненням процесу кровоплину у мікросудинах, прогресуванням процесів агрегації еритроцитів у венулах та артеріолах.

Процес розширення венул бульбарної кон'юнктиви у тварин на даному терміні експерименту призводить не тільки до зменшення артеріоло – венулярного коефіцієнту у порівнянні з контрольною групою але і до процесів дилатації стінок венул, що є показником наявності венозного застою і як наслідок підвищення тиску у капілярах та посиленню процесів фільтрації компонентів плазми крові екстравазально. Досить часто мікроаневризми капілярів та венул бульбарної

кон'юнктиви являли собою розширення з ознаками фестон- частості їх країв. На відміну від мікроаневризм геморагії, локалізуються по ходу мікросудин, вони непов'язані з їх стінками їх кількість і розміри були варіабельними. Множинність мікрогеморагії вказує на різке порушення проникливості стінок мікросудин, зміну реологічних властивостей крові та важкість процесу перебігу експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету.



Рис. 3. Збільшення кількості ішемічних зон у бульбарній кон'юнктиві у хронічному періоді експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету.

Як показали наші дослідження, найбільшу щільність капілярна сітка має в ділянці нижньої перехідної складки кон'юнктиви очного яблука. Візуально проглядаються поодинокі капіляри, що мають лінійний напрямок залягання, або окремі ділянки капілярної сітки у вигляді одної чи декількох петель. Досить часто петлі капілярної сітки кон'юнктиви мають полігональну форму. Особливою ознакою капілярів є однорядне розташування та деформація еритроцитів у їх просвітах.

Висновки

1. Більшу щільність капілярна сітка має в ділянці нижньої перехідної складки кон'юнктиви очного яблука щура. Візуально проглядаються поодинокі капіляри, що мають лінійний напрямок залягання, або окремі ділянки капілярної сітки у вигляді одної чи декількох петель. Досить часто

петлі капілярної сітки кон'юнктиви мають полігональну форму.

2. Характерними проявами у кон'юнктиві на фоні стрептозототиніндукованого експериментального діабету є формування мікроаневризмів у капілярній ланці переважно венозного коліна, поява звивистості, зменшення щільності капілярної сітки як наслідок облітерації частини капілярів. Можна чітко стверджувати, що при діабеті відмічається зменшення просвіту капілярів.

Перспективи подальших досліджень

Вивчення структурної перебудови судин кон'юнктиви ока щура субхронічному та хронічному періодах перебігу експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету дасть можливість створити патоморфологічне підґрунтя для встановлення оптимальних з точки зору морфології термінів проведення медикаментозної корекції змін у судинному руслі ока щура у субхронічний та хронічний періоди впливу гіперглікемії з метою стабілізації виникаючих та в подальшому прогресуючих явищ діабетичної мікроангіопатії.

Результати проведеного дослідження у майбутньому дозволять обґрунтувати схему медикаментозної корекції змін у судинному руслі ока щура при експериментальному стрептозототиніндукованому цукровому діабеті на підставі співставлення патоморфологічних проявів у субхронічний та хронічний періоди експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету. Це надасть нам можливість встановити найбільш оптимальний період проведення корекції з метою стабілізації проявів діабетичної ангіопатії.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональні особливості органів у пре- та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операцій та ожирінні» (номер державної реєстрації 0120U002129).

Літературні джерела References

1. Atlas «Diabetes Mellitus in Ukraine». 2021; Part 1. 140 p. Ukrainian. <https://diabetesatlas.com.ua/ua>.
2. Sims EK, Alice LJ, Carr ALJ. 100 years of insulin: celebrating the past, present and future of diabetes therapy. *Nat Med.* 2021;27(7):1154–1164. DOI: 10.1038/s41591-021-01418-2.
3. Liew G, Wong TY, Mitchell P. Retinopathy predicts coronary heart disease mortality. *Heart.*

- 2009;95(5):391-394.
4. Vijan S, Hofer TP, Hayward RA. Cost-utility analysis of screening intervals for diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2000;283(7):889-896.
5. Matuszewski W, Szklarz M, Wołos-Kłosowicz K, Harazny JM, Bandurska-Stankiewicz E. High-Resolution Imaging of Cones and Retinal Arteries in Patients with Diabetes Mellitus Type 1 Using

Adaptive Optics (rtx1). *Biomedicines*. 2024;12(4):863. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12040863>

6. Kempen JH, O'Colmain BJ, Leske MC. Eye Diseases Prevalence Research Group. The prevalence of diabetic retinopathy among adults in the United States. *Arch. Ophthalmol.* 2004;122(4):552-563.

7. Hovind P, Tarnow L, Rossing K. Decreasing incidence of severe diabetic microangiopathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(4):1258-1264.

8. Abdouh M, Khanjari A, Abdelazziz N, Ongali B, Couture R, Has séssian HM. Early upregulation of kinin B1 receptors in retinal microvessels of the streptozotocin-diabetic rat. *Br J Pharmacol.* 2003;140:33-40.

9. Abdouh M, Talbot S, Couture R, Hassessian HM. Retinal plasma extravasation in streptozotocin-diabetic rats mediated by kinin B(1) and B(2) receptors. *Br J Pharmacol.* 2008;154:136-143.

10. Abu El-Asrar AM, Desmet S, Meersschaert A, Dralands L, Missotten L, Geboes K. Expression of the inducible isoform of nitric oxide synthase in the retinas of human subjects with diabetes mellitus. *Am J Ophthalmol.* 2001;132:551-556.

11. Abu El-Asrar AM, Meersschaert A, Dralands L, Missotten L, Geboes K. Inducible nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor are colocalized in the retinas of human subjects with diabetes. *Eye (London, England)*. 2004;18:306-313.

12. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT,

D'Amico DJ, Folkman J, Yeo TK, Yeo KT. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol/* 1994;118:445-450.

13. Adela R, Nethi SK, Bagul PK, Barui AK, Mattapally S, Kuncha M, Patra CR, Reddy PN, Banerjee SK. Hyperglycaemia enhances nitric oxide production in diabetes: A study from South Indian patients. *PLoS One*. 2015;10:e0125270.

14. Wright WS, Eshaq RS, Lee M, Kaur G, Harris NR. Retinal Physiology and Circulation: Effect of Diabetes. *Comprehensive Physiology*. 2020;10(3):933-974. <https://doi.org/10.1002/cphy.c190021>

15. Baskal S, Tsikas D. Free L-Lysine and Its Methyl Ester React with Glyoxal and Methylglyoxal in Phosphate Buffer (100 mM, pH 7.4) to Form N^ε-Carboxymethyl-Lysine, N^ε-Carboxyethyl-Lysine and N^ε-Hydroxymethyl-Lysine. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(7):3446. <https://doi.org/10.3390/ijms23073446>

16. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg: Council of Europe. 1986;123:52.

17. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010;53(L276):33-79.

Рудницька Х.І., Панкевич Л.В., Камінська М.Я., Полянц А.В., Твердохліб І.В. Стан судин кон'юнктиви ока щура у субхронічному та хронічному періодах експериментального стрептозотцинового цукрового діабету.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Проблема цукрового діабету має велике медичне та соціальне значення. Це зумовлено труднощами ранньої діагностики, широким розповсюдженням та важкістю наслідків хвороби, незважаючи на успіхи її лікування. За прогнозами, до 2030 року їх кількість може зрости до 643 млн або навіть 700 млн. Кількість людей з діабетом у віці 20-79 років в Україні складає 2 млн 325 тисяч. Хоча новітні технології діагностики та лікування широко застосовуються, діабетична ретинопатія все ще є однією з найпоширеніших причин інвалідності серед працездатного населення. Очні ускладнення цукрового діабету і сьогодні становлять величезну медичну та соціальну проблему у всьому світі. **Метою** нашого дослідження стало з'ясування особливостей гемомікроциркуляторного русла кон'юнктиви ока щура у субхронічний та хронічний періоди перебігу експериментального стрептозотциніндукованого цукрового діабету. **Методи.** Дослідження проводили на 25 статевозрілих безпородних білих щурах –самцях, масою 120-130 г. Експериментальний цукровий діабет викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотцину фірми "Sigma" з розрахунку 6 мг на 100 г маси тіла (приготованому на 0,1 моль цитратному буфері, рН=4,5). Розвиток цукрового діабету контролювали впродовж 2 тижнів за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили з другого тижня експерименту на тваринах з рівнем глюкози понад 13,48 ммоль на 1 л. У роботі використовували 2 групи тварин: 1 - група (10 тварин) - з цукровим діабетом, що розвивається (2 тижні після введення стрептозотцину); 2 - група (10 тварин) - з цукровим діабетом, що розвинувся (6 тижні після введення стрептозотцину); 3- група була контрольною (5 тварин), отримували ін'єкції 0,9% фізіологічного розчину впродовж 6 тижнів. Перед забором матеріалу дослідної ділянки тварину виводили з експерименту за допомогою дієтилового ефіру. Для мікроскопічного дослідження використовували кон'юнктиву і очні яблука щурів. Препарати попередньо контрастовані (тушшю) вивчали під бінокулярною лупою у прохідному світлі. Мікроскопічні дослідження та фотографування препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа МБІ – 1 і цифровим фотоапаратом Nikon D 3100. **Результати та підсумок.** Як показали наші дослідження, більшу щільність капілярна сітка має в ділянці нижньої перехідної складки кон'юнктиви очного яблука щура. Візуально проглядаються поодинокі капіляри, що мають лінійний напрямок залягання, або окремі

ділянки капілярної сітки у вигляді одної чи декількох петель. Досить часто петлі капілярної сітки кон'юнктиви мають полігональну форму. У хворих на експериментальний діабет, викликаний стрептозотоцином, характерним проявом у кон'юнктиві є поява капілярних мікроаневризм, переважно венозного коліна, поява звивистості, зменшення щільності капілярної сітки і, як наслідок, облітерації частини капілярів. Можна чітко стверджувати, що при діабеті відмічається зменшення їхніх просвітів. Проведене дослідження дасть можливість створити патоморфологічне підґрунтя для встановлення оптимальних, з точки зору експериментальної морфології, термінів проведення у майбутньому медикаментозної корекції змін у судинних ланках очного яблука щура у субхронічний та хронічний періоди з метою стабілізації виникаючих та в подальшому прогресуючих явищ діабетичної мікроангіопатії.

Ключові слова: око, кон'юнктива, гемомікроциркуляторне русло, капіляр, ангіопатія, експеримент, діабет, щур.

І.В. Челпанова

Львівський національний
медичний університет імені
Данила Галицького
Львів, Україна

Надійшла: 11.05.2024
Прийнята: 12.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.84-90>

УДК 611.716.018.4.-001-019:616-073.75

ПОРІВНЯННЯ ДИНАМІКИ ЗМІН ЩІЛЬНОСТІ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ КРОЛИКА ПРИ ЗАСТОСУВАННІ РІЗНИХ ОСТЕОПЛА- СТИЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

Chelpanova I.V.   **Comparison of bone density changes in rabbit mandible using different osteoplastic materials.**

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Nowadays, premature tooth loss is a significant problem not only in dentistry but also in general medicine. The effectiveness of dental prosthetics is largely determined by the condition of the jaw bone. Therefore, osteoplastic materials find wide application in filling bone defects that occur after injuries and tooth extractions, with the goal of preserving the volume and quality of bone tissue in the angular regions of the jaws. Advanced imaging techniques allow for the assessment of bone quality using mineral density as a biomarker. Experimental methods play a crucial role in understanding the processes occurring in the body during the development of pathological conditions. **Objective.** The aim of our study was to investigate the characteristics of mineral density of rabbit mandible bone and its restoration after implantation of different osteoplastic materials into its cavity. **Methods.** Adult male rabbits aged 6-7 months and weighing 2.5-3 kg were used for the study. The animals were divided into a control and two experimental groups. The control group included animals with bone tissue defects that healed under a blood clot. Intact animals were examined to determine the normal bone density in the area of injury. Experimental group 1: Animals with bone defects filled with Collacone (Botissdental), a natural matrix for new bone cell formation. Experimental group 2: Animals with bone defects filled with Collacone (Botissdental), followed by intramuscular injections of lincomycin hydrochloride (30% solution) at a dosage of 25 mg/kg once daily, starting 6 days after the injury. **Results and conclusion.** When healing a bone injury under a blood clot, the dynamics of bone density in the area of injury have a smooth course with a slight increase in values compared to normal. When filling the defect with osteoplastic materials, we observe pronounced dynamics of changes in the studied indicator with sharp fluctuations at different stages of the experiment (depending on the material used). Comparing the dynamics of bone density in the angular region of the mandible after filling the defect with Collacone (Botissdental) with the control allowed us to establish its characteristics, specific for the experimental and control groups of animals. A significant difference was found when comparing normal bone density values with those established at different time points of post-traumatic bone regeneration with the Collacone-filled defect: 1 day, 7 days, 14 days, 21 days, 28 days, 35 days, 56 days ($p < 0.001$), and 84 days ($p < 0.05$). Comparing the studied indicators established for this experimental group over different periods of the experiment revealed a significant difference between the values recorded after 1 day and 56 days ($p < 0.05$), 1 day and 84 days ($p < 0.05$), 14 days and 28 days ($p < 0.05$), 14 days and 56 and 84 days ($p < 0.01$), 21 days and 84 days ($p < 0.05$), 35 days and 84 days ($p < 0.05$). When comparing bone density indicators in the area of injury in animals whose bone defect was filled with Collacone (Botissdental) and intramuscularly injected with lincomycin hydrochloride, a significant difference ($p < 0.01$) was found in their values established over different periods of the experiment. Specifically, a significant difference was found with normal values for those established over 1-56 days ($p < 0.001$), and 84 days ($p < 0.05$) of the experiment. A significant difference ($p < 0.05$) was also found between the studied indicators established at different time points of post-traumatic bone regeneration in animals included in this experimental group. In particular, a significant difference ($p < 0.05$) was found between the indicators of 1 day and 35 days, 56 days, 84 days; 7 days, 14 days and 28-84 days; 21 days, 28 days, and 35-84 days. When filling the bone defect with Collacone (Botissdental) and healing under a blood clot, bone density in the area of injury remains significantly higher than normal values.

Key words: mandible, dentoalveolar system, bone tissue, bone density, osteoplastic materials, densitometric study, rabbits.

Citation:

Chelpanova IV. [Comparison of bone density changes in rabbit mandible using different osteoplastic materials]. *Morphologia*. 2024;18(2):84-90. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.84-90>

 **Chelpanova I.V.** 0000-0001-5215-814X

 ilona.med75@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Виправлення кісткових дефектів лицевого черепа, що виникають через різні патологічні процеси чи травми, є не тільки складною медичною проблемою, але й має значний соціально-економічний аспект [1, 2]. У клінічній практиці післяопераційні порожнинні кісткові дефекти щелеп трапляються з частотою до 25% [3, 4]. У сучасному світі рання втрата зубів є значною проблемою не тільки в галузі стоматології, але й у сфері загальної медицини. Ефективність дентального протезування значною мірою визначаються станом кісткової тканини щелеп, тому широке застосування знаходять остеопластичні матеріали, що використовуються для заповнення кісткових дефектів, що виникли після травм та видалення зубів, з метою збереження об'єму та якості кісткової тканини коміркових ділянок щелеп [5-8,13]. Новітні методи променевої діагностики дозволяють оцінити якість кісткової тканини, використовуючи показник мінеральної щільності як біомаркер [5-7]. Експериментальні методи відіграють важливу роль в розумінні процесів, що відбуваються в організмі при розвитку патологічних станів [9,10].

Мета

Визначити особливості посттравматичної динаміки показників мінеральної щільності кісткової тканини нижньої щелепи кролика при імплантації в його порожнину різних остеопластичних матеріалів.

Матеріали та методи

Для дослідження використовували статевозрілих кроликів-самців віком 6-7 місяців, вагою 2,5-3 кг. Тварини були розділені на контрольну та дві експериментальні групи. До контрольної групи увійшли тварини з дефектом кісткової тканини, який загоювався під кров'яним згустком. Інтактних тварин було обстежено для визначення нормальних показників щільності кісткової тканини в ділянці нанесення травми.

Перша експериментальна група – тварини, яким кістковий дефект заповнювали природною матрицею для формування нових кісткових клітин Collascone від Botissdental. Друга експериментальна група – тварини, яким кістковий дефект заповнювали Collascone від Botissdental 6 днів після нанесення травми вводили дом'язево лінкоміцину гідрохлорид (30% р-н) в дозуванні 25 мг/кг 1 раз на добу.

Усі тварини знаходились в умовах віварію і процедури, що стосувалися питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [11, 12].

Тваринам контрольної та експериментальних груп під комбінованим знечудженням білатерально на рівні беззубої ділянки коміркової частини нижньої щелепи за допомогою стоматологічного бора наносили кісткоруйнуючу травму у вигляді шахти глибиною 4 мм та шириною 3 мм.

Контроль стану кісткової тканини в ділянці нанесеного дефекту здійснювали через 1, 7, 14, 21, 28, 35, 56 та 84 доби після нанесення травми.

Рентгенографію щелеп виконано на апараті ZooMax^{LG}.

Денситометричне дослідження якості кісткової тканини проводили у програмі VixWinPRO. Щільність кісткової тканини визначали в умовних одиницях сірості (YOC) (рис. 1).



Рис. 1. Визначення щільності кісткової тканини коміркової частини нижньої щелепи в ділянці нанесення кісткоруйнуючої травми (кісткового дефекту).

Для дослідження підпорядкування отриманих даних нормальному закону розподілу використовували аналіз гістограми розподілу, показники коефіцієнтів асиметрії та екстинкції, критерій Шапіро-Уїлка. Результати кожної групи в різні моменти часу підпорядковувались нормальному закону розподілу, їх подано у вигляді $M \pm SD$, де M – середнє арифметичне, SD – стандартне відхилення середнього. Для визначення істотності динаміки показників в межах однієї експериментальної/контрольної групи використовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). У випадку істотності впливу ($p < 0,05$) для порівняння результату загоєння в різні моменти часу – метод Шеффе. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми значеннями показників норми та показників, визначених в кожній експериментальній групі у різні терміни експерименту, а також для порівняння даних групи контролю з кожною експериментальною групою в однакові терміни використовували t -критерій Стюдента. Різницю між групами вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

За результатами рентгенологічного обстеження інтактних тварин та визначення мінераль-

ної щільності кісткової тканини їх нижньої щелепи в ділянці нанесення кісткоруйнуючої травми середнє значення параметра становило $71,25 \pm 1,02$ УОС.

Тварини, у яких загоєння кісткового дефекту відбувалося під кров'яним згустком, увійшли до контрольної групи. Через 1 добу після нанесення травми щільність кісткової тканини в ділянці її локалізації у контрольних тварин зростала до $99,67 \pm 0,84$ УОС. Виражене збільшення досліджуваного показника спостерігали упродовж двох наступних тижнів: на 7 добу він становив $102,43 \pm 1,93$ УОС, а на 14 добу після нанесення травми сягав максимального значення – $140,38 \pm 3,01$ УОС, удвічі перевищуючи норму.

На 21 добу показник щільності кісткової тканини опускався до $95,52 \pm 2,90$ УОС, залишаючись, однак, на 34% вищим від норми і надалі мав виражену тенденцію до поступового зниження аж до завершення експерименту. На 28 добу досліджуваний показник становив $90,24 \pm 3,57$ УОС, на 35 добу – $81,64 \pm 1,90$ УОС, на 56 добу – $81,08 \pm 2,68$ УОС та на 84 добу опускався до мінімального посттравматичного показника – $79,45 \pm 1,79$ УОС, який, однак, перевищував показник норми на 11,5% (рис. 2).

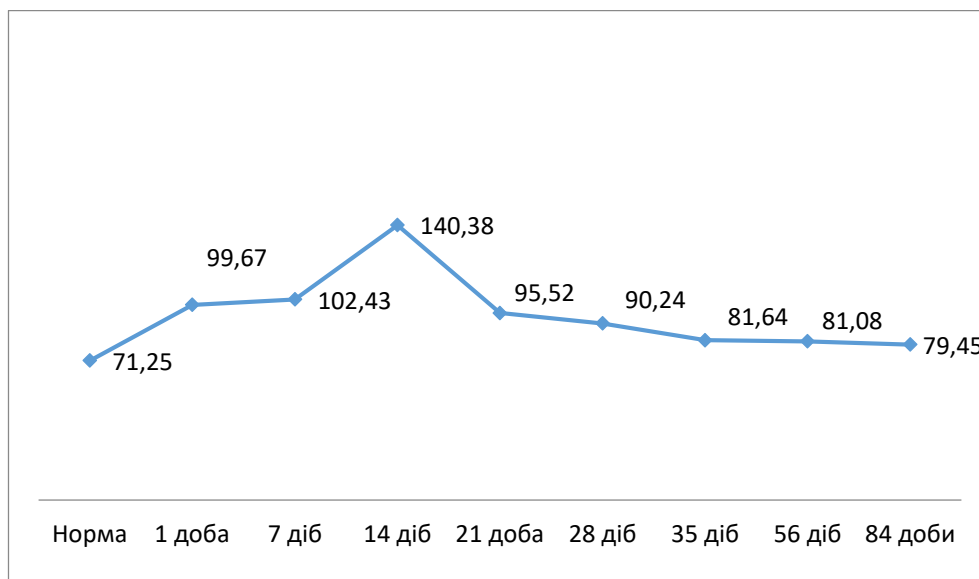


Рис. 2. Посттравматична динаміка щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи при регенерації під кров'яним згустком (УОС).

При порівнянні показників щільності кісткової тканини досліджуваної ділянки упродовж посттравматичного загоєння під кров'яним згустком на різних етапах післяопераційного періоду з даними норми між ними виявлено істотну різницю ($p < 0,001$). При цьому немає істотної різниці ($p > 0,05$) між значеннями досліджуваного показника, встановленими на різних термінах загоєння під кров'яним згустком: 1 доба та 7 діб, 1 доба та 21 доба, 21 доба та 28 діб, 35, 56 та 84 доби.

При заповненні кісткового дефекту Collascone

від Botissdental через 1 добу після нанесення травми щільність кісткової тканини зростала до $86,48 \pm 2,55$ УОС, що перевищує норму на 21%. Упродовж наступних двох тижнів експерименту досліджуваний показник продовжував збільшуватись і через 7 діб після нанесення травми становив $91,03 \pm 5,63$ УОС, а через 14 діб сягав максимального значення – $92,34 \pm 2,07$ УОС, що на 29,6% перевищує норму.

Поступове зниження щільності кісткової тканини в ділянці нанесення травми спостерігали,

починаючи з 21 доби і до завершення експерименту.

Через 21 добу після нанесення травми досліджуваний показник становив $88,93 \pm 1,83$ УОС, через 28 діб – $84,24 \pm 2,66$ УОС, через 35 діб – $86,49 \pm 3,97$ УОС, через 56 діб – $81,71 \pm 1,83$ УОС.

До мінімального значення щільність кісткової тканини в ділянці травми опускалась на 84 добу експерименту і становила $78,66 \pm 1,74$ УОС, залишаючись при цьому на 10,4% вищою від норми.

Проведене порівняння динаміки щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи після заповнення дефекту Collascone від Botissdental з контролем дало змогу встановити її особливості, характерні для експериментальної та контрольної груп тварин (рис.3). Аналіз абсолютних значень досліджуваного показника засвідчив,

що до 28 доби експерименту в експериментальній групі він є нижчим, ніж у контролі, на 35 добу – вищим, а на 56 та 84 добу істотної різниці між ними виявлено не було.

В обох групах показник щільності кісткової тканини в досліджуваній ділянці мав максимальні значення на 21 добу експерименту. Але, на відміну від контрольної групи, де досліджуваний показник піднімався удвічі в порівнянні з нормою, після заповнення дефекту Collascone від Botissdental на цьому ж терміні щільність кісткової тканини перевищувала норму лише на 30%. На завершальному етапі експерименту досліджуваний показник в обох групах залишався вищим, ніж у нормі, при цьому показник експериментальної групи був на 1% нижчим, чим в контролі (рис. 3).

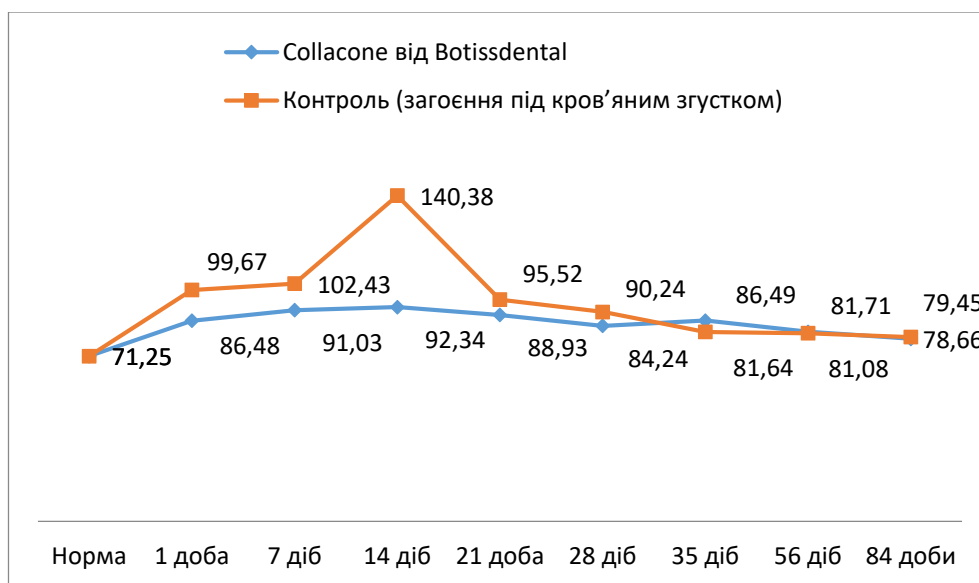


Рис. 3. Порівняння динаміки щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи після заповнення дефекту Collascone від Botissdental та при регенерації під кров'яним згустком (УОС).

Встановлено істотну різницю ($p < 0,001$) значень досліджуваних показників з контролем на 1, 7, 14 добу експерименту, менш істотну ($p < 0,01$) – на 21, 28 та 35 добу, а на 56 та 84 доби істотної різниці не виявлено. При порівнянні показників щільності кісткової тканини, які були визначені упродовж різних термінів регенерації кісткового дефекту після його заповнення Collascone з'ясовано, що наявна істотна різниця ($p < 0,001$) між встановленими даними. Виявлено істотну різницю при порівнянні показників щільності кісткової тканини в нормі з показниками, встановленими на різних термінах посттравматичної регенерації кісткової тканини при заповненні дефекту Collascone: через 1 добу, 7 діб, 14 діб, 21 добу, 28 діб, 35 діб, та 56 діб ($p < 0,001$), а також через 84 доби ($p < 0,05$). При порівнянні досліджуваних показників, встановлених для даної експеримента-

льної групи упродовж різних термінів експерименту виявлено істотну різницю між значеннями, фіксованими через 1 добу та 56 діб ($p < 0,05$), 1 добу та 84 доби ($p < 0,05$), 14 діб та 28 діб ($p < 0,05$), 14 діб та 56 і 84 доби ($p < 0,01$), 21 добу та 84 доби ($p < 0,05$), 35 діб та 84 доби ($p < 0,05$).

У тварин, яким кістковий дефект заповнювали Collascone від Botissdental та 6 днів після нанесення травми дом'язево вводили лінкоміцину гідрохлорид (30% р-н), упродовж 1 доби експерименту показник щільності кісткової тканини в ділянці травми зростав на 29,7% у порівнянні з нормою і становив $92,47 \pm 2,98$ УОС. До завершення першого тижня експерименту досліджуваний показник продовжував підвищуватись і через 7 діб після нанесення травми сягав максимального значення – $100,04 \pm 1,70$ УОС, перевищуючи норму на 40,4%. Починаючи з другого тижня і до кінця експерименту спостерігали поступове зниження

щільності кісткової тканини в ділянці нанесення травми. Через 14 діб після початку експерименту досліджуваний показник становив $99,48 \pm 3,12$ УОС, що на 39,6% перевищує норму, через 21 добу – $95,34 \pm 2,28$ УОС, через 28 діб – $91,54 \pm 3,49$ УОС, через 35 діб – $83,28 \pm 4,18$ УОС та через 56 діб – $80,63 \pm 3,26$ УОС. На завершення експерименту, через 84 доби після травми показник щільності кісткової тканини в ділянці її нанесення становив $76,07 \pm 2,81$ УОС, перевищуючи норму лише на 6,7%.

Порівняння динаміки щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи після заповнення дефекту Collacone від Botissdental та наступного дом'язевого введення лінкоміцину гідрохлориду з контролем дозволило з'ясувати її

особливості, характерні для експериментальної та контрольної груп тварин (рис.4). Встановлено, що абсолютні показники щільності кісткової тканини тварин експериментальної групи до 14 доби експерименту були нижчими, ніж у контролі. Від 21 до 84 доби динаміка досліджуваного показника та його абсолютні значення були подібними. Значну різницю між абсолютними значеннями показників щільності кісткової тканини у тварин експериментальної та контрольної груп реєстрували тільки на 14 добу експерименту і вона становила 29% від показника контролю. На 84 добу експерименту щільність кісткової тканини у тварин експериментальної групи була на 4% нижча, ніж у контролі (рис. 4.).

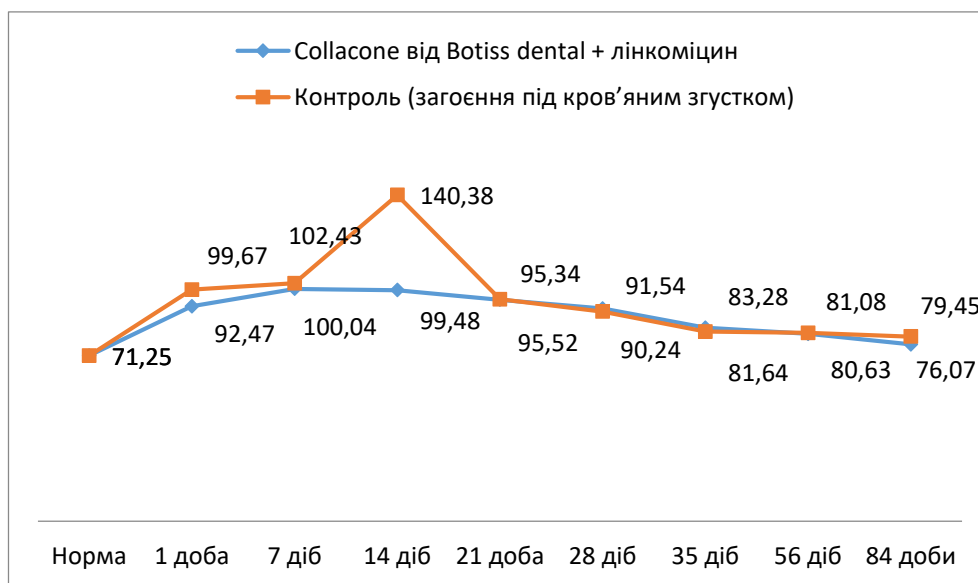


Рис. 4. Порівняння динаміки щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи після заповнення дефекту Collacone від Botissdental з введенням дом'язево лінкоміцину гідрохлориду, та при регенерації під кров'яним згустком (УОС).

Статистично істотну різницю ($p < 0,001$) показників щільності кісткової тканини даної групи з контролем було виявлено на 1 та 14 добу експерименту. На 7, 21, 28, 35, 56 та 84 добу істотної різниці між досліджуваними показниками нема.

При порівнянні показників щільності кісткової тканини в ділянці нанесення травми у тварин, яким кістковий дефект заповнювали Collacone від Botissdental та дом'язево вводили лінкоміцину гідрохлорид, виявлено істотну різницю ($p < 0,01$) їх значень, встановлених упродовж різних термінів експерименту.

Виявлено істотну різницю з показниками норми для значень, встановлених упродовж 1-56 діб ($p < 0,001$), та 84 діб ($p < 0,05$) експерименту.

Істотна різниця ($p < 0,05$) була виявлена також між досліджуваними показниками, встановленими на різних термінах посттравматичної регенерації кісткової тканини у тварин, що увійшли

до даної експериментальної групи. Зокрема, істотну різницю ($p < 0,05$) виявлено між показниками 1 доби та 35 доби, 56 доби, 84 доби; 7 доби, 14 доби та 28-84 діб; 21 доби, 28 доби та 35-84 діб.

Із застосуванням дисперсійного аналізу було досліджено показники щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи в ділянці нанесення кісткоруйнуючої травми упродовж 84 діб експерименту у тварини контрольної та всіх експериментальних груп і встановлено, що в межах кожної окремої групи значення досліджуваних показників були різними (табл. 1).

Підсумок

Результати проведеного аналізу дозволили визначити ефективність препаратів, що були використані для заповнення кісткового дефекту у тварин експериментальних груп у порівнянні з контролем при загоєнні кісткової травми під кров'яним згустком. Проведене порівняння пока-

зників щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи тварин різних експериментальних груп та тварин контрольної групи на різних етапах експерименту дало змогу визначити ступінь істотності виявленої різниці досліджуваних показників. Проведене порівняння динаміки

щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи після заповнення дефекту Collacone від Botissdental з контролем дало змогу встановити її особливості, характерні для експериментальної та контрольної груп тварин.

Таблиця 1

Посттравматична динаміка показників щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи кролика при заповненні кісткового дефекту (норма: $71,25 \pm 1,02$ УОС)

Групи	1 доба	7 діб	14 діб	21 доба	28 діб	35 діб	56 діб	84 доби
Collacone від Botissdental	$86,48 \pm 2,55$	$91,03 \pm 5,63$	$92,34 \pm 2,07$	$88,93 \pm 1,83$	$84,24 \pm 2,66$	$86,49 \pm 3,97$	$81,71 \pm 1,83$	$78,66 \pm 1,74$
Collacone від Botissdental – лінкоміцин	$92,47 \pm 2,98$	$100,04 \pm 1,70$	$99,48 \pm 3,12$	$95,34 \pm 2,28$	$91,54 \pm 3,49$	$83,28 \pm 4,18$	$80,63 \pm 3,26$	$76,07 \pm 2,81$
Контроль	$99,67 \pm 0,84$	$102,43 \pm 1,93$	$140,38 \pm 3,01$	$95,52 \pm 2,90$	$90,24 \pm 3,57$	$81,64 \pm 1,90$	$81,08 \pm 2,68$	$79,45 \pm 1,79$

Виявлено істотну різницю при порівнянні показників щільності кісткової тканини в нормі з показниками, встановленими на різних термінах посттравматичної регенерації кісткової тканини при заповненні дефекту Collacone: через 1добу, 7 діб, 14 діб, 21 добу, 28 діб, 35 діб, та 56 діб ($p < 0,001$), а також через 84 доби ($p < 0,05$). При порівнянні показників щільності кісткової тканини в ділянці нанесення травми у тварин, яким кістковий дефект заповнювали Collacone від Botissdental та дом'язево вводили лінкоміцину гідрохлорид, виявлено істотну різницю ($p < 0,01$) їх значень, встановлених упродовж різних термінів експерименту. А саме, виявлено істотну різницю з показниками норми для значень, встановлених упродовж 1-56 діб ($p < 0,001$), та 84 діб ($p < 0,05$) експерименту. Проведене порівняння динаміки досліджуваного показника в різних експериментальних групах засвідчило, що різниця значень показників щільності кісткової тканини в досліджуваній ділянці найменшою була у групі тварин,

кістковий дефект у яких заповнювали Collacone від Botissdental, де становила 21 УОС.

Перспективи подальших досліджень

Проведення подальших досліджень в напрямку пошуку та впровадження в практичну стоматологію нових ефективних методів регенерації кісткової тканини та остеопластики сприятиме скороченню термінів лікування пацієнтів з травмами та дефектами щелеп, що потребують відновлення об'єму та якості кісткової тканини та забезпечить якісну підготовку щелеп до проведення дентального протезування.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональні та імуністохімічні особливості тканин і органів в нормі та при патологічних станах».

Літературні джерела References

1. Stewart S, Bryant SJ, Ahn J, Hankenson KD. Bone Regeneration. Translational Regenerative Medicine. 2015;313-33. doi:10.1016/b978-0-12-410396-2.00024-4
2. Buck D, Rawlani V, Wayne J. Cosmetic outcomes following head and neck melanoma reconstruction: the patient's perspective. Can J Plast Surg. 2012;20:e10-15.
3. Ansari M. Bone tissue regeneration: biology, strategies and interface studies. Progress in Biomaterials. 2019;8:223-237 <https://doi.org/10.1007/s40204-019-00125-z>
4. Levine JP, Bae JS, Soares M. Jaw in a day: total maxillofacial reconstruction using digital technology. Plast Reconstr Surg. 2013;131:1386-91.
5. Dakhno LO, Masna ZZ. Strukturni osoblyvosti komirkovoho vidrostka verkhnoi shchelepy osib zriloho viku za danymy konusno-promenevoi kompiuternoi tomohrafi. [Structural features of the cellular process of the upper jaw of adults according to the data of cone-beam computed tomography]. Lviv: Kvart. 2022: 114 p. Ukrainian.
6. Dakhno LO. [Analysis of linear dimensions and indicators of bone tissue density of the cellular process of the upper jaw of women in the age aspect]. Klinichna anatomia ta operativna khirurgiia. 2016;15(3):62-8. Ukrainian.
7. Dobrovolska OV. [A modern view of

complications in dental implants]. *Klinichna stomatologhiia*. 2019;3:32-9. Ukrainian.

8. Kukhlevskiy Yu, Masna Z. [Cone-beam computed tomography is a tool for studying early anatomical and functional changes in the bone tissue of the upper and lower jaws of a person]. *Pratsi Naukovoho tovarystva im. Shevchenka. Medychni nauky*. 2018;52(1):149–55. Ukrainian.

9. Kovalenko VM, Cherkasov SV. [Experimental research in the clinic: methodological, theoretical and biotic problems]. *Ukrainskyi revmatologichnyi zhurnal*. 2006;3(25):3-7. Ukrainian.

10. Mapara M, Thomas BS, Bhat KM. Rabbit as an animal model for experimental research. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012;9(1):111-8. doi: 10.4103/1735-

3327.92960. PMID: 22363373; PMCID: PMC3283968.

11. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg: Council of Europe. 1986;123:52.

12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010;53(L276):33-79.

13. Takematsu E, Murphy M, Hou S, Steininger H, Alam A, Ambrosi TH, Chan CKF. Optimizing Delivery of Therapeutic Growth Factors for Bone and Cartilage Regeneration. *Gels*. 2023;9(5):377. doi: 10.3390/gels9050377.

Челпанова І.В. Порівняння динаміки змін щільності кісткової тканини нижньої щелепи кролика при застосуванні різних остеопластичних матеріалів.

РЕФЕРАТ. Актуальність. У сучасному світі рання втрата зубів є значною проблемою не тільки в галузі стоматології, але й у сфері загальної медицини. Ефективність дентального протезування значною мірою визначаються станом кісткової тканини щелеп, тому широке застосування знаходять остеопластичні матеріали, що використовуються для заповнення кісткових дефектів, що виникли після травм та видалення зубів, з метою збереження об'єму та якості кісткової тканини коміркових ділянок щелеп. Новітні методи променевої діагностики дозволяють оцінити якість кісткової тканини, використовуючи показник мінеральної щільності як біомаркер. Експериментальні методи відіграють важливу роль в розумінні процесів, що відбуваються в організмі при розвитку патологічних станів. **Метою** нашого дослідження стало з'ясування особливостей мінеральної щільності кісткової тканини нижньої щелепи кролика та відновлення її якості при імплантації в його порожнину різних видів остеопластичних матеріалів. **Методи.** Для дослідження використовували статевозрілих кроликів-самців віком 6-7 місяців, вагою 2,5-3 кг. Тварини були розділені на контрольну та дві експериментальні групи. До контрольної групи увійшли тварини з дефектом кісткової тканини, який загоювався під кров'яним згустком. Інтактних тварин було обстежено для визначення нормальних показників щільності кісткової тканини в ділянці нанесення травми. 1-ша експериментальна група – тварини, яким кістковий дефект заповнювали природною матрицею для формування нових кісткових клітин Collacone від Botissdental. 2-тя експериментальна група – тварини, яким кістковий дефект заповнювали Collacone від Botissdental та 6 днів після нанесення травми вводили дом'язево лінкоміцину гідрохлорид (30% р-н) в дозуванні 25 мг/кг 1 раз на добу. **Результати та підсумок.** При загоєнні кісткової травми під кров'яним згустком динаміка щільності кісткової тканини в ділянці травми має плавний перебіг з незначним підвищенням показників у порівнянні з нормою. Проведене порівняння динаміки щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи після заповнення дефекту Collacone від Botissdental з контролем дало змогу встановити її особливості, характерні для експериментальної та контрольної груп тварин. Виявлено істотну різницю при порівнянні показників щільності кісткової тканини в нормі з показниками, встановленими на різних термінах посттравматичної регенерації кісткової тканини при заповненні дефекту Collacone: через 1 добу, 7 діб, 14 діб, 21 добу, 28 діб, 35 діб, та 56 діб ($p < 0,001$), а також через 84 доби ($p < 0,05$). При порівнянні досліджуваних показників, встановлених для даної експериментальної групи упродовж різних термінів експерименту виявлено істотну різницю між значеннями, фіксованими через 1 добу та 56 діб ($p < 0,05$), 1 добу та 84 доби ($p < 0,05$), 14 діб та 28 діб ($p < 0,05$), 14 діб та 56 і 84 доби ($p < 0,01$), 21 добу та 84 доби ($p < 0,05$), 35 діб та 84 доби ($p < 0,05$). Виявлено істотну різницю з показниками норми для значень, встановлених упродовж 1-56 діб ($p < 0,001$), та 84 діб ($p < 0,05$) експерименту. Істотна різниця ($p < 0,05$) була виявлена також між досліджуваними показниками, встановленими на різних термінах посттравматичної регенерації кісткової тканини у тварин, що увійшли до даної експериментальної групи. Зокрема, істотну різницю ($p < 0,05$) виявлено між показниками 1 доби та 35 доби, 56 доби, 84 доби; 7 доби, 14 доби та 28-84 діб; 21 доби, 28 доби та 35-84 діб. При заповненні кісткового дефекту природною матрицею для формування нових кісткових клітин Collacone від Botiss dental та при загоєнні під кров'яним згустком щільність кісткової тканини у ділянці травми залишається істотно вищою від нормальних показників.

Ключові слова: нижня щелепа, зубощелепний апарат, кісткова тканина, щільність кісткової тканини, остеопластичні матеріали, денситометричне дослідження, кролики.

Я.І. Юрик
О.Є. Кузів
І.І. Юрик
З.М. Небесна

Тернопільський національ-
ний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України
Тернопіль, Україна

Надійшла: 14.04.2024

Прийнята: 25.05.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.91-96>

УДК 611.127-018.6-02:616/748.5-007.271:543.645.6]-092.9

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ СЕКРЕ- ТОРНИХ КАРДІОМІОЦИТІВ В ПРОМІ- ЖНОМУ ТА ПІЗНЬОМУ ПОСТКОМП- РЕСІЙНИХ ПЕРІОДАХ СИНДРОМУ ТРИВАЛОГО СТИСНЕННЯ

Yuryk Ya.I. , Kuziv O.E. , Yuryk I.I. , Nebesna Z.M.  Submicroscopic changes of secretory cardio-
myocytes in the intermediate and late postcompression period of crush syndrome.

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

ABSTRACT. Background. With the onset of compression, in response to stress, pain syndrome, and heart overload, myoendocrinocytes of the heart secrete atrial natriuretic peptide, which regulates blood pressure, glucose and lipid metabolism, slows down the processes of lipid peroxidation, prevents hypertrophy of cardiomyocytes, the development of fibrosis, arrhythmia, cardiomyopathy, prevents the development of cardiac deficiencies. Nevertheless, the role of heart myoendocrinocytes in the postcompression period of crush syndrome needs to be clarified and supplemented. **Objective:** to establish submicroscopic changes atrial myoendocrinocytes in the intermediate and late postcompression periods of crush syndrome. **Methods.** The research was conducted on 24 white male laboratory rats weighing 240–270 grams. The experimental group consisted of 16 animals, divided into 2 to 8 animals each, which were removed from the experiment after 7 and 14 days. The control group included 8 intact male rats. Crush syndrome was simulated by compression the soft tissues of the thigh of the right pelvic extremity. Analgesia was performed by intraperitoneal injection of ketamine hydrochloride (100 mg/kg of body weight), the compression force was 7 kg/cm², the area of the compressive surface – 5 cm² for 6 hours. The withdrawal of experimental animals from the experiment was performed by bloodletting after intraperitoneal injection of sodium thiopental. Ultrathin tissue sections of the right and left auricles of the heart were studied using a PEM – 125 K electron microscope. **Results.** After 7 days of research against the background of submicroscopic changes of a destructive nature in all structural components of endocrine cardiomyocytes, we found a decrease in the content of secretory granules compared to intact animals. However, among secretory granules, young ones dominated, mature types of granules were less common. Granules were characterized by a diffuse location, mass in groups was not observed. After 14 days of the research, it was established that all types of granules were found in the secretory apparatus of cardiomyocytes, which were irregularly located throughout the illuminated cytoplasm. Mature granules were found more often, compared to the previous period of the research. **Conclusion.** In the intermediate and late postcompression periods of crush syndrome compensatory and adaptive processes developed on the part of endocrine cardiomyocytes, restoration of their secretory activity, which was evidenced by an increase in the number of young and mature forms of secretory granules.

Key words: heart, myocardium, myoendocrinocytes of the auricles of the heart.

Citation:

Yuryk YaI, Kuziv OE, Yuryk II, Nebesna ZM. [Submicroscopic changes of secretory cardiomyocytes in the intermediate and late postcompression period of crush syndrome]. Morphologia. 2024;18(2):91-6. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.91-96>

 Yuryk Ya.I. 0000-0001-7690-9307;  Kuziv O.E. 0000-0001-6185-928X;

 Yuryk I.I. 0000-0002-0008-6276;  Nebesna Z.M. 0000-0002-6869-0859

✉ yuryk@tdmu.edu.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

У структурі травматичних уражень частка синдрому тривалого стиснення (СТС) становить від 15 до 24 %, що зумовлено ростом травми-

зму, великою кількістю природних та техногенних катастроф, збільшенням кількості військових конфліктів та дорожньо-транспортних пригод [1, 2]. З початком компресії больові імпульси з місця ушкодження тканин сприяють перезбудженню

центральної нервової і симпатoadреналової систем із виділенням гормонів адаптації – глюкокортикоїдів. У відповідь на це міоендокринними клітинами передсердь виділяється передсердний натрійуретичний пептид (ПНУП). Останній володіє системним впливом на регуляцію артеріального тиску, метаболізм глюкози та ліпідів, впливає на тонус судинної стінки, сповільнює процеси пероксидного окиснення ліпідів [3, 4, 5]. ПНУП також безпосередньо впливають на серце запобігаючи гіпертрофії кардіоміоцитів, розвитку фіброзу, аритмії та кардіоміопатії, протидіючи розвитку та прогресуванню СН [6]. Проте роль міоендокриноцитів вушок серця у посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення вивчена недостатньо та потребує уточнення і доповнення.

Мета дослідження – встановити субмікроскопічні зміни міоендокриноцитів передсердь у проміжному та пізньому посткомпресійних періодах СТС.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на 24 білих лабораторних щурах-самцях масою 240–270 грам. Експериментальну групу склали 16 тварин, розподілених на 2 по 8 тварин у кожній, яких виводили з експерименту через 7 та 14 діб. В контрольну групу входило 8 інтактних щурів-самців.

СТС моделювали шляхом стискання м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки у спеціально сконструйованому нами пристрої [7]. Знеболення проводили шляхом внутрішньо-очеревинного введення кетаміну гідрохлориду (100 мг/кг маси тіла), сила компресії становила 7 кг/см² на 5 см² протягом 6 годин. Виведення піддослідних тварин з експерименту здійснювали шляхом кровопускання після внутрішньо-очеревинного введення тіопенталу натрію у дозі 50 мг/кг. Для електронно-мікроскопічного дослідження забирали шматочки передсердь та вушок серця. Для фіксації використовували забуферний 2,5 % розчин глютаральдегіду, а після фіксації піддослідний матеріал гострим лезом ділили на частинки розмірами до 1 мм³ та промивали у трьох порціях 0,1 молярного фосфатного буфера. Повторно проводили фіксацію у 2 % розчині чотириокису осмію протягом 2 годин. Після цього тканини серця повторно промивали в трьох порціях 0,1 молярного фосфатного буфера по 10 хвилин і зневоднювали в серії спиртів та абсолютному ацетоні. Підготовлені тканини заливали в суміш епону 812 і аралдиту. Виготовляли ультратонкі зрізи на мікротомі та забарвлювали їх 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю згідно методу Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125K [8].

Утримання щурів і експеримент виконані відповідно до вимог "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів та інших наукових цілей"

(Страсбург, 1986), правил поводження з експериментальними тваринами згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [9].

Результати та їх обговорення

Через 7 діб дослідження у проміжному посткомпресійному періоді СТС субмікроскопічні зміни деструктивного характеру виявляли в усіх структурних компонентах ендокринних кардіоміоцитів вушок серця експериментальних тварин (рис. 1).

Так, у секреторному апараті більшості КМЦ, як і в попередній термін спостереження, констатували зменшення вмісту секреторних гранул проти інтактних тварин, що було описано нами при вивченні ендокринної функції серця в ранньому пост компресійному періоді СТС [10]. Серед гранул домінували молоді, зрілі – були поодинокі. Для секреторних гранул було властиве дифузне розташування, скупчення групами не спостерігалось. Секреторні гранули локалізувалися переважно між мітохондріями, міофібрилами та під сарколемою.

Часто молоді гранули виявляли у вакуолізованих цистернах комплексу Гольджі. Структурно-функціональні зміни ядер КМЦ вушок серця полягали в наростанні маси гетерохроматину, який грудками різної величини лягав не тільки вздовж внутрішнього листка каріолеми, а дифузно по всій каріоплазмі, формуючи плямистий рисунок ядра, що свідчило про початок каріопінозу. Каріолема мала інвагінації різної глибини, що зумовлюють порізаність контурів ядра. Ядерце, як правило, відсутнє. Перинуклеарний простір вузький, небагато ядерних пор (рис. 2).

Через 14 діб дослідження, у пізньому посткомпресійному періоді СТС електронно-мікроскопічно встановлено, що в секреторному апараті КМЦ знаходили всі типи гранул, які не впорядковано розташовувалися по всій просвітленій цитоплазмі. Зрілі зерна зустрічались частіше, порівняно з попередніми термінами дослідження.

У цей термін експерименту ядра набували округловидовженої форми з неглибокими частими інвагінаціями, вузьким перинуклеарним простором та чисельними ядерними порами. В нуклеоплазмі домінував еухроматин, гетерохроматин, який дуже вузькою смугою лягає вздовж внутрішнього листка каріолеми. Ядерця сітчастої структури ектоповані (рис. 3).

Наявність переважно еухроматину в нуклеоплазмі, чисельних ядерних пор та сітчастої структури ядерця свідчить про високу функціональну активність ядра. В набряклій цитоплазмі міоендокриноцитів візуалізувалися фрагментовані та лізовані міофібрили, пошкодження окремих вставних дисків, місцями порушення впорядкованого

розташування саркомерів. Зміни з боку енергетичного апарату були гетероморфні. В значній час-

тині мітохондрій зберігались типові пристосувальні процеси, що проявлялись їх гіпертрофією.

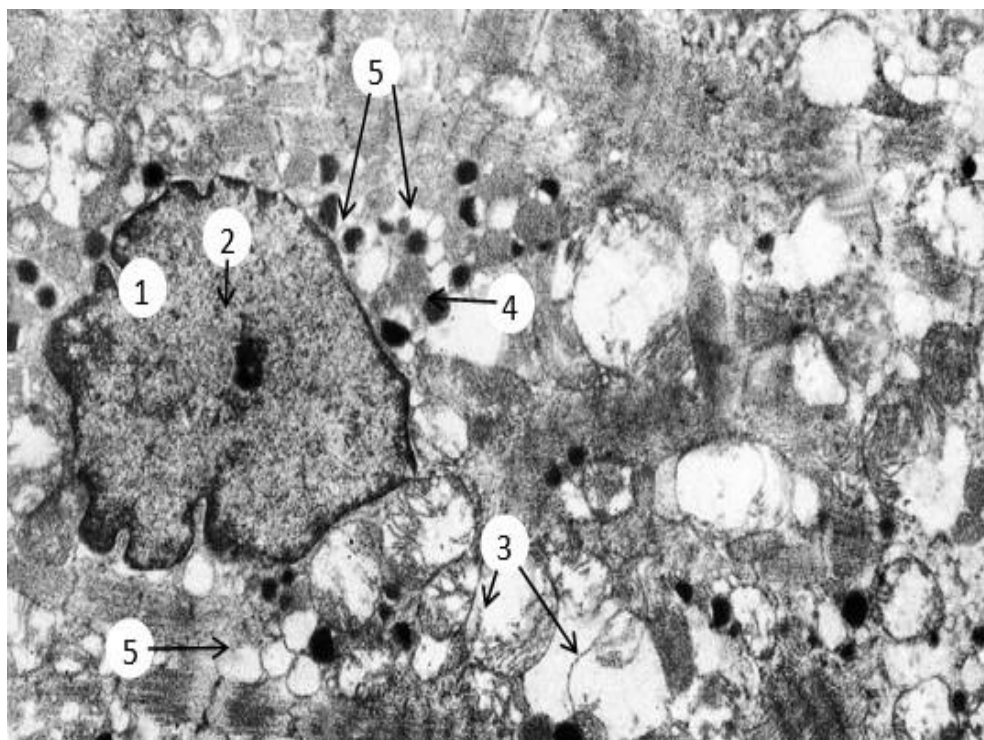


Рис. 1. Фрагмент міоцита правого вуха серця щура через 7 діб у проміжному посткомпресійному періоді СТС. 1 – ядро з неглибокими інвагінаціями каріолеми, 2 – ядерце компактної структури з локалізацією у центрі, 3 – деградація та вакуолізація мітохондрій, 4 – секреторні гранули, 5 – гіперплазія і гіпертрофія пластинчастого комплексу. Електронна мікрофотографія. $\times 12000$.

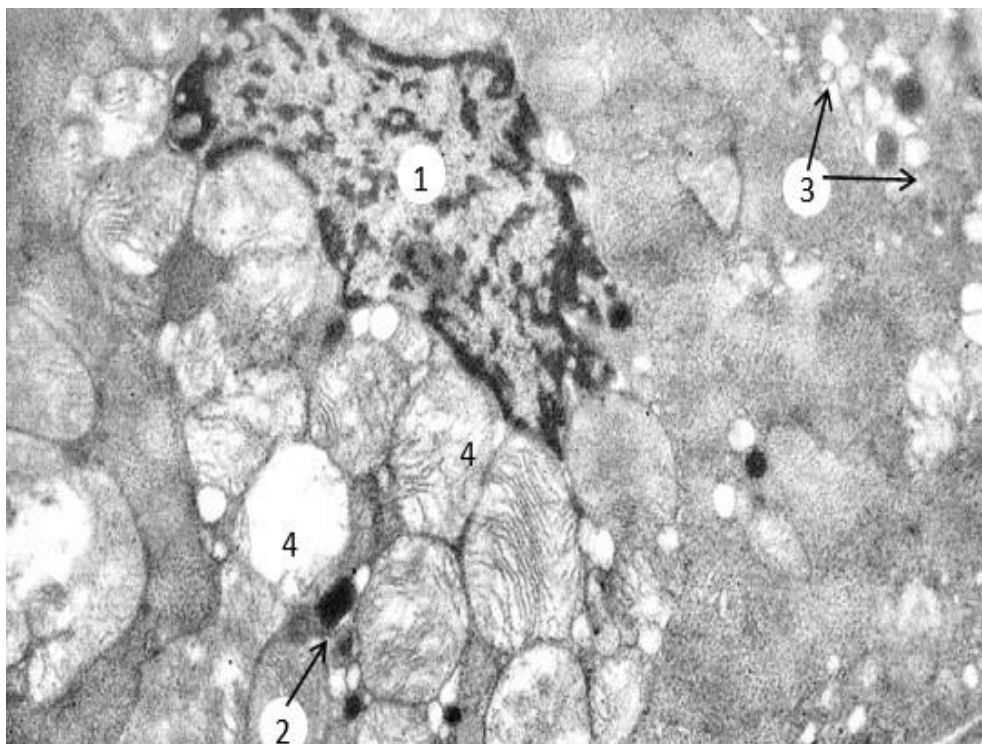


Рис. 2. Фрагмент міоцита правого вуха серця щура через 7 діб у проміжному посткомпресійному періоді СТС. 1 – ядро, 2 – секреторні гранули, 3 – вакуолізовані цистерни комплексу Гольджі, 4 – мітохондрії. Електронна мікрофотографія. $\times 12000$.

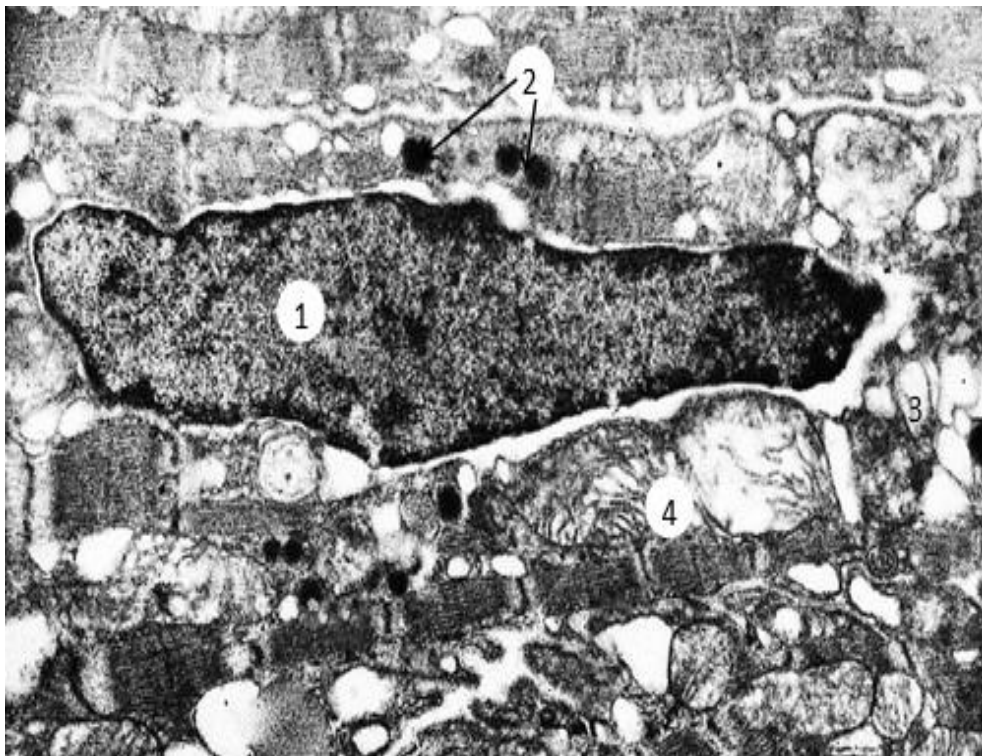


Рис. 3. Фрагмент міоцита правого вухка серця щура через 14 діб у пізньому посткомпресійному періоді СТС. 1 – ядро, 2 – секреторні гранули, 3 – комплекс Гольджі, 4 – мітохондрії. Електронна мікрофотографія. $\times 12000$.

Втрачалось впорядковане їх розташування між міофібрилами. Дрібніші округлі мітохондрії зберігали типову субмікроскопічну будову. У цитоплазмі ендокринних кардіоміоцитів вухок серця, як і в попередньому терміні дослідження виявляли деструкцію органел, які забезпечували їх секреторну функцію.

Канальці ендоплазматичної сітки вакуолізувалися та руйнувалися на окремі фрагменти. Структурні компоненти комплексу Гольджі різко розширені та вакуолізовані, в цистернах якого знаходились секреторні гранули. Крім описаних міоендокриноцитів у цей термін спостереження виявляли клітини з підвищеною секреторною активністю. Такі клітини мають округле ядро, в якому домінував еухроматин, чисельні дрібні мітохондрії із збереженими кристами та багато гранул, серед яких переважали зрілі форми (рис. 4).

Стрес, ендотоксикоз та реперфузійна токсемія є основними чинниками ураження серця, яке є одним з органів-мішеней в посткомпресійному періоді СТС синдрому тривалого стиснення [11]. Ці фактори призводять до перевантаження серцевого м'яза, активації секреторних кардіоміоцитів та є причиною ремоделювання серця [12]. В проміжному та пізньому періодах СТС на фоні деструктивно-некротичних змін окремих кардіоміоцитів в міоендокриноцитах передсердь розвивалися ознаки відновлення їх секреторної активності. Зростання кількості секреторних гранул за рахунок молодих та зрілих форм мали місце в стадії компенсаторно-відновних процесів через 14 днів

після дії загальної глибокої гіпотермії [13]. На противагу цьому, за умов експериментальної термічної травми через 14 та 21 діб дослідження в стадії пізньої токсемії та септикотоксимії розвивалися глибокі незворотні деструктивні зміни міоендокриноцитів вухок серця [14].

Підсумок

У проміжному (через 7 діб) та пізньому (через 14 діб) посткомпресійних періодах СТС розвивалися компенсаторно-приспосувальні процеси з боку ендокринних КМЦ, які характеризувалися тенденцією до відновлення ультраструктури цитоплазматичних органел та підвищенням їх секреторної діяльності, про що свідчило зростання кількості молодих та зрілих форм секреторних гранул і активацією процесів синтезу передсердного натрійуретичного пептиду.

Перспективи подальших досліджень

Вивчити особливості ремоделювання гемодіалятичного русла, кардіоміоцитів, міоендокринних клітин серця у ранньому, проміжному та пізньому посткомпресійних періодах СТС.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Особливості перебудови судинних русел внутрішніх органів при моделюванні

гемодинамічних розладів різного генезу та рапто-
вому усуненні патогенетичних чинників у експе-
рименті» (номер державної реєстрації
0121U100070).

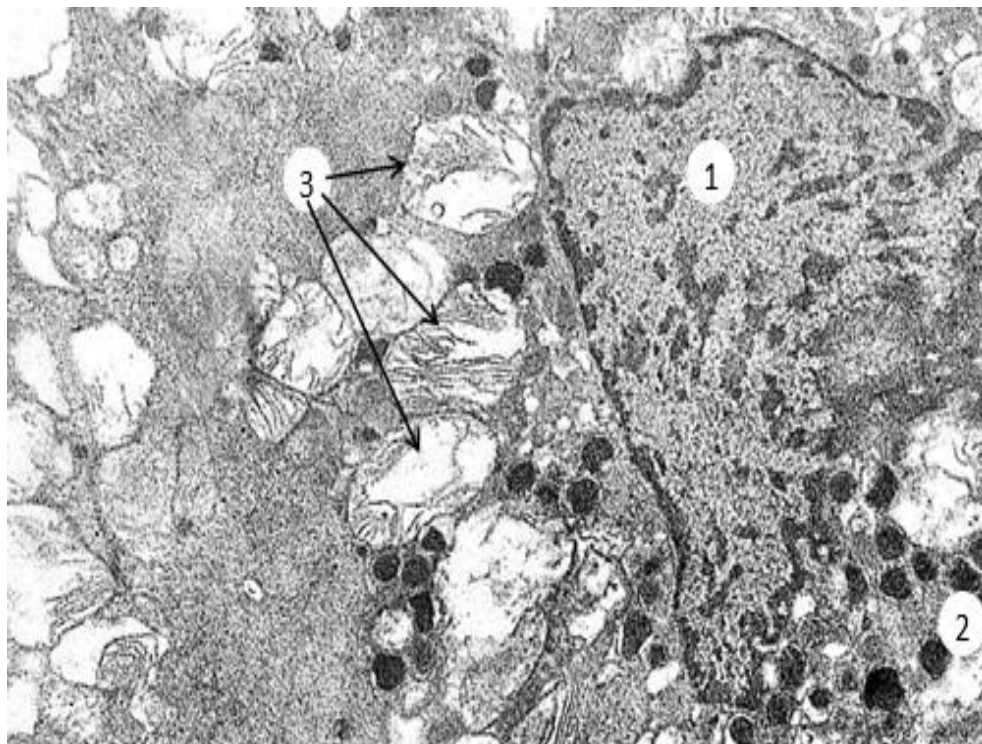


Рис. 4. Фрагмент міоцита правого вухка серця щура через 14 діб у пізньому посткомпресійному періоді СТС. 1 – ядро, 2 – секреторні гранули, 3 – мітохондрії. Електронна мікрофотографія. $\times 12000$.

Літературні джерела References

1. Ekhalov VV, Stus VP, Moiseenko NN. [Bywaters syndrome. Acute kidney injury: literature review]. *Urology*. 2020;24(1):68–93. Ukrainian. doi: 10.26641/2307-5279.24.1.2020.199505.
2. Sever MS, Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Disaster nephrology: a new concept for an old problem. *Clin Kidney J*. 2015;8(3):300–9. doi: 10.1093/ckj/sfv024.
3. Sarzani R, Spannella F, Giuliatti F, Baliatti P, Cocci G, Bordicchia M. Cardiac Natriuretic Peptides, Hypertension and Cardiovascular Risk. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2017;24(2):115–126. doi: 10.1007/s40292-017-0196-1.
4. Sarzani R, Allevi M, Di Pentima C, Schiavi P, Spannella F, Giuliatti F. Role of Cardiac Natriuretic Peptides in Heart Structure and Function. *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 20;23(22):14415. doi: 10.3390/ijms232214415.
5. Spannella F, Giuliatti F, Bordicchia M, Burnett J.C.J, Sarzani R. Association Between Cardiac Natriuretic Peptides and Lipid Profile: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci. Rep*. 2019;9:19178. doi: 10.1038/s41598-019-55680-z.
6. Rubattu S, Forte M, Marchitti S, Volpe M. Molecular Implications of Natriuretic Peptides in the Protection from Hypertension and Target Organ Damage Development. *Int. J. Mol. Sci*. 2019;20:798. doi: 10.3390/ijms20040798.
7. Yuryk YaI, Kryvyi PD, Bodnar YaIa, Yuryk II, Petrechko IR, Sharyk MV, vynakhidnyky; Ternopilskyi natsionalnyi medychnyi universytet imeni I. Ia. Horbachevskoho MOZ Ukrainy, patentovlasnyk. Prystrii rehulovanoi kompresii dlia eksperymentalnoho modeliuvannya syndrome tryvaloho stysnennia i travmatychnoho shoku. Patent Ukainy № 146513. 2021 Liut 25. Ukrainian.
8. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI. Osnovy histolohichnoi tekhniki i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii [Fundamentals of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathology]: textbook. 4th rev. enl. ed. Zhytomyr: Polissia; 2019. 288 p. Ukrainian.

9. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union. 2010;53(L276):33-79. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063>

10. Yuryk YaI, Kuziv OE, Yuryk II. [Submicroscopic changes of secretory cardiomyocytes in the early postcompression period of crush syndrome]. Morphologia. 2023;17(3):140-6. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.3.140-146>

11. Yuryk YaI. [Peculiarities of antioxidant protection in heart and blood tissue rats in the postcompression period of crush syndrome]. Bulletin of problem in Biology and Medicine. 2021;4(162):214-7. Ukrainian. DOI 10.29254/2077-4214-2021-4-162-

214-217.

12. Zharikov MY, Nefodova OO, Kramar SB, Kozlovskaya OG, Fedchenko MP, Kushnarova KA, Shevchenko IV. [Peculiarities of the morphology of the secretory components of the heart under influence of hemodynamic overload]. Bulletin of problems in biology and medicine. 2022;3(166):385-8. Ukrainian. DOI 10.29254/2077-4214-2022-3-166-385-388.

13. Zhurakivska OYa. [Morphofunctional state of cardiomyocytes and myoendocrine cells of the heart at the height of the action of general deep hypothermia]. Reports of morphology. 2003;9(1): 85-87. Ukrainian.

14. Getmanyuk IB, Volkov KS. [Ultrastructural changes in the auricles and ears of the heart in experimental thermal trauma]. World of Medicine and Biology. 2010;3(26):57-9. Ukrainian.

Юрик Я.І., Кузів О.Є., Юрик І.І., Небесна З.М. Субмікроскопічні зміни секреторних кардіоміоцитів в проміжному та пізньому посткомпресійних періодах синдрому тривалого стиснення.

РЕФЕРАТ. Актуальність. З початком компресії у відповідь на стрес, больовий синдром та перевантаження серця міоендокриноцитами серця виділяється передсердний натрійуретичний пептид, який регулює артеріальний тиск, метаболізм глюкози та ліпідів, сповільнює процеси перекисного окиснення ліпідів, запобігає гіпертрофії кардіоміоцитів, розвитку фіброзу, аритмії, кардіоміопатії, протидіє розвитку серцевої недостатності. Проте, роль міоендокриноцитів серця у посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення потребує уточнення і доповнення. **Мета:** встановити субмікроскопічні зміни міоендокриноцитів передсердь у проміжному та пізньому посткомпресійних періодах синдрому тривалого стиснення. **Методи.** Дослідження проведено на 24 білих лабораторних щурах-самцях масою 240–270 грам. Експериментальну групу склали 16 тварин, розподілених на 2 групи по 8 тварин у кожній, яких виводили з експерименту через 7 та 14 діб. В контрольну групу входило 8 інтактних щурів-самців. Синдром тривалого стиснення моделювали шляхом стиснення м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки. Знеболення проводили шляхом внутрішньо-очеревинного введення кетаміну гідрохлориду (100 мг/кг маси тіла), сила компресії становила 7 кг/см², площа стискаючої поверхні – 5 см² протягом 6 годин. Виведення піддослідних тварин з експерименту здійснювали шляхом кровопускання після внутрішньо-очеревинного введення тіопенталу натрію. Ультратонкі зрізи тканини правого і лівого вушок серця вивчали на електронному мікроскопі ПЕМ – 125 К. **Результати.** Через 7 діб дослідження на фоні субмікроскопічних змін деструктивного характеру в усіх структурних компонентах ендокринних кардіоміоцитів нами виявлено зменшення вмісту секреторних гранул проти інтактних тварин. Проте, серед секреторних гранул домінували молоді, зрілі типи гранул зустрічалися рідше. Для гранул було властиве дифузне розташування, скупчення групами не спостерігалось. Через 14 діб експерименту встановлено, що в секреторному апараті кардіоміоцитів знаходили всі типи гранул, які не впорядковано розташовувалися по всій просвітленій цитоплазмі. Зрілі зерна зустрічались частіше, порівняно з попереднім терміном дослідження. **Підсумок.** У проміжному та пізньому посткомпресійних періодах СТС розвивалися компенсаторно-приспосувальні процеси з боку ендокринних кардіоміоцитів, відновлення їх секреторної активності про що свідчило зростання кількості молодих та зрілих форм секреторних гранул.

Ключові слова: серце, міокард, міоендокриноцити вушок серця, синдром тривалого стиснення.

О.М. Слободян¹, Х.І. Рудницька²,
В.Ф. Сімонов³, А.П. Гриценко³,
К.І. Войценко⁴

¹ Буковинський Державний медичний університет, Чернівці

² Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів

³ «Grace Clinic», Київ

⁴ Комунальне підприємство «Центральна міська лікарня Червоноградської міської ради», Червоноград, Україна

Надійшла: 26.04.2024

Прийнята: 05.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.97-101>

УДК: 611.841.018.1.019

МІКРОСТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ШАРІВ РОГІВКИ ЩУРА В НОРМІ

Slobodyan O.M. , Rudnytska Kh.I. , Simonov V.F. , Hrytsenko A.P. , Voytsenko K.I.  Microstructural organization of the layers of the rat cornea in norm.

Bukovynian State Medical University, Chernivtsi; Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv; «Grace Clinic», Kyiv; Municipal enterprise "Central city hospital of Chervonograd city council", Chervonograd, Ukraine.

ABSTRACT. Actuality. From the above, today there is enough information in the domestic and foreign specialized literature about the structure of the retina at the micro level, but we decided to supplement and expand this issue thanks to our own research on the morphological organization of the layers of the cornea of rats. Therefore, I believe that this study is relevant both from the point of view of experimental morphology and from a practical point of view. **The aim** of our research was a detailed study of the layered structure of the rat cornea in norm. **Methods.** The study was conducted on 15 sexually mature, purebred white male rats, weighing 120-130 g. 1 group of animals was used in our research: (15 animals) - intact. Before taking the material of the experimental site, the animal was removed from the experiment with the help of diethyl ether. The eyeballs of rats were used for microscopic examination (intersecting at the limbus area). Preparations for histological examination were prepared according to generally accepted methods. **Results.** According to our research, at the microstructural level of the cornea of intact laboratory rats, a stratified squamous nonkeratinized epithelium (anterior epithelium), corneal stroma and endothelium (posterior corneal epithelium) are clearly visualized. The stratified squamous nonkeratinized epithelium of the cornea in most areas forms 3-5 cell rows that form three main cell layers: basal, middle and superficial. The corneal stroma is thick, massive, formed by numerous clearly arranged connective tissue plates, with well-organized collagen matrix fibers. Descemet's membrane (posterior border plate) is located deeper, which covers the back surface of the cornea's stroma. Descemet's membrane, which contains collagen fibers and an amorphous substance, is the basal membrane of the posterior epithelium (endothelium) of the cornea. The posterior epithelium of the cornea (the endothelium of the anterior chamber of the eye) is preserved, represented by a single layer of flat cells that tightly adhere to Descemet's membrane and separate the posterior surface of the cornea from the vitreous fluid of the anterior chamber of the eye. In the future, these results will make it possible to create a micro-morphological basis of the norm in order to use it when comparing the changes that occur in the layers of the cornea during experimental modeling of the studied nosologies of various genesis. In the future, this will provide an opportunity to establish the most optimal period for correction and, as a result, stabilization of pathological effects.

Key words: cornea, membranes of the eye, norm, experiment, pathology, rat.

Citation:

Slobodyan OM, Rudnytska KhI, Simonov VF, Hrytsenko AP, Voytsenko KI. [Microstructural organization of the layers of the rat cornea in norm]. *Morphologia*. 2024;18(2):97-101. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.97-101>

 Slobodyan O.M. 0000-0003-4833-0730;  Rudnytska Kh.I. 0000-0002-9474-7863;

 Simonov V.F. 0009-0000-8103-4883;  Hrytsenko A.P. 0009-0008-6369-9433;

 Voytsenko K.I. 0009-0003-5104-9509

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Вивчення структурної організації тканин окремих органів підслідних лабораторних тварин є необхідним на сьогоднішньому етапі з у зв'язку з їх чисельним використанням в експериментальній медицині з метою моделювання патологічних процесів та вивчення патоморфологічних проявів в динаміці [1-5]. Враховуючи виключну роль рогівки і складність її організації надзвичайно важливо розуміти особливості її будови з метою створення морфологічного субстрату норми, з яким в подальшому буде проводитись порівняльна характеристика отриманого матеріалу на різних термінах перебігу змодельованого патологічного процесу. Це висвітлено у ряді фахових вітчизняних та зарубіжних наукових публікацій і стосується вивчення динаміки патоморфологічних змін у ряді структур [6-11].

З вище зазначеного на сьогоднішньому етапі вітчизняній та зарубіжній фаховій літературі є достатньо інформації щодо будови сітківки на мікрорівні, але ми вирішили доповнити і розширити це питання завдяки власним дослідженням, що стосуються морфологічної організації шарів рогівки щурів. Тому, вважаю, що дане дослідження є актуальним як з точки зору експериментальної морфології, так і з практичної точки зору.

Мета дослідження: з'ясувати особливості мікроструктурної організації шарів рогівки щура в нормі.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 15 статевозрілих, безпородних білих щурах-самцях, масою 120-130 г. У роботі використовували 1 групу тварин: (15 тварин) – інтактні. Усі тварини знаходились в умовах віварію і процедури, що стосувалися питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985), "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», правил поводження з експериментальними тваринами згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [12-14]. Комісією з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01. 11. 2000 року. Перед забором матеріалу дослідної ділянки тварину виводили з експерименту за допомогою дієтилового ефіру. Для мікроскопічного дослідження використовували очні яблука щурів (пересікалися по ділянці лімба). Препарати

для гістологічного дослідження готували за загальноприйнятою методикою [15]. Мікроскопічні дослідження та фотографування препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа МБІ-1 і цифровим фотоапаратом Nikon D 3100.

Результати та їх обговорення

У результаті мікроструктурного дослідження рогівки інтактних лабораторних щурів чітко візуалізується багатошаровий плоский незроговілий епітелій (передній епітелій), власна речовина (строма рогівки) та ендотелій (задній епітелій рогівки). Багатошаровий плоский незроговілий передній епітелій рогівки у контрольних щурів збережений, на більшості ділянок утворює 3-5 клітинних рядів, які формують три основні клітинні шари: базальний, середній та поверхневий (рис. 1).

Клітини базального (гермінативного) шару низької призматичної форми, основою прилягають до базальної мембрани, чітко впорядковані, щільно прилягають одні до одних, розташовані густим стовпчастим частоколом, їх ядра переважно округлої форми, об'ємні, світло-базофільні, містять дрібні зернисті включення інтенсивно-конденсованого хроматину. В ділянці лімба візуалізуються мало диференційовані стовбурові клітини переднього епітелію рогівки. Над шаром базальних клітин розташовується декілька рядів полігональних криловидних епітеліальних клітин середнього шару. Переважна більшість клітин середнього шару переднього епітелію рогівки орієнтовано довгою віссю більш паралельно по відношенню до поверхні рогівки, у порівнянні з клітинами базального шару, які розташовуються перпендикулярно. Епітеліоцити середнього шару локалізуються дещо розріджено, їх ядра об'ємні, овальні, забарвлюються гематоксиліном у блідо фіолетовий колір. Клітини поверхневого шару переднього епітелію рогівки дископодібної або плоскої форми, з просвітленою цитоплазмою, формують декілька рядів. Ядра епітеліоцитів поверхневого шару ущільнені, виразно базофільні, більшість з них паличкоподібної форми, орієнтовані довгою віссю переважно паралельно до поверхні рогівки. Власна речовина (строма рогівки) товста, масивна, утворена чисельними чітко впорядкованими сполучнотканинними пластинками, з добре організованими волокнами колагенового матриксу (рис. 2).

Колагенові волокна сполучнотканинних пластинок власної речовини рогівки розташовуються впорядковано, з'єднуються в пучки або розміщуються ізольовано. Сусідні пучки колагенових волокон місцями переплітаються між собою.

Між сполучнотканинними пластинками строми візуалізуються видовженої форми кератоцити (рис. 2). Кератоцити зустрічаються в різних ділянках строми рогівки, проте їх щільність в передній частині строми є вищою ніж у задніх відділах власної речовини рогівки.



Рис. 1. Мікроструктурна організація рогівки інтактного лабораторного щура. 1 – багат шаровий плоский незроговілий епітелій; 2 – фрагмент мембрани Боумена; 3 – власна речовини рогівки; 4 – ядра кератоцитів 5 – мембрана Десцемета; 6 – ендотелій (задній епітелій рогівки). Гематоксилін та еозин. ×400.

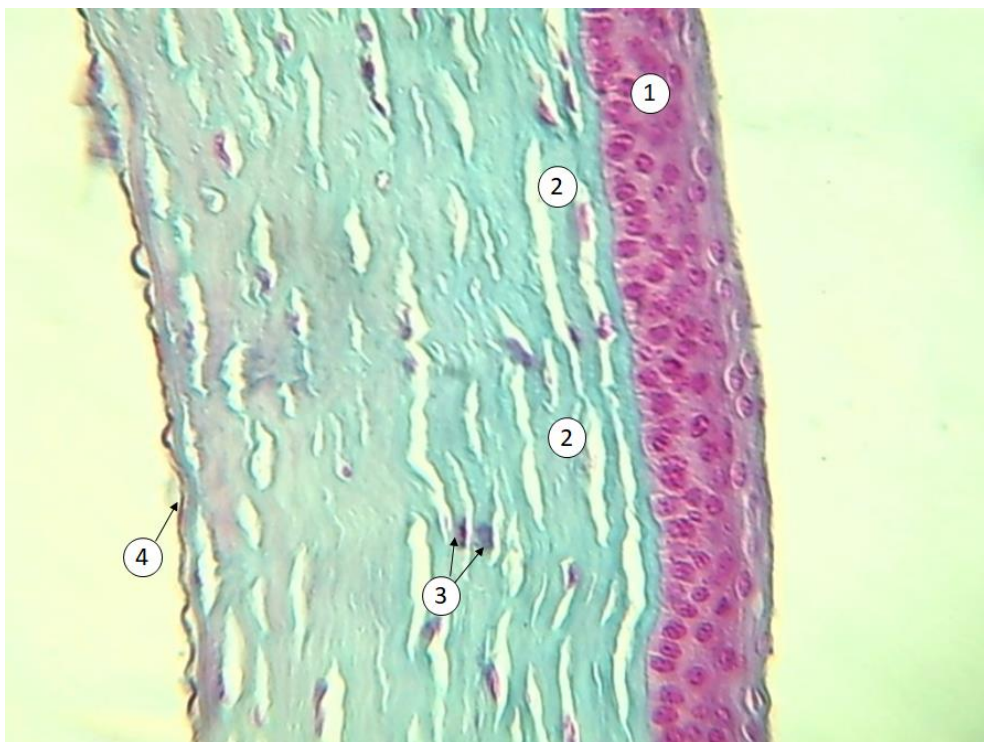


Рис. 2. Гістологічна структура рогівки лабораторного щура в нормі. 1 – багат шаровий плоский незроговілий епітелій; 2 – сполучнотканинні пластинки власної речовини рогівки; 3 – ядра кератоцитів; 4 – задній епітелій (ендотелій передньої камери ока). Азан за Гейденгайном. ×400.

Переважає більшість кератоцитів з цитоплазмою, що формує чисельні відростки та видовженим помірно базофільним ядром середнього розміру. Також наявні кератоцити з дрібними, різко видовженими та ущільненими інтенсивно базофільними ядрами. Забарвлення цитоплазми кератоцитів переважно помірно базофільне. Рідше візуалізуються кератоцити з помірно еозинофільним забарвленням цитоплазми. Окрім кератоцитів в передній частині строми рогівки також розташовуються дендритні клітини, які також зустрічаються в передньому епітелії рогівки. В задній частині строми також локалізуються макрофаги.

Глибше розташовується Десцеметова мембрана (задня погранична пластинка), яка вкриває задню поверхню власної речовини рогівки. Десцеметова мембрана, яка містить колагенові волокна та аморфну речовину є базальною мембраною заднього епітелію (ендотелію) рогівки.

Задній епітелій рогівки (ендотелій передньої камери ока) збережений, представлений одним шаром плоских клітин, які щільно прилягають до десцеметової мембрани та відмежовують задню поверхню рогівки від скловидної рідини передньої камери ока. На поперечних розрізах рогівки ендотеліоцити мають вигляд виразно ущільнених клітин плоскої форми. Відстань між ядрами сусідніх ендотеліальних клітин значна.

Підсумок

У результаті проведеного мікроструктурного дослідження встановлено кількісну поширену морфологічну ідентичність у структурній організації між шарами рогівки щура, що відповідає поширеній стратифікації шарів рогівки людини в нормі.

Перспективи подальших досліджень

Глибоке вивчення структурної організації

шарів рогівки інтактних тварин (щури), що використовуються в якості об'єктів з метою створення експериментальних патологій дасть можливість створити морфологічне підґрунтя норми. В подальшому при вивченні патоморфологічних змін у шарах рогівки при моделюванні експериментальних нозологій дасть можливість встановити оптимальні з точки зору патоморфології терміни проведення медикаментозної корекції змін у шарах рогівки при прогресуючих явищах діабетичного кератиту.

Результати проведеного дослідження у майбутньому дозволять провести порівняльну морфологічну характеристику між шарами рогівки інтактної та експериментальної груп тварин та нададуть можливість спираючись на вихідні параметри обґрунтувати терміни початку та схему медикаментозної корекції змін у шарах рогівки при експериментальному стрептозотоніндукованому цукровому діабеті на підставі співставлення патоморфологічних проявів у субхронічний та хронічний періоди експериментального стрептозотоніндукованого цукрового діабету. Це надасть нам можливість встановити найбільш оптимальний період проведення корекції з метою стабілізації проявів діабетичного кератиту.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональні особливості органів у пре- та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операцій та ожирінні» (номер державної реєстрації 0120U002129).

Літературні джерела References

1. Sridhar MS. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol*. 2018;66(2):190-194. doi: 10.4103/ijo.IJO_646_17. PMID: 29380756; PMCID: PMC5819093.
2. Courson JA, Rumbaut RE, Burns AR. Impact of Obesity and Age on Mouse Corneal Innervation at the Epithelial-Stromal Interface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2024;65(5):11. doi: 10.1167/iovs.65.5.11.
3. Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;134:7-23. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.04.001. Epub 2015 Jun 4. PMID: 26310146.
4. Herasymyuk IYe, Shkilniuk IM. [Peculiarities of the structure of the organ of vision and its blood supply in normal rabbits]. *Bulletin of morphology*. 2010;16(3):516–520.
5. Kovalenko VM, Stefanov OV, Maksymov

- YuM, Trahtenberh IM. Eksperymentalne vyvchennia toksychnoi diyi potentsiynyh likarskyh zasobiv. [Experimental study of the toxic effect of potential medicinal products]. Kyiv : Avicena, 2001. 588 p.
6. Harkovenko RV, Pushkar MS, Yashchenko AM. [Lectin histochemistry of the retina and optic nerve of rats in normal conditions and with hyperhomocysteinemia]. *The world of biology and medicine*. 2009;3(1):173–179.
7. Jiang MS, Yuan Y, Gu ZX, Zhuang SL. Corneal confocal microscopy for assessment of diabetic peripheral neuropathy: A meta-analysis. *Br. J. Ophthalmol*. 2015;100:9–14.
8. Tavakoli M, Mitu-Pretorian M, Petropoulos IN, Fadavi H, Asghar O, Alam U, Ponirakis G, Jeziorska M, Marshall A, Efron N. Corneal Confocal Microscopy Detects Early Nerve Regeneration in Diabetic Neuropathy After Simultaneous Pancreas and

Kidney Transplantation. Diabetes. 2012;62:254–260.

9. Tavakoli M, Kallinikos P, Iqbal A, Herbert A, Fadavi H, Efron N, Boulton AJM, Verjee MA. Corneal confocal microscopy detects improvement in corneal nerve morphology with an improvement in risk factors for diabetic neuropathy. Diabet. Med. 2011;28:1261–1267.

10. Markoulli M, Flanagan J, Tummanapalli SS, Wu J, Willcox M. The impact of diabetes on corneal nerve morphology and ocular surface integrity. Ocul. Surf. 2018;16:45–57.

11. Bommer C, Sagalova V, Heesemann E, Manne-Goechler J, Atun R, Bärnighausen T, Davies J, Vollmer S. Global Economic Burden of Diabetes in Adults: Projections From 2015 to 2030. Diabetes Care. 2018;41:963–970.

12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on

the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union. 2010;53(L276):33-79.

13. Louhimies S. Directive 86/609/EEC on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Alternatives to Laboratory Animals. 2002;30(2):217-219.

14. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg: Council of Europe. 1986;123:52.

15. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI. [Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions. Tutorial]. Zhytomyr : Polissya. 2015: 286 p.

Слободян О.М., Рудницька Х.І., Сімонов В.Ф., Гриценко А.П., Войценко К.І. Мікроструктурна організація шарів рогівки щура в нормі.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Вивчення структурної організації тканин окремих органів піддослідних лабораторних тварин є необхідним на сьогоднішні питання у зв'язку з їх чисельним використанням в експериментальній медицині з метою моделювання патологічних процесів та вивчення патоморфологічних проявів в динаміці. Враховуючи виключну роль рогівки і складність її організації надзвичайно важливо розуміти особливості її будови з метою створення морфологічного субстрату норми, з яким в подальшому буде проводитись порівняльна характеристика отриманого матеріалу на різних термінах перебігу змодельованого патологічного процесу. Це висвітлено у ряді фахових вітчизняних та зарубіжних наукових публікацій і стосується вивчення динаміки патоморфологічних змін у ряді структур. З вище зазначеного на сьогодні у вітчизняній та зарубіжній фаховій літературі є достатньо інформації щодо будови сітківки на мікрорівні, але ми вирішили доповнити і розширити це питання завдяки власним дослідженням, що стосуються морфологічної організації шарів рогівки щурів. Тому, вважаю, що дане дослідження є актуальним як з точки зору експериментальної морфології, так і з практичної точки зору. **Метою** нашого дослідження стало детальне вивчення поширокої будови рогівки щура в нормі. **Методи.** Дослідження проводили на 15 статевозрілих, безпородних білих щурах-самцях, масою 120-130 г. У роботі використовували 1 групу тварин: (15 тварин) – інтактні. Для мікроскопічного дослідження використовували очні яблука щурів (пересікалися по ділянці лімба). Препарати для гістологічного дослідження готували за загальноприйнятою методикою. Мікроскопічні дослідження та фотографування препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа МБІ – 1 і цифровим фотоапаратом Nikon D 3100. **Результати.** Як показали наші дослідження, на мікроструктурному рівні рогівки інтактних лабораторних щурів чітко візуалізується багат шаровий плоский не зроговілий епітелій (передній епітелій), власна речовина (строма рогівки) та ендотелій (задній епітелій рогівки). Багат шаровий плоский незроговілий передній епітелій рогівки на більшості ділянок утворює 3-5 клітинних рядів, які формують три основні клітинні шари: базальний, середній та поверхневий. Власна речовина (строма рогівки) товста, масивна, утворена чисельними чітко впорядкованими сполучнотканинними пластинками, з добре організованими волокнами колагенового матриксу. Глибше розташовується Десцеметова мембрана (задня погранична пластинка), яка вкриває задню поверхню власної речовини рогівки. Десцеметова мембрана, яка містить колагенові волокна та аморфну речовину є базальною мембраною заднього епітелію (ендотелію) рогівки. Задній епітелій рогівки (ендотелій передньої камери ока) збережений, представлений одним шаром плоских клітин, які щільно прилягають до десцеметової мембрани та відмежовують задню поверхню рогівки від скловидної рідини передньої камери ока. Дані результати у майбутньому дозволять створити мікро морфологічне підґрунття норми з метою використання його при проведенні порівняння виникаючих змін в шарах рогівки при експериментальному моделюванні вивчаємих нозологій різного генезу. У майбутньому це надасть можливість встановити найбільш оптимальний період з метою проведення корекції і як наслідок стабілізації проявів патологічного впливу.

Ключові слова: рогівка, оболонки ока, норма, експеримент, патологія, щур.

**Науково-практична конференція з міжнародною участю
«ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЛЕКТИНОМОРФОЛОГІЇ»
(10 травня 2024 року, м. Львів, Україна)**



Науково-практична конференція з міжнародною участю «Досягнення та перспективи лектиноморфології», яка відбулася на базі Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького 10 травня 2024 року, привернула увагу всієї наукової морфологічної спільноти нашої держави та багатьох провідних фахівців іноземних закладів.

За роки суттєвого обмеження офлайн-формату наукових з'їздів та форумів в Україні Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького вперше зібрав у своїх стінах багатьох провідних морфологів і молодих науковців майже з усіх куточків держави, надавши неоціненну можливість для безпосереднього живого спілкування між представниками морфологічної спільноти.

Науково-практична конференція була приурочена до 70-річного ювілею видатного вітчизняного гістолога професора Олександра Дмитровича Луцика – натхненника і головного автора шести видань національного підручника з гістології, який забезпечив базову освіту багатьох генерацій лікарів.

Голова оргкомітету Ілона Челпанова розпочала конференцію віддаючи шану незламним воїнам, неймовірно стійкому народові України, полеглим героям, проректор з наукової роботи Вікторія Сергієнко висловила глибоку вдячність професору Олександру Луцику та вручила Грамоту за багаторічну сумлінну та плідну працю в університеті.

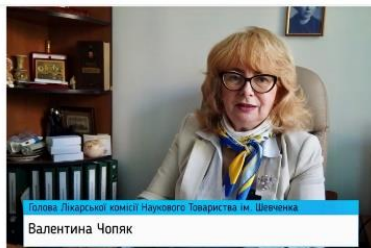
Голова Всеукраїнської громадської організації «Наукове товариство анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України» професор Олена Аппельханс урочисто нагородила Олександра Дмитровича першим в історії товариства орденом «За заслуги у морфологічній науці» разом із Дипломом за номером 001. Директор Наукової бібліотеки ЛНМУ ім. Данила Галицького кандидат історичних наук Марта Надрага висловила щирі привітання ювіляру та вручила бібліографічне видання до 70-річного ювілею професора Олександра Дмитровича Луцика та передала найновіше видання книги "Гістологія, цитологія та ембріологія" (2024) і подяку від директора видавництва "Нова книга" Віктора Георгієва, який зараз захищає Україну в лавах Збройних Сил України.

Упродовж тривалої конференції делегати, студенти, вільні учасники прослухали велику кількість доповідей, цікавих історій та спогадів видатних морфологів, професорів, серед яких були: Олександр Грабовий, Сергій Геращенко, Зоя Небесна, Олександр Степаненко, Ярослав Степанюк, Олександр Цигикало, Ігор Твердохліб, Зоряна Масна, Леся Матешук-Вацеба, Людмила Сокуренько, Наталія Мельник, Ростислав Стойка, Володимир Антонюк, Ростислав Білий, Патрік Бенкстон, П'єтр Джейгель, Валентина Чопяк, Олександр Надрага та ін. Студенти та науковці-початківці гідно, змістовно та сміливо представили поважний аудиторії свої роботи.

На довершення форуму всі делегати відзначили бездоганну організацію конференції та її сателітних заходів, подякували за можливість неформального спілкування та висловили прагнення до відновлення мирного розвитку морфологічної науки в Україні.

**Фотохроніка науково-практичної конференції з міжнародною участю
«Досягнення та перспективи лектиноморфології» (10 травня 2024 року, м. Львів, Україна)**





І.В. Челпанова
А.М. Ященко

Львівський національний
медичний університет імені
Данила Галицького
Львів, Україна

Надійшла: 26.05.2024

Прийнята: 12.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.105-107>

ДО 70-РІЧЧЯ ВИДАТНОГО ВІТЧИЗНЯНОГО ГІСТОЛОГА ОЛЕКСАНДРА ЛУЦИКА

Chelpanova I.V.  , Yashchenko A.M.  On the 70th anniversary of the outstanding ukrainian histologist Alexander Lutsyk.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. On May 2, 2024, Professor Alexander Lutsyk – histologist, long-term head of Histology and Embryology Department (1989-2020), Vice-Rector for International Relations (1997-2000), Vice-Rector for Research (2000-2014) of Danylo Halytsky Lviv National Medical University (LNMU) – celebrates his 70th anniversary. Research interests of Dr Lutsyk were directed predominantly towards the application of lectins as tools in experimental histology, embryology and pathomorphology. In 1974 he was among the first in Ukraine who used lectins as histochemical dyes to study organ and tissue carbohydrates under normal and various pathological conditions. In 1989 he established a unique lectin histochemistry laboratory at the Histology and Embryology Department, where a large count of interested morphologists underwent training through the next decades, resulting in more than 30 Phd and Dsci dissertations being completed and defended. Professor Lutsyk research activities and results were presented in two monographs – «Lectins» (1980) and «Lectins in Histochemistry» (1989), as well as the promotion of Dsci thesis. Almost simultaneously Alexander Lutsyk initiated preparation and publication of “Human histology” (1992) – the first modern histology and embryology textbook, written in Ukrainian language. This textbook got the State award of Ukraine (1994), and since then for more than 30 years has been used by students and lecturers of medicine and dentistry in the Ukrainian Universities, being five times re-edited (1993, 2003, 2010, 2013, 2015). In 1999 Dr Lutsyk with co-authors published «Atlas of Microanatomy of the Oral Cavity Organs», which in 2000 was awarded the Yaroslav Mudryy Prize of the Academy of Sciences of Higher Education of Ukraine. Also he was among the translators into Ukrainian language the International Histological Terminology (editions 1993, 2001, 2010), of Langman’s Medical Embryology (2001), Ganong’s Human Physiology (2002), Dorland’s Illustrated Medical Dictionary (editions 2003, 2007), Netter’s Human Anatomy (2004, 2009). The above didactic activities were crowned with publication by the leading Ukrainian histologists under the editorship of Professor Lutsyk and Professor Chaikovskiy National textbooks «Histology. Cytology. Embryology» for medical and dental students and professionals. Since 2016, Alexander Lutsyk is the deputy editor of the journals «Proceedings of the Shevchenko Scientific Society. Medical sciences», member of the editorial board of the journals «Morphologia», «Lviv Medical Journal/ Acta Medica Leopoliensia», «Lviv Clinical Bulletin». Currently he is co-author of more than 400 publications of different levels, accounting for Hirsch index in Scopus database – 7, in Google Scholar – 13). Under Dr Lutsyk guidance were prepared and conferred 5 PhD and 2 Dsci dissertations. In September 2019, by the decision of the Presidium of the Scientific Society of Anatomists, Histologists, Embryologists, and Topographic Anatomists of Ukraine, Professor Alexander Lutsyk was awarded the highest distinction of this same Society – «The Golden Medal of V.O. Betz». In 2024, he received the first ever “For Merit in Morphological Science” order.

Key words: Alexander Lutsyk, a well known histologist, morphologist, lectin histochemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University.

Citation:

Chelpanova IV, Yashchenko AM. [On the 70th anniversary of the outstanding ukrainian histologist Alexander Lutsyk]. Morphologia. 2024;18(2):105-7. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.105-107>

 Chelpanova I.V. 0000-0001-5215-814X

 Yashchenko A.M. 0000-0002-8422-5834

 ilona.med75@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

2 травня 2024 року відзначив свій 70-річний ювілей Олександр Луцик – видатний гістолог, відомий науковець, талановитий викладач, доктор

медичних наук, лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки, голова Львівського осередку Наукового Товариства АГЕТ, дійсний

член лікарської комісії НТШ, багаторічний завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, нині – професор цієї ж кафедри, чия натхненна праця, вагомий внесок у розвиток української науки і освіти принесли заслужене визнання науковою спільнотою України та використовуються багатьма вченими світу. Відданість обраній спеціальності, професіоналізм, працьовитість та наполегливість у досягненні поставлених цілей дали змогу досягти значних успіхів у більш ніж 50-річній науково-педагогічній діяльності, здобути шану та повагу серед колег-науковців, студентів не тільки на теренах України, а й далеко за її межами.



Олександр Луцик є заступником редактора журналу «Праці НТШ. Медичні науки», членом редакційної колегії журналів «Морфологія»,

«Львівський медичний журнал/ Acta Medica Leopoliensia», «Львівський клінічний вісник» та ін.

Професор Луцик зосереджував свої наукові інтереси на застосуванні лектинів як інструментів в експериментальній гістології, ембріології та патоморфології. Він був одним з перших в Україні, хто застосував лектини як гістохімічні барвники для дослідження вуглеводів органів і тканин у нормі та при різних патологіях (1974 рік). А вже у 1989 році доктор Луцик створив унікальну лабораторію гістохімії лектинів на базі кафедри гістології та ембріології, де протягом наступних десятиліть проходила підготовку велика кількість зацікавлених морфологів, у результаті чого було завершено та захищено понад 30 кандидатських і докторських дисертацій. Наукова діяльність і результати професора Луцика викладені у двох монографіях – «Лектини» (1980) та «Лектини в гістохімії» (1989), а також у докторській дисертації (1989).

З 1991 року, зі становленням України як незалежної держави, почався новий період для української вищої медичної освіти. Мова - це фундамент національно-культурної ідентичності народу. Тому, професор Олександр Луцик ініціював підготовку та видання «Гістології людини» – першого сучасного підручника з гістології та ембріології українською мовою, яка вийшла друком у 1992 році. Цей підручник відзначений Державною премією України (1994 р.) і з того часу понад 30 років використовувався студентами та викладачами медичних і стоматологічних факультетів університетів України, перевидавався 5 разів у 1993, 2003, 2010, 2013 та 2015 роках.



У 1999 р. професор Луцик із співавторами видав «Атлас мікроанатомії органів ротової порожнини», який у 2000 р. був удостоєний премії імені Ярослава Мудрого Академії наук вищої освіти України. Професор Луцик також був серед перекладачів українською мовою Міжнародної гістологічної термінології. (видання 1993, 2001, 2010), «Медичної ембріології» Лангмана (2001), «Фізіології людини» Ганонга (2002), Ілюстрованого медичного словника Дорланда (видання 2003, 2007), «Анатомії людини» Неттера (2004, 2009). Зазначені вище навчальні матеріали завер-

шилися виданням провідними українськими гістологами під редакцією професорів Луцика та професора Чайковського Національного підручника «Гістологія. Цитологія. Ембріологія» для студентів медичного та стоматологічного факультетів (2018). У вересні 2019 року професор Олександр Луцик був удостоєний найвищої відзнаки Наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України – "Золотої медалі імені В.О.Беца", а у 2024 році за рішенням Президії товариства отримав перший в історії товариства орден «За заслуги у морфологічній науці».

Челпанова І.В., Ященко А.М. До 70-річчя видатного вітчизняного гістолога Олександра Луцика.

РЕФЕРАТ. Олександр Луцик – видатний гістолог, відомий науковець, талановитий викладач, доктор медичних наук, лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки, голова Львівського осередку Наукового Товариства АГЕТ, дійсний член лікарської комісії НТШ, багаторічний завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, нині – професор цієї ж кафедри, чия натхненна праця, вагомий внесок у розвиток української науки і освіти принесли заслужене визнання науковою спільнотою України та використовуються багатьма вченими світу. Олександр Луцик є заступником редактора журналу «Праці НТШ. Медичні науки», членом редакційної колегії журналів «Морфологія», «Львівський медичний журнал/Acta Medica Leopoliensia», «Львівський клінічний вісник» та ін. У 1989 році доктор Луцик створив унікальну лабораторію гістохімії лектинів на базі кафедри гістології та ембріології, де протягом наступних десятиліть проходила підготовку велика кількість зацікавлених морфологів, у результаті чого було завершено та захищено понад 30 кандидатських і докторських дисертацій. Наукова діяльність і результати професора Луцика викладені у двох монографіях – «Лектини» (1980) та «Лектини в гістохімії» (1989), а також у докторській дисертації (1989). У вересні 2019 року професор Олександр Луцик був удостоєний найвищої відзнаки Наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України – "Золотої медалі імені В.О.Беца", а у 2024 році отримав перший в історії товариства орден «За заслуги у морфологічній науці».

Ключові слова: Олександр Луцик, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького.

ДО ВІДОМА АВТОРІВ

Загальні вимоги

Дана інформація складена на основі «Єдиних вимог до рукописів, що подаються в біомедичні журнали», з якими автори можуть ознайомитися детальніше на сайті <http://www.ICMJE.org>.

Журнал «Morphologia» публікує оглядові і проблемні статті, лекції, оригінальні статті, короткі повідомлення, рецензії та відгуки на публікації, посібники і монографії, матеріали з методології наукових досліджень, анонси, новини, повідомлення, презентації, а також матеріали з хроніки та історії в галузі морфології.

Редакція розглядає матеріали публікацій з дотриманням [авторських прав](#) і [етичних норм наукової публікації](#).

Редакція приймає матеріали, які надаються українською або англійською мовами.

При поданні рукопису автори повинні урахувати та розкрити потенційні конфлікти інтересів або чітко заявити про їх відсутність (більш детальну інформацію можна знайти в розділі «D. Конфлікт інтересів» [«Єдиних вимог до рукописів, що подаються в біомедичні журнали»](#)).

За наявності в рукописі інформації, що ідентифікує особу учасників дослідження, слід надати їх письмовий дозвіл на публікацію.

У рукописах має бути чітко позначена відповідність принципам біоетики, що викладені в [Декларації Хельсінкі](#) та Законі України [«Про захист тварин від жорстокого поводження»](#) (№ 1759-VI від 15.12.2009) або в аналогічних документах національного рівня інших держав.

Технічні вимоги до рукопису

Обсяг оглядової, проблемної статті або лекції повинен становити від 12 до 36 сторінок машинопису, оригінальної статті від 8 до 24 сторінок, включаючи ілюстративний матеріал, інших матеріалів за узгодженням з редакцією.

Текст друкується через 1,5 інтервали, розмір шрифту 14, гарнітура Times New Roman. Відступ абзацу 10 мм. Береги з усіх боків по 20 мм.

Стаття повинна бути виконана у форматі RTF або «документ Microsoft Word».

Структура рукопису:

- УДК
- Назва статті (без аббревіатур)
- Автор(и): ініціали, прізвище
- ORCID ідентифікатори авторів
- E-mail відповідального автора
- Офіційна назва установи, місто (для кожного автора)
- Дані про зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами, фондами, інституціями, грантами (за їх наявності)
- Реферат українською та англійською мовами.
- Текст статті

Реферат до статті (правила оформлення)

Реферати українською та англійською мовами потрібно надавати обсягом від 1800 до 2200 знаків та структурувати за такими рубриками: назва статті, прізвища та ініціали авторів, їх місце роботи, актуальність (Background), мета

(Objective), методи (Methods), результати (Results), підсумок або висновки (Conclusion), ключові слова (Key words).

У зв'язку з обробкою метаданих кожної статті журналу наукометричними базами звертаємо увагу авторів на особливу важливість ретельного оформлення назв установ і прізвищ авторів, так як від цього залежить успішність їх ідентифікації та розрахунку наукометричних показників.

У тексті оригінальної статті варто додержуватись послідовності обов'язкових складових:

- Вступ
- Мета
- Матеріали та методи
- Результати та їх обговорення
- Підсумок (або висновки)
- Перспективи подальших розробок
- Літературні джерела (див. Додаток)

У тексті статті всі фізичні величини та одиниці слід наводити за SI, терміни згідно з анатомічною та гістологічною номенклатурами, назви хвороб за діючою Міжнародною класифікацією хвороб, лікарські препарати за Міжнародними непатентованими назвами (INN).

Всі скорочення при їх першому згадуванні повинні бути розшифровані. Використання скорочень у назві статті та рефераті не дозволяється.

Посилання на першоджерела в тексті статті треба здійснювати наведенням у квадратних дужках порядкового номера у списку літературних джерел. Можливе також посилання у вигляді: «...на думку І.І. Іванова та співавторів [8], R.T.

Smith з колегами [12]...». Посилання на кілька першоджерел у тексті статті розділяються таким чином: «...[2, 4, 6-8]».

Стаття може містити діаграми, графіки та таблиці, що побудовані внутрішніми засобами редактора MS Word. Для позначення приміток рекомендовано використовувати наступні елементи у відповідній послідовності: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡. Фотоілюстрації подаються в електронному варіанті окремими файлами у форматі JPEG або TIFF; роздільна здатність має складати не менше ніж 150 точок на дюйм. У тексті статті рисунки потрібно розташовувати після першого посилання на них, підписи до рисунків наводити мовою оригіналу статті й обов'язково англійською.

Рукопис повинен бути ретельно відредагований авторами. Всі статті підлягають процедурі рецензування.

Для первинної експертизи рукопис і відомості про авторів (установи, посади, наукові ступені та вчені звання авторів) потрібно надсилати за адресою: morphology@dmu.edu.ua.

У разі прийняття статті на цю ж адресу надсилається відсканована копія «Авторської згоди» з підписом відповідального автора.

Додаток

Літературні джерела (правила і приклади оформлення списку)

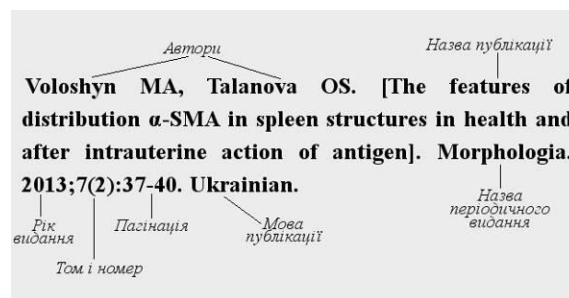
Всі літературні посилання, які наведені в роботі, обов'язково повинні бути представлені в списку першоджерел у порядку використання (посилань) у тексті. Скорочення назв журналів наводяться згідно зі стандартами Index Medicus (http://www.wsulibs.wsu.edu/general/journal_abbreviations.html). За достовірності даних, наведених у бібліографічному списку, відповідає автор.

Кожне використане бібліографічне джерело має бути позначене у тексті статті (у квадратних дужках). Посилання на неопубліковані роботи або матеріали на правах рукопису (дисертації, автореферати) не допускаються.

Кожне джерело у списку необхідно оформлювати у форматі міжнародного стандарту Vancouver reference style (NLM/PubMed). У разі наявності в мережі Інтернет електронної копії цитованого документа бажано в кінці бібліографічного посилання розміщувати URL адресу документа; за наявності слід також вказувати DOI або PMID статті. При оформленні посилань на періодичні видання, що мають кілька варіантів назви, слід віддавати перевагу англійській.

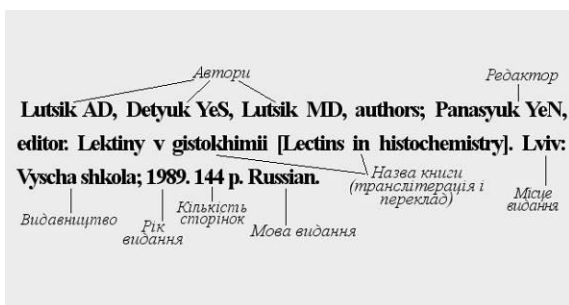
Коротка інструкція по оформленню типових літературних посилань відповідно до міжнародних вимог [Vancouver reference style \(NLM/PubMed\)](#).

Оформлення посилання на статтю, опубліковану в періодичному виданні:



Необхідно вказувати всіх авторів, відокремлювати їх один від одного комою і пробілом. Ініціали вказуються після прізвища, знаками пунктуації не розділяються. Повні імена авторів не наводяться. Після переліку авторів ставиться крапка і пробіл. Назва публікації наводиться англійською мовою у квадратних дужках. Після назви статті ставиться крапка і пробіл. Для статті англійською мовою назва вказується без квадратних дужок. Назва періодичного видання наводиться англійською мовою або транслітерацією назви символами латинського алфавіту. Допускається наводити зареєстроване скорочення назви періодичного видання. Після назви видання ставиться крапка і пробіл. Інформація про видання: рік видання відокремлюється крапкою з комою, потім наводиться номер тому, в круглих дужках вказується номер журналу, після двокрапки приводиться діапазон сторінок. Для статті, що опублікована не англійською мовою, в кінці сформованого посилання вказується мова оригіналу. Додаткова інформація про статтю номери DOI PubMed ID та ін.

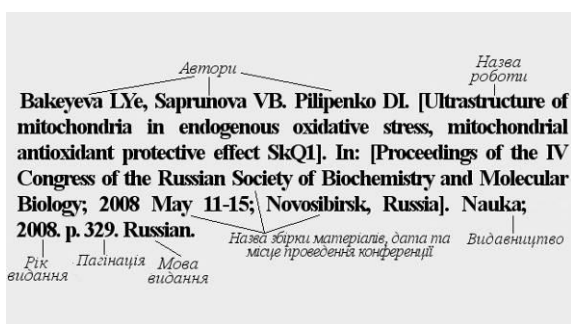
Оформлення посилання на книгу:



Необхідно вказувати всіх авторів, відокремлювати їх один від одного комою і пробілом. Ініціали вказуються після прізвища, знаками пунктуації не розділяються. Повні імена авторів не наводяться. Автори першого і другого порядків розділяються крапкою з комою і пробілом. Автори другого порядку редактори, перекладачі. Після переліку авторів ставиться крапка і пробіл. Назва книги: наводиться транслітерація назви

книги і/або переклад назви книги англійською мовою в квадратних дужках. Якщо книга видана англійською мовою, назва її в квадратні дужки не береться. Після назви книги ставиться крапка і пробіл. Номер видання (у форматі 1st, 2nd, 3rd, 4th тощо), додаткова інформація про видання: виправлене (rev.), доповнене (enl.), стереотипне (perg.) та інші. Зверніть увагу перше видання вказується тільки в тому випадку, якщо достовірно відомо про подальші перевидання і Ви цитуєте саме перше видання. Місце видання вказується місто, в круглих дужках за необхідності вказується країна. Після зазначення місця публікації ставиться двокрапка і пробіл. Видавництво наводиться транслітероване латиницею або його англійська назва. Після видавництва ставиться крапка з комою і пробіл. Рік видання, після вказівки його ставиться крапка і пробіл. Обсяг книги в сторінках (наприклад, 568 p.), після зазначення його ставиться крапка і пробіл. Для книги, що опублікована не англійською мовою, в кінці посилання вказується мова оригіналу.

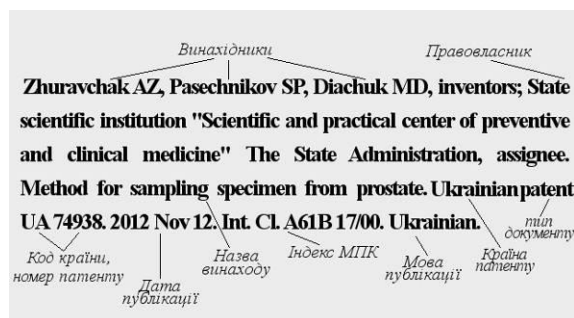
Оформлення посилання на матеріали конференції:



Необхідно вказувати всіх авторів, відокремлювати їх один від одного комою і пробілом. Ініціали вказуються після прізвища, знаками пунктуації не розділяються. Повні імена авторів не наводяться. Після переліку авторів ставиться кома і зазначається *inventor* або *inventors*, ставиться крапка з комою і пробіл. Правовласник вказується ім'я (правила аналогічні таким для винахідників) або назва організації, потім після коми вказується *assignee*, потім ставиться крапка точка і пробіл. Наводиться назва винаходу, після нього ставиться крапка і пробіл. Вказується країна реєстрації, а також тип документу (патент), код країни і номер патенту. Всі елементи розділяються пробілами, наприкінці ставиться крапка і пробіл. Вказується дата публікації інформації про видачу патенту, потім крапка з пробілом. Індекс (індекси) Міжнародної патентної класифікації наводяться після *Int. Cl.*, Якщо їх більше одного розділяються крапкою з комою. Після зазначення всіх індексів ставиться крапка і пробіл. Для матеріалів, виданих не англійською мовою, в кінці сформованого посилання вказується мова оригіналу.

Після назви ставиться крапка і пробіл. Слід зазначити максимально повні відомості про конференцію: дату проведення, місце проведення та ін. Видавництво зазначається місто видання і назва видавництва транслітерацією латиницею або англійською назвою. Після зазначення видавництва ставиться крапка з комою і пробіл. Рік видання, після нього ставиться крапка і пробіл. Діапазон сторінок, після нього ставиться крапка і пробіл. Для матеріалів, що опубліковані не англійською мовою, в кінці сформованого посилання вказується мова оригіналу.

Оформлення посилання на патент:



Необхідно вказувати всіх авторів, відокремлювати їх один від одного комою і пробілом. Ініціали вказуються після прізвища, знаками пунктуації не розділяються. Повні імена авторів не наводяться. Після переліку авторів ставиться кома і зазначається *inventor* або *inventors*, ставиться крапка з комою і пробіл. Правовласник вказується ім'я (правила аналогічні таким для винахідників) або назва організації, потім після коми вказується *assignee*, потім ставиться крапка точка і пробіл. Наводиться назва винаходу, після нього ставиться крапка і пробіл. Вказується країна реєстрації, а також тип документу (патент), код країни і номер патенту. Всі елементи розділяються пробілами, наприкінці ставиться крапка і пробіл. Вказується дата публікації інформації про видачу патенту, потім крапка з пробілом. Індекс (індекси) Міжнародної патентної класифікації наводяться після *Int. Cl.*, Якщо їх більше одного розділяються крапкою з комою. Після зазначення всіх індексів ставиться крапка і пробіл. Для матеріалів, виданих не англійською мовою, в кінці сформованого посилання вказується мова оригіналу.

Адреса редакції: 49005, Україна, м. Дніпро, вул.Севастопольська, 19.
 Редакція журналу «Morphologia».
 Тел.: 0974584284.
 E-mail: morphology.ivt@gmail.com

AUTHOR GUIDELINES

General requirements

This information is based upon the "Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals" which authors can find online www.ICMJE.org.

Journal «Morphologia» publishes reviews and topical articles, lectures, original papers, case reports, review and comments on publications, manuals and monographs, materials in research methodology, announcements, news, reports, presentations, and materials on the history and chronicles in morphology.

Editorial office examines materials of publications in compliance with [copyright](#) and [ethical norms](#). Editorial Board accepts the materials written in English and Ukrainian languages.

When submitting a manuscript, authors should consider and disclose potential [conflicts of interest](#) or

clearly state their absence (more information can be found in section «D. Conflicts of Interest» of the "Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals").

In the case when submitted manuscript contains personally identifiable information of study participants authors should provide their written permission to publish such materials.

In the manuscripts should be clearly indicated compliance with the principles of bioethics set in the [Declaration of Helsinki](#) and in the Law of Ukraine "About protection of animals from violent behavior" (№ 1759 -VI 15 Dec 2009) or equivalent documents of the national level of other countries.

Technical requirements for the manuscripts

Size of Review, critical articles or lectures should be from 12 up to 36 typewritten pages, original articles from 8 up to 24 pages, including illustrations, other publications on consideration with the editorial office.

The text is printed with 1.5 line spacing, font size 14, Times New Roman. Paragraph indent 10 mm, all margins 20 mm.

Article must be done in RTF or «document Microsoft Word».

The structure of the manuscript:

- UDC
- Title of the article (no abbreviations)
- Author (s): initials, surname
- ORCID identifier of every author
- e-mail of the responsible author
- The official name of the institution (affiliation), the city
- Data about communication of publication with the planned research project, foundation source, institutions, grants (if available)
- Summary in English language
- Text of the article

Abstract of the article

(Design rules)

Extended abstract (from 1800 up to 2200 symbols) in English should be submitted with next mandatory elements: title of the article, Family name and first names of all authors, their affiliations, the actuality of research (Background), purpose (Objective), methods (Methods), results (Results), conclusions (Conclusion), keywords (Key words).

Because of the processing of the metadata of each article by scientometric databases authors

should pay especial attention to the particular importance of careful designation of names of institutions and authors, as it affects the success of their identification and calculation by scientometric indicators.

In the text of the original article authors should follow the sequence of mandatory components:

- o Background
- o Purpose
- o Materials and Methods
- o Results and discussion
- o The conclusion (or conclusions)
- o Prospects for further investigations
- o References (see Appendix)

In the text of the article all the physical units should be given in system SI, terms according to the anatomical and histological nomenclature, names of diseases according to the current International Classification of Diseases, drugs at the International Nonproprietary Name (INN).

All abbreviations at their first mention must be decrypted. Use of abbreviations in the title and abstract is not allowed.

A citation of the original documents in the text of the manuscript should be implemented in square parentheses indicating the sequence number in the list of references. Acceptable also to cite as: according to I.I.Ivanova et al. [8], RT Smith and colleagues [12]. Citations of several primary sources in the text should be separated as follows: [2, 4, 6-8]".

Article may contain diagrams, graphs and tables constructed by internal means of MS Word. To denote footnotes, it is recommended to use the elements in the following order: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡. Photoillustrations are submitted electronically as separate files in JPEG or TIFF with minimal resolution 150

dpi. The text of the article should include drawings after the first reference to them, figure captions need to be done in the original language and in English mandatory.

The manuscript should be carefully edited by the authors. All articles are subjected to peer [review procedure](#).

For primary expertise manuscript and information about the author (affiliation, position, scientific degrees and academic titles of authors) should be sent to e-mail at: morphology@dmu.edu.ua. In case of article acceptance a scanned copy of the "[Copy-right Agreement](#)" with the signature of the responsible author is sent to editorial office.

Appendix

References (Rules and examples of the list)

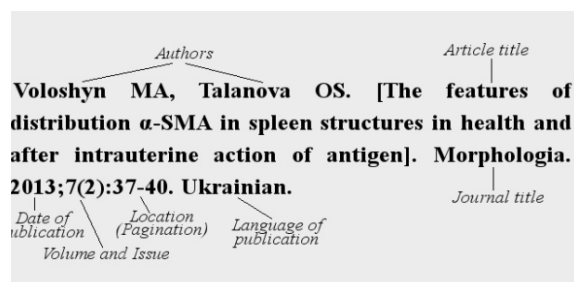
All references cited in the paper must be arranged in a list in order of their first mentioning in the text. Abbreviations of journal titles are provided in accordance with the standards of [Index Medicus](#). The author is responsible for the accuracy of the data provided in the bibliography.

Each used bibliographic source must be designated in the text (in square parentheses). References to unpublished work or materials as a manuscript (dissertations, reports) are not allowed.

Each source in the list should be composed an international standard format [Vancouver reference style \(NLM/PubMed\)](#). In case of presence of the electronic copy of the cited document in the Internet, it is desirable to place the URL of the document at the end of the reference, also indicate the DOI and PMID of the article if it is available. When citing periodicals, with more than one title, preference should be given to English one.

Quick start guide on the arrangement of standard references in accordance with international requirements of [Vancouver reference style](#).

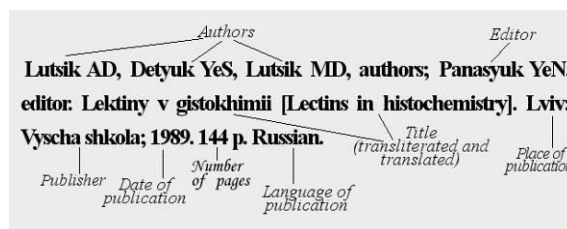
Reference to an article published in a periodical:



All authors should be indicated, separate them with a comma and a space. Initials are placed after the surnames, they are not separated by punctuation. Full names of the authors are not given. After the list of authors put a dot and a space. Article title written in English is given in square parentheses. After the title

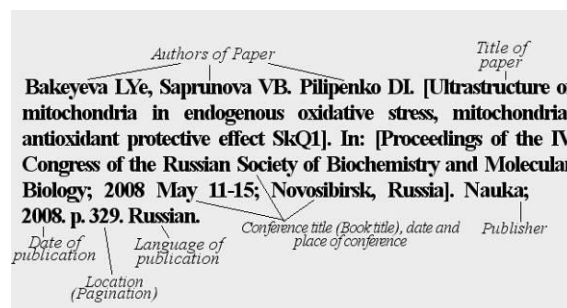
of the article put a dot and a space. For publications originally written in English title is not placed in square parentheses. Indicate journal title in English or by transliteration with symbols of the latin alphabet. It is possible to use the registered abbreviation of the periodical title. The title of the journal is preceded by a point and a space. Publication Information: year of publication separated by a semicolon, and then the volume number, the number of issue, placed in parentheses and after them put the colon and pagination. Additional information about the article DOI, PubMed ID, and so on could be added at the end.

Reference to a book:



All authors should be indicated, separate them with a comma and a space. Initials are placed after the surnames, they are not separated by punctuation. Full names of the authors are not given. The authors of the first and second range are separated by semicolon. The authors of the second range editors, translators. After the list of authors put a dot and a space. Book title: original name in English or transliteration/translation with the symbols of latin alphabet in square parentheses. After book title there is a dot and a space. Number of issue (in format 1st, 2nd, 3rd, 4th), additional information about issue reviewed (rev.), enlarged (enl.), representational (repr.) etc. The first edition is mentioned only in case of assured existence of more than one editions of this book. Place of publication specify the city and if it is important country in parentheses. After specifying the place of publication there is a colon and a space. Publisher indicated in Latin transliteration or in its English name. After publisher there is a semicolon and a space. Year of publication, after pointing it put a dot and a space.

Reference to a conference materials:

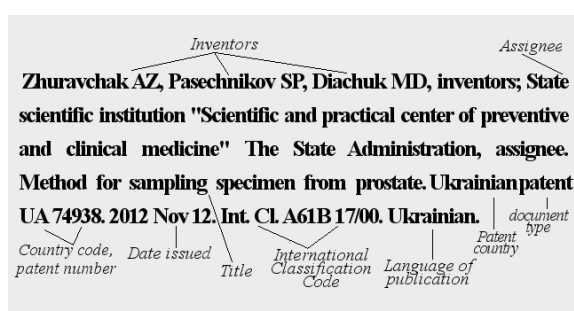


All authors should be indicated, separate them with a comma and a space. Initials are placed after the surnames, they are not separated by punctuation. Full names of the authors are not given. After the list of

authors put a dot and a space. Publication title written in English is given in square parentheses. For publications originally written in English title is not placed in square parentheses. After the title of the publication put a dot and a space. Connecting phrase «In:». Name of the conference written in English in square parentheses. For the conferences originally named in English the name is not placed in square parentheses. After the title, put a dot and a space. The most comprehensive data about the conference should be indicated dates, place and so on. Publisher the city of the publication and publisher name transliterated with Latin alphabet or English name. After specifying a publisher put a semicolon and a space. Year of publication with a dot and a space. For materials published not in English, at the end of the reference indicate the original language.

surnames, they are not separated by punctuation. Full names of the authors are not given. After list of authors (inventors) put the comma and word '*inventor*' or '*inventors*', then the semicolon and space. Assignee put the name of person (the same rules as for the inventor) or the name of organization, then put comma and the word '*assignee*', than dot and space. The title of the invention; put a dot and a space after it. Index(es) of the International Patent Classification given after Int. Cl., If more than one separated by a semicolon. After specifying all the indices put a dot and a space. For materials not published in English at the end of the reference indicates the original language.

Reference to a patent:



All authors should be indicated, separate them with a comma and a space. Initials are placed after the

Address of the editorial office: 49005, Ukraine, Dnipro, Sevastopolska str., 19.
 Editorial office of the journal «Morphologia».
 Tel.: +380974584284.
 E-mail: morphology.ivt@gmail.com



The following text is a Latin inscription, likely a dedication or a description of the anatomical work, written in a cursive script. It is oriented horizontally but appears to be a mirror image of the original text, possibly due to the way the page was scanned or the orientation of the original document.