

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД  
«ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»**

**ЧЕРКАСОВ ЕЛЬДАР ВІКТОРОВИЧ**

УДК 616.438-091.8-003.9:616-001.17:616-092.4

**СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В ТИМУСІ ЗА УМОВ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ОПКової ХВОРОБИ**

14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора медичних наук

Івано-Франківськ – 2016

Дисертацію є рукопис.

Робота виконана в Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України, м. Київ.

**Науковий консультант:** член-кореспондент НАМН України,

доктор медичних наук, професор

**ЧАЙКОВСЬКИЙ Юрій Богданович,**

Національний медичний університет

імені О.О. Богомольця МОЗ України,

кафедри гістології та ембріології,

завідувач кафедри

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор

Заслужений працівник освіти України

**ГОЛОВАЦЬКИЙ Андрій Степанович,**

Ужгородський національний університет МОН України,

кафедра нормальної анатомії людини та гістології

медичного факультету, завідувач кафедри

доктор біологічних наук, професор

**ВОЛКОВ Костянтин Степанович,**

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені

I. Я. Горбачевського» МОЗ України, кафедра гістології та

ембріології,

завідувач кафедри

доктор медичних наук, доцент

**МАЄВСЬКИЙ Олександр Євгенійович,**

Вінницький національний медичний університет імені

М. І. Пирогова МОЗ України, кафедра гістології, завідувач

кафедри

Захист відбудеться «18» листопада 2016 року о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченової ради Д 20.601.02 при ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» МОЗ України (76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» МОЗ України (76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 7).

Автореферат розісланий «13» жовтня 2016 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченової ради Д 20.601.02

кандидат медичних наук, доцент

Г. Б. Кулинич

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Актуальною і недостатньо розробленою проблемою сучасної медицини є патогенез і лікування наслідків опіків шкіри, щорічна летальність від яких за статистичними даними Всесвітньої організації охорони здоров'я становить близько 265 тисяч осіб (ВООЗ, 2014). Глибокі поширені опіки характеризуються не лише пошкодженням покривних тканин, а й викликають різноманітні, тривалі загальні морфологічні та функціональні зміни всіх органів і систем організму, які об'єднуються нозологічним поняттям «опікова хвороба» (Козинець Г. П. и соавт., 2008; Нетюхайло Л. Г. и соавт., 2011).

Важка опікова травма призводить як до місцевих, так і до загальних порушень у системі обміну речовин, природної резистентності, імунологічної реактивності (Garner W. L., 2000; Shupp J. et al., 2010; Кліменко М. О. і співт., 2012). При опіковій хворобі в крові накопичуються циркулюючі імунні комплекси внаслідок пошкодження механізмів їхнього виведення з організму обпеченою (Артемьев С. А. и соавт., 2009). Це є причиною порушення нормальної функціональної активності імуно компетентних клітин, а також їхнього токсичного ушкодження. Саме тому опікову хворобу розглядають як захворювання з вторинною імунологічною недостатністю, при якому особливо пригнічується клітинні механізми захисту (Wasserman D., 2001). З'ясовано (Носенко В. М., 2010), що раннє відновлення кількості Т-лімфоцитів покращує прогноз навіть при опіках, які складають 50% площин поверхні тіла, а також доведено (Сахаров С. П., Иванов В. В., 2010), що саме Т-клітинний імунодефіцит є предиктором розвитку інфекційних ускладнень опікової хвороби.

Визнано, що успіх лікування опікової хвороби залежить від своєчасності та тривалості фармакотерапії, спрямованої на гальмування генералізованої катаболічної реакції в осередку травми та в усіх внутрішніх органах, на оптимізацію перебігу системної запальної та апоптозної відповідей, попередження ендогенної інтоксикації та поліорганної дисфункції, забезпечення гомеостазу та імуно корекції (Козинець Г. П. и соавт., 2006; Gravante G. et al., 2007; Keck M. et al., 2009; Evers L. H. et al., 2010). У зв'язку з цим обов'язковою складовою комплексного лікування опікової хвороби клініцисти вважають внутрішньовенну інфузію препаратів дезінтоксикаційної, реологічної, енергетичної та протишокової дії (Козинець Г. П. и соавт., 2008; Tricklebank S., 2009; Семененко А. И., 2011; Коваленко О. М., 2014;).

Практично всі дослідження розвитку опікової хвороби (Keck M. et al., 2009) стосуються патологічних змін в органах та не враховують їхніх компенсаторно-пристосувальних реакцій, знання яких необхідне для розробки ефективних методів корекції структурних та функціональних зрушень в організмі після опікової травми шкіри. У контексті зазначеного

особливу увагу викликають особливості деструктивних та репаративних процесів в органах імуногенезу при опіковій хворобі і, у першу чергу, у центральному органі імунної системи – тимусі (Кветной И. М. и соавт. 2005; Ярилин А. А. и соавт., 2006). Таким чином, вивчення структурних змін у тимусі (загруднинній залозі) при опіковій хворобі, у залежності від фармакотерапії різними інфузійними розчинами, є актуальним як для фундаментальної, так і для практичної медицини.

**З'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційне дослідження є складовою спільної науково-дослідницької роботи (регламентованої угодою про наукову співпрацю між Національним медичним університетом імені О.О. Богомольця та Вінницьким національним медичним університетом імені М.І. Пирогова) «Експериментальне обґрунтування ефективності комплексних інфузійних препаратів на моделі опікової хвороби у тварин», що є фрагментом планової НДР на тему «Створити нові комплексні колоїдні кровозамінники поліфункціональної дії та розчини для ресуспендування еритроцитів (лабораторно-експериментальне обґрунтування їх застосування в трансфузіології» (КПКВ6561040, номер державної реєстрації 0107U001132). Автор є співвиконавцем зазначененої роботи.

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи є встановлення структурних змін у тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів, у залежності від фармакотерапії різними інфузійними розчинами.

#### **Завдання дослідження:**

1. Визначити загальні гістологічні та ультраструктурні прояви, а також особливості деструктивних та репаративних процесів у функціонально різних клітинах тимуса щурів з експериментальною опіковою хворобою через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після опіку шкіри II-ІІІ ступеня за умов застосування протягом перших 7 діб внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину NaCl;

2. Встановити загальні гістологічні та ультраструктурні прояви, а також особливості деструктивних та репаративних процесів у функціонально різних клітинах тимуса щурів з експериментальною опіковою хворобою через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після опіку шкіри II-ІІІ ступеня за умов застосування протягом перших 7 діб внутрішньовенної інфузії розчину лактопротеїну з сорбітолом, а також розчину HAES-LX-5%;

3. З'ясувати структурні особливості динаміки типів клітинної смерті (апоптозу, апонекрозу, автофагії, мітотичної катастрофи, зроговіння) у тимусі щурів з експериментальною опіковою хворобою через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після опіку шкіри II-ІІІ ступеня за умов застосування протягом перших 7 діб внутрішньовенної інфузії 0,9 % розчину NaCl, розчину лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX-5%;

4. Порівняти специфіку динаміки різноманітних типів клітинної смерті та структурних проявів репарації в тимусі, а також особливості клітинного циклу і фрагментації ДНК у клітинах тимуса при

експериментальній опіковій хворобі після опіку шкіри II-III ступеня за умов застосування різних інфузійних розчинів (0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом, HAES-LX-5%) із метою оцінки ефективності їхнього протекторного щодо дії патогенетичних чинників опікової хвороби та коригуючого впливів;

5. Дати детальний опис уперше встановленого ефекту розвитку «нового сполучнотканинного каркасу» та цитоархітектонічного ремоделювання тимуса при опіковій хворобі за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5 %.

*Об'єкт дослідження:* особливості структурних змін у тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів, у залежності від фармакотерапії різними інфузійними розчинами.

*Предмет дослідження:* показники гістологічних і ультраструктурних змін у тимусі, а також специфіка клітинного циклу і фрагментації ДНК у клітинах тимуса щурів через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після експериментальної опікової травми їхньої шкіри та розвитку опікової хвороби за умов застосування інфузійної терапії 0,9 % розчином NaCl, лактопротеїну з сорбітолом, HAES-LX-5%.

*Методи дослідження:* макроскопічні – для візуальної оцінки стану тимуса; гістологічні – для вивчення структурних елементів тимуса; електронномікрокроскопічний – для вивчення ультраструктури функціонально різних клітин та їхньої оточення в тимусі; лабораторні – для оцінки рівня інтоксикації та ступеня важкості опікової хвороби (визначення молекул середньої маси за методом Габріелян та лейкоцитарного індексу інтоксикації за методом Кальф-Каліфа); цитометричний – для оцінки клітинного циклу та фрагментації ДНК у клітинах тимуса; статистичного аналізу – для здійснення процедур описової статистики, оцінки достовірності розбіжностей між групами порівняння з застосуванням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше отримані дані надають можливість принципово по-новому розглядати механізми деструкції та репарації в тимусі при опіковій хворобі, зокрема такі, що пов’язані з показниками клітинного циклу, фрагментації ДНК та з динамікою типів клітинної смерті, в яких уперше істотно уточнені не лише фактологічні, але й феноменологічні аспекти.

Доведено, що загальним проявом структурних змін у тимусі при опіковій хворобі є альтерация функціонально різних клітин органа та стінок судин гемомікроциркуляторного русла на тлі виразного паравазального та міжклітинного набряку. Уперше з’ясовано, що на етапах розвитку опікової хвороби частина клітин тимуса гине шляхом апоптозу (тимоцити, епітеліоретикулоцити, дендритні клітини, ендотеліоцити кровоносних капілярів і венул), некрозу (тимоцити, епітеліоретикулоцити, макрофаги, ендотеліоцити кровоносних капілярів і венул), мітотичної катастрофи (тимоцити), апонекрозу (тимоцити та дендритні клітини), автофагії

(епітеліоретикулоцити та макрофаги) та зроговіння (епітеліоретикулоцити тілець Гассаля).

Уперше встановлено, що баланс/дисбаланс процесу «клітинна смерть макрофагів/виживання дендритних клітин», «клітинна смерть макрофагів/апонекроз дендритних клітин» є тригерним механізмом динаміки типів клітинної смерті тимоцитів при опіковій хворобі: мітотична катастрофа → апоптоз/некроз; апоптоз → апонекроз; апоневроз → некроз; некроз.

Уперше здійснене співставлення морфологічних (світлова та електронна мікроскопія) даних із результатами проточної ДНК-цитомерії переконливо свідчить, що динаміка типів клітинної смерті в тимусі при опіковій хворобі за умов застосування інфузії 0,9 % розчину NaCl (контроль), лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% є віддзеркалення дуалістичного процесу – «дисфункциї/повноваження функції апоптозу» як механізму регуляції генетичного гомеостазу в тимусі.

Принципово новими є дані про появу при опіковій хворобі системи мембраноподібних структур у тимусі (за умов застосування лактопротеїну з сорбітолом) та «складних» міжклітинних скупчень (за умов застосування HAES-LX-5%), що призводить до розвитку «нового сполучнотканинного каркасу» та появи «нової цитоархітектоніки» тимуса (конформативних змін стінки судин гемомікроциркулярного русла, відокремлення та ізоляції кластерів клітин тимуса), які є більш виразними за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом.

Динамічні морфологічні часові та просторові зміни описаного «нового сполучнотканинного каркасу» не тільки визначають цитоархітектонічне ремоделювання тимуса при опіковій хворобі за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%, але й свідчать про його значення як структурованого (у вигляді «їстівного дерева») сховища запасів нутрієнтів, що забезпечують тривале (понад 3 тижні) живлення клітин і гальмують макроавтофагію та некроз, які пов'язані з клітинним голодуванням.

**Практичне значення отриманих результатів.** У даному дослідженні вперше систематизовані основні підходи для ідентифікації деструктивних та репаративних змін; встановлений тип загибелі кожної індивідуальної клітини тимуса; дана інтегральна оцінка стану ушкодження ДНК та проліферативних можливостей усіх клітин тимуса в певні часові проміжки опікової хвороби.

Встановлені морфологічні дані та результати проточної цитометрії дозволили виявити ранні патологічні зміни в тимусі, дати адекватну оцінку стадії захворювання й ефективності здійснюваної терапії (у тому числі прогнозування перебігу й можливих наслідків застосування інфузії гіперосмолярних розчинів).

Новими є структурні та ДНК-метричні свідчення порушення перебігу апоптозу як фізіологічного явища при опіковій хворобі, яке

забезпечує селекцію тимоцитів та усунення інших клітин тимуса, що закінчили свій життєвий цикл (зокрема, поява таких уперше описаних при опіковій хворобі типів клітинної загибелі як мітотична катастрофа, мікро- та макроавтофагія, апонекроз, ретикулонекроз). З огляду на ці вперше встановлені дані, зусилля лікарів щодо корекції імунологічного стану хворих при опіковій хворобі повинні бути спрямовані не на індукцію проліферативної активності клітин тимуса та пригнічення їхнього апоптозу, а на широке впровадження і застосування модуляторів апоптозу та інгібіторів некрозу в опікових центрах.

Уперше проведено динамічне спостереження за основними показниками клітинного циклу в тимусі на фоні застосування коригуючих препаратів лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% показало появу через добу після опіку шкіри вираженої тенденції ( $p=0,055$ ) відмінностей в показниках фази G0/G1 між задіяними в експерименті групами тварин, а саме між групами опік + 0,9 % розчин NaCl та опік + розчин лактопротеїну з сорбітолом, що свідчить про спрямованість дії саме лактопротеїну з сорбітолом на стимуляцію синтетичних процесів у клітинах тимуса. В меншому ступені така дія притаманна препарату HAES-LX-5%, на що вказує однакова позитивна динаміка показників індексу проліферації групи опік + лактопротеїн з сорбітолом ( $21,72\pm3,60$ ),  $p<0,05$ ; та групи опік + HAES-LX-5% ( $20,88\pm5,42$ ),  $p<0,05$ ; відносно цього ж показника в групі опік + 0,9 % розчин NaCl. Встановлене коливання індексу запропоноване як індикаторний показник ефективності протекторного впливу при оцінці ефективності дії застосованого лікування на клітини тимуса при опіковому ураженні.

Уперше доведено що дія лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% при лікуванні опікової хвороби не обмежується тільки тими їхніми фізико-хімічними властивостями, які забезпечують дезінтоксикаційні та реологічні ефекти. Лактопротеїн із сорбітолом та HAES-LX-5% мають інші (до цього часу остаточно нез'ясовані) фізико-хімічні властивості, які обумовлюють їхній виразний довготривалий вплив на репаративні процеси в тимусі при опіковій хворобі. Ці інфузійні препарати (які запобігають деструкції та сприяють репарації) можна віднести до групи «пластичних» і застосовувати для надання невідкладної допомоги та як засоби відновлювальної терапії при лікуванні захворювань та гострих загрожуючих станів, що супроводжуються втратою цілісності судинної стінки, крововиливами, набряками та появою дефектів тканин.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковані 2 патенти України на корисну модель: «Застосування лактопротеїну з сорбітолом як маркера змін проникності кровоносних капілярів внутрішніх органів при опіковій хворобі» (№ 92234); «Способ оцінки лікування опікової хвороби» (№ 103898).

**Впровадження результатів дослідження.** Матеріали дисертаційної роботи впроваджені в наукову роботу та навчальний процес кафедри патоморфології та судової медицини ДВНЗ «Івано-Франківський

національний медичний університет»; кафедри нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри анатомії людини, топографічної анатомії та оперативної хірургії Запорізького державного медичного університету; кафедри патологічної анатомії ДВНЗ «Буковинський державний медичний університет»; кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; кафедри медицини надзвичайних ситуацій з оперативною хірургією та топографічною анатомією ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»; кафедри анатомії людини та гістології медичного факультету Ужгородського національного університету; кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»; кафедри анатомії людини Харківського національного медичного університету; кафедри анатомії людини імені М. Г. Туркевича ДВНЗ «Буковинський державний медичний університет»; кафедри хірургії № 1 з урологією імені професора Л. Я. Ковальчука ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»; кафедри анатомії людини Вінницького національного університету імені М. І. Пирогова; кафедри анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії ДВНЗ України «Буковинський державний медичний університет»; кафедри патологічної анатомії з секційним курсом та судової медицини ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»; кафедри гістології та ембріології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»; кафедри гістології Вінницького національного університету імені М. І. Пирогова.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем особисто проведений аналіз наукової літератури за темою дослідження, розроблена програмно-цільова структура виконання дисертаційної роботи, обрані та опановані методики дослідження, вивчені морфологічні особливості деструктивних та репаративних процесів, а також специфіка клітинного циклу і фрагментації ДНК у клітинах тимуса щурів через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після експериментальної опікової травми їхньої шкіри та розвитку опікової хвороби за умов застосування різних інфузійних розчинів (0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом, HAES-LX-5%). Дисертантом самостійно написано всі розділи дисертації, здійснений аналіз і узагальнення одержаних результатів дослідження, сформульовані всі наукові положення і висновки, що виносяться на захист.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи представлено та оприлюднено на: XI з'їзді ВУЛТ (Харків, 2011), IV (66) Міжнародному науково-практичному конгресі «Актуальні питання сучасної медицини» (Київ, 2012), VII Міжнародному конгресі з інтегративної антропології (Вінниця, 2013), XV з'їзді СВУЛТ (Чернівці, 2014), VI конгресі анатомів, гістологів, ембріологів і

топографоанатомів України (Запоріжжя, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції «Старіння та здоров'я» (Київ, 2012), 84-й міжнародній науково-практичній конференції «Теоретические и практические аспекты современной медицины» (Сімферополь, 2012), 72 Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Медicina та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє» (Запоріжжя, 2012), Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій Всесвітньому дню здоров'я 2014 (Київ, 2014), науково-практичній конференції з міжнародною участю “YOUTH NANOBIOOTECH – 2014. Молодіжний форум з нанобіотехнологій” (Київ, 2014); 3-му Науковому симпозіумі «Анатомохірургічні аспекти дитячої гастроентерології» (Чернівці, 2012), науково-практичній конференції «Морфологія на сучасному етапі розвитку науки» (Тернопіль, 2012) тощо.

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 60 наукових праць (47 статей, 13 тез), у тому числі: 6 статей у закордонних виданнях, 47 статей у наукових фахових виданнях України, з яких 16 публікацій – у виданнях України, які включені до міжнародних наукометрических баз, 15 одноосібних статей. Одержано 2 патенти України на корисну модель. У роботах, опублікованих у співавторстві, здобувачу належать дані щодо вперше встановлених особливостей структурних змін у тимусі при опіковій хворобі.

**Структура і обсяг дисертації.** Матеріали дисертації викладено українською мовою на 412 сторінках, з них 277 сторінок основного тексту. Дисертація складається зі вступу, 4 розділів власних досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури (усього 476 найменувань) і додатків. Дисертація ілюстрована 214 рисунками і містить 18 таблиць.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Дослідження структурних змін у тимусі при опіковій хворобі за умов застосування інфузійних препаратів, а саме: 0,9 % розчину NaCl, референс-препаратур – розчину лактопротеїну з сорбітолом та нового дослідженого препарату – розчину HAES-LX-5%, після опікової травми шкіри і без опіку шкіри були виконані в рамках угода про наукове співробітництво між Вінницьким національним медичним університетом імені М.І. Пирогова і Державною установою “Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України” (м. Львів) а також Національним медичним університетом імені О.О. Богомольця та Вінницьким національним медичним університетом імені М.І. Пирогова, на 226 білих щурах-самцях репродуктивного віку масою 155-160 г, отриманих із віварію Державної установи «Інститут фармакології та токсикології НАМН України».

Піддослідних тварин утримували в умовах науково-експериментальної клініки Вінницького національного медичного

університету імені М.І. Пирогова на стандартному водно-харчовому раціоні, при вільному доступі до води та їжі у вигляді збалансованого комбікорму відповідно до встановлених норм. Температура в приміщенні, де утримувались тварини, підтримувалась на рівні 24-25 °C, вологість повітря – у межах 40-60%.

Експеримент із моделювання опікової хвороби шляхом нанесення опікової травми шкіри, введення інфузійних розчинів та рештою пов'язаних із цим процедур проводили на базі проблемної науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку науково-дослідного центру Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, яка сертифікована ДФЦ МОЗ України (посвідчення № 003/10 від 11.01.2010 року) та лабораторії кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, яка сертифікована ДФЦ МОЗ України (посвідчення №000679 від 11.01.2008 року).

Утримання та всі маніпуляції з тваринами здійснювали в повній відповідності до вимог «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) із неухильним дотриманням рекомендацій «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), положень «Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)» (Стефанов О. В., 2001) та правил гуманного ставлення до експериментальних тварин, що затверджені комітетом з біоетики Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (протокол № 95 від 04 травня 2016 року).

Новий досліджуваний колоїдно-гіперосмолярний препарат НАЕС-LX-5% розроблений у ДУ “Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України” (м. Львів). Розчин як колоїдну основу вміщує полі(0-2-гідроксиethyl)крохмалю (середня молекулярна маса становить 130 000 Дальтон, ступінь молекулярного заміщення 0,4) – 5 %, а також багатоатомний спирт ксилітол – 5 %, залижнювальний компонент натрію лактат – 1,5 %, натрію хлорид – 0,8 %, калію хлорид – 0,03 %, кальцію хлорид – 0,02 %, магнію хлорид – 0,01 %. Іонний склад розчину має наступну структуру: Na<sup>+</sup> – 270,7 ммоль/л, K<sup>+</sup> – 4,0 ммоль/л, Ca<sup>++</sup> – 1,8 ммоль/л, Mg<sup>++</sup> – 1,1 ммоль/л, Cl<sup>-</sup> – 146,6 ммоль/л, CH<sub>3</sub>CH(OH)COO<sup>-</sup> – 133,8 ммоль/л. Теоретична осмолярність препарату складає 890 мосмоль/л, що в 3 рази перевищує осмолярність ізотонічного розчину NaCl та осмолярність плазми крові (Кондрацький Б. О., Новак В. Л., Кондрацький Я. Б., 2009).

В якості референс-препарату застосували плазмозаміновальний розчин комплексної дії – лактопротеїн з сорбітолом, який серійно випускається Київським ЗАТ «Біофарма» (сертифікат про державну реєстрацію МОЗ України № 464/09-300200000 від 12.03.2009 року) та

є білково-сольовим розчином (осмолярність розчину становить 1020 мосмоль/л).

В якості контрольного інфузійного препарату застосовували стерильний 0,9 % розчин NaCl.

Проведені нами попередні дослідження показали, що щури-самці без будь-якої фармакокорекції на фоні опікової травми шкіри гинули всі на 9-у добу експерименту, а на 7-у добу летальність складала 80 %, у зв'язку з чим (ураховуючи питання біоетики), практично неможливим було набрати коректну, у кількісному відношенні, групу контролю з чистим опіком шкіри без лікування. Тому задля контролю лікувальної дії гіперосмолярних розчинів ми спиралися на групу тварин, які на фоні опіку шкіри отримували 0,9 % розчин NaCl (ізотонічний розчин).

У групі тварин з опіковою травмою шкіри, яким вводили 0,9 % розчин NaCl, виявлене прогресуюче збільшення показника летальності від 5 % через 1-у добу до 11 % у проміжку від 4-ї до 7-ї доби з наступним поступовим зменшенням величини даного показника до 3 % у проміжку від 22-ї до 30-ї доби після опіку шкіри. Загальний показник летальності в групі щурів-самців, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl склав 43,5 %. Окрема курсова інфузійна терапія щурів з опіковою травмою шкіри розчином HAES-LX-5%, подібно до такої лактопротеїном з сорбітолом (обидва в дозі 10 мл/кг), істотно перешкоджала загибелі тварин упродовж цього спостереження.

Зважаючи на наведені вище обставини, дослідні тварини були розділені (табл. 1) на 7 груп: I – інтактні тварини; II, III, IV – щури без термічної травми, яким проводилась окрема інфузія 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% відповідно в дозі 10 мл/кг; V, VI, VII – тварини з опіком, яким за аналогічною схемою та в такому ж дозовому режимі проводили окреме введення досліджуваних речовин.

У проведенню нами дослідження експериментальну опікову травму шкіри, що призвела до розвитку опікової хвороби, здійснювали у відповідності запропонованої в 1992 році базової моделі (Regas F. C., Ehrlich H. P., 2003), яка була дещо модифікована і оптимізована в 1997 році (Gunas I. et al., 1997) і широко застосовується фаховими дослідниками в Україні.

Усім щурам перед моделюванням патологічного стану голили бічні поверхні тулуба механічною машинкою та безпечною бритвою. Опікову травму викликали шляхом прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку, площа поверхні кожної пластинки складала 13,86 см<sup>2</sup>), які попередньо тримали протягом 6 хв у воді з постійною температурою 100 °C. Загальна площа опіку у щурів зазначененої маси складала 21-23 % поверхні тіла, експозиція становила 10 с, що є цілком достатнім для формування опіку II-III ступеня та розвитку шокового стану середнього ступеня важкості та ініціації

опікової хвороби (Козинець Г. П. і співат., 2006; Харченко С. В., Костенко А. Г., 2011).

Таблиця 1

## Розподіл тварин за групами досліджень

Групи тварин	Кількість
- інтактні щури (катетеризовані та депільовані) – I група	10
Щури без термічної травми, яким проводилась інфузія: - 0,9 % розчину NaCl (36 щурів) – II група; - розчину лактопротеїну з сорбітолом (36 щурів) – III група; - розчину HAES-LX-5% (36 щурів) – IV група	108
Щури з опіком, яким проводилась інфузія: - 0,9 % розчину NaCl (36 щурів) – V група; - розчину лактопротеїну з сорбітолом (36 щурів) – VI група; - розчину HAES-LX-5% (36 щурів) – VII група	108

Для визначення важкості ураження при термічній травмі, застосовували індекс тяжкості ушкодження, який ураховує дані щодо площини опіків. Встановлено, що середня площа поверхні тіла піддослідних щурів склала ( $240 \pm 26$ )  $\text{cm}^2$  і, отже опік від експозиції чотирьох нагрітих пластин загальною площею ( $S = 55,44 \text{ cm}^2$ ) відповідав 21-23 % поверхні тіла тварини.

Глибину опіків встановлювали згідно з прийнятою в Україні чотирьохступеневою градацією. Відповідно до неї 1 % опіку 1-2-го ступеня приймають за 1 одиницю індексу тяжкості ушкодження; 1 % опіку 3А ступеня – за 2 одиниці індексу тяжкості ушкодження; 1 % опіку 3Б ступеня – за 3 одиниці індексу тяжкості ушкодження; 1 % опіку 4 ступеня – за 4 одиниці індексу тяжкості ушкодження. Складвши знайдену величину, встановлювали ступінь важкості опікового шоку на підставі врахування глибини ураження. Необхідно зазначити, що величина індексу тяжкості ушкодження в межах до 30 одиниць свідчила про наявність опікового шоку легкого ступеня; величина індексу тяжкості ушкодження в межах від 31 до 60 одиниць – опіковий шок середнього ступеня важкості; величина індексу тяжкості ушкодження в межах від 61 до 90 одиниць – важкий опіковий шок; при індексу тяжкості ушкодження величиною понад 90 одиниць – вкрай важкий опіковий шок. У здійснених дослідженнях величини індексу тяжкості ушкодження коливались у межах від 52 до 56 одиниць, що відповідає опіковому шоку середнього ступеня важкості.

Ступінь інтоксикації при опіковій хворобі визначали за рівнем молекул середньої маси (Габриэлян Н. И. и соавт., 1985) та лейкоцитарним індексом інтоксикації, який розраховували за формулою Я. Кальф-Каліфа (Островский В. К. и соавт., 2006).

Формула крові у щурів (Ноздрачев А. Д., Поляков Е. Л., 2001) відрізняється від формули крові людини, тому експериментальним шляхом було встановлено, що у щурів величина лейкоцитарного індексу

інтоксикації у нормі становить 0,05-0,26 ум. од. (у людини – 0,55-2,1 ум. од.), величина лейкоцитарного індексу інтоксикації у межах від 0,20 до 0,40 ум. од. – засвідчує наявність ознак легкої ендогенної інтоксикації (у людини – 2,0-4,2 ум. од.), величина лейкоцитарного індексу інтоксикації у межах від 0,35 до 0,55 ум. од. – виявляє середній ступінь ендогенної інтоксикації (у людини – 3,1-5,3 ум. од.), величина лейкоцитарного індексу інтоксикації в межах від 0,45-0,95 ум. од. – визначає важку ендогенну інтоксикацію (у людини – 4,4-9,9 ум. од.).

При виконанні досліджень, які були проведені нами на початковому етапі виконання дисертації спільно з групою виконавців наукової роботи науково-дослідного центру Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова «Експериментальне обґрунтування ефективності комплексних інфузійних препаратів на моделі опікової хвороби у тварин» та були спрямовані на вивчення ступеня ендогенної інтоксикації (Гунас І. В. и соавт., 2012), встановлено, що рівень молекул середньої маси та лейкоцитарного індексу інтоксикації є статистично значуще нижчим у щурів без опіку, ніж у щурів з опіком упродовж усього періоду спостережень ( $p<0,05-0,001$ ) та статистично значуще вищим ( $p<0,05$ ) у щурів з опіком шкіри, яким вводили 0,9 % розчин NaCl, у порівнянні з тваринами, яким проводили інфузію розчинів лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX-5%.

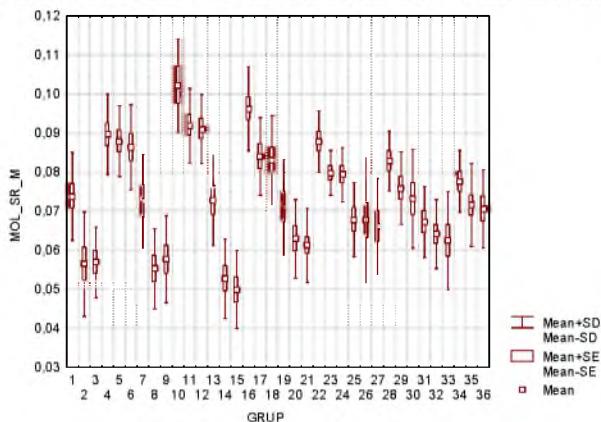
Рівень молекул середньої маси та лейкоцитарного індексу інтоксикації у щурів з опіком, яким вводили розчини лактопротеїн із сорбітолом або HAES-LX-5%, у віддалений період опікової травми досягав свого максимуму через 14 діб, мінімум – через 30 діб після термічного ураження (діаграма 1; діаграма 2). Варто підкреслити той факт, що у щурів, яким вводили розчини лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX-5%, значення досліджуваних показників ендогенної інтоксикації через 30 діб після опікової травми статистично значуще не відрізнялись ( $p>0,05$ ) від показників у щурів без опіку, і досягали нормативних. Інфузія лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% призводить також до покращення загального стану, поновлення поведінкових реакцій і маси тіла опечених тварин.

Отже одержані дані свідчать, що здійснена експериментальна опікова травма шкіри викликає характерну для опікової хвороби ендогенну інтоксикацію, яка коригується і нормалізується інфузією застосованих комбінованих гіперосмолярних розчинів.

Інфузію коригуючих розчинів проводили в каудальну порожниstu вену після її катетеризації в асептичних умовах через стегнову вену. Катетер підшивали під шкіру, його просвіт за всією довжиною заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на 10 мл 0,9 % розчину NaCl) після кожного введення речовин. Перше введення здійснювали через 1 годину після моделювання патологічного стану, наступні інфузії виконували 1 раз на добу протягом перших 7 діб проведення експерименту.

Діаграма 1

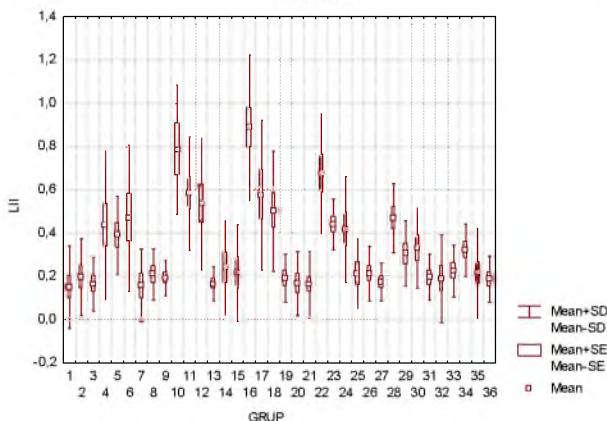
**Рівень молекул середньої маси впродовж місяця після опіку шкіри за умов здійснення інфузійної терапії опікової хвороби**



Позначення: тут і в подальшому Mean – середня вибірки; Mean $\pm$ SE – похибка середньої; Mean $\pm$ SD – стандартне відхилення середньої; GRUP – шкала груп дослідження; MOL\_SR\_M – шкала рівня молекул середньої маси; 1 – через 1 добу, ізотонічний розчин; 2 – через 1 добу, лактопротеїн з сорбітолом; 3 – через 1 добу, HAES-LX-5%; 4 – через 1 добу, опік + ізотонічний розчин; 5 – через 1 добу, опік + лактопротеїн із сорбітолом; 6 – через 1 добу, опік + HAES-LX-5%; 7 – через 3 доби, ізотонічний розчин; 8 – через 3 доби, лактопротеїн із сорбітолом; 9 – через 3 доби, HAES-LX-5%; 10 – 3 доба, опік + ізотонічний розчин; 11 – через 3 доби, опік + лактопротеїн із сорбітолом; 12 – через 3 доби, опік + HAES-LX-5%; 13 – через 7 діб, ізотонічний розчин; 14 – через 7 діб, лактопротеїн із сорбітолом; 15 – через 7 діб, HAES-LX-5%; 16 – через 7 діб, опік + ізотонічний розчин; 17 – через 7 діб, опік + лактопротеїн із сорбітолом; 18 – через 7 діб, опік + HAES-LX-5%; 19 – через 14 діб, ізотонічний розчин; 20 – через 14 діб, лактопротеїн із сорбітолом; 21 – через 14 діб, HAES-LX-5%; 22 – через 14 діб, опік + ізотонічний розчин; 23 – через 14 діб, опік + лактопротеїн із сорбітолом; 24 – через 14 діб, опік + HAES-LX-5%; 25 – через 21 добу, ізотонічний розчин; 26 – через 21 добу, лактопротеїн із сорбітолом; 27 – через 21 добу, HAES-LX-5%; 28 – через 21 добу, опік + ізотонічний розчин; 29 – через 21 добу, опік + лактопротеїн із сорбітолом; 30 – через 21 добу, опік + HAES-LX-5%; 31 – через 30 діб, ізотонічний розчин; 32 – через 30 діб, лактопротеїн із сорбітолом; 33 – через 30 діб, HAES-LX-5%; 34 – через 30 діб, опік + ізотонічний розчин; 35 – через 30 діб, опік + лактопротеїн із сорбітолом; 36 – через 30 діб, опік + HAES-LX-5%.

Діаграма 2

**Рівень лейкоцитарного індексу інтоксикації (ЛІ) упродовж місяця після опіку шкіри за умов здійснення інфузійної терапії опікової хвороби**



Позначення: LII – шкала рівня лейкоцитарного індексу інтоксикації.

Гоління тварин, нанесення опіків, катетеризацію магістральних судин та декапітацію тварин здійснювали в умовах внутрішньовенного пропофолового наркозу, виходячи з розрахунку 60 мг/кг маси тварини.

Упродовж окремого дослідження було виявлено, що постановка катетера під час експерименту не впливала на структуру тимуса.

Забір матеріалу для морфологічного дослідження проводився під глибоким тіопенталовим внутрішньочеревним наркозом через 1, 3, 7, 14, 21, 30 діб після нанесення експериментальної опікової травми шкіри. У тварин після декапітації робили розтин грудної порожнини і після вилучення тимуса вирізали за допомогою леза тканинні блоки. У подальшому одержаний матеріал обробляли за загальноприйнятими методами.

Для гістологічного дослідження тканинні блоки тимуса фіксували в 10 % розчині нейтрального формальдегіду. Після фіксації матеріал промивали, зневоднювали в серії етилових спиртів зростаючої концентрації, проводили через хлороформ та заливали в парапласт. Зрізи тканини товщиною 7-8 мкм готували на ротаційному мікротомі, розміщували на склі, забарвлювали гематоксиліном-еозином та гематоксилін-пікрофуксином і заливали в канадський бальзам. Гістологічне дослідження тимуса здійснювали на мікроскопі Olympus BX51.

Для електронномікроскопічного дослідження шурам під глибоким тіопенталовим внутрішньочеревним наркозом проводили розтин грудної порожнини. Шматочки тимуса розрізали на невеликі блоки та фіксували в

розчині глютарового альдегіду. Після стандартної проводки матеріал заливали в суміш араплдиту з епоксидними смолами (Уики Б., 1975; Волков К. С., 1999).

Подальші етапи електронномікроспічного дослідження були виконані на базі відділу електронної мікроскопії (науковий керівник – професор Л.О. Стєченко) Інституту проблем патології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Напівтонкі та ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція). Напівтонкі зрізи забарвлювали толуїдиновим синім та метиленовим синім – азур II. Ультратонкі зрізи контрастували на мідних опорних сіточках уранілацетатом і цитратом свинцю за Рейнольдсом. Фотографування під час електронномікроспічного дослідження здійснювали на електронному мікроскопі ПЕМ-125K.

Експериментальне дослідження впливу інфузійних розчинів на показники клітинного циклу і фрагментації ДНК клітин тимуса виконано методом проточної цитометрії на 108 щурах-самцях масою 155-160 грамів з опіковою травмою шкіри та на 108 відповідних тваринах без опіку шкіри.

Суспензії ядер із клітин тимуса отримували за допомогою спеціального розчину для дослідження ядерної ДНК CyStain DNA (фірма Partec, Німеччина), відповідно до протоколу-інструкції виробника. Зазначений розчин надає можливість швидко і одночасно виконувати екстракцію ядер та маркувати ядерну ДНК діамідинофеніліндолом (DAPI), який входить до його складу (Семененко А. І. та співат., 2011). У процесі виготовлення нуклеарних суспензій використовували спеціальні одноразові фільтри CellTrics 50 мкм (Partec, Німеччина). Проточний аналіз виконували на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі "Partec PAS" (фірма Partec, Німеччина), на базі науково-дослідного центру Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

Для збудження флуоресценції DAPI застосовували ультрафіолетове випромінювання. Із кожного зразка нуклеарної суспензії аналізу підлягало 20 тис. подій. Циклічний аналіз клітин виконували засобами програмного забезпечення FloMax (Partec, Німеччина) у повній цифровій відповідності згідно з математичною моделлю, де визначали:

G0G1 – відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2c);

S – відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2c та < 4c);

G2 + M – відсоткове співвідношення фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4c);

IP – індекс проліферації, який визначається за сумою показників S + G2 + M;

BP – блок проліферації, який оцінюється за співвідношенням S/(G2 + M) (збільшення числа клітин в фазі G2 + M при низьких значеннях S-фази свідчить про затримку проліферації в стадії G2 + M).

Визначення фрагментації ДНК (апоптоз) виконано шляхом виділення SUB-G0G1 ділянки на ДНК-гістограмах RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин із вмістом ДНК < 2с.

Статистична обробка отриманих результатів проведена в пакеті “STATISTICA 6.1” (належить науково-дослідному центру Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, ліцензійний № BXXR901E246022FA) із застосуванням процедур описової статистики та параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Аналізували правильність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів, середні значення кожної ознаки, що вивчалася, та стандартне квадратичне відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою U-критерію Мана-Уїтні.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати проведеного дисертаційного дослідження свідчать про важливе значення динаміки різноманітних типів клітинної смерті в структурних змінах у тимусі за умов опікової хвороби. Відстежувати послідовний ланцюг розгортання морфологічних подій доволі важко, особливо в зв'язку з багатокомпонентністю цього процесу. Вірогідно, при негативній дії чинників опікової хвороби запускається декілька механізмів реалізації програм клітинної загибелі. Очевидно, ці механізми можуть бути задіяні паралельно, в одних клітинах діють одні, а в інших спрацьовують інші (причому з різним ступенем активності) процеси. Що стосується загального морфологічного підґрунтя цих процесів, то нами виявлене наступне.

Порушення мікроциркуляції в тимусі є важливою патогенетичною ланкою деструктивного процесу в тимусі при опіковій хворобі, в якому надзвичайну роль відіграють структурні зміни артеріол, кровоносних капілярів та венул.

Патологія кровоносних мікросудин веде до гіпоксії тимуса, яка, у свою чергу (зокрема, опосередковано через активацію мастоцитів), викликає пошкодження ультраструктури судинної стінки. Ці два процеси відбуваються одночасно і розділити їх можна лише для зручності викладу матеріалу.

Зміни кровопостачання тимуса при опіковій хворобі, що сприяють деструкції клітин тимуса, можуть бути обумовлені неадекватними або парадоксальними судинними реакціями, які викликають ангіопарез зі стазами крові, зміною проникності стінки судин, набряком, плазморагією, еритродіапедезом, розшаруванням судинної стінки, утворенням наскрізних трансмуральних дефектів («протікань»), подальшим розвитком і поширенням зон паравазальної плазморагії («проникнень»), утворенням геморагій, гемолізом еритроцитів у судинному просвіті. За цих умов зрозуміло, що причини незворотності змін клітин тимуса полягають у поганому відновленні кровопостачання клітин і тканинного дихання.

Останнє передбачає застосування інфузійної терапії, спрямованої на укріплення судинної стінки і поліпшення реологічних властивостей крові.

Патологічні зміни блоксінтезуючих структур у клітинах тимуса при опіковій хворобі починаються зі зменшення кількості полісом і рибосом, набухання і розпаду цистерн гранулярної сітки, активації ядра. Одночасно в цитоплазмі клітини з'являються численні дрібні вакуолі, які, напевно, формуються в результаті розпаду ліпопротеїдів цитоплазми. У клітинах тимуса, що стали на шлях некротичних змін, більш виражена вакуолізація, яка супроводжується деструкцією внутрішньоклітинних та оточуючих клітину мембрани. У клітинах тимуса, що стали на шлях апоптозних перетворень, зміни ліпопротеїдів цитоплазми і каріоплазми в поєднанні з порушеннями ультраструктури мембраних систем клітини призводять до підвищення осміофілії клітин і до появи різних форм апоптозних клітин, які характеризуються високою електронною щільністю ядра і цитоплазми.

Отже отримані нами і викладені вище дані дозволяють стверджувати, що ступінь і форма патологічних змін ультраструктури клітин тимуса при опіковій хворобі визначаються прямими порушеннями енергетичного, окисного, білкового та ліпідного обміну. Причому «вторинні» за механізмом розвитку порушення синтезу білків і проникності мембрани при опіковій хворобі виступають на перший план у розвитку структурних пошкоджень клітин тимуса і часом зумовлюють їхню зворотність або незворотність.

При опіковій хворобі мітохондрії відрізняються різним ступенем пошкодження матриксу, крист, внутрішньої мембрани (до перетворення цієї органели на вакуоль). Іноді висока ступінь вакуолізації цитоплазми мітотичних тимоцитів супроводжується появою дефектів зовнішньої мембрани вакуольно трансформованих мітохондрій, ділянковим пошкодженням щільноті плазмолеми, різким зниженням електронної щільноті цитоплазматичного матрикса (набряк), що є проявами некрозу, який завершується повною руйнацією (лізисом) клітини.

Крім відзначеного факту ушкодження каналець ендоплазматичної сітки та мітохондрій, нами зареєстрована їхня вибіркова автофагія (ретикулофагія, мітофагія); відмічені поділ та злиття мітохондрій (ушкоджених з ушкодженими; неушкоджених з ушкодженими). Зазначене варто розглядати як послідовний процес обмеження (а при зриві компенсації – збільшення) розмірів та ступеня ушкодження, а також як прояв репаративної відповіді на дію патогенних чинників. Однак, багато складових цього загального патоморфологічного процесу до теперішнього часу є невиявленими і нез'ясованими.

Встановлено, що на етапах розвитку опікової хвороби частина клітин тимуса гине шляхом апоптозу, некрозу, апонекрозу, автофагії, зроговіння і мітотичної катастрофи. З'ясовано також, що введення НAES-LX-5% і лактопротеїну з сорбітолом гальмує структурні прояви клітинної

загибелі та сприяє ефективній репродукції тимоцитів (зокрема, шляхом запобігання розвитку міtotичної катастрофи).

У порівнянні з нормою, тимоцити, що перебувають у стані мітозу (у пізній профазі, метафазі та анафазі, коли ядерце та каріолема зникають, а каріоплазма «змішується» із цитоплазмою) за умов розвитку опікової хвороби відрізняються характерними морфологічними ознаками. Такими ознаками є: а – реактивні та деструктивні зміни органел (у першу чергу, мітохондрій); б – мозаїчне підвищення електронної щільності та нерівномірний розподіл ядерного матеріалу в цитоплазмі.

Наслідком описаних вище структурних змін міtotичних клітин стає те, що в телофазі навколо нерівномірно розподілених у цитоплазмі конденсованих хромосом поновлюється каріолема і відбуваються типові для міtotичної катастрофи морфологічні зміни, що включають мікронуклеацію (тобто формування мікроядер) і мультинуклеацію, тобто утворення множинних ядер (двох чи більше, однакового чи різного розміру). Зазначений дефект реконструкції ядер не завершується перешнуровкою цитоплазми (цитотомією) і утворенням дочірніх клітин. У результаті цього характерною для тимуса тварин з опіковою хворобою є поява багатоядерних (головним чином, двоядерних) тимоцитів і тимоцитів із мікроядрами.

Встановлений факт парціального апоптозу мікроядер багатоядерних тимоцитів при опіковій хворобі, коли суперконденсація ядерного матеріалу відбувається, у першу чергу, саме в мікроядрі (яке потім разом із прилеглою ділянкою цитоплазми відшнурується, що призводить до утворення апоптозного тіла). Як оцінити це явище? Деструктивне воно чи репаративне? Дослідження останнього десятиліття (Iagarcovai G. et al., 2008; Bolt H. M. et al., 2011) дозволяють розіннювати його все ж таки як позитивне явище (хоча б з точки зору усунення дефектних хромосом). Дотримуючись принципу аналогії можна припустити, що постміtотичне утворення мікроядер у тимоцитах (та їхній наступний апоптоз) є радикальним (і, одночасно, раціональним) шляхом усунення генетично дефектних елементів та запобіжником збільшення цитогенетичної нестабільності в тимусі при опіковій хворобі. Аналіз даних літератури та власних даних щодо процесів деструкції та репарації в тимусі за умов розвитку опікової хвороби дозволяє погодитися з твердженнями: 1) «mitotic catastrophe is a mechanism for avoiding genomic instability» (Camello-Almaraz C., Gomez-Pinilla P. J., Pozo M. J. et al., 2011); 2) «genomic instability and apoptosis are intimately linked phenomenon» (Zhivotovsky B., Kroemer G., 2004).

У дисертаційному дослідженні з'ясовано, що частина епітеліоретикулоцитів тимуса при опіковій хворобі (навіть за умов здійсненого інфузійного лікування гіперосмолярними розчинами) підлягає автофагії. Цей тип клітинної смерті відбувається за відсутності конденсації хроматину, але супроводжується масовою автофагійною вакуолізацією цитоплазми.

Морфологічною подією, що свідчить про ініціацію автофагії є оточення та сексвстрація клітинних органел і локусів ущільнення дрібногранулярного цитоплазматичного матриксу (агрегованих протеїнів?) подвійною ізолуючою мемброною (фагофором). Потенційними джерелами утворення фагофорів є концентричне групування каналець гранулярної ендоплазматичної сітки навколо «ядра» (агрегованих протеїнів, ушкоджених мітохондрій та каналець ендоплазматичної сітки). Каналець ендоплазматичної сітки з'єднуються своїми кінцями і утворюють концентричні кола (від одного до чотирьох). У решті-решт утворюється замкнена автофагосома. В епітеліоретикулоцитах, у залежності від вмісту «ядра» автофагосоми, відмічені: 1) автофагія мітохондрій або мітофагія; 2) автофагія рибосом або рибофагія; 3) автофагія ендоплазматичної сітки або ретикулофагія.

Що стосується автофагії мітохондрій, то в контексті динаміки типів клітинної загибелі зрозуміло, що мітофагія зруйнованих мітохондрій, певним чином, гальмує мітохондріальний шлях трансдукції апоптозного сигналу. З іншого боку інтенсивна мітофагія сприяє активації каспаз і клітинній загибелі з за участням лізосомальних/автолізосомальних ензимів; автофагія рибосом призводить до порушень процесу трансляції генетичної інформації.

За умов розвитку досліджененої експериментальної опікової хвороби виявлений зв'язок автофагійної смерті клітин тимуса не тільки з апоптозом, але й із некрозом. Одержані дані свідчать, що ультраструктура, кількість, розміри і розподіл автофаголізосом у пошкодженному епітеліоретикулоциті тимуса при опіковій хворобі є одним із важливих показників стадії і оборотності процесу мікроавтофагія/макроавтофагія/некроз. Межа між складовими цього процесу морфологічно визначається появою великих автофаголізосом та екструзією їхнього вмісту, що супроводжується утворенням великих вакуоль з електроннопрозорим вмістом. З огляду на зазначене, ступінь вакуолізації цитоплазми, асоційованої з руйнацією мітохондрій, має важливе значення в оцінці ефективності енергозабезпечення в автофагійній клітині репаративних процесів. Пошкодження окремих мітохондрій та активізація інших збережених мітохондрій викликають енергетичний дисбаланс у клітині (Detmer S. A., Chan D. C., 2007; Pizzo P., Pozzan T., 2007) та сприяють розвитку макроавтофагії за найгіршим сценарієм, фіналом якого може бути клітинна смерть шляхом некрозу.

Одержані дані також свідчать, що з двох антиген-презентуючих клітин (макрофагів і дендритних клітин), що забезпечують негативну селекцію тимоцитів (індукуючи апоптоз автоспецифічних клонів), більш стійкими до дії негативних впливів катаболічної реакції при опіковій хворобі в ранні терміни експерименту (1-7-а доба) є дендритні клітини. Логічним буде припустити, що за умов гіпертрофії дендритних клітин негативна селекція прискорюється і охоплює значну кількість потенційно

автореактивних тимоцитів, що зазнають апоптозних змін. Автофагійна смерть макрофагів призводить до порушення фагоцитозу апоптозних тимоцитів, який у нормі має «випереджувальний» характер. Процес апоптозу тимоцитів, за таких умов, ніби «розтягується у часі». Апоптозні тимоцити та їхні апоптозні тіла не підлягають фагоцитозу, а, натомість, підлягають некрозу. Саме таким чином, на нашу думку, за рахунок балансу/дисбалансу процесу «клітинна смерть макрофагів/виживання дендритних клітин» «клітинна смерть макрофагів/апонекроз дендритних клітин» змінюється динаміка типів клітинної смерті тимоцитів при опіковій хворобі: мітотична катастрофа → апоптоз/некроз; апоптоз → апонекроз; апонекроз → некроз; некроз.

Встановлено, що у частини апоптозних тимоцитів та дендритних клітин (у пізні терміни експерименту) відбувається локальна ділянкова (i, у решті-решт, субтотальна чи тотальна) деструкція каріолеми (ядерної оболонки) та вихід ядерного матеріалу в цитоплазму. Спостерігається проникнення мітохондрій у каріоплазму через дефекти каріолеми, злиття каріолеми з мембраними вакуольно трансформованих мітохондрій, пошкодження плазмолеми, потрапляння вмісту цитоплазми в позаклітинний простір. Така клітинна загибель (що починається як апоптоз, а закінчується як некроз) одержала назву «апонекроз» (Kroemer G. et al., 2009), зміст якого за часто цитованим висловом L. Formigli et al. (2008) полягає в тому, що «*aponecrosis is a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis*».

Слід підкреслити, що апонекроз (первинною ознакою якого є руйнація каріолеми апоптозного ядра) за умов розвитку опікової хвороби є характерним як для звичайних одноядерних тимоцитів, так і для багатоядерних тимоцитів. В останньому випадку він може починатися з руйнації каріолеми апоптозного мікрождра.

Одержані дані свідчать, що за умов розвитку опікової хвороби макрофаги (які перебувають у стані мікро- та макроавтофагії) не здатні до швидкого та ефективного фагоцитозу апоптозних тимоцитів. Саме цим можна пояснити тривалу персистенцію апоптозних тимоцитів та їхніх апоптозних тілець, а також появу такого типу клітинної смерті тимоцитів як апонекроз.

Варто також зазначити, що швидкість фагоцитозу загиблих клітин і клітин, що гинуть, має велике біологічне значення, оскільки цей процес виключає вихід із них у міжклітинний простір токсичних речовин і імуногенів. У результаті швидкого усунення ушкоджених клітин і апоптозних тілець та продукції протизапальних цитокінів макрофагами не відбувається розвитку запальних реакцій. Крім того, як відомо (Portta L. et al., 2011), поглинання апоптозних тілець, що містять функціонально активні клітинні елементи, попереджає їхню взаємодію з нормальними клітинами. Це перешкоджає надходженню в ядра нормальних клітин хромосом або їхніх фрагментів з апоптозних тілець.

Частина макрофагів тимуса при опіковій хворобі (навіть за умов здійсненого терапевтичного лікування) підлягає автофагії. Кульминацією автофагійних змін іноді є масована автофагійна вакуолізація цитоплазми, що закінчується загибеллю макрофага.

Морфологічною подією, що свідчить про ініціацію автофагії є оточення та секвестрація клітинних органел і локусів ущільнення дрібногранулярного цитоплазматичного матрикса (агрегованих протеїнів?) подвійною ізоляючою мембрanoю (фагофором). Найбільш типовим та розповсюдженим варіантом утворення фагофорів у цитоплазмі макрофагів є концентричне групування канальців гранулярної ендоплазматичної сітки навколо «ядра» (агрегованих протеїнів, ушкоджених мітохондрій та канальців ендоплазматичної сітки). Канальці ендоплазматичної сітки з'єднуються своїми кінцями і утворюють коло замкненого навколо автофагосоми/фагофора.

Крім зазначеного «типового» варіанту розвитку автофагійних змін, які можна визнати проявами її селективності, нами вперше морфологічно зареєстрований факт злиття фаголізосом та канальців гранулярної ендоплазматичної сітки з утворенням замкнених кільцеподібних та/або розгалужених вакуольно-канальцевих структур з електронноощільним вмістом. Якщо перше явище можна розрізнити як процес об'єднання фаголізосом/автофаголізосом з автофагосомами, то друге варто розглянути як розповсюджену (але все ж таки селективну) автофагію гранулярної ендоплазматичної сітки, а саме – ретикулофагію. Про останнє свідчить заповнення (у деяких випадках тотальнé) просвіту канальців гранулярної ендоплазматичної сітки електронноощільним вмістом фаголізосом і утворенням єдиного «вакуольно-канальцевого комплексу», етапом розвитку якого (при повному дієвому перетравленні або екструзії вмісту) є масована автофагійна вакуолізація цитоплазми макрофага, а кінцевою стадією – його клітинна загибель. Загибель макрофагів призводить до утворення в тимусі різних за розміром осередків (кіст?), заповнених залишками фагоцитованого макрофагами матеріалу.

Є всі підстави вважати, що життєспроможність кожного макрофага залежить від розмірів описаного вище «вакуольно-канальцевого комплексу». Загалом за певних зазначених умов автофагія (і, зокрема, ретикулофагія) має діяти як захисник більшості потенційно здатних до некрозу макрофагів від несприятливої дії на компоненти цитоплазматичного матрикса і на органели агресивних, незапрограмованих стимулів (цитотоксичні агенти). Якщо ретикулофагія не може завадити прогресивній деструкції і знівелювати непередбачену ситуацію, вона робить свій внесок у клітинну загибель макрофагів тимуса при опіковій хворобі.

Ураховуючи все зазначене вище варто наголосити, що макрофаги тимуса при опіковій хворобі гинуть за рахунок реалізації своєрідної (*sui generis*) послідовності морфологічних змін, яку можна визначити окремим типом клітинної смерті – ретикулонекрозом. Цей тип клітинної загибелі

суттєво відрізняється від усіх інших, що зазначені в останньому термінологічному переліку (Kroemer G. et al., 2009) Номенклатурного комітету з клітинної смерті.

Проведені ультраструктурні дослідження показали, що в тимусі інтактних щурів є численні висококератинізовані тільця Гассаля на різних етапах розвитку. За умов експериментальної опікової хвороби генез тілець Гассаля прискорюється.

При опіковій хворобі «ядро» тілець Гассаля (тілець тимуса) утворене пучками змінених тонофіламентів, кератиновими фібрілами та клітинами (тимоцитами, макрофагами, епітеліоретикулоцитами, плазмоцитами) на ранніх стадіях апоптозної деградації та лізиса. Складається враження, що за умов розвитку опікової хвороби всі сценарії клітинної смерті в «ядрі» тілець Гассаля (апоптоз, зроговіння) неминуче закінчується некрозом. У цьому випадку тільця Гассаля сприяють сегрегації (об'єднання клітин, що підлягають клітинній смерті), секвестрації (відділенню загиблих, у тому числі некротичних клітин, від решти клітин) і, кінець кінцем, ефективно запобігають негативному впливу клітин (автореактивних?), що поступово гинуть, на клітини мікроочеччя.

Не виключено, що потрапляння продуктів розпаду «ядра» тілець Гассаля за їхні межі контролюється пошарово розміщеними кератинізованими епітеліоретикулоцитами. За цих умов тільце Гассаля має діяти як своєрідний паракриновий утвір, що може бути структурним підтвердженням його регуляторної функції стосовно забезпечення негативної селекції тимоцитів (Watanbe N. et al., 2005).

Уперше проведене співставлення інтегральних показників клітинного циклу в тимусі з морфологічною картиною ушкодження клітин на фоні опікового ураження шкіри, і, зокрема, що стосується активації апоптозу та гальмування клітинного поділу, яке полягає в зменшенні числа клітинних подій у фазі G2 + M ( $p=0,03$ ) та, особливо, підвищенні числа подій в інтервалі SUB-G0G1 ( $p=0,004$ ) через добу після опіку. Зафіксовані нами показники клітинного циклу в тимусі в тварин без опікового ушкодження вказують на сталу картину, що характеризується балансом між синтезом та апоптозом із невисокими показниками фази S ( $8,925\pm2,654$ ), та інтервалу SUB-G0G1 ( $2,608\pm0,536$ ), із великою кількістю клітин, що знаходяться в неактивному стані G0G1 ( $70,32\pm4,66$ ).

Дисфункція апоптозу тимоцитів є досить важливим фактором, що може вплинути на клітинну популяцію, а його модуляція здатна виконати регулюючу або захисну функції при багатьох патологічних станах (Wang X. et al., 2003). Загалом, активація апоптозу при опіковому пошкодженні є достатньо вивченим явищем для багатьох органів і тканин, вона розглядається як механізм регуляції гомеостазу, що на фоні опікової хвороби може бути суттєво порушенім і є елементом патологічного впливу. На важливість модуляції апоптозу в тимусі при опіковій хворобі вказує встановлене нами суттєве зменшення клітин, які реєструються в інтервалі

SUB-G0G1, на фоні застосування препарату HAES-LX-5% ( $7,588 \pm 1,156$ ) та тенденція до зменшення цього показнику ( $8,458 \pm 1,178$ ) при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом.

При дослідженні впливу колоїдно-гіперосмолярних розчинів на показники клітинного циклу в тимусі нами була відзначена певна специфічність. Через добу після опіку шкіри нами встановлено виражену тенденцію ( $p = 0,055$ ) відмінностей у показниках фази G0G1 між групами опік + 0,9 % розчин NaCl та опік + лактопротеїніз сорбітолом, що може свідчити про спрямованість дії саме цього препарату на стимуляцію синтетичних процесів у клітинах тимуса. У меншому ступені така дія притаманна препарату HAES-LX-5%, на що вказує однакова позитивна динаміка показників індексу проліферації групи опік + лактопротеїніз сорбітолом ( $21,72 \pm 3,60$ ,  $p < 0,05$ ), та групи опік + HAES-LX-5% ( $20,88 \pm 5,42$ ),  $p < 0,05$ , відносно цього ж показника в групі опік + 0,9 % розчин NaCl. Порівняння показників індексу проліферації на фоні опікового ушкодження та застосування коригуючої терапії проведено вперше. На нашу думку, цей показник може бути індикаторним свідченням дієвості протекторного впливу при оцінці загальної ефективності застосованого лікування при опіковому ураженні.

Через 3 доби після опіку в групі опік + 0,9 % розчин NaCl відбувається поступова нормалізація основних показників клітинного циклу в тимусі. Однак показник фази S ( $12,54 \pm 3,48$ ) статистично значуще на 140 % більше, ніж аналогічний у групі без опікового ураження, що підтверджує наявність блоку синтезу ДНК. Отримані нами дані вказують на збереження пошкоджувального впливу чинників опікової хвороби на тимус із порушенням клітинного циклу через 3 доби після опіку шкіри і застосування 0,9 % розчину NaCl. За даними проведеної ДНК-цитометрії, показник інтервалу SUB-G0G1 у клітинах тимуса, навіть через 3 доби після опіку шкіри перевищував аналогічні в групі тварин без опіку в 4,6 раза, що свідчить про збереження та високу інтенсивність апоптозу клітин тимуса в цей час спостереження, незважаючи на відновлення інших показників клітинного циклу.

На фоні збереження знижених показників фази S у клітинах тимуса в групі опік + 0,9 % розчин NaCl у групі опік + лактопротеїніз сорбітолом та опік + HAES-LX-5% відбулося підвищення рівня даного показнику, який не відрізняється від показнику групи тварин без опіку ( $p > 0,05$ ). Нами виявлено, що при застосуванні лактопротеїну з сорбітолом S-фаза суттєво відрізняється від аналогічного показника в групі опік + 0,9 % розчин NaCl ( $p < 0,05$ ), що може вказувати на певну особливість реалізації позитивного впливу цього препарату в післяопіковий період на синтез ДНК в ядрах клітин тимуса. Підвищення рівня клітин у фазу S указує на можливість швидкого відновлення кількості клітин та їхній субпопуляцій.

У групі тварин, де був застосований препарат HAES-LX-5%, більш значними виявилися зміни показників SUB-G0G1 – кількість клітин у

тимусі з фрагментованою ДНК була значно більшою, ніж у групі без опіку, але в 2 рази меншою за аналогічні показники групи з опіком на тлі корекції 0,9 % розчином NaCl ( $p < 0,05$ ). Це свідчило про здатність HAES-LX-5% захищати клітини тимуса від проапоптичного впливу опікового ураження. Для групи опік + лактопротеїн із сорбітолом динаміка показників інтервалу SUB-G0G1 мала таке саме спрямування, однак без статистично значущих відмінностей із показниками групи опік + 0,9 % розчин NaCl ( $p > 0,05$ ). Можемо припустити, що кожен із гіперосмолярних розчинів (лактопротеїн із сорбітолом та HAES-LX-5%) має специфічний вплив на фази клітинного циклу в тимусі. Так, для лактопротеїну з сорбітолом більш характерною виявилася стимуллювальна дія на S фазу, а для HAES-LX-5% – гальмування патологічного апоптозу на фоні опікового ушкодження шкіри.

При застосуванні HAES-LX-5% та лактопротеїну з сорбітолом через 7 діб після опіку шкіри відносно основних показників клітинного циклу спостерігали подібну картину до встановленої в групі опік + 0,9 % розчину NaCl: відбулося відновлення показників клітинного циклу (G0G1, G2 + M та S) до значень аналогічних показників групи без опіку. При аналізі відновлення інтервалу SUB-G0G1 у групі опік + HAES-LX-5% відзначено суттєве поліпшення цього показнику відносно групи опік + 0,9 % розчину NaCl ( $p < 0,05$ ), що свідчить про більш вагомий вплив даного препарату на апоптоз клітин тимуса. Зафіксований позитивний вплив препарату HAES-LX-5% через 3 та через 7 діб спостереження після опікового ураження шкіри, свідчить про його антиапоптотичний ефект.

Результати проведених досліджень показали, що через 14 діб після опікового ураження шкіри відбулася суттєва нормалізація показників клітинного циклу в тимусі у групі опік + 0,9 % розчин NaCl (G0G1, G2 + M та S-фаза, індекс проліферації та інтервал SUB-G0G1) відносно показників групи без опікового ушкодження. Таким чином, у результаті наших досліджень встановлено, що на фоні затосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% через 14 діб після опікового ураження шкіри відбувається відновлення показників клітинного циклу в тимусі, позитивна оцінка динаміки яких може бути прийнята з певними застереженнями.

Як відомо (Нетюхайлло Л. Г. і співт., 2011), при опіковій хворобі саме на 10-12-у добу виникають репараційні порушення, що є наслідком дисбалансу між підвищеною потребою в організмі пластичних елементів та запасом енергетичних ресурсів, (цей дисбаланс посилює токсичне пошкодження органів та систем). Є підстава вважати, що саме через 14 діб після опіку шкіри є загроза виникнення найбільшого дисбалансу між потребами організму і надходженням поживних речовин, якщо на фоні зменшення токсичного впливу не спостерігається значного оновлення клітинної популяції у внутрішніх органах, що може привести до зменшення загального антитоксичного ефекту лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%.

Опосередковано на користь такого припущення свідчить подальша динаміка показників клітинного циклу в тимусі на фоні опіку. Через 21 та 30 діб після опіку шкіри зареєстровані певні відмінності в показниках клітинного циклу після дії препаратів HAES-LX-5% та лактопротеїну з сорбітолом, які відрізнялися від аналогічних у групі опік + 0,9 % розчину NaCl. У групі опік + 0,9 % розчину NaCl у терміні через 21 та 30 діб спостереження основні показники клітинного циклу відповідали значенням аналогічних показників контрольної групи (без опіку). Відновлення клітинного циклу в тимусі відбулося в повному об'ємі вже через 21 добу спостереження за рахунок зменшення показника інтервалу SUB-G0G1, який статистично значуще відрізнявся від цього ж показника зафіксованого через одну добу після опіку ( $p=0,04$ ), та індексу проліферації ( $p=0,078$ ), а показники фази S ( $p=0,058$ ) і фази G0G1 ( $p=0,078$ ), мали лише тенденцію до збільшення, у порівнянні із аналогічними показниками клітинного циклу, отриманими через 1 добу після опіку шкіри на фоні лікування 0,9 % розчином NaCl.

Таким чином, застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% виявили певні особливості довготривалого впливу (навіть після закінчення введення препаратів). Зокрема вони полягали у встановленій тенденції через 21 добу ( $p=0,0574$ ) до збільшення клітин у фазі S у групі опік + HAES-LX-5%, та суттєвому зменшенні клітин у фазі G0G1 ( $p=0,0374$ ) і індексу проліферації ( $p=0,0374$ ) у цій же групі, у порівнянні з показниками групи опік + 0,9 % розчину NaCl. Для групи опік + лактопротеїн з сорбітолом різниці показників із показниками групи опік + 0,9 % розчину NaCl не виявлено ( $p>0,05$ ). Через 30 діб після опіку шкіри в групі опік + HAES-LX-5% було виявлено тенденцію до зменшення кількості клітин, які перебувають у фазі G0G1 ( $p=0,782$ ) та в інтервалі SUB-G0G1 ( $p=0,782$ ), що знову ж вказує на певні відмінності впливу двох досліджуваних препаратів. Можемо стверджувати про більш стійкий та тривалий позитивний вплив від застосування HAES-LX-5% на клітинний цикл у тимусі. Реалізація цього впливу має відтермінований ефект, який полягає в стимуляції синтетичних внутрішньоклітинних процесів та гальмуванні апоптозу.

Підсумовуючи та аналізуєчи отримані дані і порівнюючи їх із раніше відомими, можемо відмітити особливості впливу опікового ушкодження на клітини тимуса, які полягають у суттєвому збільшенні кількості клітин в інтервалі SUB-G0G1 у 4,6 рази, та, відповідно, суттєвому зменшенні клітин, які перебувають у фазі S ( $p=0,01$ ), що свідчить про недостатнє відновлення популяції пошкоджених клітин і супроводжується зменшенням індексу проліферації - IP ( $p=0,04$ ).

Проведені дослідження дозволили встановити, що у всіх лікованих тварин через 7, 14, 21 та 30 діб після опіку шкіри показники клітинного циклу істотно не відрізнялися від аналогічних показників групи без опіку. Однак відмічалися і певні особливості, які вказують на неповне відновлення клітинного циклу на фоні застосування 0,9 % розчину NaCl – через 30 діб

після опіку шкіри, коли виявилася відмінність показників з аналогічними показниками через 1 добу після опіку: фази G0G1 ( $p=0,037$ ), індексу проліферації IP ( $p=0,037$ ) та інтервалу SUB-G0G1 ( $p=0,04$ ).

Можемо зробити висновок про позитивний антиапоптозний вплив застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% на клітинний цикл у тимусі, який більше виражений на фоні інфузії HAES-LX-5%, ніж інфузії лактопротеїну з сорбітолом. Проявом дії препарату HAES-LX-5% на клітини тимуса при опіковому ураженні є суттєве зниження апоптозу зі збереженням синтетичної функції клітин. Про це свідчить динаміка показників фази S та інтервалу SUB-G0G1 протягом 30 діб спостереження. При застосуванні лактопротеїну з сорбітолом більш вираженим виявився ефект дії на фазу S, особливо через 1 добу після опікового ураження шкіри.

Отримані дані про особливості впливу опікової хвороби на клітинний цикл у тимусі дозволяють зробити висновок про наявність значного ушкодження кінетики клітинного циклу на фоні лікування 0,9 % розчином NaCl, яке поступово зникає протягом тривалого часу (7 діб). На відміну від цього застосування препаратів лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX-5% дозволяє суттєво (і своєчасно) покращити показники клітинного циклу в тимусі і зменшити негативний вплив опікового ушкодження.

Результати проведеного дослідження дозволяють стверджувати, що загальним проявом патоморфологічних змін у тимусі при опіковій хворобі є альтерация стінки судин гемомікроциркуляторного русла на тлі виразного паравазального та міжклітинного набряку. Суттєвим чинником розвитку набряку в тимусі при опіковій хворобі є утворення наскрізних трансмуральних дефектів у стінці кровоносних судин («leaks» або «протікання») і відповідних внутрішньоорганних міжклітинних розширень («проникнення»), маркером яких є електроннощільний лактопротеїн із сорбітолом.

Паравазальний характер розташування зазначеного електронно-щільного матеріалу свідчить, що його поява пов’язана з специфікою транспорту лактопротеїну з сорбітолом після опікової травми через «протікання» судинної стінки, які вони чітко декорують. За рахунок цього контури міжендотеліальних щілин виглядають ніби намальованими чорною фарбою. Не виключено, що деякі складові лактопротеїну з сорбітолом (які на електронограмах мають низку щільність), транспортуються через систему мікропіноцитозних пухирців, але беззаперечних структурних свідоцтв на користь цього нами не виявлено.

Складові лактопротеїну з сорбітолом, що потрапили в судинну стінку та розповсюдилися через «проникнення» паравазально, частково підлягають фагоцитозу з боку макрофагів, а частково модифікуються за рахунок синтезуючої діяльності прилеглих епітеліоретикулоцитів. Про останнє свідчать ознаки активації органел синтетичного апарату паравазальних епітеліоретикулоцитів (більшою мірою розширення

розділених канальців гранулярної ендоплазматичної сітки та їхнє заповнення пилоподібним вмістом середньої електронної щільності). Результатом співдружньої діяльності ендотеліоцитів, макрофагів та епітеліоретикулоцитів є формування специфічних мемброноподібних структур у тимусі щурів тільки і винятково VI експериментальної групи. Ці специфічні мемброноподібні структури складаються з паралельних пучків фібрил, розміщених у щільному аморфному матриксі.

Судинна стінка деяких кровоносних капілярів стає багатошаровою, що зумовлено міжклітинним проникнення компонентів лактопротеїну з сорбітолом і утворенням мемброноподібних структур. З огляду на те, що до стінки кровоносних капілярів тимуса в нормі прилягають навколо судинні епітеліоретикулоцити, можна вважати, що саме вони (разом з ендотеліоцитами та перицитами) перетворюються на інтрауральний клітинний компонент колової мемброноподібної структури. За цих обставин бар'єрна функція судинної стінки зростає, що заважає проникненню в орган цитотоксичних чинників, а також запобігає розвитку набряків і крововиливів. Одночасно слід визнати, що для цих судин функція трансендотеліального газообміну та транспорту речовин стає значно утрудненою. Однак вона залишається, про що свідчить структурна збереженість компонентів судинної стінки, навіть, у плазматичних кровоносних капілярах зі замкненим судинним просвітом, який виглядає як тонка щілина. Не виключено, що в подібних кровоносних капілярах опорна (каркасна) функція переважає транспортну. Зважаючи на практичну відсутність просвіту та можливу ригідність (негнучкість) багатошарової стінки (яка не може забезпечити розширення судинного просвіту), можна припустити, що ці судини (як шляхи коаксіального транспорту та трансмуральної міграції тимоцитів) виключаються з кола шляхів рециркуляції тимоцитів.

Специфічні мемброноподібні структури в тимусі не є тимчасовими реактивними утворами в тимусі, що зникають через деякий час після інфузії лактопротеїну з сорбітолом (остання здійснюється лише упродовж 7 діб). Окрім описані специфічні мемброноподібні структури об'єднуються в комплекс і відокремлюють групу (кластери) клітин, сприяють їхній ізоляції від решти клітин тимуса та, можливо, забезпечують їхній захист від шкідливих впливів цитотоксичних чинників. Тимоцити, що об'єднані в кластери (по 3-12 клітин), характеризуються збереженістю структур цитоплазми та ядра.

Підсумовуючи, одержані дані можна заключити, що ангіопротекторний та цитопротекторний вплив лактопротеїну з сорбітолом на структуру тимуса при опіковій травмі є довготривалим, але парадоксальним. Парадокс дії лактопротеїну з сорбітолом полягає в тому, що клітини тимуса в комірках мемброноподібного комплексу впродовж усього терміну після опікової травми залишаються структурно збереженими, у той час, коли цитоархітектоніка тимуса стає істотно іншою.

Між тим, саме впорядковане розташування клітин (цитоархітектоніка) за усталеною точкою зору (Кветной И. М. и соавт., 2005; Alves N. L. et al., 2010; Gordon J., Manley N. R., 2011) забезпечує можливість необхідного для функціонування кожної клітини тимуса молекулярного комунікаційного діалогу. Загальновідомо, що епітеліоретикулоцити виконують функцію «епітеліального каркасу» (кіркова та мозкова клітинні сітки) і є джерелом сигналів для тимоцитів, що реалізується завдяки прямим клітинним контактам. У тимусі тварин з опіком, яким була здійснена інфузія лактопротеїну з сорбітолом, функції каркасу частково виконує новоутворений мемброноподібний комплекс, який порушує старі і одночасно створює нові просторові відповідності секреції власне тимічних гормонів та короткорангових петидних месенджерів до місць реалізації їхньої дії. Взаємодія тимоцитів із клітинами мікрооточення слугує важливим чинником процесів позитивної та негативної селекції, які за умов фомування «нового каркасу» (останній можна умовно назвати «сполучнотканинним») мають бути істотно зміненими.

Частина «нового сполучнотканинного каркасу», як свідчать одержані дані, підлягає руйнації та перемodelюванню за участю фагоцитарно активних макрофагів; частина залишається незмінною; ще одна «вмontoвується» у «епітеліальний каркас» тимуса (в якому відгалуження мемброноподібного комплексу повністю або частково, підковоподібно або колоподібно оточується цитоплазмою відповідного епітеліоретикулоцита). Зрозуміло, що в останньому випадку «новий сполучнотканинний каркас» (крім захисної, опорної, розділяючої та розподіляючої функції) виконує функцію підлеглого матриксу для епітеліоретикулоцитів (які повинні налагодити порушені міжклітинні молекулярні взаємодії).

Якщо розглядати описані структурні зміни тимуса при опіковій хворобі за умов дії застосованих гіперосмолярних розчинів у рамках концепції довготривалої адаптації (Меерсон Ф. З., 1993), то слід визнати наявність її двох чітко окреслених фаз: 1) функціональної адаптації (1-3-я доба експерименту), під час якої відбувається тільки протекція, деструкція та репарація клітин; 2) трофо-пластиичної адаптації (7-30-а доба експерименту), під час якої відбувається фомування «нового сполучнотканинного каркасу» та «нової цитоархітектоніки» тимуса.

Динамічні морфологічні часові та просторові зміни описаного вище «нового сполучнотканинного каркасу» тимуса не можна пояснити тільки потребами реорганізації його складових, що визначає появу «нової цитоархітектоніки» тимуса. Цілком логічно буде стверджувати, що цей «каркас» є також своєрідно структурованим «сховищем» запасів нутрієнтів, які забезпечують живлення клітин тимуса за умов притаманного опіковій хворобі гіперметаболізму. У міру необхідності клітини тимуса мають змогу одержати певні порції накопичених у міжклітинних просторах «харчових запасів», що, наприклад, гальмує розвиток макроавтофагії як явище «self-

eating and self-killing» (Djawaheri M. et al., 2010). Варто підкреслити, що одним із відомих чинників макроавтофагії є нестача поживних речовин і наступне клітинне голодування. Саме в цьому, на нашу думку, полягає особливість біохімічного впливу лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% як комплексу речовин, що гальмують генералізовану катаболічну реакцію в тимусі і діють як протектори і речовини, що сприяють репарації клітин.

За умов застосування лактопротеїну з сорбітолом удалося найкращим чином візуалізувати і дослідити зазначені процеси, але є морфологічно засвідчені підстави вважати, що дія HAES-LX-5 % реалізується за таким же сценарієм. Складові HAES-LX-5 % визначаються в тканині тимуса позаклітинно як дифузний дрібногранулярний матеріал середньої електронної щільності, що іноді утворює міжклітинні скupчення. У деяких випадках ці скupчення є «складними»: мають вигляд розташованих в аморфній речовині дрібних, але різноманітних за розмірами та електронною щільністю, гранул та дрібних фібріл. Деколи ці «складні» скupчення оточуються відростками епітеліоретикулоцитів. У цьому випадку відростки епітеліоретикулоцитів майже повністю вкривають «складні» міжклітинні скupчення і формують навколо них ажуруну обгортку. Симбіотичні взаємодії між трансформованим (описаним чином) підлеглим позаклітинним матриксом та епітеліоретикулоцитами, ймовірно, віддзеркалюють процеси, що забезпечують підтримку гомеостазу в тимусі. За цих обставин, бар'єрна функція епітеліоретикулоцитів спрямована на ізоляцію матеріалу позатимусного походження.

Варто звернути увагу на наявність певної залежності між часом введення комбінованих гіперосмолярних розчинів і часом активних структурних трансформацій та модифікацій міжклітинної речовини в тимусі. У відповідності до сучасних уявлень, надійність систем підтримки гомеостазу визначається високим ступенем синхронізації між початком дії подразника (у даному випадку – інфузійного препарату) і розвитком у відповідь реакції організму. Чим більше за часом наближені дія чинника і відповідь організма, тим ефективнішою є пристосувальна реакція. Початкові прояви мембранопластичної дії лактопротеїну з сорбітолом ми спостерігали через 3 доби після щодобового введення інфузійного розчину. Проте максимальний мембранопластичний ефект у міжклітинній речовині реєструється після повторних введень через 7 діб. При цьому він є довготривалим (зберігається через 23 доби після останньої інфузії). Останнє дозволяє стверджувати про архітектонічні модифікації утворених мембраноподібних структур і зробити припущення, що долучені до складу цих структур продукти біотрансформації ендотоксинів і компонентів лактопротеїну з сорбітолом є реакційноздатними.

Проведені комплексні дослідження дозволили встановити, що цілковитого поновлення (повної регенерації) клітинних і позаклітинних структур тимуса в тварин з опіковою травмою після застосування

внутрішньовенної інфузії лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX-5% не відбувається (на нього, скоріше за все, варто було б сподіватися за умов комплексної терапії опікової хвороби). Із позиції цієї аргументації можна припустити, що підтримка функціональної спроможності тимуса забезпечується шляхом безперервного врівноваження прогресуючих деструктивних змін регенераторними та гіперпластичними процесами, що, на відміну від одужання, прийнято позначати (Меерсон Ф. З., 1993) як компенсований поточний патологічний процес. В умовах даного процесу забезпечення адекватного рівня функціональної активності клітини, тканини, органа не супроводжується очікуємою стабільністю їхньої типової архітектоніки. Проте цей процес відрізняється нівелюванням дії найважливішого патогенного чинника (яким є ендотоксини), що зумовлено підвищенням бар'єрної функції гістогематичного бар'єру. Саме це свідчить про своєрідність структурних механізмів цитопротекторних впливів лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX-5%.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної наукової проблеми, що полягає у встановленні структурних змін у тимусі при опіковій хворобі за умов застосування внутрішньовенної інфузії різних дезінтоксикаційних розчинів. Доведена ефективність протекторного щодо дії патогенетичних чинників опікової хвороби та коригуючого впливів комбінованих гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%) на структуру тимуса.

1. Загальним проявом структурних змін у тимусі при опіковій хворобі є альтерация функціонально різних клітин органа та стінок судин гемомікроциркуляторного русла на тлі виразного паравазального та міжклітинного набряку. На етапах розвитку опікової хвороби частина клітин тимуса гине шляхом апоптозу (тимоцити, епітеліоретикулоцити, дендритні клітини, ендотеліоцити кровоносних капілярів і венул), некрозу (тимоцити, епітеліоретикулоцити, макрофаги, ендотеліоцити кровоносних капілярів і венул), мітотичної катастрофи (тимоцити), апонекрозу (тимоцити та дендритні клітини), автофагії (епітеліоретикулоцити та макрофаги) та зроговіння (епітеліоретикулоцити тілець Гассала). Внутрішньовенне введення комбінованих гіперосмолярних розчинів лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%, гальмує клітинну загибел у тимусі при опіковій хворобі та сприяє репарації ушкоджених клітин.

2. Співставлення морфологічних (світлова та електронна мікроскопія) даних із результатами проточної ДНК-цитомерії свідчить, що динаміка типів клітинної смерті в тимусі при опіковій хворобі за умов застосування інфузії 0,9 % розчину NaCl (контроль), лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% є відзеркалення дуалістичного процесу – «дисфункциї/поновлення функції апоптозу» як механізму регуляції генетичного гомеостазу в тимусі.

3. За даними ДНК-цитомерії опікове ураження шкіри в групах шурів через 1 добу після опікової травми на фоні лікування 0,9 % розчином NaCl супроводжується змінами проліферативної активності тимуса у вигляді збільшення кількості клітин із фрагментованою ДНК (апоптоз) в 4,6 раза та пригнічення синтезу ядерної ДНК (фаза S) ( $p=0,01$ ), а також зменшення індексу проліферації ( $p=0,04$ ). Через 3 доби після опікового ураження шкіри на фоні лікування 0,9 % розчином NaCl відмічається зменшення показників фази G0G1 ( $p=0,0065$ ), збільшення кількості клітин в S фазі ( $p=0,004$ ) та зменшення клітин з ознаками фрагментації ДНК (SUB-G0G1) ( $p=0,04$ ).

4. Застосування лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% позитивно впливає на кінетику клітинного циклу в тимусі з 1-ї доби після опікового ураження у вигляді зменшення фрагментації ДНК, особливо в групі опік + HAES-LX-5% ( $p=0,0163$ ). На фоні опікового ураження шкіри та застосування лактопротеїну з сорбітолом через 3 доби спостереження показники S фази суттєво відрізнялися ( $p=0,0374$ ) від аналогічних показників у групі опечених тварин, лікованих 0,9 % розчином NaCl. На тлі застосування препарату HAES-LX-5% після опіку шкіри статистично значуще знижаються показники фрагментації ДНК (апоптозу) через 1, 3, 7 діб після опікового ушкодження і ця тенденція зберігається через 14, 21, 30 діб експериментального дослідження відносно аналогічного показника групи тварин, лікованих 0,9 % розчином NaCl.

5. Мітотична катастрофа є характерною особливістю реакції частини тимоцитів на опікову травму. Мітотична катастрофа тимоцитів пов'язана з відхиленнями у виконанні тимоцитами мітозу, коли дефекти реконструкції ядер не завершуються перешнуровкою цитоплазми (цитотомією). Більшість тимоцитів, які зазнали мітотичної катастрофи, відрізняються мультинуклеацією та накопиченням мікроядер. Ці порушення в кінцевому випадку закінчуються наступним тотальним або парціальним апоптозом тимоцитів.

6. Апонекроз тимоцитів та дендритних клітин є інваріантом клітинної смерті, яка початково проявляється морфологічними ознаками апоптозу, а закінчується як некроз (повною руйнацією мембрани і органел клітини). Апонекроз тимоцитів (наявність якого засвідчена упродовж всіх досліджених термінів розвитку опікової хвороби) і апонекроз дендритних клітин (відмічений у пізні терміни розвитку опікової хвороби: через 14-30 діб після опікової травми) є свідченням змін характеру та швидкості селекції тимоцитів, а також показником зりву компенсаторно-пристосувальних реакцій у тимусі.

7. Автофагія є типовою і стійкою реакцією епітеліоретикулоцитів і макрофагів тимуса на опікову травму і при обмеженому характері (селективна автофагія) забезпечує: а) видалення ушкоджених органел і ділянок цитоплазматичного матриксу з клітини; б) вилучення конституентних елементів дефектних структур ушкоджених компартментів

клітини і повернення їх у неушкоджені (відновлення одних структур за рахунок руйнації інших). Інфузія колоїдно-гіперосмолярних розчинів супроводжується стимуляцією селективної автофагії, яка є запобіжником розвитку некрозу. Селективна автофагія пов'язана не тільки з забезпеченням додаткового (аварійного) живлення клітин тимуса, але з оновленням їхніх пошкоджених структур і з їхньою адаптивністю. Адаптивність полягає в тому, що репарована частина клітини може бути не тільки ідентичною до вилученої, а й за потреби зміненою і більш придатною для функціонування клітин тимуса при опіковій хворобі.

8. Процес автофагії в клітинах тимуса при опіковій хворобі є послідовним, упорядкованим і складається з наступних фаз: 1) ініціація – утворення «ядра» (ушкоджені органели та ділянки цитоплазматичного матрикса), навколо якого починають концентрично групуватися потенційні джерела ізоляючої мембрани; 2) замикання ізоляючої мембрани з формуванням автофагосоми; 3) дозрівання, що включає злиття автофагосоми з лізосомами і утворення автофаголізосоми; 4) деградація (руйнація) та/або екструзія вмісту автофаголізосоми. За умов селективної мікроавтофагії (у залежності від вмісту «ядра» автофагосоми) при опіковій хворобі розвиваються: а) автофагія мітохондрій, або мітофагія; б) автофагія рибосом, або рибофагія; в) автофагія ендоплазматичної сітки, або ретикулофагія.

9. У деяких макрофагах тимуса впродовж усього вивченого періоду розвитку опікової хвороби відбувається ретикулофагія (за рахунок злиття канальців гранулярної ендоплазматичної сітки з фаголізосомами). Ретикулофагія в макрофагах може бути обмеженою (утворення замкнених кільцеподібних канальцевих структур з електроннощільним вмістом) або розповсюдженою (утворення розгалужених канальцевих структур з електроннощільним вмістом). В останньому випадку це призводить до некрозоподібної загибелі відповідного макрофага. Таким чином, макрофаги тимуса при опіковій хворобі гинуть за рахунок своєрідної (*sui generis*) послідовності морфологічних змін, яку можна визнати окремим типом клітинної смерті – ретикулонекрозом.

10. Із двох антиген-презентуючих клітин тимуса (дендритних клітин і макрофагів) більш стійкими до дії чинників опікової хвороби є дендритні клітини.Автофагійна та, безпосередньо некротична смерть макрофагів призводить до порушення своєчасного фагоцитозу апоптозних тимоцитів та їхніх апоптозних тіл, які, натомість, підлягають наступним некротичним змінам. У той же час виживання дендритних клітин у ранні терміни після опікової травми (через 1-7 діб) забезпечує збереження пускових механізмів апоптозного каскаду селекції тимоцитів, а наступний, за часом, апонекроз дендритних клітин свідчить про втрату контролю над селекцією тимоцитів. Встановлений баланс/дисбаланс процесу «клітинна смерть макрофагів/виживання дендритних клітин», «клітинна смерть макрофагів/апонекроз дендритних клітин» є тригерним механізмом

динаміки типів клітинної смерті тимоцитів при опіковій хворобі: міtotична катастрофа → апоптоз/некроз; апоптоз → апонекроз; апонекроз → некроз; некроз.

11. У тимусі щурів інтактної групи є численні висококератинізовані (за рахунок зроговіння епітеліоретикулоцитів) тільця Гассаля різних розмірів, що є відзеркаленням їхнього розвитку та функціонального стану. Тільця Гассаля при опіковій хворобі мають «ядро», яке складається з кератинізованих фібрил та клітин (тимоцитів, макрофагів, епітеліоретикулоцитів, плазмоцитів) на різних стадіях апоптозної деградації та лізиса. За цих умов тільця Гассаля сприяють сегрегації клітин тимуса, що мають загинути, забезпечують їхню секвестрацію і, урешті-решт, запобігають негативному впливу продуктів розпаду «ядра» на клітини мікрооточення.

12. Суттєвим чинником розвитку набряку в тимусі при опіковій хворобі є утворення наскрізних трансмуральних дефектів у стінці кровоносних капілярів і венул («протікань») і відповідних внутрішньорганних міжклітинних розширень («проникнень»), маркером яких є електроннощільний лактопротеїн із сорбітолом.

13. Лактопротеїн з сорбітолом за умов розвитку опікової хвороби проявляє вперше описані мембанопластичні властивості, що полягають в утворенні в зонах «протікань» та «проникнень» системи взаємозв'язаних мембаноподібних структур. Ці структури відрізняються гетерогенністю і гетероморфністю, і є результатом активної переробки та/або модифікації біохімічно трансформованих компонентів лактопротеїну з сорбітолом, що зумовлено синтезуючою активністю клітин судинної стінки, епітеліоретикулоцитів і дендритних клітин, а також фагоцитарною активністю макрофагів.

14. Поява при експериментальній опіковій хворобі системи мебраноподібних структур у тимусі (за умов застосування лактопротеїну з сорбітолом) та «складних» міжклітинних скупчень (за умов застосування HAES-LX-5%) призводить до розвитку «нового сполучнотканинного каркасу» та становлення «нової цитоархітектоніки» тимуса (конформативних змін стінки судин гемомікроциркулярного русла, відокремлення та ізоляції кластерів клітин тимуса), які є більш виразними за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом.

15. Динамічні морфологічні часові та просторові зміни описаного «нового сполучнотканинного каркасу» не тільки визначають цитоархітектонічне ремоделювання тимуса при опіковій хворобі за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%, але й свідчать про його значення як структурованого (у вигляді «їстівного дерева») сковища запасів нутрієнтів, що забезпечують тривале (понад 3 тижні) живлення клітин і гальмують макроавтофагію та некроз, які пов'язані з клітинним голодуванням.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Черкасов Е. В. Апонекроз в тимусі щурів при опіковій хворобі та її терапевтичному лікуванні / Е. В. Черкасов // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – 2011. – Вип. 40. – С. 170–174.
2. Черкасов Е. В. Особливості клітинної смерті в тимусі щурів при опіковій хворобі та її терапевтичному лікуванні / Е. В. Черкасов // Українські медичні вісті. – 2011. – Т. 9, № 1–4. – С. 314.
3. Черкасов Е. В. Роль автофагії в забезпечені виживання та смерті клітин тимуса щурів при опіковій хворобі та її лікуванні комбінованими гіперосмолярними розчинами / Е. В. Черкасов // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2011. – № 17. – С. 26–30.
4. Черкасов Е. В. Поліморфізм тілець тимуса при експериментальній опіковій хворобі та інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів / Е. В. Черкасов // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 36–39.
5. Черкасов Е. В. Структурні зміни тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії лактопротеїну–С / Е. В. Черкасов // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, № 4. – С. 135–141.
6. Черкасов Е. В. Ультраструктура кровоносних судин тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів та її лікуванні комбінованими гіперосмолярними розчинами / Е. В. Черкасов // Вісник морфології. – 2011. – Т. 17, № 3. – С. 458–463.
7. Черкасов Е. В. Ультраструктура макрофагів і дендритних клітин тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів / Е. В. Черкасов // Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. – 2011. – № 2. – С. 32–37.
8. Черкасов Е. В. Ультраструктура тілець тимуса (тілець Гассаля) при експериментальній опіковій хворобі у щурів / Е. В. Черкасов // Вісник морфології. – 2011. – Т. 17, № 2. – С. 245–248.
9. Черкасов Е. В. Клітинна смерть шляхом міtotичної катастрофи в тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів / Е. В. Черкасов // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 1. – С. 165–169.
10. Черкасов Е. В. Мембронопластичний вплив лактопротеїну–С на структуру тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів / Е. В. Черкасов // Вісник морфології. – 2012. – № 2. – С. 242–249.
11. Черкасов Е. В. Модифікація структури тимуса при лікуванні опікової хвороби внутрішньовенними інфузіями лактопротеїну–С в експерименті / Е. В. Черкасов // Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології: матеріали 3-го Наукового симпозіуму. – Чернівці: БДМУ, 2012. – С. – 190–196.
12. Черкасов Е. В. Селективність автофагії в епітеліоретикулоцитах тимуса та її роль у клітинному виживанні і клітинній смерті в тимусі при

опіковій хворобі / Е. В. Черкасов // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – 2012. – Вип. 43. – С. 122–126.

13. Черкасов Е. В. Структурні зміни ендокринних епітеліальних клітин у тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом внутрішньовеної інфузії лактопротеїну–С / Е. В. Черкасов // Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 163–168.

14. Черкасов Е. В. Ультраструктура дендритних клітин тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів та за умов її лікування комбінованими гіперосмолярними розчинами / Е. В. Черкасов // Вісник морфології. – 2012. – Т. 18, № 1. – С. 6–10.

15. Черкасов Е. В. Клітинна смерть та клітинний цикл у тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів / Е. В. Черкасов // Український науково- медичний молодіжний журнал. – 2015. – № 2. – С. 68–75.

16. Cherkasov V. G. Evaluation of the effect of infusion of composite hyperosmolar solutions on the structure of neuroimmunoendocrine system organs in burn diseas / [V. G. Cherkasov, A. I. Kovalchuk, I. V. Dzevulskaya, E. V. Cherkasov] // European International Journal of Science and Technology. – 2015. – Vol. 4, № 9. – P. 51–61. (Здобувач провів дослідження, статистичну обробку, аналіз і узагальнення результатів щодо структурних змін тимуса, підготував статтю до друку).

17. Черкасов Е. В. Особливості клітинного циклу клітин тимуса щурів після опікового ураження шкіри / Е. В. Черкасов, І. В. Гунас, І. Л. Черешнюк, Д. А. Лисенко // Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 109–113. (Здобувач здійснив аналіз літературних джерел, результатів дослідження, підготував статтю до друку).

18. Черкасов Э. В. Структурные модификации кровеносных сосудов коркового вещества надпочечников и тимуса при экспериментальной ожоговой болезни у крыс и ее лечении комбинированными гиперосмолярными растворами / Э. В. Черкасов, И. В. Дзевульская // Saglamliq – Здоровье – Health. – 2014. – №2. – С. 149–157. (Здобувач здійснив аналіз літературних джерел, результатів дослідження щодо тимуса, підготував статтю до друку).

19. Черкасов Э. В. Ультраструктура кровеносных сосудов органов нейроиммунноэндокринной системы при экспериментальной ожоговой болезни у крыс и ее инфузционной терапии комбинированными гиперосмолярными растворами / Э. В. Черкасов, А. И. Ковалчук, И. В. Дзевульская // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2015. – № 1. – С. 68–72. (Здобувач здійснив аналіз літературних джерел, результатів дослідження щодо тимуса, підготував статтю до друку).

20. Черкасов В. Г. Морфологические аспекты цитопротекции в органах нейроиммунноэндокринной системы при инфузационной терапии ожоговой болезни / [В. Г. Черкасов, А. И. Ковальчук, И. В. Дзевульская, Э. В. Черкасов] // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 4, Т. 2 (125). – С. 310–316. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз їхніх результатів щодо тимуса, підготував статтю до друку).
21. Черкасов В. Г. Морфологічна оцінка ефективності застосування інфузії гіперосмоллярних розчинів при опіковій травмі шкіри / В. Г. Черкасов, О. І. Ковальчук, Е. В. Черкасов, І. В. Дзевульська // «Актуальні питання медичної науки та практики: Зб. наук. пр. ДЗ «ЗМАПО МОЗ України». – Запоріжжя, 2015. – Вип. 82, Т. 2, Кн. 2 – С. 194–205. (Здобувач провів аналіз наукової літератури, здійснив експериментальні дослідження, аналіз результатів щодо тимуса).
22. Гунас И. В. Роль эндогенной интоксикации в морфогенезе изменений во внутренних органах при инфузционной терапии ожоговой болезни / [И. В. Гунас, В. Г. Черкасов, А. И. Ковальчук, И. В. Дзевульская, Э. В. Черкасов, А. В. Маликов, В. Н. Титаренко, Т. В. Лахтадыр, Р. М. Матківська] // Biomedical and biosocial anthropology. – 2015. – № 24. – С. 30–36. (Здобувач провів аналіз наукової літератури, здійснив експериментальні дослідження, аналіз результатів щодо тимуса, підготував статтю до друку).
23. Черкасов В. Г. Морфологічні ефекти застосування інфузії гіперосмоллярних розчинів при опіковій травмі шкіри / [В. Г. Черкасов, О. І. Ковальчук, Е. В. Черкасов, І. В. Дзевульська, М. І. Андрієнко, О. О. Шлапа, М. М. Христич] // Науковий вісник Ужгородського національного університету. – 2015. – Вип. 2 (52). – С. 30–37. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз результатів щодо тимуса, підготував статтю до друку).
24. Гунас И. В. Влияние внутривенной инфузии лактопротеина-С на структурные изменения эндокринных клеток коркового вещества надпочечников и тимуса при экспериментальной ожоговой болезни у крыс / И. В. Гунас, Э. В. Черкасов, И. В. Дзевульская, А. И. Ковальчук // Клиническая и экспериментальная морфология. – № 2 (10). – 2014. – С. 32–38. (Здобувач здійснив аналіз літературних джерел, результатів дослідження щодо тимуса, підготував статтю до друку).
25. Гунас И. В. Використання мембронопластичних властивостей лактопротеїну-С для поновлення структур внутрішніх органів при опіковій хворобі / [І. В. Гунас, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов, О. І. Ковальчук] // Науковий вісник Ужгородського національного університету. – 2015. – № 1 (51). – С. 17–22. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз результатів щодо тимуса, підготував статтю до друку).
26. Черкасов В. Г. Структурные механизмы цитопротекции во внутренних органах при инфузционной терапии ожоговой болезни /

[В. Г. Черкасов, А. И. Ковальчук, И. В. Дзевульская, Э. В. Черкасов, А. В. Маликов, В. Н. Титаренко, Т. В. Лахтадыр, Р. М. Матківская] // Biomedical and biosocial anthropology. – 2014. – № 23. – С. 6–12. (Здобувач провів аналіз літератури, експериментальні дослідження, систематизував матеріал щодо тимуса, сформулював висновки, підготував статтю до друку).

27. Черкасов В. Г. Структурные модификации эндотелия сосудов гемомикроциркуляторного русла органов нейроиммunoэндокринной системы при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперсмолярных растворов / [В. Г. Черкасов, И. В. Дзевульська, А. І. Ковальчук, Э. В. Черкасов] // The modern achievements of Azerbaijan medicine. – 2015. – № 4. – С. 161–169. (Здобувач провів аналіз наукової літератури, експериментальні дослідження, оцінку ультраструктурних змін ендотелію судин тимуса після опікової травми шкіри).

28. Гунас I. В. Вплив внутрішньовеноної інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів на перебіг опікової хвороби та структурні зміни органів нейроімуноендокринної системи при опіковій хворобі / [І. В. Гунас, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов, О. І. Ковальчук] // Світ медицини та біології. – 2014. – № 1. – С. 111–118. (Здобувач провів аналіз результатів щодо тимуса, сформулював висновки).

29. Гунас І. В. Динаміка змін рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів протягом місяця після опіку шкіри II–III ступеня, площею 21–23 % поверхні тіла та її корекція інфузійними розчинами лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% / [І. В. Гунас, Б. О. Кондрацький, І. К. Нурметова, І. В. Дзевульська, О. І. Ковальчук, Е. В. Черкасов, Н. П. Бебешко, І. В. Булько, Т. К. Вітрук, Г. М. Галунко, О. І. Макарова, С. В. Міронов, А. О. Очеретнюк, Т. В. Поліщук, Р. В. Радьога, О. М. Семененко, О. В. Ситнік] // Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 29–34. (Здобувач провів експериментальні дослідження щодо тимуса, здійснив аналіз результатів, підготував статтю до друку).

30. Ковальчук А. И. Влияние комбинированных гиперосмолярных растворов на нанопроцессы в стенке кровеносных капилляров и в интерстициальном матриксе внутренних органов при ожоговой болезни / [А. И. Ковальчук, Э. В. Черкасов, И. В. Дзевульская, В. Г. Черкасов, О. В. Маликов, В. Н. Титаренко, Т. В. Лахтадыр, Р. М. Матківская] // Український науково- медичний молодіжний журнал. – 2014. – № 2 (81). – С. 5–10. (Здобувач провів аналіз літературних джерел, експериментальні дослідження, систематизував матеріал щодо тимуса, зробив аналіз та узагальнення результатів, підготував статтю до друку).

31. Гунас I. В. Динаміка різних типів клітинної смерті в тимусі, надниркових залозах, аденоіпофізі та зміни рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів при експериментальній опіковій хворобі за умов інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів / [І. В. Гунас, Е. В. Черкасов,

I. В. Дзвевульська, О. І. Ковальчук] // Український науково- медичний молодіжний журнал. – 2012. – № 4. – С. 10–13. (Здобувач провів літературний пошук, експериментальні дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).

32. Черкасов В. Г. Ультраструктурные изменения эндотелия кровеносных капилляров внутренних органов при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперосмолярных растворов / [В. Г. Черкасов, И. В. Дзвевульская, А. И. Ковальчук, Э. В. Черкасов, А. В. Маликов, Т. В. Лахтадыр, В. Н. Титаренко, Р. М. Маткивская] // Вісник морфології. – 2015. – Т. 21, № 1. – С. 96–102. (Здобувач провів експериментальні дослідження, сформулював висновки щодо тимуса, підготував статтю до друку).

33. Гунас І. В. Структурні зміни органів нейроімуноендокринної системи при експериментальній опіковій хворобі та її інфузійної терапії / І. В. Гунас, О. І. Ковальчук, Е. В. Черкасов, І. В. Дзвевульська, В. М. Титаренко // Науковий вісник НМУ імені О.О. Богомольця. – 2013. – № 4 (43). – С. 27–35. (Здобувач здійснив аналіз літературних джерел, результатів дослідження, підготував статтю до друку).

34. Гунас І. В. Наслідки впливу опіку шкіри на показники клітинного циклу клітин тимуса та їх корекція лактопротеїном з сорбітолом або HAES-LX-5% / І. В. Гунас, Б. О. Кондрацький, Е. В. Черкасов [та ін.] // Biomedical and biosocial anthropology. – 2012. – № 19. – С. 135–141. (Здобувач здійснив аналіз літературних джерел, результатів дослідження щодо тимуса, підготував статтю до друку).

35. Ковальчук О. І. Вплив ендогенної інтоксикації на структурні зміни органів нейроімуноендокринної системи за умов лікування опікової хвороби комбінованими гіперосмолярними розчинами / [О. І. Ковальчук, Е. В. Черкасов, І. В. Дзвевульська, І. В. Гунас] // Український науково- медичний молодіжний журнал. – 2014. – № 1 (79). – С. 42–47. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз результатів щодо тимуса).

36. Гунас І. В. Перебіг опікової хвороби та структурні зміни органів нейроімуноендокринної системи за умов застосування внутрішньовенної інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів / [І. В. Гунас, І. В. Дзвевульська, Е. В. Черкасов, О. І. Ковальчук] // Український морфологічний альманах. – 2014. – Т. 12, № 1. – С. 29–35. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз результатів щодо тимуса, підготував статтю до друку).

37. Гунас І. В. Мембронопластичний ефект дії лактопротеїну-С на структуру органів нейроімуноендокринної системи за умов інфузійної терапії опікової хвороби / [І. В. Гунас, І. В. Дзвевульська, Е. В. Черкасов, О. І. Ковальчук] // Хірургія України. – 2015. – № 3. – С. 36–43. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз їхніх результатів щодо тимуса, підготував статтю до друку).

38. Черкасов В. Г. Структурные особенности адаптации и компенсации нарушенных функций внутренних органов при инфузионной терапии ожоговой болезни / [В. Г. Черкасов, А. И. Ковальчук, И. В. Дзевульская, Э. В. Черкасов, А. В. Маликов, В. Н. Титаренко, Т. В. Лахтадыр, Р. М. Маткивская] // Світ медицини та біології. – 2014. – № 4 (46). – С. 165–170. (Здобувач провів експериментальні дослідження, проаналізув результати щодо тимуса, підготував статтю до друку).
39. Гунас І. В. Структурні аспекти адаптаційних змін органів нейроімуноендокринної системи за умов лікування опікової хвороби комбінованими гіперосмолярними розчинами / [І. В. Гунас, Е. В. Черкасов, О. І. Ковальчук, І. В. Дзевульська] // Галицький лікарський вісник. – 2014. – Т. 21, № 2. – С. 21–26. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз результатів щодо тимуса).
40. Черкасов В. Г. Ультраструктурные трансформации межклеточного вещества во внутренних органах при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперосмолярных растворов / [В. Г. Черкасов, И. В. Гунас, А. И. Ковальчук, И. В. Дзевульская, Э. В. Черкасов, А. В. Маликов, Т. В. Лахтадыр, В. Н. Титаренко, Р. М. Маткивская] // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2015. – Т. 14, № 1 (51). – С. 37–44. (Здобувач провів літературний пошук, експериментальні дослідження, сформулював висновки).
41. Гунас І. В. Структурні зміни органів нейроімуноендокринної системи при опіковій хворобі за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії гіперосмолярних розчинів / [І. В. Гунас, Б. О. Кондрацький, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов, О. І. Ковальчук] // Український морфологічний альманах. – 2013. – Т. 11, № 4. – С. 92–98. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз отриманих результатів, сформулював висновки щодо тимуса, підготував статтю до друку).
42. Благодаров В. М. Автофагія у динаміці клітинної смерті в тимусі при опіковій хворобі та її лікуванні в експерименті / В. М. Благодаров, Е. В. Черкасов, О. В. Благодарова // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 47–50. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз отриманих результатів, сформулював висновки щодо тимуса, підготував статтю до друку).
43. Благодаров В. М. Міtotична катастрофа в тимусі щурів при опіковій хворобі та її консервативному лікуванні / В. М. Благодаров, Е. В. Черкасов, О. В. Благодарова // Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. – 2011. – № 1. – С. 15–20. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз отриманих результатів, сформулював висновки щодо тимуса, підготував статтю до друку).
44. Благодаров В. М. Порівняльна характеристика ефектів впливу інфузійних розчинів лактопротеїну–С та HAES-LX-5% та структуру тимуса

при експериментальній опіковій хворобі у щурів / В. М. Благодаров, Е. В. Черкасов // Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. – 2011. – № 4. – С. 8–17. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз отриманих результатів, сформулював висновки щодо тимуса, підготував статтю до друку).

45. Благодаров В. М. Типи клітинної смерті в тимусі щурів при опіковій хворобі та її терапевтичному лікуванні / В. М. Благодаров, Е. В. Черкасов, О. В. Благодарова // Biomedical and biosocial anthropology. – 2011. – № 16. – С. 64–68. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз отриманих результатів, сформулював висновки щодо тимуса, підготував статтю до друку).

46. Дзевульська И. В. Морфологическая характеристика гистогематических барьеров в органах нейроиммунноэндокринной системы при инфузационной терапии ожоговой болезни комбинированными гиперосмолярными растворами / [И. В. Дзевульская, И. В. Гунас, Э. В. Черкасов, А. И. Ковальчук] // Хирургия. Восточная Европа. – 2014. – № 2 (10). – С. 113–124. (Здобувач провів експериментальні дослідження, здійснив аналіз отриманих результатів, сформулював висновки щодо тимуса, підготував статтю до друку).

47. Чайковський Ю.Б. Структурні модифікації тілець тимуса (тілець Гассала) за умов експериментальної опікової хвороби та її лікування шляхом інфузії лактопротеїну з сорбітолом / Ю.Б. Чайковський, Е.В. Черкасов // Вісник морфології. – 2016. – № 1, Т. 22. – С. 70-75. (Здобувач здійснив аналіз літературних джерел, результатів дослідження щодо тимуса, підготував статтю до друку).

48. Вплив внутрішньовеної інфузії лактопротеїну-С та HAES-LX-5% при експериментальній опіковій хворобі на летальність у щурів / О. І. Ковальчук, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов // Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Морфологія на сучасному етапі розвитку науки» (5 – 6 жовтня 2012 р., м. Тернопіль). – Тернопіль: ТДМУ, 2012. – С. 96–97.

49. Вплив інфузійної терапії комбінованими колоїдно-гиперосмолярними розчинами на клінічний стан організму та структурні зміни гіпофіза, надніркових залоз і тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів / Е. В. Черкасов, І. В. Дзевульська, О. І. Ковальчук / Матеріали 84 міжнародної науково-практичної конференції студентів і молодих вчених «Теоретичні і практичні аспекти сучасної медицини» (21 – 23 березня 2012 р., м. Сімферополь). – С. 244–245. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формуллювання висновків, підготовка тез до друку).

50. Вплив інфузійної терапії на клінічний стан організму та структурні зміни внутрішніх органів при експериментальній опіковій хворобі у щурів / [О. І. Ковальчук, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов, О. В. Маліков, В. М. Титаренко, Т. В. Лахтадир, Р. М. Матківська] //

Матеріали VII Міжнародного конгресу з інтегративної антропології (17 – 18 жовтня 2013 р., м. Вінниця). – С. 85–86. (Автором проведені аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

51. Вплив лактопротеїну-С на перебіг природних нанопроцесів в стінці кровоносних капілярів внутрішніх органів при опіковій хворобі / [О. І. Ковальчук, І. В. Дзвевульська, Е. В. Черкасов, О. В. Маліков, В. М. Титаренко, Т. В. Лахтадир, Р. М. Матківська] // Український науково- медичний молодіжний журнал. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «YOUTHNANOBIOTECH – 2014». Молодіжний форум з нанобіотехнологій» (21 – 22 травня 2014 р., м. Київ). – 2014. – Спец. вип. № 3. – С. 56–57. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

52. Динаміка клітинної смерті в гіпофізі, надніркових залозах і тимусі при експериментальній опіковій хворобі у шурів та за умов її лікуванням шляхом внутрішньовенної інфузії лактопротеїну-С та HAES-LX-5% / О. І. Ковальчук, І. В. Дзвевульська, Е. В. Черкасов // Український науково- медичний молодіжний журнал. Матеріали IV (66) Міжнародного науково-практичного конгресу студентів і молодих вчених «Актуальні питання сучасної медицини» (17 – 19 жовтня 2012 р., м. Київ). – 2012. – Спец. вип. № 3. – С. 208–209. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

53. Ефективність застосування інфузії комбінованих колоїдно- гіперосмолярних розчинів для корекції структурних змін гіпофіза, надніркових залоз і тимуса при експериментальній опіковій хворобі у шурів / Е. В. Черкасов, І. В. Дзвевульська, О. І. Ковальчук / Матеріали III Наукового симпозіуму «Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроenterології» (20 квітня 2012 р., м. Чернівці) / за ред. Ю. Т. Ахтемійчука. – Чернівці: БДМУ, 2012. – С. 196–197. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

54. Порівняльна характеристика впливу інфузії лактопронеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% на структурні зміни гіпофіза, надніркових залоз і тимуса при експериментальній опіковій хворобі у шурів / О. І. Ковальчук, І. В. Дзвевульська, Е. В. Черкасов / «Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики»: матеріали 72 Всеукр. науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю, присвяч. Дню науки «Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє» (19–20 квітня 2012, м. Запоріжжя) – 2012. – № 9. – С. 21. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

55. Структурні зміни гіпофіза, надніркових залоз і тимуса при експериментальній опіковій хворобі у шурів та за умов застосування інфузії комбінованих колоїдно-гіперосмолярних розчинів / О. І. Ковальчук, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов / Східноєвропейський журнал громадського здоров'я. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої Всесвітньому дню здоров'я 2012 року «Старіння та здоров'я» (5 – 6 квітня 2012 р., м. Київ). – 2012. – №1 (17). – С. 169–170. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

56. Структурні особливості адаптації та компенсації порушених функцій внутрішніх органів при інфузійній терапії опікової хвороби / [В. Г. Черкасов, О. І. Ковальчук, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов, О. В. Маліков, В. М. Титаренко, Т. В. Лахтадир, Р.М. Матківська] // «Медична наука в практику охорони здоров'я. Актуальні проблеми морфології: матеріали Міжнар. наук-практ. конф., присвяченої 110 річниці з дня народження Е. Д. Бромберг. – Полтава, 2014. – 44 с. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

57. Структурні прояви коригуючого впливу інфузійної терапії на зміни внутрішніх органів шурів при експериментальній опіковій травмі / [О. І. Ковальчук, І. В. Гунас, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов, О. В. Маліков, В. М. Титаренко, Т. В. Лахтадир, Р. М. Матківська] // Українські медичні вісті. Тези доповідей XV з'їзду СВУЛТ (16 – 18 жовтня 2014 р., м. Чернівці). – 2014. – Т. 11, № 1–4 (80–83). – С. 406. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

58. Летальність та показники маси гіпофіза, надніркових залоз і тимуса при експериментальній опіковій хворобі у шурів та за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5% / І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов, О. І. Ковальчук // Український науково-медичний молодіжний журнал. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої Всесвітньому дню здоров'я 2012 року (5 – 6 квітня 2012 р., м. Київ). – 2012. – Спец. вип. № 1. – С. 226. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

59. Мембронопластичні властивості лактопротеїну з сорбітолом при опіковій хворобі / [О. І. Ковальчук, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов, І. В. Гунас] // Український науково-медичний молодіжний журнал. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої Всесвітньому дню здоров'я 2015 року (7–8 квітня 2015 р., м. Київ). – Спец. вип. № 1 (85). – С. 215–216. (Автором проведені забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

60. Особливості коригуючого впливу інфузійної терапії на структурні зміни внутрішніх органів щурів при експериментальній опіковій травмі / О. І. Ковальчук, І. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов // Український науково- медичний молодіжний журнал. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої Всесвітньому дню здоров'я 2014 року (7 – 9 квітня 2014 р., м. Київ). – Спец. вип. № 2. – С. 93. (Автором проведени забір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів щодо тимуса, формулювання висновків, підготовка тез до друку).

#### *Патенти*

Патент 103898, Україна, ПМК 2016.01. Спосіб оцінки ефективності лікування опікової хвороби / Гунас І. В., Ковальчук О. І., Дзевульська І. В., Черкасов Е. В., Черкасов В. Г.; заявник і патентовласник НМУ імені О. О. Богомольця. – № U201504908; заявл. 20.05.15; опубл. 12.01.16, Бюл. № 1. – 6 с. (Здобувач приймав участь у розробці способу за даними змін у тимусі).

Патент 92234, Україна, ПМК 2014.01. Застосування лактопротеїну з сорбітолом як маркера проникності кровоносних капілярів внутрішніх органів при опіковій хворобі / Гунас І. В., Ковальчук О. І., Дзевульська І. В., Черкасов Е. В. // Заявка № 4201401507 ; заявл. 17.02.14; опубл. 11.08.2014, Бюл. № 15. – 8 с. (Здобувач приймав участь у розробці способу за даними змін у тимусі).

#### **АНОТАЦІЯ**

**Черкасов Е. В. Структурні зміни в тимусі за умов експериментальної опікової хвороби.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія. – ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» МОЗ України, Івано-Франківськ, 2016.

Дисертація присвячена встановленню структурних змін у тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів після введення інфузійних розчинів.

Співставлення морфологічних даних з результатами проточної ДНК-цитометрії свідчать, що динаміка змін типів клітинної смерті в тимусі при опіковій хворобі за умов застосування інфузії 0,9 % розчину NaCl (контроль), лактопротеїну з сорбітолом (референс-препаратор) та HAES-LX-5% є віддзеркаленням дуалістичного процесу – «дисфункція/поновлення функції апоптозу» як механізму регуляції генетичного гомеостазу в тимусі.

Лактопротеїн з сорбітолом та HAES-LX-5% виявляють ангіо- та цитопротекторні властивості, а також мають пластичний ефект дії, який обумовлює виразний довготривалий вплив на репаративні процеси в тимусі при опіковій хворобі.

**Ключові слова:** опікова хвороба, інфузійна терапія, тимус, структурні зміни.

### АННОТАЦІЯ

**Черкасов Э. В. Структурные изменения в тимусе при экспериментальной ожоговой болезни.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 – гистология, цитология, эмбриология. – Ивано-Франковский национальный медицинский университет МЗ Украины, Ивано-Франковск, 2016.

Диссертация посвящена установлению структурных изменений в тимусе после экспериментальной ожоговой болезни у крыс в зависимости от фармакотерапии различными инфузионными растворами.

В эксперименте на 226 белых крысах установлено, что на этапах развития ожоговой болезни (вызванной ожоговой травмой кожи) часть клеток тимуса погибает путем апоптоза (тимоциты, эпителиоретикулоциты, дендритные клетки, эндотелиоциты кровеносных капилляров и венул), некроза (тимоциты, эпителиоретикулоциты, макрофаги, эндотелиоциты кровеносных капилляров и венул), митотической катастрофы (тимоциты), апонекроза (тимоциты и дендритные клетки), autofагии (эпителиоретикулоциты и макрофаги) и ороговения (эпителиоретикулоциты телец Гассала).

Сопоставление морфологических (световая и электронная микроскопия) данных с результатами проточной ДНК-цитометрии свидетельствуют, что динамика изменений типов клеточной смерти в тимусе при ожоговой болезни в условиях применения внутривенной инфузии (в режиме: 1 раз в сутки в течение 7 суток, суточная доза 10 мл/кг) 0,9 % раствора NaCl (контроль), а также комплексных гиперосмолярных растворов (лактопротеин с сорбитолом и HAES-LX-5%) является отражением дуалистического процесса – «дисфункция/восстановления функции апоптоза» как механизма регуляции генетического гомеостаза в тимусе.

При условии инфузии лактопротеина с сорбитолом (референс-препарат) и HAES-LX-5% через 1, 3, 7, 14, 21 и 30 суток эксперимента отмечены: улучшения общего состояния обожженных животных; восстановление поведенческих реакций и массы их тела; положительная динамика показателей летальности и уровня эндогенной интоксикации (молекулы средней массы и лейкоцитарный индекс интоксикации).

Лактопротеин с сорбитолом и HAES-LX-5% проявляют ангио- и цитопротекторные свойства, а также имеют пластический эффект действия, который обуславливает чёткое продолжительное влияние на reparативные процессы в тимусе при ожоговой болезни.

Инфузия гиперосмолярных растворов при ожоговой болезни вызывает появление в интерстиции тимуса комплекса мембраноподобных структур (при введении лактопротеина с сорбитолом) и «сложных»

межклеточных скоплений (при введении HAES-LX-5%), что приводит к развитию «нового соединительнотканного каркаса» в тимусе. Часть «нового соединительнотканного каркаса» подлежит разрушению и перемоделированию за счет фагоцитарной активности макрофагов; часть остается неизменной; еще одна часть «вмонтируется» в эпителиальную сеть тимуса (в которой ответвления мембраноподобного комплекса полностью или частично окружены цитоплазмой соответствующего эпителиоретикулоцита). В последнем случае «новый соединительнотканный каркас» (кроме защитной, опорной, разделительной и распределительной функций) выполняет функцию подлежащего матрикса для эпителиоретикулоцитов (которые должны наладить нарушенные межклеточные взаимодействия).

**Ключевые слова:** ожоговая болезнь, инфузионная терапия, тимус, структурные изменения.

## ANNOTATION

**Cherkasov E. V. Structural changes in the thymus under the condition of experimental burn disease.** – The manuscript.

Dissertation for obtaining scientific degree doctor of medical sciences, specialty 14.03.09 – histology, cytology, embryology. – Ivano-Frankivsk National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ivano-Frankivsk, 2016.

The thesis is devoted to structural changes in the thymus in experimental burn disease in rats according to pharmacotherapy by different infusion solutions.

Comparison of morphological data with the results of flow cytometric DNA indicate that the dynamics of changes in the types of cell death in the thymus at burn disease under the conditions of the infusion solution 0.9% NaCl (control) Lactoproteinum with sorbitol (referens-drug) and HAES-LX-5% reflects the dualistic process – «dysfunction/recovery of apoptotic function» as a mechanism of genetic regulation of homeostasis in the thymus.

Lactoproteinum with sorbitol and HAES-LX-5% show angio- and cytoprotective properties, and also have the effect of plastic, which makes clear long-term effect on reparative processes in the thymus at burn disease.

**Key words:** burn disease, infusion therapy, thymus, structural changes.

Підписано до друку 10.10.2016 р. Формат 60×84/16. Обсяг 1,9 авт. арк. Зам. № 123.

Друккарня НМУ, Київ – 57, проспект Перемоги, 34