

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

ЯКУШКО ОЛЕНА СВЯТОСЛАВІВНА

УДК [611.843:616-002]-092.9:611.013.85-089.843

**ВПЛИВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ НА
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЗОРОВОГО НЕРВА В НОРМІ ТА ПРИ
ГОСТРОМУ АСЕПТИЧНОМУ ЗАПАЛЕННІ**

14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Івано-Франківськ – 2011

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вищому державному навчальному закладі України “Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України (м. Полтава)

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор

Шепітько Володимир Іванович,

ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України, кафедра гістології, цитології та ембріології, завідувач кафедри

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор

Масловський Сергій Юрійович,

Харківський національний медичний університет
МОЗ України, кафедра гістології, цитології та ембріології, завідувач кафедри;

доктор медичних наук, професор

Юрченко Тетяна Миколаївна,

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН
України, відділ кріоморфології, завідувач відділу

Захист відбудеться “06” квітня 2011 року об 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 20.601.02 при ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет” МОЗ України (76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2).

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

Автореферат розісланий “04” березня 2011 року.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 20.601.02

кандидат медичних наук, доцент

О. Г. Попадинець

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Не дивлячись на значні успіхи сучасної офтальмології, патологія органа зору залишається на досить високому рівні. Всесвітня організація охорони здоров'я визнає сліпоту та слабкозорість однією з основних проблем світової медицини. В Україні захворюваність ока та його придатків становить 12,3 на 10 тис. населення, в тому числі запальні захворювання – 11,2; сітківки та зорового нерва – 24,7. Останні посідають одне з провідних місць серед причин незворотної втрати зору (Риков С.О., 2004; Вітовська О.П. та ін., 2008).

Для досягнення зворотності патологічних процесів необхідно покращити трофіку зорового нерва, стимулюючи кровообіг в гемомікроциркуляторному руслі очного яблука (Хавинсон В.Х. и др., 1999; Гусева М.Р., 2001).

Сучасні методи терапії невритів зорового нерва не завжди ефективні. У цьому аспекті актуальним постає питання подальшого пошуку нових методів адекватного лікування, спрямованих на покращення гемодинаміки в судинах зорового нерва, на попередження втрати зорових функцій, які б не призводили до розвитку ускладнень та побічних ефектів (Грищенко В.І. та ін., 2002; Венгер Л.В. и др., 2009).

На сьогоднішній день нові можливості терапії важковиліковних станів відкрило застосування трансплантації ембріональних і фетальних клітин та тканин (Sumida S., 2006; Селедцова Г.В. и др., 2008).

Отримані експериментальні дані та позитивні клінічні результати щодо ефективного використання кріоконсервованої плаценти при різних патологічних станах (Кондаков И.И., 2005; Юрченко Т.Н. и др., 2007). Перевагою у використанні фетоплацентарних тканин є те, що пацієнт одержує ряд біологічно активних, збалансованих сполук природного походження, здатних впливати на різні ланки метаболізму цілісного організму, стимулювати репаративні процеси, підвищувати неспецифічну резистентність організму до несприятливих факторів зовнішнього середовища та стресових ситуацій (Венгер Г.Ю. та ін., 2003; Гольцев А.М. та ін., 2003; Калинина И.И. и др., 2010). На підставі глибоких наукових досліджень був доведений позитивний вплив кріоконсервованої плаценти на перебіг запальних процесів (Шепітько В.І. та ін., 2004; Стецук Є.В., 2007; Калініченко М.В., 2009).

Не дивлячись на велику кількість наявних клінічних та експериментальних даних, досить багато аспектів у питаннях механізмів дії тканинної терапії залишаються недостатньо вивченими, що й зумовлює необхідність подальших досліджень у даній області.

Таким чином, на сьогоднішній день актуальною є проблема впливу трансплантації кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан зорового нерва в нормі та при

гострому асептичному запаленні, розв'язання якої дасть можливість удосконалити методи терапії невритів, попередити незворотно втрату зору.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України “Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів” (№ державної реєстрації 0108U001572). Автор є співвиконавцем даної роботи.

Мета та завдання дослідження. Встановити морфофункціональні особливості зорового нерва щурів у нормі, при підшкірній трансплантації кріоконсервованої плаценти, при гострому асептичному невриті та обґрунтувати корегуючу дію підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти на тканини зорового нерва при гострому асептичному невриті.

Завдання дослідження:

1. Вивчити особливості структурної організації тканин та гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) зорового нерва (ЗН) щурів у нормі.

2. Визначити морфофункціональні особливості тканин ЗН щурів при одноразовій підшкірній трансплантації кріоконсервованої плаценти (ККП).

3. Оцінити зміни ГМЦР зорового нерва щурів при одноразовій підшкірній трансплантації ККП.

4. Дослідити зміни структурних компонентів тканин та ГМЦР ЗН щурів при гострому експериментальному асептичному невриті (АН).

5. Встановити особливості впливу одноразової підшкірної трансплантації ККП на компенсаторно-відновні процеси в нервових волокнах, гліальних клітинах, сполучнотканинних компонентах та ГМЦР при гострому експериментальному невриті ЗН щурів.

Об'єкт дослідження: гістоструктура очноямкової частини ЗН щурів.

Предмет дослідження: морфофункціональні особливості структурних компонентів ЗН щурів за умов одноразового підшкірного введення ККП, гострого експериментального АН і трансплантації ККП на тлі гострого експериментального АН.

Методи дослідження: гістологічний – для вивчення морфофункціональних особливостей структурних компонентів ЗН в нормі та в умовах експерименту; метод серійних напівтонких зрізів – для отримання комплексної інформації про орган, що вивчається; метод електронної мікроскопії – для виявлення особливостей ультраструктури нервових волокон та клітин макроглії ЗН щурів; метод графічної реконструкції на основі порядкових фотознімків – для встановлення закономірностей розташування основних

структурних компонентів ЗН; морфометричний метод – для визначення кількісних параметрів нервових волокон, гліальних клітин, сполучнотканинного компоненту та ГМЦР ЗН щурів; методи варіаційної статистики – для встановлення об'єктивності та достовірності отриманих результатів і виявлення основних тенденцій реактивних змін у структурі ЗН.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше одержано комплекс характерних змін структурних компонентів ЗН щурів у відповідь на введення ККП.

Встановлено, що трансплантація ККП супроводжується вираженим стимулюючим впливом на тканини ЗН, підсилює мікроциркуляцію та не викликає патологічних змін.

Вперше виявлено корегуючу дію підшкірної трансплантації ККП на перебіг гострого асептичного невриту ЗН, що полягає в скороченні термінів запалення, активації регенераторних процесів у тканинних елементах та попередженні незворотних змін в нервових волокнах та нейроглії; доведена доцільність її використання.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані дані поглиблюють відомості про вплив трансплантації ККП на структурні компоненти ЗН в нормі, розширюють уявлення про особливості морфології перебігу гострого АН та корекції його введенням плацентарної тканини.

Отримані позитивні результати про протизапальну дію ККП при гострому невриті ЗН можуть бути використані для оптимізації програм комплексного лікування патології ЗН запального характеру.

Викладені в дисертації теоретичні дані впроваджені в навчальний процес кафедр анатомії людини, патологічної анатомії, оперативної хірургії та топографічної анатомії ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія”; гістології, цитології та ембріології Луганського державного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського.

Особистий внесок здобувача. Наукова робота є самостійно виконаним дослідженням автора. Дисертантом самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз даних наукової літератури, обґрунтована тема дисертації, складений план медико-біологічних досліджень та проведені експериментальні дослідження. Самостійно виконані гістологічні і морфометричні дослідження. Автором особисто проведено математичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено до друку основні матеріали за результатами дисертаційної роботи. При підготовці праць, які опубліковані в співавторстві, використано експериментальний матеріал, результати досліджень, статистичні дані та огляд літератури автора. Розробка мети і завдань дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів,

формулювання висновків проведено спільно з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідалися та обговорювалися на Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених “Медицина наука – 2007” (Полтава, 2007), Всеукраїнській науковій конференції “Актуальні проблеми сучасної морфології” (Луганськ, 2008), науково-практичній конференції “Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень” (Тернопіль, 2008), VIII міжнародному конгресі патологів України “Сучасні проблеми патологічної анатомії” (Полтава, 2008), науково-практичній конференції “Морфологічні основи компенсаторно-приспосувальних процесів і їх структурне забезпечення” (Тернопіль, 2008), науковій конференції з міжнародною участю “Нові кріобіотехнології для розв’язання фундаментальних і прикладних задач медицини”, присвяченій 90-річчю НАН України і 10-річчю кафедри ЮНЕСКО з кріобіології (Харків, 2008), науково-практичних конференціях “Актуальні проблеми функціональної морфології та інтегративної антропології”, “Прикладні аспекти морфології” (Вінниця, 2009), науково-практичній конференції “Актуальні проблеми функціональної морфології”, присвяченій 105-ій річниці з дня народження Е.Д. Бромберг (Полтава, 2009), IV Всероссийском симпозиуме с международным участием “Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии” (Санкт-Петербург, 2010), Всеукраїнській науково-практичній конференції “Інноваційні технології у експериментальній медицині та біології” (Полтава, 2010), науково-практичній конференції “Прикладні аспекти морфології” (Івано-Франківськ, 2010), V з’їзді анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України (Вінниця, 2010), III Международном симпозиуме “Актуальные вопросы клеточных технологий” (Москва, 2010).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 17 наукових робіт, з них 5 статей – у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України (у тому числі 2 – одноосібні) та 12 тез доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій, конгресів, з’їздів, симпозіумів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 160 сторінках основного тексту і складається зі вступу, аналітичного огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, додатків. Список джерел містить 252 праці, з них 185 викладено кирилицею, 67 – латиницею. Робота ілюстрована 106 рисунками і 11 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено на 125 статевозрілих

щурах-самцях лінії “Вістар” масою 180-220 г на базі кафедри гістології, цитології та ембріології та експериментально-біологічної клініки ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія” з дотриманням загальних етичних принципів при роботі з експериментальними тваринами. Об’єктом дослідження був зоровий нерв (очноямкова частина) щурів, взятий попарно.

Тварини були розподілені на чотири експериментальні групи: I – 10 інтактних тварин, II – 25 тварин, яким одноразово було проведено трансплантацію ККП, III – 45 тварин, яким змодельовано гостре асептичне запалення ЗН, IV – 45 тваринам на тлі АН проведено одноразову підшкірну трансплантацію ККП.

Для підшкірної трансплантації використовували ККП, одержану шляхом заморожування згідно стандартів, розроблених в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків), відповідно до спеціальної кріопрограми (Грищенко В.І. та ін., 1996).

В умовах малої операційної експериментально-біологічної клініки ККП розморожували на водяній бані при температурі +38°C із дотриманням правил асептики та антисептики. Шерсть тварин у ділянці операційного поля вистригали, шкіру обробляли спиртом та 5% розчином йоду. В межах спини за методом, розробленим в Інституті проблем кріобіології та кріомедицини НАН України (м. Харків), під наркозом (25 мг/кг кетаміну внутрішньом’язово) робили розріз шкіри довжиною 2 см, відсепарували підшкірну кишеню, в яку поміщали трансплантат – фрагмент плаценти розміром 0,5×0,5×0,5 см, об’ємом 0,125 см³. Розріз шкіри зашивали вузловими шовковими швами. На рану накладали асептичну пов’язку.

Моделювання гострого асептичного запалення проводилося шляхом введення внутрішньочеревно 5 мг λ-карагінену (“Sigma”, США) в 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду на одну тварину (Питько В.А., 2000; Alves C.F., 2009).

Після евтаназії тварин, відповідно до встановлених термінів, очноямкову частину ЗН фіксували в 2,5% розчині глютарового альдегіду впродовж 4 діб при температурі +4°C. Потім проводили зневоднення, ущільнення та заливку в епон-812 (Карупу В.Я., 1984). Отримані на ультрамікромомі “Selmi” УМТП-7 напівтонкі зрізи розміщували на предметному склі, забарвлювали 1% розчином метиленового синього, 0,1% розчином толуїдинового синього та поліхромним барвником.

Для проведення морфометричного аналізу виготовляли серії напівтонких зрізів. У кожній із сформованих вибірок зрізів визначали наступні показники: товщину твердої з павутинною, м’якої мозкових оболонок та прошарків сполучної тканини між пучками нервових волокон ЗН, клітинний склад тканин оболонок, діаметр судин ГМЦР оболонок ЗН,

площу поперечного перерізу нервових волокон, їх щільність розташування, об'єм ядра, об'єм цитоплазми, ядерно-цитоплазматичне співвідношення клітин макроглії. Морфометричні виміри проводилися за допомогою світлового мікроскопа фірми “Carl Zeiss” та окуляр-мікрометра МОВ-1-15[×] при збільшенні $\times 600$ та $\times 1500$. Мікрофотографування вибраних напівтонких зрізів проводилося на мікроскопі BIOREX 3 “KONUS”, на цифровому мікроскопі фірми “Olympus” С 3040-ADU з адаптованими до відповідних досліджень програмами.

Ультраструктуру клітин макроглії та нервових волокон ЗН вивчали за допомогою електронного мікроскопа МБР-100Л при прискорюючій напрузі 50-75 кВт.

Статистичний аналіз показників морфометричного дослідження проводили за допомогою програми Excel. Всі вивчені мікрометричні параметри мали нормальний розподіл. Для визначення достовірності різниці між незалежними мікрометричними величинами використовували двовибірковий критерій Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведене морфологічне дослідження очноямкової частина ЗН інтактних щурів підтвердило та поглибило раніше отримані дані (Ninomiya H., 2001; Венгер Л.В. та ін., 2009). Ця частина ЗН вкрита мозковими оболонками. Встановлено, що товщина твердої з павутинною мозкових оболонки була $89,57 \pm 4,57$ мкм, м'якої – $11,89 \pm 1,08$ мкм. Від м'якої мозкової оболонки всередину нерва відходили чисельні сполучнотканинні перетинки товщиною $3,73 \pm 0,37$ мкм. Нервові волокна були округлої або овальної форми, оточені добре вираженою мієліновою оболонкою. Середня площа їх поперечного перерізу становила $3,55 \pm 0,29$ мкм², щільність концентрації на одиницю площі – $70 \pm 1,43$. У 56% від загальної кількості спостерігалися нервові волокна дрібного калібру з площею поперечного перерізу меншою 3 мкм², в 30% – волокна середнього калібру з площею поперечного перерізу від 3 до 7 мкм², в 14% – волокна великого калібру з площею поперечного перерізу більшою 7 мкм². Макроглія ЗН була представлена астроцитами та олігодендроцитами. Астроцити – великі світлі клітини зі світлими ядрами. Об'єм ядер астроцитів становив $115,60 \pm 4,80$ мкм³, цитоплазми – $385,83 \pm 27,43$ мкм³, ядерно-цитоплазматичне співвідношення – $0,31 \pm 0,02$. При дослідженні ультраструктури цих клітин встановлено, що їх ядра мали рівномірної щільності електронно світлу каріоплазму, лише біля внутрішньої мембрани ядерної оболонки зустрічалися скупчення гетерохроматину. Цитоплазма світла, з незначною кількістю основних органел та чисельними фібрилами, що утворювали пучки. Олігодендроцити – клітини менші за розмірами, неправильної овальної форми. Об'єм їх ядер становив $54,53 \pm 6,10$ мкм³, цитоплазми – $191,94 \pm 18,04$ мкм³, ядерно-цитоплазматичне співвідношення – $0,29 \pm 0,02$. Ультраматроскопічно олігодендроцити мали темні округлі ядра та електронно щільну темну цитоплазму, яка містила добре виражені

гранулярну ендоплазматичну сітку, пластинчастий комплекс, мітохондрії.

Встановлено, що одноразова підшкірна трансплантація ККП призвела до змін клітинного складу сполучної тканини твердої мозкової оболонки ЗН (табл. 1).

Таблиця 1

Клітинний склад сполучної тканини твердої мозкової оболонки ЗН щура при трансплантації ККП

	Тканинні базофіли (в п/з)	Лімфоцити (в п/з)	Макрофаги (в п/з)
Інтактні тварини	0,70±0,10	0,60±0,09	0,40±0,07
2 доба	1,80±0,17 *	1,20±0,09 *	1,00±0,09 *
7 доба	1,50±0,15 *	0,90±0,10 *, ×	0,90±0,10 *
14 доба	1,00±0,11 *, ×	0,80±0,09	0,70±0,11 *
21 доба	0,64±0,10 ×	0,70±0,07	0,52±0,07
30 доба	0,60±0,09	0,60±0,07	0,40±0,07

Примітка: * $p < 0,05$ порівняно з інтактною групою;

× $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном спостереження.

На 2-у добу дослідження кількість лімфоцитів, макрофагів та тканинних базофілів була максимальною. Спостерігалася дегрануляція останніх. Збільшена кількість клітин визначалася до 14 доби. У цей термін дослідження середня кількість лімфоцитів не відрізнялася від інтактної групи, в той час як кількість тканинних базофілів та макрофагів наблизилася до норми лише на 21-у добу. Через 30 діб змін у клітинному складі сполучної тканини твердої мозкової оболонки не спостерігалася. Отримані дані свідчать про адекватну реакцію імунокомпетентних клітин на введення в організм разом з плацентою низки чужорідних для реципієнта сполук (Шепітько В.І. та ін., 2007; Калініченко М.В. та ін., 2008). Дегрануляція тканинних базофілів призвела до активного вивільнення медіаторів, таких як гістамін, серотонін, що викликало розширення судин ГМЦР (табл. 2) та підвищення їх проникності. Такі ж явища спостерігали й інші дослідники (Стецук Є.В., 2007; Вільхова О.В., 2009).

Дослідження в динаміці стану судин ГМЦР твердої та м'якої мозкових оболонок виявило, що після введення плацентарної тканини з 2-ої доби поступово збільшувався діаметр артеріол, капілярів та венул, їх кровонаповнення з максимальним проявом на 7-у добу. Розширений діаметр судин та явища повнокрів'я зберігалися до 21-ої доби. 30-а доба характеризувалася повним відновленням кровотоку.

Діаметр ланок ГМЦР твердої та м'якої мозкових оболонок при трансплантації ККП

Термін експерименту	Діаметр, мкм (тверда мозкова оболонка)			Діаметр, мкм (м'яка мозкова оболонка)		
	Артеріоли	Капіляри	Венули	Артеріоли	Капіляри	Венули
Інтактні тварини	10,95±0,60	5,77±0,47	17,82±0,70	8,23±0,45	4,63±0,27	11,06±0,93
2 доба	12,46±0,43 *	7,34±0,36 *	19,74±0,65 *	9,36±0,25 *	5,33±0,21 *	13,15±0,39 *
7 доба	14,67±0,98 *, ×	7,49±0,29 *	22,57±0,92 *,×	9,96±0,38 *	5,77±0,33 *	15,58±0,38 *,×
14 доба	13,51±0,68 *	6,84±0,23 *	20,18±0,92 *	9,59±0,47 *	5,25±0,13 *	13,69±0,72 *,×
21 доба	11,62±0,68	5,75±0,33 ×	17,78±0,82	7,75±0,67 ×	4,77±0,32	10,93±0,87 ×
30 доба	11,40±0,33	5,56±0,18	17,74±0,81	8,04±0,38	4,55±0,19	11,14±0,84

Примітка: * $p < 0,05$ порівняно з інтактною групою;

× $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном спостереження.

Внаслідок посилення кровонаповнення судин збільшилася товщина сполучнотканинних перетинок всередині нерва. Морфометричні показники досягли максимального значення на 7-у добу (в 1,4 рази більше ($p < 0,01$) за такі в інтактній групі), після цього спостерігалось зменшення набряку сполучної тканини перетинок та відновлення параметрів до 21-ої доби. Дослідження структури і площі поперечного перерізу нервових волокон показало, що трансплантація ККП не вплинула на їх морфофункціональний стан.

Клітини макроглії на введення плацентарної тканини відреагували перебудовою внутрішньоклітинних структур, особливо вираженою на 7-у добу дослідження. В ядрах клітин переважав еухроматин, у цитоплазмі спостерігалися мітохондрії з ознаками набряку, розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки. На 21-у добу дослідження будова клітин макроглії не відрізнялася від такої в групі інтактних тварин. Отже, підшкірна трансплантація ККП мала стимулюючий вплив на структури зорового нерва та сприяла підвищенню їх стійкості до різних патологічних факторів (Шепітько В.І., Козлова В.П., 2000; Венгер Л.В., Ульянов В.А., 2009).

Вивчення структурних компонентів ЗН щурів при гострому асептичному запаленні та при гострому асептичному запаленні на тлі трансплантації ККП виявило значні розбіжності

в перебігу запального процесу.

Через 24 години після трансплантації ККП на тлі асептичного запалення морфометричні показники досліджуваних клітин у сполучній тканині твердої мозкової оболонки ЗН досягли максимального значення (рис. 1).

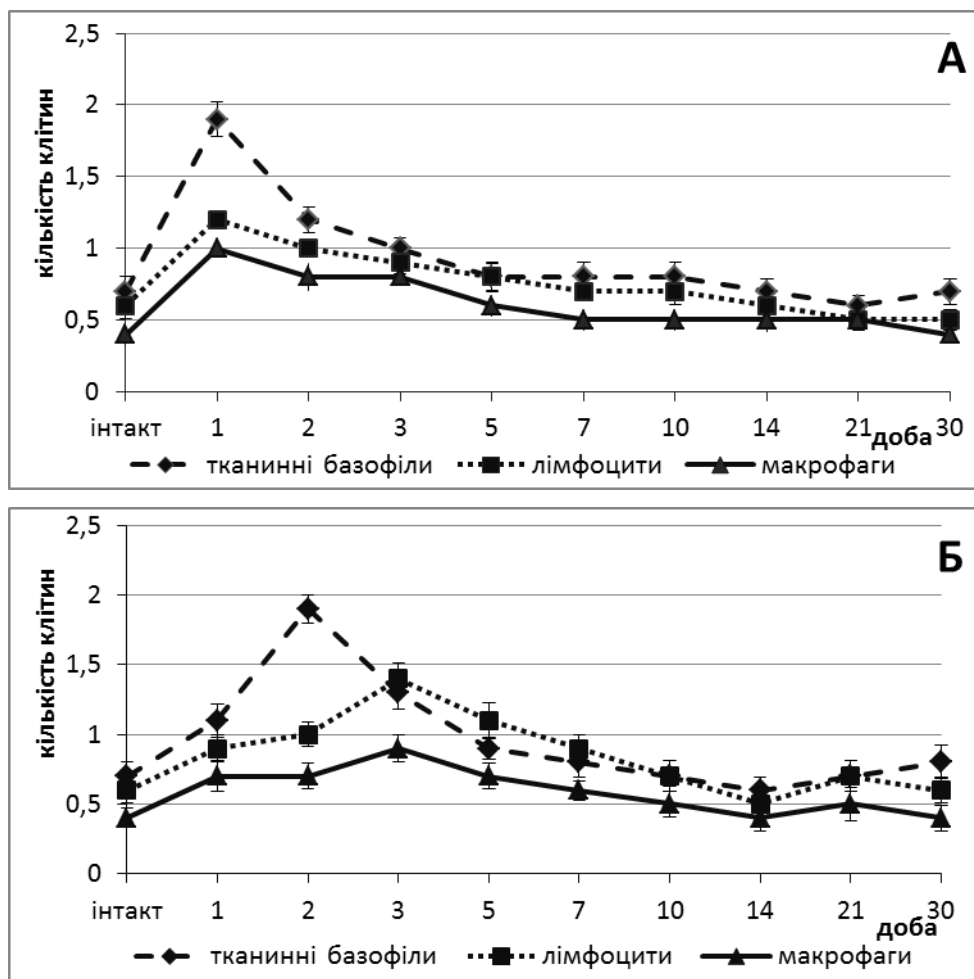


Рис. 1. Динаміка змін клітинного складу сполучної тканини твердої мозкової оболонки ЗН при трансплантації ККП на тлі гострого асептичного невриту (А) та при гострому асептичному невриті (Б).

Кількість тканинних базофілів у полі зору була більшою в 1,7 рази ($p < 0,001$), лімфоцитів – в 1,3 рази ($p < 0,05$), макрофагів – в 1,4 рази ($p < 0,05$) у порівнянні з такою в III експериментальній групі. В наступні терміни спостереження їх кількість поступово зменшувалася та досягла показників інтактних тварин на 5-7-у добу. В ЗН тварин з асептичним запаленням у твердій мозковій оболонці кількість тканинних базофілів досягла максимального значення на 2-у добу, лімфоцитів та макрофагів – на 3-ю добу експерименту. Відновлення показників припадало на 7-10-у доби дослідження.

Отже, трансплантація ККП призвела до більш ранньої активації тканинних базофілів із вивільненням медіаторів запальної реакції, макрофагів і лімфоцитів та прискорила процес

відновлення клітинного складу, що сприяло скороченню термінів запалення (Питько В.А. и др., 2000; Шепітько В.І. та ін., 2004).

Реакція судин ГМЦР ЗН щурів III та IV експериментальних груп проявилася розширенням артеріол, капілярів та венул. Артеріоли мозкових оболонок ЗН щурів досліджуваних груп були максимально розширені на 2-у добу та відновили свій діаметр в групі з АН на 10-у добу – в м'якій, 14-у добу – в твердій мозкових оболонках, а в групі з трансплантованою ККП на тлі невриту – відповідно на 7-у і 10-у доби. Максимальний прояв розладів кровообігу в судинах обмінної і ємнісної ланки ГМЦР був у III групі тварин на 3-ю добу дослідження, а в IV групі – на 2-у добу. В ці періоди капіляри були заповнені форменими елементами крові, визначались явища крайового стояння та міграції лімфоцитів, венули розширені, повнокровні. Після трансплантації ККП відновлення діаметру капілярів спостерігалось на 10-у добу, що було на чотири доби раніше. Діаметр венул мозкових оболонок ЗН в обох досліджуваних групах став відповідати показникам у групі інтактних тварин на 14-у добу. В усі попередні терміни визначалася достовірна різниця між діаметром венул у III та IV групі тварин із тенденцією зменшення показників при трансплантації ККП.

Після трансплантації ККП на тлі АН відмічено динамічне зменшення набряку сполучної тканини м'якої мозкової оболонки та перетинок всередині нерва. Відновлення структури м'якої мозкової оболонки відбулося на 10-у добу, перетинок – на 7-у добу, що відповідно на чотири та сім діб раніше, ніж в III експериментальній групі.

Зміни структури нервових волокон ЗН при асептичному запаленні були найбільш виражені на 5-у добу (рис. 2). У цей термін виявлено набряк аксоплазми осьових циліндрів та розшарування набряковою рідиною мієлінової оболонки. Показник середньої площі поперечного перерізу нервових волокон становив $10,56 \pm 0,95$ мкм², що в 3 рази більше в порівнянні з інтактною групою. Починаючи з п'ятої доби, помітне поступове зменшення щільності концентрації нервових волокон на одиницю площі, яка на 30-у добу була в 1,9 рази менша ($p < 0,001$) за таку в інтактній групі. Структура нервових волокон не відновила повному обсязі до 30-ї доби експерименту. Після трансплантації плацентарної тканини, внаслідок зменшення проявів ексудації, в зорових нервах була помітна структуризація нервових волокон. Показник середньої площі поперечного перерізу нервових волокон достовірно відрізнявся від інтактної групи лише на 3-ю добу. З 3-ої по 5-у доби була зменшена щільність концентрації нервових волокон. У наступні терміни спостереження, включаючи 30-у добу, нервові волокна були незміненими.

Як видно, трансплантація ККП при гострому АН сприяла повному відновленню структури, розмірів та співвідношення нервових волокон, що підтверджує дані щодо стимулюючого впливу біологічно активних речовин препаратів фетоплацентарного ряду на

резистентність нервових тканин (Іваницька О.С., 2006; Стецук О.О. та ін., 2010).

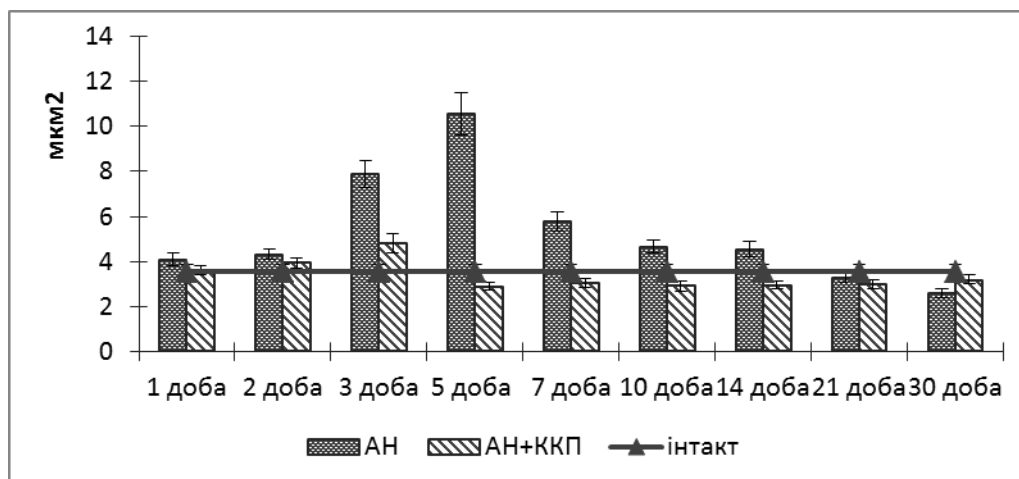


Рис. 2. Динаміка зміни площі поперечного перерізу нервових волокон при асептичному невриті (АН) та асептичному невриті на тлі трансплантації кріоконсервованої плаценти (АН+ККП).

Електронномікроскопічне дослідження виявило, що запалення призвело до пригнічення синтетичних процесів у клітинах макроглії та зниження їх функціональної активності. Найбільш виражені зміни (зменшення об'єму ядра та цитоплазми) спостерігалися в астроцитах на 5-у добу, в олігодендроцитах – на 3-5-у доби. До 30-ї доби свою структуру відновили лише олігодендроцити. При трансплантації ККП відмічено менш виражене ураження структур клітин макроглії та повне відновлення їх функціональної активності на 30-у добу.

Проведені нами дослідження довели, що трансплантація ККП дозволяє зменшити прояви альтеративної та ексудативної стадій запалення в ЗН тварин, активізувати репаративні можливості та запобігти розвитку незворотних уражень нервової тканини.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової задачі – встановлення морфофункціональних особливостей зорового нерва щурів у нормі, при підшкірній трансплантації кріоконсервованої плаценти, при гострому асептичному невриті та обґрунтування корегуючої дії підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти на тканини зорового нерва при гострому асептичному невриті.

1. Очноямкова частина ЗН щура вкрита трьома мозковими оболонками. Від м'якої оболонки вглиб нерва відходять сполучнотканинні перетинки товщиною $3,73 \pm 0,37$ мкм. Нервові волокна мають мієлінову оболонку, їх середня площа поперечного перерізу складає

$3,55 \pm 0,29$ мкм². Відсоткова кількість волокон дрібного, середнього та великого калібру становить 56%, 30%, 14% відповідно. Нейроглія представлена олігодендроцитами та астроцитами. Діаметр судин ГМЦР твердої мозкової оболонки ЗН в середньому становить: артеріол – $10,95 \pm 0,60$ мкм, капілярів – $5,77 \pm 0,47$ мкм, венул – $17,82 \pm 0,70$ мкм, м'якої мозкової оболонки: артеріол – $8,23 \pm 0,45$ мкм, капілярів – $4,63 \pm 0,27$ мкм, венул – $11,06 \pm 0,93$ мкм.

2. Одноразова підшкірна трансплантація ККП викликала активну реакцію тканинних базофілів, лімфоцитів та макрофагів в оболонках ЗН в ранні терміни спостереження (2-7 доби) з максимальним збільшенням їх кількості на 2-у добу; потовщення сполучнотканинних перетинок (максимально до $5,20 \pm 0,30$ мкм, $p < 0,01$ на 7-у добу); ультрамікроскопічні зміни в клітинах макроглії з ознаками набряку мітохондрій, розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки в цитоплазмі (найбільш виражені на 7-у добу) та не вплинула на структуру нервових волокон, середню площу їх поперечного перерізу та відсоткову кількість. Відновлення показників відбулося до 21-ї доби.

3. Під впливом підшкірної трансплантації ККП відбулося посилення кровонаповнення та збільшення діаметрів судин ГМЦР твердої (артеріол – на 33%, капілярів – на 29%, венул – на 26%, $p < 0,05$) та м'якої (артеріол – на 21%, капілярів – на 24%, венул – на 40%, $p < 0,05$) мозкових оболонок зорового нерва щура максимально на 7-у добу з поступовим відновленням показників до 21-ї доби.

4. Прояви запальної реакції в сполучнотканинному компоненті ЗН максимально виражені на 3-ю добу спостереження. Нервові волокна відреагували збільшенням середньої площі їх поперечного перерізу (в 3 рази, $p < 0,001$) і зсувом відсоткової кількості з перевагою волокон великого калібру максимально на 5-у добу та поступовим зменшенням площі поперечного перерізу до $2,61 \pm 0,20$ мкм², зсувом відсоткової кількості з перевагою волокон дрібного калібру, зменшенням щільності концентрації нервових волокон на 30-у добу. Астроцити – ультраструктурними змінами в білоксинтетичному апараті клітини та зниженням їх функціональної активності максимально на 5-у добу, олігодендроцити – подібними змінами на 3-ю добу. На 30-у добу відновлення внутрішньоклітинної структури відбулося лише в олігодендроцитах.

5. Судини ГМЦР твердої та м'якої мозкових оболонок відреагували на змодельоване запалення ЗН збільшенням діаметра артеріол (максимально на 2-у добу), капілярів і венул (максимально на 3-ю добу), явищами стазу та повнокрів'я. Виявлено відновлення гемодинаміки з 14-ї доби.

6. Одноразова підшкірна трансплантація кріоконсервованої плаценти мала корегуючий вплив на тканини зорового нерва при асептичному запаленні, зменшуючи його прояви на стадіях альтерації та ексудації, скорочуючи терміни та посилюючи репаративні

процеси. Запальна реакція в сполучнотканинних компонентах ЗН була менш виражена. Відновлення їх структури відбулося на 4-7 діб раніше. Зміни в нервових волокнах були незначні та мали зворотний характер. Клітини макроглії менш інтенсивно відреагували на запалення та повністю відновилися до 30-ї доби, причому відновлення їх структури відбулось активніше та в більш ранні терміни. Діаметри судин ГМЦР мозкових оболонок відновилися на 3-4 доби раніше.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У разі застосування ККП слід враховувати її комплексний вплив, що полягає не тільки в стимуляції кровообігу, прискоренні регенераторних процесів, активізації компенсаторно-відновних механізмів, а й у протизапальному ефекті.

2. Отримані дані поглиблюють знання про мікроскопічну будову ЗН, морфологічно обґрунтовують перебіг невриту зорового нерва та можуть бути використані в курсах лекцій з анатомії людини, гістології, патологічної анатомії, очних хвороб.

3. Одержані результати доцільно використовувати в офтальмологічній практиці з метою удосконалення комплексів лікування запальних захворювань ока.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Застосування та експериментальне підтвердження впливу біогенних стимулюючих препаратів, виготовлених з тканин плаценти, в офтальмологічній практиці / В. І. Шепітько, О. О. Стецук, О. С. Якушко, Є. В. Стецук // Світ медицини та біології. – 2008. – № 1. – С. 97–102. *Особисто здобувачем проведено аналіз літературних джерел, сформульовано висновки.*

2. Якушко О. С. Морфологічні особливості перебігу гострого експериментального невриту зорового нерва щурів / О. С. Якушко, К. В. Шепітько // Світ медицини та біології. – 2009. – № 4. – С. 75–78. *Особисто здобувачем проведено експериментальну частину, морфометричний аналіз, статистичну обробку даних.*

3. Якушко О. С. Характеристика структурних компонентів тканин зорового нерва щурів при трансплантації кріоконсервованої плаценти / О.С. Якушко, В. І. Шепітько, В. М. Коваль // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2010. – Т. 9. – № 2 (32). – С. 58–61. *Особисто здобувачем проведено гістологічне дослідження, морфометричний аналіз, узагальнення результатів, формулювання висновків.*

4. Якушко О. С. Морфологічна характеристика структурних елементів зорового нерва при трансплантації кріоконсервованої плаценти на тлі гострого експериментального неврита

/ О. С. Якушко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2010. – Т. 10, Випуск 1 (29). – С. 125–128.

5. Якушко О. С. Корегуюча дія трансплантації кріоконсервованої плаценти на перебіг гострого асептичного неврити зорового нерва щурів у віддалені терміни спостереження / О. С. Якушко // Світ медицини та біології. – 2010. – № 3. – С. 104–108.

6. Якушко О.С. Динаміка змін структурних компонентів зорового нерва при гострому асептичному запаленні / О. С. Якушко, Є. В. Стецук // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2007. – Т. 7, Випуск 4 (20). – С. 312. *Особисто здобувачем проведено виготовлення зрізів, узагальнення отриманих даних.*

7. Якушко О.С. Вплив трансплантації кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан зорового нерва на ранніх термінах гострого асептичного запалення / О.С. Якушко, В.І. Шепітько // Український морфологічний альманах. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 202–203. *Особисто здобувачем проведено експериментальну частину, гістологічне дослідження.*

8. Якушко О. С. Характерні зміни морфофункціонального стану зорового нерва на ранніх термінах гострого асептичного запалення / О. С. Якушко, В. І. Шепітько // Зб. матеріалів науково-практичної конференції “Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень”. – Тернопіль, 2008. – С. 154. *Особисто здобувачем проведено аналіз та узагальнення отриманих результатів.*

9. Якушко О. С. Особливості мікроскопічної будови компонентів зорового нерва / О. С. Якушко, В. І. Шепітько // Матеріали VIII міжнародного конгресу патологів України “Сучасні проблеми патологічної анатомії”. – Полтава, 2008. – С. 25. *Особисто здобувачем проведено гістологічне дослідження, морфометричний аналіз.*

10. Якушко О. С. Динаміка клітинної реакції вогнища запалення тканин зорового нерва під впливом трансплантації кріоконсервованої плаценти / О. С. Якушко, В. І. Шепітько // Зб. матеріалів науково-практичної конференції “Морфологічні основи компенсаторно-приспосувальних процесів і їх структурне забезпечення”. – Тернопіль, 2008. – С. 68–69. *Особисто здобувачем проведено морфометричний аналіз, узагальнення отриманих даних.*

11. Якушко О. С. Морфофункціональна характеристика зорового нерва при введенні кріоконсервованої плаценти / О. С. Якушко, В. І. Шепітько // Проблеми криобіології. – 2008. – Т. 18, № 2. – С. 190. *Особисто здобувачем проведено експериментальну частину, морфометричний аналіз.*

12. Якушко О. С. Морфологічні особливості зорового нерва щура в нормі / О. С. Якушко, В. І. Шепітько // Матеріали науково-практичної конференції “Актуальні проблеми

функціональної морфології та інтегративної антропології”. – Вінниця, 2009. – С. 330. *Особисто здобувачем проведено виготовлення напівтонких зрізів, аналіз структури зорового нерва.*

13. Якушко О. С. Морфологічна характеристика стану зорового нерва у віддалені терміни гострого асептичного запалення / О. С. Якушко, В. І. Шепітько // Матеріали науково-практичної конференції “Актуальні проблеми функціональної морфології”, присвяченої 105 річниці з дня народження Е.Д. Бромберг. – Полтава, 2009. – С. 48–49. *Особисто здобувачем проведено гістологічне дослідження, морфометричний аналіз.*

14. Якушко Е. С. Морфологическое обоснование целесообразности применения трансплантации криоконсервированной плаценты в нейроофтальмологии / Е. С. Якушко, В. И. Шепитько // Сборник тезисов IV Всероссийского симпозиума с международным участием “Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии”. – Санкт-Петербург, 2010. – С. 141–142. *Особисто здобувачем проведено статистичний аналіз і узагальнення даних.*

15. Якушко О. С. Вплив трансплантації криоконсервованої плаценти на судинно-стромальний компонент зорового нерва / О. С. Якушко, В. І. Шепітько // Збірник тез науково-практичної конференції, присвяченої пам’яті професора Б. В. Шутки “Прикладні аспекти морфології”. – Івано-Франківськ, 2010. – С. 167–168. *Особисто здобувачем проведено морфометричний аналіз, узагальнення отриманих результатів.*

16. Якушко О. С. Особливості клітинної реакції тканин зорового нерва щура на трансплантацію криоконсервованої плаценти / О. С. Якушко, В. І. Шепітько // Матеріали наукового конгресу “IV Міжнародні Пироговські читання”, присвяченого 200-річчю з дня народження М.І. Пирогова; V з’їзд анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. – Вінниця, 2010. – С. 140. *Особисто здобувачем проведено виготовлення зрізів, морфометричний аналіз.*

17. Якушко Е. С. Влияние трансплантации криоконсервированной плаценты на течение экспериментального неврита зрительного нерва / Е. С. Якушко, В. И. Шепитько // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – Т. V, № 3. – С. 54. *Особисто здобувачем проведено аналіз та узагальнення отриманих морфометричних даних.*

АНОТАЦІЯ

Якушко О.С. Вплив трансплантації криоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан зорового нерва в нормі та при гострому асептичному запаленні. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія. – ДВНЗ “Івано-Франківський національний

медичний університет”, Івано-Франківськ, 2011.

Дисертація присвячена вивченню морфофункціональних особливостей зорового нерва при трансплантації кріоконсервованої плаценти та при гострому асептичному запаленні на тлі трансплантації кріоконсервованої плаценти. Встановлено, що трансплантація кріоконсервованої плаценти супроводжується вираженим стимулюючим впливом на тканини зорового нерва, підсилює мікроциркуляцію і не викликає патологічних змін. Уперше виявлено, що введення плацентарної тканини при гострому асептичному невриті скорочує терміни запалення, активізує репаративні процеси та попереджає зміни в нервових волокнах і нейроглії. Одержані результати доцільно використовувати для удосконалення комплексів лікування запальних захворювань ока.

Ключові слова: зоровий нерв, трансплантація, кріоконсервована плацента, асептичне запалення.

АННОТАЦІЯ

Якушко Е.С. Влияние трансплантации криоконсервированной плаценты на морфофункциональное состояние зрительного нерва в норме и при остром асептическом воспалении. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – гистология, цитология, эмбриология. – ГВУЗ “Ивано-Франковский национальный медицинский университет”, Ивано-Франковск, 2011.

Проведенное на 125 крысах-самцах линии “Вистар” исследование показало, что под влиянием трансплантации криоконсервированной плаценты изменился клеточный состав соединительной ткани твердой мозговой оболочки в ранние сроки эксперимента (2-7-е сутки) в сторону увеличения количества лимфоцитов, макрофагов и тканевых базофилов. Большинство последних находились в состоянии дегрануляции. В эти же сроки наблюдалось увеличение диаметра и кровенаполнения сосудов гемомикроциркуляторного русла зрительного нерва. Клетки макроглии отреагировали перестройкой внутриклеточных структур белоксинтезирующего аппарата. Характерной особенностью явилось то, что нервные волокна остались неизменными. На 30-е сутки морфофункциональное состояние зрительного нерва не отличалось от такого в группе интактных животных.

Подкожная трансплантация криоконсервированной плаценты на фоне асептического неврита привела к более ранней активации тканевых базофилов, макрофагов, лимфоцитов и ускорила процесс восстановления клеточного состава, что способствовало сокращению сроков воспаления.

Артериолы мозговых оболочек зрительных нервов крыс исследуемых групп были максимально расширены на 2-е сутки и возобновили свой диаметр при введении плацентарной ткани на фоне асептического воспаления на 3-4 дня раньше. В группе животных с асептическим воспалением на 3-и сутки экспериментального исследования в капиллярах наблюдались явления краевого стояния и миграции лимфоцитов, венулы были расширены, полнокровны. В группе крыс с трансплантированной на фоне асептического воспаления плацентой подобные явления в сосудах гемомикроциркуляторного русла наблюдались на 2-е сутки. Во все сроки исследования отмечалось достоверное различие между диаметром микрососудов в III и IV группах животных в сторону меньших показателей при введении плаценты. После трансплантации криоконсервированной плаценты возобновление диаметра капилляров наблюдалось на 10-е сутки, венул – на 14-е сутки.

На фоне введения плацентарной ткани при асептическом неврите отмечено более раннее (на 4-7 дней) уменьшение отека соединительной ткани мягкой мозговой оболочки и перегородок, отходящих от нее внутрь нерва.

При асептическом воспалении наиболее выраженные изменения в волокнах зрительного нерва наблюдались на 5-е сутки экспериментального исследования. В это время выявлен отек аксоплазмы осевых цилиндров и расслоение миелиновой оболочки вследствие скопления в ткани отечной жидкости. К 30-м суткам структура нервных волокон полностью не возобновилась. Трансплантация криоконсервированной плаценты способствовала уменьшению проявления воспалительных реакций и полному восстановлению нервных волокон к 30-м суткам.

При асептическом воспалении наблюдалось угнетение синтетических процессов и уменьшение функциональной активности клеток макроглии зрительного нерва. Наиболее выраженные изменения в астроцитах выявлены на 5-е сутки, в олигодендроцитах – на 3-и сутки исследования. На фоне введения плацентарной ткани отмечено усиление репаративных процессов в клетках макроглии и полное возобновление их функциональной активности к 30-м суткам.

Проведенные исследования показали, что трансплантация криоконсервированной плаценты позволяет уменьшить сроки течения воспалительного процесса и предостеречь развитие необратимых изменений в зрительном нерве.

Ключевые слова: зрительный нерв, трансплантация, криоконсервированная плацента, асептическое воспаление.

SUMMARY

Iakushko O.S. Transplantation of cryopreserved placenta influence on the morphofunctional state of optic nerve in a norm and at acute aseptic inflammation. – Manuscript.

Dissertation on the search of the degree of Candidate of medical sciences in speciality 14.03.09 – histology, cytology, embryology. – Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, 2011.

The dissertation is devoted to the study of morphofunctional features of optic nerve during transplantation of cryopreserved placenta and at acute aseptic inflammation on the background of transplantation of placenta. It is established that transplantation of cryopreserved placenta is accompanied by the expressed stimulant influence on tissues of optic nerve, strengthens microcirculation and does not cause pathological changes. It is first discovered that introduction of placenta tissue at aseptic neuritis abbreviates the terms of inflammation, activates reparative processes and warns changes in nervous fibers and neuroglia. The obtained results is expedient to use for the improvement of treatment's complexes of inflammatory diseases of eyes.

Key words: optic nerve, transplantation, cryopreserved placenta, aseptic inflammation.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АН – асептичний неврит

ВДНЗ – вищий державний навчальний заклад

ГМЦР – гемомікроциркуляторне русло

ЗН – зоровий нерв

ККП – кріоконсервована плацента

Підписано до друку 02.03.2011. Формат 60×84/16. Папір офсетний.

Гарнітура Times New Roman. Друк офсетний.

Умовн. друк. арк. 0,9.

Тираж 100 прим. Зам. № 95

Тираж здійснено в редакційно-видавничому відділі ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія”, 36024, м. Полтава, вул. Шевченка 23.