

## УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ РЕСПІРАТОРНИХ АЛЬВЕОЛОЦИТІВ В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ

© Д. В. Литвинюк<sup>1</sup>, І. М. Кліщ<sup>1</sup>, А. В. Довбуш<sup>1</sup>, З. М. Небесна<sup>1</sup>, Г. О. Гаврилюк-Скиба<sup>2</sup>

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України<sup>1</sup>  
Національний медичний університет імені О. О. Богомольця<sup>2</sup>

**РЕЗЮМЕ.** Термічні ураження шкіри, як вид екзогенних травматичних впливів, пов'язані з ушкоджувальною дією на різні тканини та органи, зокрема легені. У патогенезі уражень легень при опіковій травмі ключовими факторами є гіповолемія, порушення загального і місцевого кровообігу, оксидативний стрес, запальні зміни. Проте в науковій літературі недостатньо даних щодо вивчення ремоделювання респіраторного відділу легень при опіках.

**Мета** – встановити субмікроскопічні зміни альвеолоцитів I типу респіраторного відділу легень тварин після термічного ураження.

**Матеріал і методи.** Опікову травму наносили під кетаміновим наркозом двома мідними пластинами площею 14,5 см<sup>2</sup> нагрітими у кип'яченій воді до температури 97–100 °С на епільовану поверхню шкіри спини тварини протягом 15 секунд. Розміри ділянки ураження складали 18–20 % поверхні тіла тварин. Тварин декапітували на 1, 7, 14 та 21 доби.

**Результати.** Проведені субмікроскопічні дослідження респіраторного відділу легень в ранні терміни (1, 7 доби) встановили пристосувально-компенсаторні зміни респіраторних епітеліоцитів, що проявлялися гіпертрофією органел, помірним набряком гіалоплазми. Виявлено зменшення в цитоплазмі мікропіноцитозних міхурців. Ядра були збільшені, в них переважав еухроматин, каріолема втрачала свою структурованість.

У пізні терміни (14, 21 доби) виявлено значні деструктивно-дегенеративні зміни альвеолоцитів I типу. Цитоплазма була різко просвітлена, утворювала вітрилоподібні випинання в просвіт альвеоли, практично були відсутні мікропіноцитозні міхурці. Ядра містили переважно гетерохроматин, були осміофільні, визначалися інвагінації каріолеми, яка втрачала чітку контурованість мембран.

**Висновки.** Встановлено, що в динаміці після експериментальної термічної травми в респіраторному відділі легень відбуваються глибокі порушення ультраструктури пневмоцитів I типу, які нарастають із терміном спостереження після опіку.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** опікова травма; легені; респіраторний альвеолоцит; ультраструктурне дослідження.

**Вступ.** Опіковий травматизм, особливо з масивним ураженням тканин, залишається актуальною проблемою світової медицини через високий рівень захворюваності та летальності, які залишаються стабільно високими або ж мають тенденцію до зростання [4, 13]. Опіки є глобальною проблемою в галузі охорони здоров'я – за оцінками, у світі щорічно трапляється 180 000 випадків смерті від опіків [4, 7, 13]. Термічні ураження шкіри, як особливий вид екзогенних травматичних впливів, пов'язані з ушкоджувальною дією на різні тканини та органи, зокрема легені [1, 6, 8, 9]. У патогенезі уражень легень при опіковій травмі ключовими факторами є гіповолемія, порушення загального і місцевого кровообігу, екзотендогенна інтоксикація, оксидативний стрес, запальні зміни [2, 5, 10–12, 14]. Проте в науковій літературі недостатньо даних щодо вивчення ремоделювання респіраторного відділу легень при опіках.

**Метою** роботи було встановлення ультраструктурного стану альвеолоцитів I типу респіраторного відділу легень тварин після термічного ураження.

**Матеріал і методи дослідження.** Досліди проведені на 30 статевозрілих нелінійних білих

щурах-самцях. Опікову травму наносили під кетаміновим наркозом двома мідними пластинами площею 14,5 см<sup>2</sup>, нагрітими у кип'яченій воді до температури 97–100 °С, на епільовану поверхню шкіри спини тварини протягом 15 секунд. Розміри ділянки ураження складали 18–20 % поверхні тіла тварин. Результати гістологічних досліджень пошкодженої шкіри засвідчили глибину ураження, що відповідає опіку III ступеня. Тварин декапітували на 1, 7, 14 та 21 доби. Всі дослідження на тваринах проводили з дотриманням міжнародних правил та принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1986) та Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Забір матеріалу для субмікроскопічних досліджень проводили згідно з загальноприйнятою методикою [3]. Маленькі шматочки респіраторного відділу легень фіксували у 2,5–3 % розчині глютаральдегіду, постфіксували в 1 % розчині тетраоксиду осмію на фосфатному буфері рН 7,2–7,4, зневоднювали в спиртах і пропіленоксиді та заливали в суміш епоксидних смол [3]. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом та цитратом

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення свинцю за Рейнольдсом і вивчали в електронно-мікроскопі ПЕМ– 125 К.

**Результати й обговорення.** Проведені субмікроскопічні дослідження альвеол респіраторного відділу легень через добу після опікової травми показали, що для ядер респіраторних альвеолоцитів характерні округла або видовжена форма та нечіткі контури мембран з неглибокими інвагінаціями. Каріоплазма включає переважно еухроматин. Для цитоплазми характерний осередковий набряк, знижується вміст мікропіноцитозних міхурців та кавеол. Органели деструктивно змінені, частина вакуолізовані (рис. 1). Пневмоцити містяться на базальній мембрані, яка переважно без виражених змін, помірної осміофілії, проте фрагментарно набрякла.

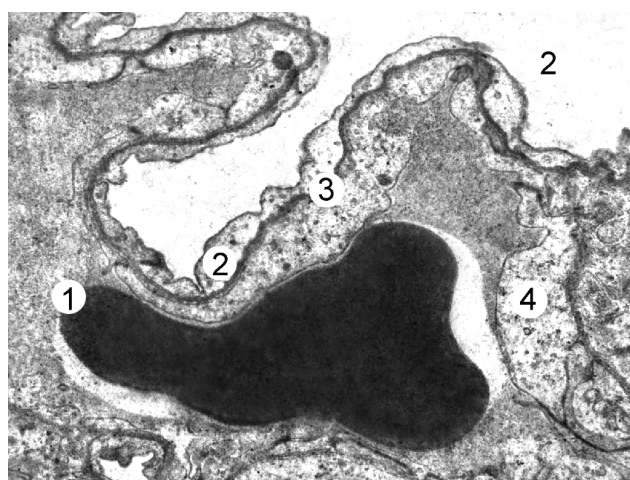


Рис. 1. Субмікроскопічний стан альвеолоцитів I типу респіраторного відділу легені тварини на 1 добу після термічної травми. Просвіт гемокapіляра з еритроцитом (1), просвіт альвеоли (2), цитоплазма респіраторного альвеолоцита (3), базальна мембрана (4), цитоплазма ендотеліоцита (5).  $\times 14\ 000$ .

Через 7 діб зміни ультраструктури пневмоцитів I типу нарастають і проявляються збільшенням набрякових явищ у цитоплазмі. В зоні органел мітохондрії гіпертрофовані, з частково пошкодженими кристами та просвітленим матриксом. Ядра округлої або неправильної форми, містять в помірно електроннощільній каріоплазмі великі грудки гетерохроматину, що має маргінальну локалізацію. Перинуклеарний простір нечітко контурований. У цитоплазматичних ділянках клітини виявляються локально набряклі ділянки, позбавлені мікропіноцитозних пухирців. Люменальна поверхня клітин переважно чітка, помірно осміофільна, однак фрагментарно втрачає свою цілісність (рис. 2). Базальна мембрана також електроннощільна, помірно набрякла.

Через 14 діб у складі аерогематичного бар'єру альвеол для цитоплазматичних ділянок пневмо-

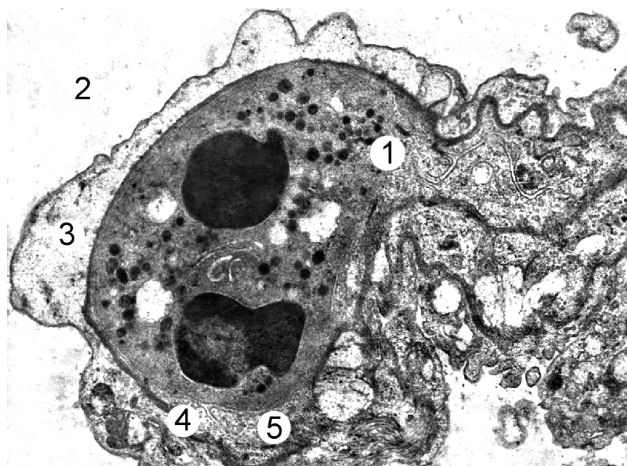


Рис. 2. Субмікроскопічні зміни стінки альвеол респіраторного відділу легені тварини на 7 добу після експериментальної термічної травми. Просвіт капіляра із нейтрофільним гранулоцитом (1), просвіт альвеоли (2), набрякла та просвітлена ділянка альвеолоцита I типу (3), базальна мембрана (4), цитоплазма ендотеліоцита (5).  $\times 12\ 000$ .

цитів I типу характерним є поширений набряк та просвітлення практично всієї площі клітини. Ядра клітин підвищеної осміофілії, містять переважно гетерохроматинові ділянки. Каріолема формує значні інвагінації, локально розширений перинуклеарний простір. Органели загального призначення слабо виражені, деструктивно змінені. Мікропіноцитозні міхурці і кавеоли поодинокі (рис. 3). Базальна мембрана помірної осміофілії.

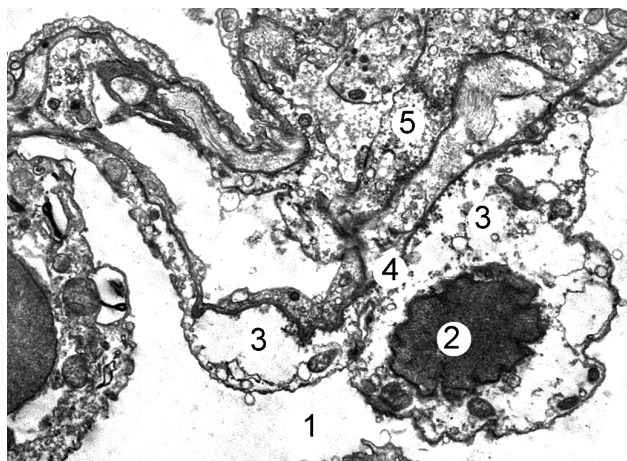


Рис. 3. Ультраструктурний стан стінки альвеоли респіраторного відділу легень на 14 добу після термічної травми. Просвіт альвеоли (1), ядро пневмоцита (2), цитоплазма пневмоцита I типу (3), базальна мембрана (4), стінка альвеоли (5).  $\times 8\ 000$ .

Через 21 добу після опіків у респіраторних альвеолоцитах виявлено значні зміни їх ультраструктури. Ядра клітин осміофільні, електроннощільні, містять гетерохроматин. Для цитоплаз-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення характерні гетерогенні зміни: виявляються клітини з просвітленими набряклими ділянками, що формують вітрилоподібні випинання в просвіт альвеол, а також альвеолоцити з ущільненою, з підвищеною осміофільністю цитоплаз-

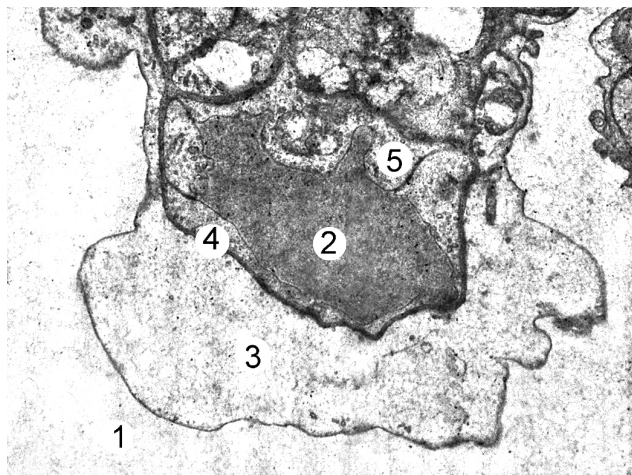


Рис. 4. Ультраструктурний стан альвеолярної стінки респіраторного відділу легень на 21 добу після термічної травми. Просвіт альвеоли (1), просвіт капіляра (2), вітрилоподібне випинання цитоплазми респіраторного альвеолоцита в просвіт альвеоли (3), базальна мембрана (4), цитоплазма ендотеліоцита (5). × 12 000.

У дослідженнях ряду авторів показано, що при тяжких опіках шкіри, які займають площу більше 20 % поверхні тіла, виникають порушення дихання, які згодом переростають у гостру дихальну недостатність за типом респіраторного дистрес-синдрому (шокової легені). В основі цього явища лежить пошкодження ендотелію легеневих гемокapілярів, підвищення проникності їх стінок, формування інтерстиційного та альвеолярного набряку легень із подальшим пошкодженням епітеліальних клітин альвеол, їх ателектазуванням, порушенням дифузії газів та артеріальною гіпоксемією [6, 8, 11, 14], що повною мірою узгоджується з нашими дослідженнями.

**Висновки.** Тяжка опікова травма спричиняє значні субмікроскопічні зміни компонентів аероге-

мою (рис. 4, 5). Мембрани плазмолемі нечіткі, розмиті. Органели значно деструктивно змінені, фрагментовані, практично не виявляються мікропіноцитозні міхурці. Базальна мембрана нерівномірної товщини та електронної щільності.

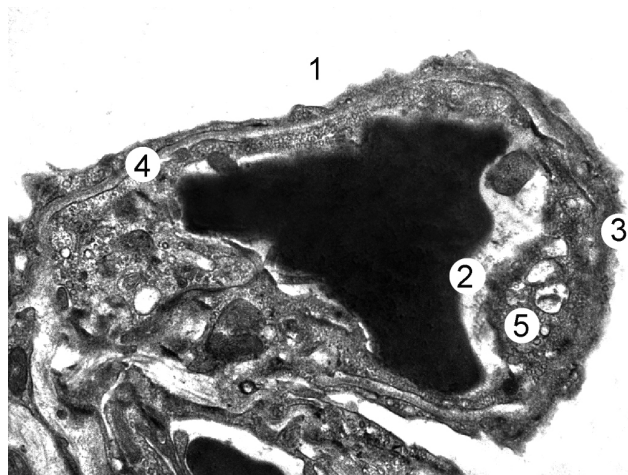


Рис. 5. Ультраструктурний стан стінки альвеоли респіраторного відділу легень на 21 добу після термічної травми. Просвіт альвеоли (1), просвіт капіляра з еритроцитом (2), цитоплазма пневмоцита I типу (3), базальна мембрана (4), цитоплазма ендотеліоцита (5). × 12 000.

матичного бар'єра легень, зокрема респіраторних альвеолоцитів, що проявляється порушенням ультраструктури органел: значним набряком цитоплазми, зменшенням щільності аж до повного зникнення мікропіноцитозних міхурців, зростанням осміофільії ядер, їх ущільненням, утворенням інвагінацій мембран каріолеми, розширенням перинуклеарного простору. Вказані порушення ультраструктури пневмоцитів I типу залежать від терміну спостереження після опіку та призводять загалом до погіршення газообміну в альвеолах респіраторного відділу легень.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується вивчення реорганізації ультраструктури компонентів респіраторного відділу легень за умов екзо- та ендогенних впливів різного ґенезу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Noninvasive techniques for the determination of burn severity in real time / D. M. Burmeister, C. Cerna, S. C. Becerra [et al.] // J. Burn Care Res. – 2017. – Vol. 38 (1). – P. e180–e191. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000338.
2. Mouse models in burns research: Characterisation of the hypermetabolic response to burn injury / J. Hew, R. Parungao, H. Shi [et al.] // Burns. – 2020. – Vol. 46 (3). – P. 663–674. DOI: 10.1016/j.burns.2019.09.014.
3. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та

при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський. – Житомир: Полісся, 2011. – 288 с.

4. Burn injury. Nature reviews / M. G. Jeschke, M. E. van Baar, M. A. Choudhry [et al.] // Disease primers. – 2020. – Vol. 6 (1). – P. 11. DOI: 10.1038/s41572-020-0145-5.

5. Modelling early thermal injury using an ex vivo human skin model of contact burns / A. Liu, E. Ocotl, A. Karim [et al.] // Burns. – 2020. – Vol. 46 (5). – P. 1025–1027. DOI: 10.1016/j.burns.2020.08.011.

- Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення
6. Макарова О. І. Динамічні особливості гістологічних змін в легенях щурів у віддалений період після термічного опіку шкіри за умов його корекції інфузійним розчином HAES-LX-5 % / О. І. Макарова // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2014. – № 4 (2) (38-II). – С. 75–84.
  7. Handbook of Burns / M. G. Jeschke, M. E. van Baar, M. A. Choudhry [et al.] .– 2020. – Vol. 1. – P. 529–547.
  8. Submicroscopic changes of alveoli of respiratory department of lungs a day after experimental thermal trauma / Z. M. Nebesna, O. I. Bashynska, N. P. Ocheretna [et al.] // Reports of Morphology. – 2019. – Vol. 3 (25). – P. 16–20.
  9. Nebesna Z. M. Submicroscopic state respiratory alveoli of the lungs in dynamic after experimental thermal injury / Z. M. Nebesna, O. E. Maievskiy // Вісник морфології. – 2016. – Vol. 22 (1). – P. 16–19.
  10. Положення про систему комбустіологічної допомоги в Україні. МОЗ України, наказ № 838 від 30.09.2013 р. [Інтернет]. Доступно <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z2026-13#Text>
  11. Клінічні та експериментальні дослідження тканин при термічних пошкодженнях / О. С. Проценко, О. В. Шаповал, Г. О. Тесленко [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2019. – № 3. – С. 4–13.
  12. Skin burns: Review of molecular mechanisms and therapeutic approaches / L. Roshangar, Rad J. Soleimani, R. Kheirjou [et al.] // Wounds. – 2019. – Vol. 31 (12). – P. 308–315. PMID: 31730513.
  13. Recent trends in burn epidemiology worldwide: A systematic review / C. Smolle, D. J. Cambiaso, A. A. Forbes [et al.] // Burns. – 2017. – Vol. 43 (2). – P. 249–257.
  14. Сухомлин Т. А. Морфологічні зміни в легенях щурів при опіковій хворобі та їх корекція препаратом «Ліпін» / Т. А. Сухомлин, Л. Г. Нетюхайло, Д. Є. Ніколенко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3, вип. 3 (112). – С. 196–199.

#### REFERENCES

1. Burmeister, D.M., Cerna, C., Becerra, S.C., Sloan, M., Wilmlink, G., & Christy, R.J. (2017). Noninvasive Techniques for the Determination of Burn Severity in Real Time. *J. Burn Care Res.*, 38(1), e180-e191. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000338.
2. Hew, J., Parungao, R., Shi, H., Tsai, K., Kim, S., Ma, D., ...& Maitz, P. Wang Y. (2020). Mouse models in burns research: Characterisation of the hypermetabolic response to burn injury. *Burns*, 46(3), 663-674. DOI: 10.1016/j.burns.2019.09.014.
3. Horalskiy, L.P., Khomych, V.T., & Kononskiy, O.I. (2019). *Osnovy histologichnoi tekhniki ta morfofunktsionalnykh metodiv doslidzhennia v normi ta pry patolohii – Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions*. Zhytomyr: Polissya [in Ukrainian].
4. Jeschke, M.G., van Baar, M.E., Choudhry, M.A., Chung, K.K., Gibran, N.S., Logsetty S. (2020). Burn injury. *Nature reviews. Disease primers*, 6(1), 11. DOI: 10.1038/s41572-020-0145-5.
5. Liu, A., Ocotl, E., Karim, A., Wolf, J., Cox, B., Eliceiri, K., & Gibson, A. (2020). Modelling early thermal injury using an ex vivo human skin model of contact burns. *Burns*, 46(5), 1025-1027. DOI: 10.1016/j.burns.2020.08.011.
6. Makarova, O.I. (2014). Dynamichni osoblyvosti histologichnykh zmin v leheniakh shchuriv u viddalenyi period pislia termichnoho opiku shkiry za umov yoho korektsii infuziynym rozchynom HAES-LX-5 % [Dynamic features of histological changes in the lungs of rats in the remote period after a thermal burn of the skin under the conditions of its correction with an infusion solution of HAES-LX-5 %]. *Aktualni problemy transportnoi medytsyny – Actual Problems of Transport Medicine*, 4(2), (38-II), 75-84 [in Ukrainian].
7. Jeschke, M.G., van Baar, M.E., Choudhry, M.A., Chung, K.K., Gibran, N.S., & Logsetty, S. (2020). *Handbook of Burns*, 1, 529-547.
8. Nebesna, Z.M., Bashynska, O.I., Ocheretna, N.P. Galunko, G.M., & Slyvka, O.Ya. (2019). Submicroscopic changes of alveoli of respiratory department of lungs a day after experimental thermal trauma. *Reports of Morphology*, 3(25), 16-20.
9. Nebesna, Z.M., & Maievskiy, O.E. (2016). Submicroscopic state respiratory alveoli of the lungs in dynamic after experimental thermal injury. *Visnyk morfologii – Herald of Morphology*, 22(1), 16-19.
10. Polozhennia pro systemu kombustiolohichnoi dopomohy v Ukraini. MOZ Ukrainy, nakaz № 838 vid 30.09.2013 r. [Internet]. [Regulations on the system of combustion assistance in Ukraine. Ministry of Health of Ukraine, Order No. 838 dated September 30, 2013 [Internet]. Dostupno – Available <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z2026-13#Text> [in Ukrainian].
11. Protsenko, O.S., Shapoval, O.V., Teslenko, H.O., Rodionov, M.O., Voshchilin, B.R., & Yeletskiy, M.S. (2019). Klinichni ta eksperymentalni doslidzhennia tkanyn pry termichnykh poskodzhenniakh. [Clinical and experimental studies of tissues with thermal damage]. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny – Actual Problems of Modern Medicine*, (3), 4-13 [in Ukrainian].
12. Roshangar, L., Soleimani, Rad J., Kheirjou R., Reza, Ranjesh M, & Ferdowsi, Khosroshahi A. (2019). Skin burns: Review of molecular mechanisms and therapeutic approaches. *Wounds*, 31(12), 308-315. PMID: 31730513.
13. Smolle, C., Cambiaso-Daniel, J., Forbes, A.A., Wurzer, P., Hundeshagen, G., & Branski, L.K. (2017). Recent trends in burn epidemiology worldwide: a systematic review. *Burns*, 43(2), 249-257. DOI: 10.1016/j.burns.2016.08.013.
14. Sukhomlyn, T.A., Netiukhailo, L.H., & Nikolenko, D.I. (2014). Morfolohichni zminy v leheniakh shchuriv pry opikovii khvorobi ta yikh korektsiia preparatom «Lipin» [Morphological changes in the lungs of rats with burn disease and their correction with the drug "Lipin"]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny – Herald of Problems of Biology and Medicine*, 3(112), 196-199 [in Ukrainian].

## **ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF RESPIRATORY ALVEOLOCYTES IN THE DYNAMICS OF POST-EXPERIMENTAL THERMAL INJURY**

©D. V. Lytvyniuk<sup>1</sup>, I. M. Klishch<sup>1</sup>, A. V. Dovbush<sup>1</sup>, Z. M. Nebesna<sup>1</sup>, H. O. Havryliuk-Skyba<sup>2</sup>

*I. Horbachevsky Ternopil National Medical University<sup>1</sup>*

*O. Bohomolets National Medical University<sup>2</sup>*

**SUMMARY.** Thermal skin lesions, as a type of exogenous traumatic effects, are associated with damaging actions on various tissues and organs, including the lungs. In the pathogenesis of lung lesions in burn injury, the key factors are: hypovolemia, disorders of general and local circulation, oxidative stress, inflammatory changes. However, in the scientific literature there is insufficient data on the study of remodeling of the lungs respiratory portion after burns.

**The aim** – to establish submicroscopic changes of alveolocytes type I in respiratory portion of animals' lungs after thermal trauma.

**Material and Methods.** The burn injury was applied under ketamine anesthesia with two copper plates with an area of 14.5 cm<sup>2</sup> heated in boiled water to a temperature of 97–100 °C on the epilated surface of the skin of the animal's back for 15 seconds. The size of the affected area was 18–20 % of the body surface of the animals. They were decapitated on days 1st, 7th, 14th and 21st.

**Results.** Submicroscopic studies of the respiratory portion of the lungs in the early period (1st, 7th days) found adaptive-compensatory changes in respiratory epitheliocytes, manifested by organelle hypertrophy, moderate hyaline edema. A decrease of micropinocytic vesicles in the cytoplasm was revealed. The nuclei were enlarged, they were dominated by euchromatin, karyolemma lost its structure.

In the late period (14th, 21st days) significant destructive-degenerative changes of alveolocytes type I were revealed. The cytoplasm was sharply enlightened, formed fan-shaped protrusions into the lumen of the alveoli, there were virtually no micropinocytic vesicles. The osmiophilic nuclei contained mainly heterochromatin, determined by intussusception of karyolemma, which lost a clear contour of the membranes.

**Conclusions.** It is established that in the dynamics after experimental thermal trauma in the respiratory portion of the lungs there are deep violations of the ultrastructure of pneumocytes type I, which increase with the observation period after burns.

**KEY WORDS:** burn injury; lungs; respiratory alveolocyte; ultrastructural examination.

Отримано 27.04.2022

Електронна адреса для листування: nebesna\_zm@tdmu.edu.ua