

УДК: 616.341-06:611.381-002.1.086:615.36]-092.9

*Шепитько В. И., Шепитько К. В.***РЕАКЦИЯ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА НА ВВЕДЕНИЕ
КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ОСТРОМ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПАЛЕНИИ БРЮШИНЫ У КРЫС****Высшее государственное учебное заведение Украины****«Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава)****Shepitko1973@ukr.net**

Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Экспериментально-морфологическое изучение действия трансплантатов криоконсервированной плаценты и других экзогенных факторов на морфофункциональное состояние внутренних органов» (№ государственной регистрации 0113U006185).

Вступление. Патология тонкого кишечника сопровождается хроническими воспалительными процессами и, как их следствие, метаболическими расстройствами, ведущими, в свою очередь, к нарушению всасывания [4,6]. Учитывая, что эти заболевания нередко возникают у лиц трудоспособного возраста, лечение этих болезней требует определенных материальных затрат, указывает на социально-экономическую важность данной проблемы [1,10,11].

Клиническая симптоматика различных хронических заболеваний тонкой кишки имеет много общего и приводит к ошибкам в постановке верного диагноза. Основными патофизиологическими факторами воспаления тонкой кишки является хроническая диарея, увеличение осмотического давления в полости кишки, кишечная гиперсекреция, гиперсекреция, (экссудативная энтеропатия), ускорение транзита кишечного содержимого [3,11]. На патоморфологическом уровне картина хронического поражения тонкой кишки характеризуется признаками воспаления и дистрофических изменений в слизистой оболочке с последующей атрофией стенки. Патологические процессы могут распространяться как на всю площадь кишки, так и носить локальный характер [5].

В последние годы, в литературе появилось множество актуальных работ посвященных применению и использованию трансплантации тканевых препаратов при различных воспалительных заболеваниях и в том числе при воспалении тонкого кишечника. С этой целью, достаточно широко, используется трансплантация криоконсервированных тканей плаценты [8,7,9]. В то же время, нам не удалось встретить в литературе данные, показывающие правомерное и аргументированное использование этих препаратов, а также достаточно подробных экспериментальных исследований показывающих эффективность этой терапии.

Таким образом, изучение морфологических проявлений действия трансплантации криоконсервированной плаценты на фоне острого экспе-

риментального воспаления брюшины у крыс является актуальным.

Целью данного исследования было изучение изменений морфометрических параметров стенки тонкой кишки у крыс, при трансплантации криоконсервированной плаценты на фоне острого экспериментального воспаления брюшины.

Объект и методы исследования. Объектом экспериментального исследования была стенка тонкого кишечника (12-перстной, тощей и подвздошной кишки), взятые от 60 половозрелых крыс-самцов линии «Вистар». Эксперимент был проведен в соответствии с «Правилами использования лабораторных экспериментальных животных» (2006, приложение 4) и Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным.

Животные были разделены на три группы: I группа – интактные животные (5); II группа – контроль, животные, которым вводился внутрибрюшинно 1 мл физиологического раствора и был сделан разрез на внешней поверхности бедра с последующим ушиванием (10 животных); III группы – 45 животных, им вызывали острое воспаление брюшины путем внутрибрюшинного введения 5 мг λ-карагена (Sigma – США) разведенного в 1 мл физиологического раствора на одно животное, а затем однократно подкожно была произведена трансплантация криоконсервированной плаценты (медицинский иммунобиологический препарат «Платекс-плацентарный», сертификат о государственной регистрации № 73408-30020000 от 9 июля 2008).

Животных выводили из эксперимента путем передозировки тиопенталовым наркозом согласно установленным срокам (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 30 суток эксперимента). Фрагменты тонкой кишки (12-перстной, тощей и подвздошной кишки) уплотняли парафином и эпоксидной смолой по общепринятым методикам, и изготавливали из них гистологические срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином и метиленовым синим. Проводили измерения общей толщины стенки, толщины слизистой оболочки и подслизистой основой в 12-перстной, тощей и подвздошной кишке крыс. Использовали микроскоп с цифровой микрофотонасадкой фирмы Olympus C 3040-ADU с адаптированными для данных исследований программами (Olympus DP – Soft, лицензия № VJ285302, VT310403, 1AV4U13B26802) и BIOREX 3 (серийный

номер 5604). Математическая обработка материала проводилась с использованием стандартных методов вариационной статистики: расчет средних значений (M), ошибки средних значений (m), критерия Стьюдента (t). Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение.

Анализ морфометрических показателей общей толщины стенки 12-перстной кишки в III группе животных показал, что в течение эксперимента он изменялся неодинаково. Результаты анализа представлены на **рис. 1А**.

Так введение криоконсервированной плаценты на фоне острого экспериментального воспаления брюшины вызывает увеличение общей толщины стенки кишки, которое проявляется с 1 по 10 сутки эксперимента. На 1 сутки установлено увеличение общей толщины стенки, но при сравнении с интактной группой оно было несущественным. С 2 по 5 сутки этот показатель увеличивался. Сравнение его с интактной группой было существенным при $p < 0,05$. Начиная с 5 по 10 сутки эксперимента, показатель общей толщины стенки находился на одном уровне, однако сравнение его интактной группой показало, что он был существенно больше. На 14 сутки общая толщина стенки кишки уменьшилась, но достоверность разницы была существенной только по сравнению с интактной группой. Показатель общей толщины стенки на 30-е сутки находился в пределах аналогичного показателя интактной группы.

Статистический анализ толщины слизистой оболочки 12-перстной кишки показал, что в течение эксперимента она менялась. Результаты анализа представлены на **рис. 1Б**. Толщина слизистой оболочки на 1-2 суток статистически не отличалась от показателя в интактной группе, достоверность разницы при $p > 0,05$. С 3 по 10 суток эксперимента этот показатель был существенно больше с максимальным значением на 5 сутки при сравнении с интактной группой ($p < 0,05$). Начиная с 7 по 10 суток толщина слизистой оболочки уменьшалась, это уменьшение было существенным по сравнению с интактной группой при $p < 0,05$. На 14-21 сутки эксперимента этот показатель существенно не отличался от интактной группы и на 30 день был в пределах последней.

Проведенный статистический анализ толщины подслизистой основы 12-перстной кишки показал, что она менялась в течение эксперимента также не одинаково. Отмечалось существенное увеличение этого показателя на 2-5 сутки от показателей

интактной группы. На 5-10 суток происходило существенное уменьшение толщины подслизистой от аналогичного показателя в интактной группе. В течение 14-21 суток обнаруживается уменьшение этого показателя, но это уменьшение было не существенно. На 30 сутки значение этого параметра было в пределах аналогичного показателя интактной группы.

В тощей кишке введения криоконсервированной плаценты на фоне острого экспериментального воспаления брюшины вызывает увеличение общей толщины стенки кишки, которое проявляется с 1 по 5 сутки эксперимента (**рис. 1А**). Сравнивая этот показатель между сроками исследования, нами не выявлена достоверность разницы. В то время как сравнивая 1 и 3 сутки и 1 и 5 сутки отмечается достоверность разницы при $p < 0,05$. На 7 сутки обнаруживается уменьшение общей толщины. При сравнении с предыдущим сроком это уменьшение является не существенным ($p > 0,05$). На 10 сутки этот показатель существенно умень-

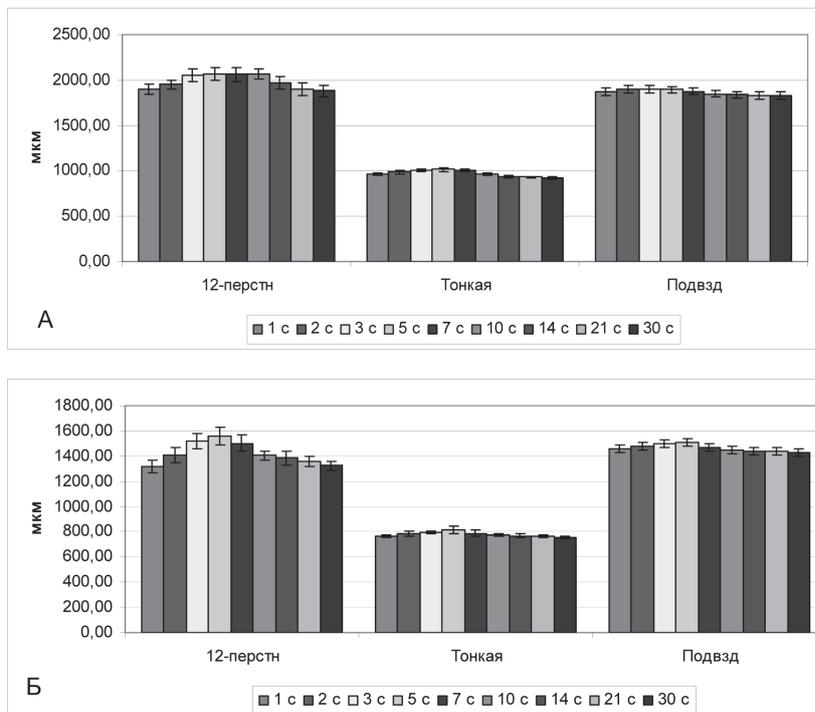


Рис. 1. Общая толщина стенки (А), толщина слизистой оболочки (Б) 12-перстной, тощей и подвздошной кишки при трансплантации криоконсервированной плаценты на фоне острого экспериментального воспаления брюшины у крыс.

шается при сравнении с 7 сутками ($p < 0,05$). С 14 по 30 сутки идет также уменьшение этого показателя но достоверность разницы является не существенной.

При сравнении показателя общей толщины стенки с аналогичным в интактной группе нами выявлены следующие изменения. С 1 по 10 сутки этот показатель был существенно больше ($p < 0,05$), а начиная с 14 до 30 суток он существенно не отличался от группы интактных животных ($p > 0,05$).

Исследование показателя толщины слизистой оболочки тонкой кишки (**рис. 1Б**) показало, что выявлялось увеличение его с 1 по 5 сутки эксперимента. Сравнивая эти сроки между собой, обнаружена существенная достоверность разницы между 1 и 3 и, 1 и 5 сутками ($p < 0,05$). На 7 сутки обнаруживается уменьшение толщины слизистой оболочки. При сравнении с 5 сутками это уменьшение является не существенным. С 10 по 30 сутки происходит также уменьшение этого показателя но достоверность разницы между сроками является не существенной. Сравнивая показатель толщины слизистой оболочки с группой интактных животных, мы обнаружили, что со 2 по 10 сутки этот показатель был существенно больше ($p < 0,05$). Начиная с 14 до 30 суток эксперимента, достоверность различий была не существенной.

Анализируя морфометрические показатели толщины подслизистой основы тощей кишки, нами выявлены следующие изменения, а именно увеличение этого показателя с 1 по 5 сутки исследования. При сравнении его между сроками исследования достоверность разницы была не существенной. В то время как сравнивая 1 и 5 сутки нами установлена достоверность разницы ($p < 0,05$). Начиная с 7 суток, этот показатель уменьшался, сравнивая его с 5 сутками это уменьшение было не существенно. На 10 сутки нами выявлено существенное снижение показателя при сравнении с 7 сутками. С 14 по 30 сутки эксперимента не выявлено существенного снижения показателя между сроками исследования. При сравнении этого показателя с аналогичным в интактной группе нами выявлено существенное увеличение его на 2-7 сутки. На 10-30 сутки он существенно не отличался от интактной группы.

В подвздошной кишке анализ морфометрических показателей общей толщины стенки кишки (**рис. 1А**) в III группе животных показал, что в течение эксперимента он менялся не одинаково. Так, введение криоконсервированной плаценты на фоне острого экспериментального воспаления брюшины между сроками исследования вызывает увеличение общей толщины стенки кишки которое проявляется с 1 по 3 сутки эксперимента с максимальным значением на 3-5 сутки, но достоверность разницы между этими терминами не существенна. С 5 до 30 суток общая толщина стенки кишки уменьшилась, но достоверность разницы между ними была не существенной. При сравнении с интактной группой мы установили, что начиная с 1 суток показатель вырос, но существенной разницы не выявлено. Со 2 по 5 сутки идет существенный рост данного параметра при сравнении с интактной группой $p < 0,05$. С 7 суток выявлено снижение этого параметра, но по сравнению с группой интактных животных, но достоверной разницы между ними не обнаружено, с 10 по 30 сутки этот параметр снизился и находился в пределах значений интактной группы.

Статистической анализ толщины слизистой оболочки подвздошной кишки (**рис. 1Б**) между

сроками исследования показал, что в течение эксперимента она менялась. Так с 1 по 3 сутки он увеличился. На 5 сутки этот параметр был максимально высоким, но сравнивая его с предыдущими сроками – статистической разницы между ними не обнаружено. Начиная с 7 по 14 сутки толщина слизистой оболочки уменьшилась, это уменьшение было незначительно по сравнению с предыдущим сроком при $p > 0,05$. Начиная с 21 по 30 сутки нами также обнаружено, не существенное уменьшение этого параметра. Сравнивая этот показатель с аналогичным в интактной группе выявлена следующая динамика, на 1 сутки показатель вырос но достоверной разницы между группами при сравнении не выявлено. Со 2 и до 5 суток исследования установлено достоверное увеличение показателя при сравнении его с группой интактных животных ($p < 0,05$). Начиная с 7 и по 30 сутки показатель снизился, существенной разницы с интактной группой не выявлено $p > 0,05$.

Анализируя статистические данные толщины подслизистой основы между сроками исследования, нами выявлены следующие изменения. Увеличение параметра уже на 1 сутки исследования с последующим ростом до 5 суток, где он набрал максимума, но существенной разницы между сроками исследования не выявлено $p > 0,05$. Начиная, с 7 по 14 сутки выявлено уменьшение толщины подслизистой, но это уменьшение было также не существенным. На 21-30 сутки показатель продолжал снижаться но достоверной разницы между сроками исследования не выявлено. Проводя сравнение с интактной группой нами выявлена следующая динамика: на 1 сутки показатель вырос но достоверной разницы между группами не обнаружено. Со 2 и до 5 суток исследования идет достоверное увеличение показателя при сравнении его с интактной группой ($p < 0,05$). Начиная с 7 и заканчивая 30 сутками показатель снизился, но существенной разницы не выявлено.

Выводы. Таким образом, изучение параметров (общая толщина стенки, толщина слизистой оболочки и подслизистой основы) трех отделов тонкой кишки (12-перстная, тощая и подвздошная) показало, что на протяжении эксперимента они изменяются не одинаково. Начиная с 1 суток, происходит увеличение показателей с максимальными значениями на 5-7 сутки. Обращает на себя внимание тот факт, что это увеличение существенно при анализе показателей 12-перстной и тощей кишки, достоверность разницы при $p < 0,05$. В подвздошной кишке это увеличение не существенно. Начиная с 7 суток, отмечается уменьшение значений этих показателей и на 21-30 сутки они находятся в пределах значений интактной группы.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейшем планируется провести исследование реакции гемомикроциркуляторного русла тонкого кишечника на введение криоконсервированной плаценты при остром экспериментальном воспалении брюшины у крыс

Литература

1. Ardamatskaya M.D. Disbakterioz kishechnika: evolyutsiya vzglyadov. Sovremennyye printsipy diagnostiki i farmakologicheskoy korrektsii / M.D. Ardamatskaya, O.M. Minushkin // Consilium medicum. – 2006. – № 1, Pril. «Gastroenterologiya». – S. 4-17.
2. Beloborodov V.B. Antibakterialnaya terapiya bolnyh ostryimi kishechnymi infektsiyami / V.B. Beloborodov, Yu.S. Alyatin // Consilium Medicum. – 2002. – T. 4, № 6. – S. 295-298.
3. Vorobev G.I. Nespetsificheskie vospalitelnyie zabolevaniya kishechnika / G.I. Vorobev, I.L. Halif. – Miklosh, M., 2008. – S. 422.
4. Zvyagintseva T.D. Sindrom izbytochnogo bakterialnogo rosta: sovremennyye podhody k lecheniyu / T.D. Zvyagintseva, A.I. Chernobay // Simeyna meditsina. – 2013. – № 4. – S. 31-38.
5. Parfenov A.M. Disbakterioz kishechnika: voprosy biologicheskoy terapii / A.M. Parfenov, I.N. Ruchkina, G.A. Osipov [i dr.] // Trudnyiy patsient. – 2007. – T. 5, № 5. – S. 23-28.
6. Parfenov A.I. Enterologiya / A.I. Parfenov. – Med. inform. agentstvo. – M., 2009. – S. 880.
7. Shepitko V.I. Krlokonservovana platsenta vpliv na pereblg eksperementalnogo sladadenltu / V.I. Shepitko, G.A. Eroshenko, T.M. Yurchenko [ta in.]. – Poltava: Kopirservis, 2013. – S. 122.
8. Shepitko K.V. Morfometrichna harakteristika stlnki dvanadtsyatipaloyi kishki pri vvedenni krlokonservovanoi platsenti na tli gostrogo asepticnogo zapalennya cherevnoyi porozhnini u schuriv / K.V. Shepitko, Yu.B. Chaykovskiy // Ukrayinskiy morfologichniy almanah. – 2013. – T. 11, № 4. – S. 84-87.
9. Shepitko K.V. Morfometricheskaya harakteristika slizistoy obolochki tonkoy kishki pri vvedenii kriokonservirovannoy platsenti u kryis / K.V. Shepitko, V.I. Shepitko // Biologiya va tibbiet muammolari. – 2015. – № 2 (83). – S. 164-167.
10. Bernstein C.N. Epidemiology and Natural History Task Force of the International organization of Inflammatory Bowel Disease (IOIBD). Eographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease / C.N. Bernstein, M.H. Vatn // Gut. – 2013. – Vol. 2 (4). – S. 630-649
11. Schreiber S. Genetic etiology of chronic inflammatory bowel disease / S. Schreiber, P. Rosenstiel, A. Franke // Internist Berl. – 2014. – Vol. 55 (2). – S. 156-164.

УДК 616.341-06:611.381-002.1.086:615.36]-092.9

РЕАКЦІЯ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА НА ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЗАПАЛЕННІ ОЧЕРЕВИНИ У ЩУРІВ

Шепітько В. І., Шепітько К. В.

Резюме. Метою дослідження було вивчення змін морфометричних параметрів стінки тонкої кишки у щурів, при трансплантації кріоконсервованої плаценти на тлі гострого експериментального запалення очеревини у щурів.

Вивчення параметрів (загальна товщина стінки, товщина слизової і підслизової оболонки) трьох відділів тонкої кишки (12-палої, порожньої і клубова) показало, що протягом експерименту вони змінюються не однаково. Починаючи з 1 доби, відбувається збільшення показників з максимальними значеннями на 5-7 добу. Звертає на себе увагу той факт, що це збільшення істотно при аналізі показників 12-палої і порожньої кишки, достовірність різниці $p < 0,05$. У клубовій кишці це збільшення не суттєво. Починаючи з 7 діб, відзначається зменшення значень цих показників і на 21-30 добу вони знаходились в межах значень інтактної групи.

Ключові слова: тонка кишка, запалення, очеревина, трансплантація кріоконсервованої плаценти, товщина стінки кишки.

УДК 616.341-06:611.381-002.1.086:615.36]-092.9

РЕАКЦИЯ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА НА ВВЕДЕНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПАЛЕНИИ БРЮШИНЫ У КРЫС

Шепитько В. И., Шепитько К. В.

Резюме. Целью исследования было изучение изменений морфометрических параметров стенки тонкой кишки у крыс, при трансплантации кріоконсервированной плаценты на фоне острого экспериментального воспаления брюшины.

Изучение параметров (общая толщина стенки, толщина слизистой оболочки и подслизистой основы) трех отделов тонкой кишки (12-перстная, тощая и подвздошная) показало, что на протяжении эксперимента они изменяются не одинаково. Начиная с 1 суток, происходит увеличение показателей с максимальными значениями на 5-7 сутки. Обращает на себя внимание тот факт, что это увеличение существенно при анализе показателей 12-перстной и тощей кишки, достоверность разницы при $p < 0,05$. В подвздошной кишке это увеличение не существенно. Начиная с 7 суток, отмечается уменьшение значений этих показателей и на 21-30 сутки они находятся в пределах значений интактной группы.

Ключевые слова: тонкая кишка, воспаление, брюшина, трансплантация кріоконсервированной плаценты, толщина стенки кишки.

UDC 616.341-06:611.381-002.1.086:615.36]-092.9

SMALL INTESTINE RESPONSE ON ADMINISTRATION OF CRYOPRESERVED PLACENTA IN ACUTE EXPERIMENTAL INFLAMMATION OF RATS' PERITONEUM

Shepitko V. I., Shepitko K. V.

Abstract. The small intestine lesions are accompanied by chronic inflammatory processes and, as a consequence, by metabolic disorders leading, in turn, to malabsorption and disability, highlighting the social and economic importance of this problem.

Clinical symptomatology of various chronic diseases of the small intestine is much common and leads to erroneous diagnosis.

Recently, many publications have reported about application and use of tissue specimen transplantation in multiple inflammatory diseases, including ones in the small intestine inflammation. Therefore, transplantation of cryopreserved placental tissues is widely used. Thus, the analysis of morphological manifestations of cryopreserved placenta transplantation effect induced by the acute aseptic inflammation of rats' peritoneum is relevant to date.

The purpose of the paper was to study the changes in morphometric parameters of rats' small intestine wall in administration of cryopreserved placenta accompanied by the acute experimental peritonitis.

Object and methods. The small intestine (duodenum, jejunum and ileum) wall of the 60 Wistar senior male rats has been studied. The animals were assigned into groups.

The animals were killed under thiopental anesthesia overdose in compliance with the scheduled periods (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 30 day of the experiment). Pieces of the small intestine were embedded into paraffin and epoxy. The overall thickness of the wall, thickness of the mucosa and submucous layer in rats' duodenum, jejunum and ileum has been measured. Microscope with Olympus C 3040-ADU digital microphotohead with Olympus DP – Soft software, adapted for the present studies (License No. VJ285302, VT310403, 1AV4U13B26802) and BIOREX 3 (serial number 5604) has been used. Mathematical processing of the material has been carried out using the conventional methods of variation statistics: calculation of the mean values (M), error of the mean (m), Student's T-test (t). Differences were considered to be reliable, when $p < 0.05$.

Results and Discussion. The analysis of the parameters (general thickness of the wall, thickness of the mucosa and submucous base) of three segments of small intestine (duodenum, jejunum and ileum) has shown that they varied differently during the experiment. Starting from the day 1, the increase of parameters with maximal values has been noted on days 5-7. Interestingly, such increase was significant during the analysis of the parameters of duodenum and jejunum, the reliability of the difference is $p < 0,05$. In the ileum such increase was insignificant. Starting from the day 7, the decrease of the parameters has been noted, and on the days 21-30 they were within the values of the intact group.

Keywords: small intestine, inflammation, peritoneum, administration of cryopreserved placenta, intestine wall thickness.

Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 12.08.2017 року