МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Біологічний факультет

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Кваліфікаційна робота

магістра

на тему: ТЕМА РОЛЬ МАКРОФАГІВ У ФУНКЦІОНАЛЬНОМУ СТАНІ БРИЖІ В НОРМІ І ПРИ СПАЙКОВІЙ ХВОРОБІ

Виконав: студент 2 курсу, групи 8.0914-6 _____
спеціальності 091 Біологія та біохімія _____
освітньої програми Біологія_____

Квасов М.С

Керівник д.б.н., проф. Кущ О.Г

Рецензент к.б.н., доц. Новосад Н.В

Запоріжжя - 2025

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет біологічний

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Рівень вищої освіти магістр

Спеціальність 091 Біологія та біохімія

Освітня програма Біологія

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри. / Кущ О. Г.

2024 року

ЗАВДАННЯ НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ

Квасову Миколі Сергійовичу

1. Тема роботи Роль макрофагів у функціональному стані брижі в нормі і при спайковій хворобі.
керівник роботи Кущ Оксана Гергіївна., д.б.н., професор
затверджена наказом ЗНУ від « 28 » березня 2025 р. № 455-с
2. Строк подання студентом роботи грудень 2025 року

3. Вихідні дані до роботи Експериментальне дослідження на 60 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): 1) охарактеризувати морфологічну організацію брижі у фізіологічних умовах; 2) визначити кількісні та морфометричні показники макрофагів у нормі;
3) описати морфологічні зміни брижі при спайкоутворенні; 4) встановити динаміку перерозподілу макрофагів у різні стадії патологічного процесу; 5) визначити функціонально-метаболічну активність макрофагів при фіброутворенні; 6) здійснити кореляційну оцінку взаємозв'язків між морфологічними змінами та клітинною реактивністю.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): Табл. 3.1 - Морфометричні та гістологічні показники брижі у інтактних тварин та при спайковій хворобі; Табл. 3.2 - Динаміка морфологічних та функціональних змін макрофагів у різні стадії спайкоутворення; Табл. 3.3 - Порівняльний аналіз функціональної активності макрофагів у нормі та при спайковій хворобі; Табл. 3.4 - Кореляційні взаємозв'язки між морфологічними

та функціональними показниками макрофагів брижі.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		завдання видав /	завдання прийняв
4	Гороховський Є. Ю., к.б.н., доцент	/ >	

7. Дата видачі завдання 18 вересня 2024 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1.	Поповнення джерел літератури за темою кваліфікаційної роботи	Жовтень 2024	виконано
2.	Формування розділу «Огляд літератури», «Матеріали та методи дослідження»	Лютий 2025	виконано
3.	Аналіз макрофагів у функціональному стані брижі в нормі і при спайковій хворобі	Квітень 2025	виконано
4.	Формування бази даних результатів експериментальних досліджень	Вересень 2025	виконано
5.	Статистичний аналіз експериментальних даних	Жовтень 2025	виконано
6.	Формування експериментальної частини, оформлення кваліфікаційної роботи	Листопад 2025	виконано
7.	Оформлення матеріалів до захисту, попередній захист кваліфікаційної роботи	Грудень 2025	виконано

Студент М.С. Квасов

Керівник роботи О.Г. Кущ

Нормоконтроль пройдено

Нормоконтролер Є.Ю. Гороховський

РЕФЕРАТ

Робота викладена на 62 сторінках друкованого тексту, містить 4 таблиці та 1 рисунок. Перелік посилань включає 51 джерело.

Об’єкт дослідження - макрофаги брижі щурів у нормі та при спайковій хворобі. Предмет - морфо-функціональні характеристики та топографія макрофагів у процесі спайкоутворення.

Мета роботи - визначиш роль макрофагів у патогенезі адгезійних процесів брижі.

Методи - гістологічні (гематоксилін-еозин, пікрофуксин), імуногістохімічні, цитоморфометричні та статистичні.

Результати та новизна. Доведено, що при спайковій хворобі щільність макрофагів зростає у 2,5 раза, збільшується їх розмір та активується продукція прозапальних цитокінів (TNF-a, IL-1, IL-6). Вперше встановлено фазовий характер перебудови макрофагального пулу та його прямий зв'язок із колагенізацією тканини. Обґрунтовано концепцію ключової ролі макрофагів у фіброзі.

Впровадження та рекомендації. Результати є базою для створення протиадгезійних засобів. Показники стану макрофагів рекомендовано як біомаркери для прогнозування ризику виникнення спайок та моніторингу терапії в експериментальній хірургії. Сфера застосування:біологія, медицина, патофізіологія. Робота розкриває клітинні механізми спайкоутворення, що дозволяє оптимізувати методи профілактики післяопераційних ускладнень.

БРИЖА, ЗАПАЛЕННЯ, МАКРОФАГИ, МОРФОМЕТРІЯ, СПАЙКОВА ХВОРОБА, ФАГОЦИТОЗ, ФІБРОЗ, ЩУРИ.

ABSTRACT

The work is presented on 62 pages of printed text, contains 4 tables and 1 figure. The list of references includes 51 sources.

The object of study is rat mesenteric macrophages in normal conditions and in adhesive disease. The subject is the morpho-functional characteristics and topography of macrophages in the process of adhesion formation.

The aim of the work is to determine the role of macrophages in the pathogenesis of mesenteric adhesion processes.

Methods: histological (haematoxylin-eosin, picrofuchsin), immunohistochemical, cytomorphometric and statistical.

Results and novelty. It has been proven that in adhesive disease, the density of macrophages increases 2.5 times, their size increases, and the production of pro-inflammatory cytokines (TNF-a, IL-1, IL-6) is activated. For the first time, the phasic nature of the macrophage pool restructuring and its direct connection with tissue collagenisation has been established. The concept of the key role of macrophages in fibrosis has been substantiated.

Implementation and recommendations. The results form the basis for the creation of anti-adhesion agents. Macrophage status indicators are recommended as biomarkers for predicting the risk of adhesions and monitoring therapy in experimental surgery. Field of application: biology, medicine, pathophysiology.

The work reveals the cellular mechanisms of adhesion formation, which allows for the optimisation of methods for the prevention of postoperative complications. The work reveals the cellular mechanisms of adhesion formation, which allows for the optimisation of methods for the prevention of postoperative complications.

ADHESION DISEASE, FIBROSIS, INFLAMMATION, MACROPHAGES, MESENTERY, MORPHOMETRY, PHAGOCYTOSIS, RATS.

ЗМІСТ

ВСТУП 7
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ 10
1.1 Анатомо-функціональні особливості брижі 10
1.2 Макрофаги як ключова ланка вродженого імунітету 12
1.3 Роль макрофагів у підтриманні тканинного гомеостазу брижі 14
1.4 Патогенез спайкової хвороби: сучасні уявлення 16
1.5 Імунні механізми формування спайок та участь макрофагів 18
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 21
2.1 Об'єкт дослідження 21
2.2 Методи дослідження 22
2.2.1 Морфологічні методи дослідження тканин брижі 22
2.2.2 Імуногістохімічні методи виявлення макрофагів 23
2.2.3 Цитоморфометричний аналіз макрофагальних клітин 25
2.2.4 Дослідження функціонально-метаболічної активності макрофагів 26
2.3 Статистична обробка отриманих результатів 28
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА 30
3.1 Морфологічна характеристика брижі в нормі 30
3.2 Особливості розподілу та морфології макрофагів у нормальній брижі 31
3.3 Морфологічні зміни брижі при спайковій хворобі 32
3.4 Динаміка змін макрофагального пулу при спайкоутворенні 35
3.5 Порівняльний аналіз функціональної активності макрофагів у нормі і при спайковій хворобі 37
3.6 Кореляційні взаємозв'язки між морфологічними та функціональними показниками макрофагів брижі 40
4 ОХОРОНА ПРАЦІ 43
ВИСНОВКИ 50
РЕКОМЕНДАЦІЇ 51
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ 52

ВСТУП

Функціональний стан брижі як складного анатомо-імунного утворення визначає не лише механічну стабілізацію кишкових петель, а й локальну імунну відповідь, метаболічну регуляцію та бар'єрну функцію серозних структур. Останніми десятиліттями у клінічній хірургії дедалі більшого значення набуває проблема спайкової хвороби, яка виникає як наслідок травми черевної порожнини, запалення або оперативних втручань і супроводжується формуванням фіброзних зрощень між органами. Адгезійна патологія є однією з провідних причин хронічного абдомінального болю, кишкової непрохідності та рецидивних хірургічних втручань, що обумовлює її високий соціально-медичний та економічний вплив.

Ключовою ланкою імунної відповіді у процесах підтримання структурної цілісності брижі та розвитку фіброзу виступають макрофаги – високопластичні клітини вродженого імунітету, здатні координувати процеси запалення, фагоцитозу, ремоделювання міжклітинного матриксу й регенерації. Відомо, що зміни макрофагального пулу можуть визначати як репаративний, так і патологічно-фіброзний напрямок перебудови тканин. Проте кількісні та якісні характеристики макрофагів брижі, їх локальна активність, динаміка у різні стадії спайкоутворення та кореляційні взаємозв'язки із структурними перетвореннями досі висвітлені недостатньо.

Актуальність дослідження зумовлена тим, що спайкова хвороба лишається невирішеною медичною проблемою, а вивчення ролі макрофагів у формуванні фіброзу відкриває перспективи для розробки нових підходів профілактики та терапії післяопераційних ускладнень. З'ясування клітинних механізмів розвитку спайок дозволить оптимізувати стратегії протизапальної корекції та створити патогенетично обґрунтовані методи впливу на імунну компоненту брижі.

Об’єкт дослідження: макрофаги брижі білих щурів у нормі та при експериментальній спайковій хворобі.

Предмет дослідження: морфологічні, кількісні та функціонально-метаболічні характеристики макрофагів, їх топографія та участь у структурних змінах брижі при спайкоутворенні.

Мета дослідження: встановити роль макрофагів у формуванні морфологічних та функціонально-метаболічних змін брижі в нормі та при спайковій хворобі та визначити їх участь у патогенезі адгезійних процесів.

Основні завдання дослідження:

1) охарактеризувати морфологічну організацію брижі у фізіологічних умовах;

2) визначити кількісні та морфометричні показники макрофагів у нормі;

3) описати морфологічні зміни брижі при спайкоутворенні;

4) встановити динаміку перерозподілу макрофагів у різні стадії патологічного процесу;

5) визначити функціонально-метаболічну активність макрофагів при фіброутворенні;

6) здійснити кореляційну оцінку взаємозв’язків між морфологічними змінами та клітинною реактивністю.

Методи дослідження:

- класична гістологія з використанням забарвлень (гематоксилін-еозин, пікрофуксин);
- імуногістохімічне визначення макрофагальних маркерів;
- цитоморфометричний аналіз (вимір діаметра, частка великих клітин, щільність);
- оцінка секреторної та фагоцитарної активності;
- статистичний аналіз (t-критерій Стьюдента, кореляційні зв’язки при $p \leq 0,05$).

Теоретичне значення роботи полягає у поглибленні уявлень про імунні механізми серозних структур, уточненні особливостей макрофагального пулу

брижі та формуванні концепції фазової ролі макрофагів у фіброгенних процесах.

Практичне значення роботи полягає у тому, що:

- емпірично підтверджено морфометричні критерії активованих макрофагів;
- описано динамічні зміни макрофагів, що можуть бути використані як ранні маркери спайкоутворення;
- результати можуть стати основою для розробки протиадгезійних біоматеріалів, імуно-модуляторів та використання морфоцитометрії у патоморфологічній діагностиці.

Структура роботи включає вступ, чотири розділи, які містять огляд літератури, матеріали і методи, результати дослідження та їх аналіз, охорону праці, висновки, рекомендації та список використаних джерел.

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Анатомо-функціональні особливості брижі

У сучасних анатомічних та клініко-хірургічних працях брижа розглядається дедалі частіше не як сукупність окремих мезентеріальних перетинок, а як анатомічно й функціонально цілісний орган з безперервною структурою, що має спіралеподібну топографію дистальніше від дуодено-йєюнальної связки. Такий перегляд класичної схеми дозволив точніше описувати просторові взаємовідношення судин, лімфатичних трактів і вузлів у мезентеріумі та підкреслити його роль як кондуктора для судинно-нервових пучків і місця локалізації лімфоїдних утворень. Ця концепція, хоча й була сформульована головним чином у дослідженнях людини та порівняльній анатомії, вплинула і на інтерпретацію даних щодо щурячої брижі, де верифікація безперервності, топографії і відношень до магістральних судин підтвердила практичну цінність «нового погляду» на орган [7, с. 6].

Анатомічно брижа у щурів включає фасціальний каркас сполучної тканини, мезентеріальну жирову клітковину, мережу артерій і вен, а також численні лімфатичні судини і вузли. Макроанатомічно судинне живлення тонкої кишки проходить через гілки верхньої брижової артерії (у моделях щура – аналоги людської SMA), причому розгалуження артерій і паралельні вени формують упорядковану судинну сітку, що забезпечує швидку гемодинамічну адаптацію тканин. У низці робіт часового проміжку 2015–2025 рр. підкреслено важливість детального картографування цих судин для експериментальної хірургії та моделювання ішемічних станів у щурячих експериментах [4, с. 255].

Лімфатична система брижі у щурах має ключове функціональне значення: збір лімфи з кишечника (включно з хиломікрами), пасаж лімфоцитів і антигенів до мезентеріальних лімфовузлів, а також активний перекачуючий механізм, що включає ритмічні скорочення збиральних лімфатичних судин. Останні дослідження показали, що частина регуляції контрактильності мезентеріальних лімфатичних судин у щурів є чутливою до змін потоку і

механічних стимулів; наприклад, механізм, опосередкований TRPV4-чутливими шляхами, бере участь у зниженні частоти скорочень при підвищеному потоці, що вказує на тісну інтеграцію механічних сигналів і іонних каналів у контролі лімфодинаміки. Ці функціональні властивості мають прямий зв'язок з підтримкою гідростатичної рівноваги, транспортом ліпідів і ініціацією імунної відповіді при запаленні [13].

Мезентеріальна жировая тканина та імунні компоненти брижі у щурів виконують метаболічну та імунорегуляторну роль. У роботах 2018–2023 рр. показано, що мезентеріальна жирова клітковина слугує не лише енергетичним депо, але й джерелом запальних медиаторів і резидентних лімфоцитів/макрофагів, здатних модулювати бар'єрну функцію кишечника та впливати на гепатичний метаболізм (ось приклад – зв'язок запалення МАТ з розвитком неалкогольної жирової хвороби печінки у модельних тварин). Експериментальні дослідження на щурах також демонструють, що дієта, старіння і токсичні впливи змінюють клітинний склад МАТ і її секреторний профіль, що надалі впливає на судинну та лімфатичну функцію в брижі [31, с. 3380].

Патологічні ремоделювальні процеси брижі продемонстрували високу пластичність тканинної архітектури у відповідь на запалення, формування спайок, старіння та дієтичні фактори. Експериментальні моделі адгезіогенезу та перитонеального ремоделювання у щурів показують, що брижа втрачає еластичність, товщає, змінюється клітинно-молекулярний склад і що хронічне запалення супроводжується перерозподілом лімфоцитних популяцій і фібротизацією мезентеріальної строми. Такі дані важливі для розуміння механізмів післяопераційних ускладнень і для розробки стратегій їх профілактики у хірургічних моделях [22, с. 13].

Методологічно дослідження брижі у щурів охоплюють широку палітру підходів: макроскопічна анатомія і тривимірна реконструкція судин, гістологія і імуногістохімія для виявлення LEC/лімфоцитних маркерів, електрофізіологічні та відеомікроскопічні вимірювання контрактильності лімфатичних судин,

молекулярні аналізи (мікроРНК-профілі, експресія окремих каналів/рецепторів), а також моделі дієтичних, токсичних і старіючих впливів. Прикладом прикладної молекулярної роботи є дослідження змін рівнів мікроРНК у мезентерії щурів після впливу сумішей пестицидів, що свідчить про чутливість мезентеріальної тканини до екзогенних токсинів і можливість використання молекулярних маркерів для оцінки пошкодження. (приклади таких підходів відображені в літературі 2015–2025 рр.) [26].

Таким чином, за період 2015–2025 рр. відбулося значне розширення уявлень про брижу щура як складний анатомо-функціональний комплекс: від визнання її просторової цілісності до детального вивчення лімфатичної контрактильності і ролі мезентеріальної жирової та імунної тканин у підтримці гомеостазу й участі в патології.

1.2 Макрофаги як ключова ланка вродженого імунітету

Макрофаги у білих щурів займають центральне місце в системі вродженого імунітету й поєднують функції негайного захисту, тканинного гомеостазу та запуску адаптивної відповіді. Походження макрофагів у ссавців є подвійним: частина популяцій формуються ембріонально і зберіються як резидентні макрофаги в тканинах (наприклад, альвеолярні, печінкові та серозні макрофаги), тоді як інші поповнюються циркулюючими моноцитами після запалення або ушкодження; дослідження на моделі Rattus norvegicus підтверджують складну тканинну гетерогенність і різноспрямованість транскриптомних профілів макрофагів у різних органах [21, с. 987].

Функціонально макрофаги реалізують кілька взаємопов'язаних механізмів захисту: фагоцитоз і внутрішньоклітинне знищення патогенів за допомогою реактивних форм кисню і лізосомальних ферментів, секреція прозапальних і протизапальних цитокінів, презентація антигенів та ремоделювання тканин через деградацію матриксу і стимуляцію репаративних процесів. На кшталт

інших видів, ратські макрофаги демонструють високу пластичність, переключаючись між функціональними станами в залежності від мікросередовища: «M1-подібні» фенотипи відповідають за інтенсивну прозапальну активність і мікробицидні функції, тоді як «M2-подібні» сприяють інактивації запалення, фіброзу та відновленню тканини. Ця модель поляризації лишається корисною експериментальною парадигмою для інтерпретації даних у щурячих моделях запалення та регенерації [14, с 218].

У практичних експериментах на білих щурах значна увага приділялась специфіці альвеолярних та перитонеальних макрофагів як моделям гострої легеневої та черевної запальної відповіді. Дослідження на щурах з LPS-індукованим гострим ураженням легенів показали, що альвеолярні макрофаги швидко активуються через TLR-залежні шляхи, індукують NF-κB-опосередковану експресію прозапальних медіаторів і тимчасово змінюють фагоцитарну здатність; подібні експерименти ідентифікували ключові мікроРНК і сигнальні каскади, які модулюють цю реакцію і можуть бути таргетами для терапії. В моделях перитонеального запалення та формування післяопераційних спайок перитонеальні макрофаги показали багатофункціональну роль у фагоцитозі, регуляції запалення та участі у процесах склеювання тканин, що підкреслює їхню двозачинну роль у захисті й патогенезі [5].

За останні роки зросла увага до явища «тренованого» (innate) імунітету макрофагів, коли первинний стимул закладає епігенетичні та метаболічні зміни, які модифікують відповіді при повторному контакті з інфектом або стерильним ушкодженням. На щурячих моделях це явище пояснює довготривалі зрушення у відповіді тканинних макрофагів після інфекцій, вакцин або хронічного впливу частинок і токсинів, а також пов'язане з ризиком хронічного запалення або, навпаки, підвищеної стійкості до інфекцій. Розуміння механізмів тренованого імунітету в макрофагах щурів дає важливі підказки для розробки імуномодулюючих стратегій [10].

Таким чином, хоча базові молекулярні шляхи макрофагальної активації добре консервативні між видами, специфічні рецепторні профілі, співвідношення резидентних і запальних популяцій та реактивність на деякі стимулятори можуть відрізнятися від людських. Останні огляди підкреслюють роль макрофагів як «чемпіонів» вродженого імунітету і підкреслюють їхню центральність у зв'язку між негайною захисною реакцією, метаболічною перебудовою тканин і довготривалим імунним навчанням.

1.3 Роль макрофагів у підтриманні тканинного гомеостазу брижі

Макрофаги відіграють центральну роль у підтриманні тканинного гомеостазу брижі (мезентерію, оментума) у білих щурів через поєднання фагоцитарної активності, імунорегуляції, ремоделювання міжклітинної матриці та взаємодії з лімфатичною та судинною мережами. У нормальних умовах тканинні резидентні макрофаги мезентерію утворюють локальні «скелети» імунного нагляду: вони безперервно фагоцитують апоптичні клітини та уламки, зв’язують і деградують мікробні продукти, тим самим запобігаючи хронічній активації запалення і підтримуючи стерильне середовище перитонеальної порожнини. Сучасні дослідження показують, що частина макрофагів, які безпосередньо прилягають до мезотелію та лімфоваскулярних структур, має специфічні фенотипи (наприклад, LYVE1-позитивні субпопуляції), що відрізняються від клітин у перитонеальній рідині за маркерами та функціями; ці клітини беруть участь у регуляції проникності мезотелію, контролі лімфатичного потоку та створенні місцевого антимікробного бар’єра [33].

Функціональна пластичність макрофагів у брижі дозволяє їм швидко змінювати фенотип відповідно до сигналів тканинного мікросередовища: у стані гомеостазу домінують макрофаги з промоторемонтною, імунорегулювальною спрямованістю (часто пов’язані з експресією маркерів M2-типу, таких як CD163 і CD206), які підтримують ангіогенез, продукцію

ростових факторів та фагоцитоз залишків, тоді як при інфекції чи травмі вони можуть набувати більш запального профілю або стати джерелом хемо- та цитокінів, що рекрутують додаткові імунні клітини. У модельних експериментах на щурах введення ліпополісахариду (LPS) змінює чисельний та маркерний склад макрофагів мезентерію, супроводжуючись накопиченням макрофагів з вираженими M2-ознаками уздовж лімфатичних судин і одночасним порушенням лімфатичної функції, що ілюструє їхню двобічну роль у швидкому реагуванні на шкоду та у відновленні тканинної рівноваги [8, с. 2049].

Крім класичних імунних функцій, макрофаги мезентерію виконують важливі гомеостатичні завдання через секрецію хемокінів, матриксних протеїназ і факторів росту, які формують локальний мікрооточуючий ландшафт. Наприклад, дослідження оментальних/мезентеріальних макрофагів показали, що їхні хемокінові сигнали можуть створювати сприятливі ніші для клітинних популяцій (включно з мезенхімальними або пухлинними клітинами в моделях метастазування), що свідчить про їхню роль у регуляції клітинної мобільності, адгезії та ремоделювання ECM – механізмів, критичних для відновлення після пошкодження та підтримки структурної цілісності брижі [20].

Походження і підтримка популяції макрофагів у мезентерію у щурів поєднують ембріональні резидентні клітини та моноцит-залежну компенсацію при пошкодженні: експерименти з пересадкою кісткового мозку і моделями дефіциту CSF1R показали, що кістковомозкові клітини здатні репопулювати тканинні макрофагальні популяції в перитонеальних структурах і відновлювати їхню чисельність після виснаження, що важливо для довготривалого підтримання гомеостазу після травм чи запальних епізодів. Це підкреслює, що на підтримку гомеостазу брижі впливає не лише локальна активність резидентних макрофагів, а й системні механізми поповнення та репарації [25].

Макрофаги взаємодіють із немоноцитарними компонентами мезентеріальної мікросередовища – мезотеліальними клітинами, лімфовузлами,

нервовими волокнами та адипоцитами – і цим координаційним зв’язком вони забезпечують баланс між захистом тканини та збереженням функціональної архітектури. Останні оглядові роботи підкреслюють, що резидентні перитонеальні та оментальні макрофаги є ключовими «сторожами» гомеостазу й регуляторами відновних процесів у перитонеумі, а дисбаланс їхньої поляризації або хронічна активація може призводити до лімфатичної дисфункції, фіброзу та сприяння патологічним процесам у брижі.

Отже, у білих щурів макрофаги мезентерію виконують інтегровану функцію: вони підтримують місцеву стерильність і клітинне оновлення, координують ремоделювання матриксу та судин, регулюють лімфатичний дренаж і формують адаптивну відповідь на стреси – всі ці механізми разом забезпечують тканинний гомеостаз брижі.

1.4 Патогенез спайкової хвороби: сучасні уявлення

Патогенез спайкової (адгезійної) хвороби у білих щурів сьогодні розглядають як багатокомпонентний і послідовний процес, що починається з механічного або інфекційного ушкодження перитонеального епітелію (мезотелію) і завершуються формуванням зрілого фібротичного тяжу. Першою реакцією на травму є активація гемостазу з утворенням фібринового матриксу на місці ушкодження: місцева коагуляція швидко забезпечує гемостаз, але водночас створює каркас із фібрину, який за наявності порушеного балансу між фібриногенезом і фібринолізом має тенденцію ґрунтуватися й не розчинятися, що сприяє «зачепленню» органів і формуванню первинних фібринових містків. Ключовим у подальшому є тимчасове пригнічення місцевої фібринолітичної активності (наприклад, через підвищення експресії інгібіторів активатора плазміногену), що дозволяє фібриновим нашаруванням організовуватись у щільніший сполучнотканинний рубець [16, с. 303].

На клітинному рівні центральну роль відіграють перитонеальні мезотеліоцити: сучасні дослідження показують, що під дією запалення, факторів росту та гіпоксії мезотеліоцити можуть проходити процес мезотеліального→мезенхімального переходу (ММТ), внаслідок якого вони втрачают ь епітеліальні маркери, набувають фенотипу міофібробластів і починають синтезувати колаген та інші компоненти внеклітинного матриксу. Цей перетворений пул клітин доповнюється залученням фібропластів із підлеглих шарів і міграцією моноцитів/макрофагів, що разом становить головний генератор фіброзу в адгезіях. Блокада сигнальних шляхів, зокрема TGF-β, у моделях на гризунах зменшує вираженість ММТ і формування спайок, що підкреслює терапевтичну значущість цього механізму [24, с. 51].

Запальне середовище імунної відповіді істотно модулює розвиток адгезій: відразу після ушкодження перитонеуму відбувається інтенсивний притік нейтрофілів і моноцитів, активація резидентних макрофагів та секреція прозапальних цитокінів (IL-1β, IL-6, TNF-α) і хемокінів. Типова динаміка поляризації макрофагів (включно з переходом між M1- і M2-подібними фенотипами) визначає баланс між очищенням фібрину і спрямуванням до репарації, що може бути профібротичним. Окремі цитокіни (наприклад, TGF-β та IL-17) посилюють фіброгенез і підвищують експресію PAI-1 в клітинах сполучної тканини, що додатково знижує місцеву фібринолітичну здатність і сприяє стійкій організації фібрину в спайку. Глибоке дослідження ролі макрофагів у моделях на щурах останніх років підкреслює їхню роль не лише як джерела цитокінів, але й як регуляторів коагуляційних і фібринолітичних процесів у порожнині тіла [30].

Гіпоксія тканин у зоні ушкодження виступає важливим тригером, що стимулює angiогенез, зміну цитоскелета клітин, індукцію факторів росту і сприяє персистентній трансформації мезотеліоцитів і міофібробластів, тим самим пришвидшуючи накопичення ECM і зрілішання адгезій. Доведено, що в умовах низького парціального тиску кисню підвищується експресія профібротичних генів і молекул адгезії, а також виникає стійка ремоделяція

судин, яка підтримує метаболічні потреби формуючої спайки. У моделях на білих щурах експерименти з маніпуляцією гіпоксії або застосуванням гіпоксично-прекондишенованих МСК показали здатність модулювати запальну відповідь і знижувати формування адгезій, що підкреслює роль гіпоксії як важливого патогенетичного фактора [32].

На моделі білих щурів патогенез адгезій вивчають за допомогою стандартизованих хірургічних ушкоджень (абразії серозної поверхні, створення ішемічних «кнопок», моделі перитоніту), що дозволяє реконструювати послідовність гемостаз-запалення-фібрин-фібрилярний ремоделінг і тестувати інтервенції. Отримані дані вказують не лише на мультифакторну природу процесу, але й на те, що найперспективніші підходи запобігання та лікування мають бути багатокомпонентними: направленими одночасно на зменшення початкового ендотеліо/мезотеліального ушкодження, корекцію фібринолізу, інгібування профібротичних сигналів (наприклад, TGF-β) та модуляцію імунної відповіді і мікрооточення (киснево-метаболічного статусу). Переносимість висновків із щурячих моделей на людину потребує обережності, але сучасні експериментальні роботи 2015–2025 років значно розширили розуміння ключових молекулярних та клітинних мішеней адгезіогенезу, заклавши основу для подальших досліджень протиадгезійних стратегій.

1.5 Імунні механізми формування спайок та участь макрофагів

Після механічного ушкодження очеревини у білих щурів (наприклад, моделі цекальної абразії або «ischemic button») первинною реакцією є миттєве порушення цілості мезотелію з вивільненням DAMP-молекул, активацією коагуляційного каскаду та формуванням фібринового матриксу, який служить «клеєм» для сусідніх поверхонь і сприяє контактування ранових зон; цей початковий етап визначає вихідну платформу для подальшого імунного та фібротичного ремоделювання [34].

Ключову роль у подальшому формуванні спайок відіграють перитонеальні клітини – мезотеліоцити і макрофаги. Пошкоджені мезотеліоцити можуть зазнавати мезотеліоцит-до-мезенхімальної трансформації (ММТ), трансдиференціюючись у myofibroblast-подібні клітини, що синтезують колаген і інші компоненти позаклітинного матриксу; цей процес підсилює персистентну фіброгенезу і фіксацію спайок між органами. Одночасно мезотеліоцити продукують хемокіни та фактори, які рекрутують нейтрофіли і моноцити у ранову ділянку [29].

Макрофаги перитонеальної порожнини виявляють складну, часо- і субпопуляційно-зумовлену поведінку: вони беруть участь у фагоцитозі фібрину й апоптотичних клітин, регуляції фібринолітичного балансу (через вплив на систему плазміноген/тіканецьний активатор плазміногену і PAI-1), продукуванні прозапальних (TNF-α, IL-6, IFN-γ) та профібротичних (TGF-β1) цитокінів, а також у ремоделюванні ECM через секрецію ММП і їх інгібіторів (TIMP). Залежно від співвідношення цих функцій макрофаги можуть як допомагати розсмоктуванню фібрину і тим самим запобігати стабілізації спайки, так і, навпаки, стимулювати формування рубцевої тканини [16, с. 304].

Останні експерименти на гризунах показали, що не всі макрофаги рівнозначні: резидентні великі перитонеальні макрофаги (F4/80^high у мишачих моделях, аналогічні популяції описані і в щурів) здатні формувати «клітинний бар’єр» над поверхнею рани, що зменшує контакт фібринового згустку з протилежною мезотеліальною поверхнею; ця функція може захищати від приєднання суперечливих ділянок, тоді як рецепрументовані запальні моноцитарні макрофаги (CCR2^+ / MHC-II^hi або «recruited» підтипи) частіше асоціюються з прозапальним і профібротичним фенотипом, індукуючи TGF-β-опосередкований фіброгенез. Такі дані пояснюють, чому експериментальні маніпуляції (декілька досліджень із клітинним виснаженням або прийняттям макрофагів) давали суперечливі результати – ефект залежить від того, яка підгрупа макрофагів була змінена, у який час після травми та в якій моделі це відбувалося [17].

Запальні та мікробні стимулятори також сильно модулюють ход процесу: внутрішньочеревна контамінація або мікробні PAMPs посилюють експресію прозапальних цитокінів, підвищують адгезію лейкоцитів і сприяють більш стійкому фіброгенезу, що в дослідах на щурах і мишах корелювало з більш інтенсивними і щільними спайками. Це має практичну вагу для моделей, де стерильність рани порушена або присутні бактерії – тоді імунна відповідь зміщується в бік довготривалої запальної активації [34].

На рівні терапевтичних підходів модулювання макрофагальної відповіді демонструє обнадійливі результати в доклініці: бар'єрні покриття та гідрогелі, що не тільки фізично розділяють ушкоджені поверхні, але й модулюють поляризацію перитонеальних макрофагів у менш профібротичний/менш прозапальний стан, знижували утворення спайок у щурячих моделях. Аналогічно, стимуляція місцевої фібринолітичної активності або селективне спрямування на сигнальні шляхи TGF-β/SMAD та CCR-опосередковану рекрутацію моноцитів зменшували фіброгенез у серії досліджень. Водночас багато інтервенцій залишаються експериментальними, і їх дія залежить від часу застосування відносно травми і від конкретної моделі [27].

Отже, у щурячих моделях формування спайок – це результат інтегрованої відповіді ушкоджених мезотеліоцитів, гемостазу та складної діяльності макрофагів різного походження і фенотипу, які можуть виступати як проліферативно-фібротичними, так і протективними агентами. Розуміння гетерогенності перитонеальних макрофагів і механістичної ролі їхніх секреторних профілів відкриває можливості для таргетної маніпуляції (модуляції поляризації, локальної регуляції фібринолізу або використання імуномодулюючих бар'єрів) з метою профілактики і лікування післяопераційних спайок у моделях, релевантних для клінічної трансляції.

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об’єкт дослідження

Дане дослідження сфокусоване на вивченні ролі макрофагів у функціональному стані брижі тонкої кишки в організмі білих щурів, що перебувають у нормі та при моделюванні спайкової хвороби. Цей об'єкт дослідження обрано через критичну важливість брижі як анатомічної структури та центральну роль макрофагів у місцевих імунних процесах, особливо у контексті запалення та фіброгенезу, які лежать в основі спайкової хвороби.

Брижа тонкої кишки є не лише судинно-нервовим ложем, що забезпечує життєдіяльність кишківника, а й значним імунокомпетентним органом. Вона містить велику кількість імунних клітин, зокрема макрофагів, які відіграють ключову роль у підтримці гомеостазу та формуванні імунної відповіді.

Макрофаги – це пластичні клітини вродженого імунітету, які виконують функції фагоцитозу, секреції біологічно активних речовин, участі в презентації антигенів, а також регулюють репаративні та фіброгенні процеси. У брижі макрофаги є одними з найбільш численних клітинних популяцій. Їхня функціональна активність тісно пов'язана з мікробіоценозом кишківника, і будь-яке порушення імунологічної толерантності до мікрофлори може запускати каскад запальних і фіброзних реакцій.

Спайкова хвороба – патологічний стан, що характеризується утворенням фіброзних зрощень (спайок) переважно у черевній порожнині, що часто виникає після хірургічних втручань або запальних процесів. Розвиток спайок пов'язаний з порушенням балансу між процесами запалення, фібринолізу та фіброгенезу. Згідно з текстом, порушення імунологічної толерантності до мікрофлори та подальша дисфункція макрофагів – зокрема, їхня здатність до синтезу і виведення монокінів, а також регуляція міжклітинних взаємодій – є критичними для розвитку патології. У цьому контексті, дослідження акцентується на вивченні ролі макрофагів як однієї з центральних ланок, що ініціює та підтримує патологічний фіброгенез.

Отже, об'єкт дослідження є комплексним і включає аналіз структурно-функціональної одиниці (брижі) у двох різних фізіологічних станах (норма та патологія) через призму імунологічного регулятора (макрофагів). Дослідження демонструє, що макрофаги брижі є не лише індикаторами, але й активними учасниками патогенезу спайкової хвороби, про що свідчить їхня морфофункціональна перебудова – збільшення розміру, зміна форми та підвищення іммонореактивності у фіброгенному середовищі. Це підтверджує гіпотезу про те, що дисфункція макрофагів та їхня роль у фіброгенезі є ключовою ланкою у розвитку спайкової хвороби.

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Морфологічні методи дослідження тканин брижі

Морфологічні методи дослідження тканин брижі у межах дослідження ролі макрофагів у нормі та при спайковій хворобі базуються на поєднанні класичної гістології, морфометричного аналізу та гістохімічного забарвлення, що дозволяє комплексно оцінити структуру тканини, розподіл клітин та їх функціональний стан. Для підготовки матеріалу використовували фіксацію тканин у 10% розчині формаліну з подальшим промиванням у проточній воді, що забезпечує стабілізацію морфологічних ознак і збереження клітинних компонентів. Обробка препаратів гематоксиліном і еозином дозволяла чітко візуалізувати ядра та цитоплазму клітин, а використання пікрофуксину для зон фіброзу давало змогу виявити та оцінити накопичення колагенових і фібринових структур. Виготовлені плівкові препарати закладали в желатин-гліцерин середовище, що сприяло збереженню тривимірної архітектоніки тканини та полегшувало подальший морфометричний аналіз.

Морфометрія полягала у кількісній оцінці макрофагів на одиницю площі тканини, що дозволяло зіставити щільність, середній діаметр клітин та частку великих макрофагів у нормі та при спайковому процесі. Також враховували

морфологічну неоднорідність, наявність багатоядерних форм, гранулярність цитоплазми та активність фагоцитозу, що давало змогу оцінити функціональний стан макрофагів у різні стадії спайкоутворення. Аналіз локалізації макрофагів показував їх концентрацію уздовж судин, у молочних плівках брижі та в паравазальних зонах, що відображає топографічну специфіку імунної відповіді.

Гістологічні дослідження дозволили встановити зміни сполучнотканинного каркасу брижі, визначити ступінь колагенізації, наявність фібринових нашарувань і формування фіброзних зон, а також виявити мікрокрововиливи, що супроводжують ранню фазу спайкоутворення. Комплексний аналіз морфологічних і функціональних характеристик макрофагів за допомогою статистичної обробки результатів (критерій t Стьюдента, $p \leq 0,05$) дозволив кількісно оцінити динаміку клітинної реакції, взаємозв'язок між структурними змінами та активністю макрофагів, а також відобразити кореляцію між збільшенням популяції клітин, морфологічними трансформаціями та інтенсивністю запальної реакції. Ці методи забезпечують надійну основу для встановлення ролі макрофагів у підтриманні імунологічної гомеостазу брижі та у патогенезі спайкової хвороби.

2.2.2 Імуногістохімічні методи виявлення макрофагів

Імуногістохімічні методи виявлення макрофагів у брижових структурах базуються на специфічному фарбуванні клітин, що дозволяє одночасно оцінити їх морфологію, кількість та функціональний стан у нормі та за умов спайкової хвороби. Для проведення дослідження використовували фіксацію тканин у 10% розчині формаліну з наступним промиванням у проточній воді, обробкою стандартними барвниками гематоксиліном та еозином, а також заливанням препаратів у желатин-гліцеринове середовище для збереження структури брижових листків.

Додатково фіброзні зони піддавали обробці пікрофуксином, що дозволяло візуалізувати колагенові нашарування та ділянки активного фібринового відкладення. Імуногістохімічні маркери, зокрема специфічні антитіла до макрофагальних антигенів, дозволяли ідентифікувати клітини моноцитарно-макрофагального ряду та оцінити їх секреторну активність, включаючи продукцію прозапальних цитокінів TNF-α, IL-1 та IL-6, а також синтез простагландину E2. Морфометричний аналіз виконували шляхом підрахунку макрофагів на умовну одиницю площі тканини брижового листка, що давало змогу кількісно оцінити щільність, розмір клітин та частку великих макрофагів із ознаками активного фагоцитозу. Результати імуногістохімічного фарбування продемонстрували, що у нормі макрофаги мають стабільний морфологічний фенотип із округлими або бобоподібними ядрами, помірно гранульованою цитоплазмою та рівномірним розподілом уздовж судинних пучків і сполучнотканинних перегородок. За умов спайкової хвороби спостерігалося суттєве збільшення кількості макрофагів, формування великих полігональних клітин із грануларною цитоплазмою, наявність багатоядерних форм та інтенсивне відкладення пігментованих включень, що відображало підвищену фагоцитарну та секреторну активність.

Імуногістохімічні методи дозволили не лише візуалізувати макрофаги, а й встановити кореляційні взаємозв’язки між їх морфологічними ознаками та функціональними показниками, що підтвердило активну участь цих клітин у формуванні фіброзних структур і ремоделюванні тканин брижі під час спайкового процесу. У сумі ці методи забезпечили комплексну оцінку топографії, морфології та функціонального стану макрофагів, дозволяючи простежити динаміку їх змін від стану фізіологічної норми до стадій гострого запалення та формування спайок.

2.2.3 Цитоморфометричний аналіз макрофагальних клітин

Цитоморфометричний аналіз макрофагальних клітин у брижі білих щурів дозволяє комплексно оцінити кількісні, морфологічні та функціональні характеристики цих клітин у нормі та при спайковій хворобі. У нормальних умовах макрофаги утворюють стабільну популяцію, що займає близько половини клітинного складу імунних структур брижі та рівномірно розподіляється вздовж судин і в товщі сполучнотканинних перегородок. Клітини мають округлу або бобоподібну форму ядра з чіткими контурами та помірним об’ємом цитоплазми, яка містить невелику кількість лізосомальних гранул, що відображає базову фагоцитарну активність. Така морфологія узгоджується з низьким рівнем продукції прозапальних цитокінів і синтезом простагландину Е2, що підтримує імунологічну толерантність до власної мікрофлори та стабільність мезентеріальних структур.

За умов спайкової хвороби макрофаги піддаються значним морфометричним змінам: збільшується середній діаметр клітин до 27–29 мкм, частка великих макрофагів (>25 мкм) зростає більш ніж у десять разів, і відзначається посилення гранулярності цитоплазми та наявність пігментованих включень. Ядра клітин стають світлішими, з дрібними включеннями бурого кольору, що свідчить про активний фагоцитоз продуктів деградації тканин. Щільність макрофагів у зоні спайкоутворення зростає у 2,5 раза порівняно з інтактними тваринами, і клітини накопичуються переважно в паравазальних зонах, навколо судин та в межах фіброзних осередків.

Цитоморфометричні дані демонструють також фазовість змін: на початковій стадії спайкоутворення макрофаги активно мігрують у фібринові осередки та починають секреторну діяльність, що проявляється синтезом TNF-α, IL-1 і IL-6. У період активної фази вони досягають максимальної щільності та демонструють високу морфологічну неоднорідність, зокрема присутність багатоядерних форм і великих полігональних клітин із гранульованою

цитоплазмою. На зрілій стадії спайок макрофагальний пул частково стабілізується, клітини локалізуються вздовж фіброзних перегородок та виконують функцію підтримки сформованого фіброзного матриксу, водночас зберігаючи підвищену секреторну активність.

Кореляційний аналіз показав тісний зв’язок між морфометричними показниками та функціональною активністю макрофагів. Збільшення розмірів клітин і частки великих форм корелює із зростанням частки макрофагів з ознаками активного фагоцитозу та підвищеною продукцією прозапальних цитокінів. Локалізація макрофагів уздовж судин і на периферії брижових листків відповідає зоні інтенсивної секреторної активності та стимулює проліферацію фібробластів, що забезпечує утворення фіброзних структур.

Таким чином, цитоморфометричний аналіз підтверджує, що макрофаги брижі у нормі виконують регуляторно-гомеостатичну функцію з мінімальною прозапальною активністю, тоді як при спайковій хворобі вони набувають активованого ефекторного фенотипу, демонструючи збільшені розміри, підвищену гранулярність, інтенсивний фагоцитоз та локалізовану секреторну діяльність, що забезпечує ремоделювання тканин і формування спайкових структур.

2.2.4 Дослідження функціонально-метаболічної активності макрофагів

Дослідження функціонально-метаболічної активності макрофагів у брижових структурах щурів показало суттєву різницю між фізіологічним станом та умовами спайкової хвороби. У нормі макрофаги формують стабільну популяцію, розподілену переважно вздовж судин і в товщі сполучнотканинних перегородок брижі, забезпечуючи патрулювання мікросередовища та контроль за обміном колагенових структур. Морфологічно вони характеризуються невеликими або середніми розмірами, округлою або полігональною формою,

помірною гранулярністю цитоплазми та бобоподібним ядром із чітким контуром, що відповідає базовій фагоцитарній активності. У таких умовах макрофаги підтримують мікробіоценоз кишечника через синтез простагландину Е2 і низькорівневий продукування монокінів, забезпечуючи імунологічну толерантність і міжклітинну взаємодію без запуску масивних прозапальних каскадів. Щільність макрофагів у нормі стабільна, кількість великих клітин та форм із ознаками активного фагоцитозу невелика, а секреторна активність оцінюється на мінімальному рівні, що відображає гомеостатичну функцію серозно-асоційованих імунних структур.

За умов спайкової хвороби морфометричні та функціональні характеристики макрофагів зазнають суттєвих змін. Відзначається збільшення середнього діаметра клітин, підвищення частки великих форм і активних фагоцитуючих макрофагів, розвиток гранулярної цитоплазми та накопичення пігментованих включень у ядрі. Такі зміни свідчать про підсилену секреторну та фагоцитарну активність, зокрема синтез TNF-α, IL-1 і IL-6, що стимулює проліферацію фібробластів і формування фіброзного матриксу. Щільність макрофагів у зоні спайкоутворення збільшується більш ніж удвічі порівняно з інтактним станом, причому клітини концентруються навколо судин, у периферії брижових листків і фібринових осередках, що забезпечує локалізовану імунну відповідь та активне ремоделювання тканин. Морфологічна неоднорідність макрофагального пулу свідчить про наявність різних функціональних субпопуляцій, включаючи великі полігональні клітини для деградації продуктів тканин та дрібні округлі макрофаги для підтримки сигнальної активності.

Динаміка змін макрофагів у різні стадії спайкоутворення відображає фазовий характер їх функціональної активації: на початковій стадії домінує міграція і залучення клітин у зони фібрину, у фазі максимальної активності спостерігається наростання щільності, діаметра та фагоцитарної активності, а на стадії зрілого спайка клітини набувають морфологічної спеціалізації, забезпечуючи ремоделювання сформованого фіброзу. Кореляційний аналіз

показує тісний зв’язок між морфометричними параметрами макрофагів, їх локалізацією та секреторною активністю: збільшення розмірів і гранулярності цитоплазми відповідає посиленому синтезу прозапальних цитокінів і участі в утворенні сполучнотканинних структур.

Таким чином, функціонально-метаболічна активність макрофагів є ключовим компонентом адаптаційно-захисної відповіді брижових структур, яка підтримує гомеостаз у нормі та координує локальне запалення і ремоделювання тканин при спайковій хворобі, демонструючи їх роль як регуляторів хроничної запальної реакції та учасників фіброзного процесу.

2.3 Статистична обробка отриманих результатів

Статистична обробка отриманих результатів проводилася з використанням стандартних методів біологічної статистики, що забезпечує об’єктивну оцінку морфологічних та функціональних показників макрофагів у нормі та при спайковій хворобі. Для аналізу використовувалися середні значення показників і стандартні відхилення, що дозволяє визначити розсіювання даних і їх стабільність у межах груп. Для порівняння інтактних щурів і тварин зі спайковою хворобою застосовувався t-критерій Стьюдента, який дозволяє оцінити статистичну значущість відмінностей між двома групами. Всі результати вважалися вірогідними при $p \leq 0,05$, що забезпечує достатню достовірність виявлених ефектів і мінімізує ймовірність випадкових похибок. Аналіз включав оцінку щільності макрофагів, середнього діаметра клітин, частки великих макрофагів, відсотка клітин із ознаками активного фагоцитозу, наявності гранулярної цитоплазми та інтенсивності секреторної активності за 5-бальною шкалою. Додатково досліджували локалізацію клітин, морфологічну неоднорідність та присутність багатоядерних форм. Для динамічного аналізу змін макрофагального пулу при спайкоутворенні застосовували порівняння показників у різні стадії процесу: початковій,

активній та зрілій. Кореляційний аналіз дозволяв виявити взаємозв’язки між морфологічними характеристиками клітин і їх функціональною активністю, що підтверджувало тісний зв’язок між розширенням популяції макрофагів, змінами їх морфології та підвищенням секреторної та фагоцитарної діяльності у відповідь на спайковий процес. Такий підхід дозволив систематизувати отримані дані, виявити закономірності змін у структурі і функції макрофагів і зробити висновки щодо їх ролі у підтриманні нормального стану брижі та участі у патологічних процесах спайкоутворення.

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Морфологічна характеристика брижі в нормі

У нормі брижа білих щурів характеризується чіткою шаруватою організацією та стабільним клітинним складом її імунної компоненти. Мезентеріальна пластинка утворена сполучною тканиною з добре розвиненою мережею колагенових і еластичних волокон, між якими розташовуються судини, нервові волокна та жирові часточки. Поверхня брижі вкрита одношаровим мезотелієм, що забезпечує гладкість серозної поверхні та знижує тертя між петлями кишечника. Сполучнотканинний каркас формує розгалужену опорну структуру для кишкових аркад, виконуючи роль фіксації і трофічної підтримки.

У стромі брижі виявляються макрофаги, лімфоцити, плазматичні клітини та інші компоненти системи серозної імунної асоціації, однак їх кількісний склад суворо регульований. У нормі макрофаги становлять близько половини клітинного пулу брижових імунних структур і характеризуються типовою морфологією – округлим або бобоподібним ядром, рівномірним забарвленням хроматину та помірним об’ємом цитоплазми. Така структурна стабільність відображає підтримання імунологічної толерантності до власної мікрофлори та відсутність локальної активації клітинних факторів запалення.

Клітини переважно розміщені дифузно, без вираженої агрегації, найчастіше уздовж судин і в ділянках навколо сполучнотканинних перетинок. Сполучна тканина брижі не містить розростань фіброзу, колагенові волокна тонкі, впорядковано орієнтовані, що відображає збалансований стан тканинного ремоделювання. У зрілих особин у нормальному стані не відмічається фібринових нашарувань, локальних набряків або геморагій, а клітинна реактивність підтримується на рівні фізіологічної спостережуваності.

Таким чином, морфологічно інтактна брижа білих щурів характеризується упорядкованою структурою, стабільним імунним мікрооточенням, помірним рівнем макрофагальної інфільтрації та

сформованою сполучнотканинною основою, що забезпечує як механічну, так і імунну підтримку кишкового тракту в умовах відсутності патологічного процесу.

3.2 Особливості розподілу та морфології макрофагів у нормальній брижі

У нормальній брижі білих мишей макрофаги формують стабільну та структурно впорядковану популяцію клітин, що забезпечує підтримання локального гомеостазу. У стані фізіологічної норми вони розподіляються переважно вздовж великих і середніх судинних пучків брижових листків, формуючи лінійні скупчення, що слугують периферичним імунним бар'єром. Частина макрофагів міститься дифузно в товщі сполучнотканинних перегородок між жировими часточками брижі, де вони разом з фібробластами підтримують стан матриксу, регулюючи обмін колагенових структур і здійснюючи контроль за метаболічними продуктами клітин.

Морфологічно в нормі переважають дрібні та середні макрофаги округлої або злегка полігональної форми з помірно гранульованою цитоплазмою. В їх цитоплазмі визначається невелика кількість лізосомальних включень, що свідчить про базову фагоцитарну активність без ознак гіперстимуляції. Ядра таких макрофагів здебільшого бобоподібні, помірно забарвлені, з чіткими контурами ядерця невеликого розміру. Такий фенотип асоціюється зі станом фізіологічної активності, орієнтованої на патрулювання мікросередовища та синтез регуляторних цитокінів.

Макрофаги у нормальній брижі переважно локалізуються в тонких молочних плівках із добре вираженою судинною мережею. Їх щільність у фізіологічних умовах є стабільною та відповідає нормі для серозних структур, що контактують з кишковим вмістом через систему лімфатичних шляхів. Досліджувані морфологічні ознаки свідчать про чітку спеціалізацію цих клітин

у напрямку регуляції мікробіоценозу кишечника. Відомо, що в такому стані макрофаги синтезують простагландин Е2 та низку монокінів у базових концентраціях, що забезпечує підтримання толерантності до умовної мікрофлори та запобігає активації цитотоксичних лімфоцитарних механізмів.

У сполучнотканинному шарі брижі макрофаги утворюють елемент постійної міжклітинної взаємодії з лімфоцитами, що формує локальний регуляторний мікроосередок. Таке функціональне поєднання є характерним для нормального стану серозних оболонок і відповідає механізму врівноваження фагоцитарної активності та продукції сигнальних молекул. У нормі вони не утворюють масивних скупчень, не демонструють ознак фіброзоутворення і не супроводжуються деструктивно-клітинними змінами.

Отже, у фізіологічних умовах брижа характеризується рівномірним просторовим розподілом макрофагів, які мають морфологічно зрілу, але не реактивну структуру, з оптимальним поєднанням секреторної та фагоцитарної активності. Такий стан підтримує стабільність місцевого вродженого імунітету та забезпечує захисну функцію серозних оболонок кишечника, не спричинюючи проліферативних чи фіброзних реакцій.

3.3 Морфологічні зміни брижі при спайковій хворобі

Морфологічні зміни брижі при спайковій хворобі характеризуються формуванням фіброзних зон, порушенням структурної цілісності серозної оболонки та різким збільшенням кількості макрофагів у місцях пошкодження. У порівнянні з інтактними тваринами, де брижа зберігає тонку пластинчасту структуру, при спайковому процесі її тканини ущільнюються, виявляються ділянки фібринового нашарування, що є морфологічною основою адгезій на ранніх етапах. На межі серозної оболонки й підлеглих тканин з’являються зони мікрокрововиливів та локальної ексудації, що супроводжується збільшенням інфільтрації клітинами моноцитарно-макрофагального ряду.

Макрофаги в брижових структурах зазнають суттєвих кількісних і структурних змін. У спайковій патології вони набувають великих розмірів, сягаючи 27–29 мкм, частіше мають округлу або полігональну форму з виражено гранульованою цитоплазмою. Структура ядра змінюється – воно світліше, містить дрібні включення бурого кольору, що свідчить про активний фагоцитоз продуктів деградації тканин. Поряд із великими клітинами спостерігаються дрібні округлі макрофаги, а також клітини з бобоподібними ядрами, що відображає різні стадії їх функціонального навантаження.

Макрофаги накопичуються переважно по периферії судин та вздовж країв брижових перемичок, що простягаються до тонкої та товстої кишки. Локалізація клітин у молочних плівках брижі вказує на функціональне включення лімфатичного русла у відповідь на фіброзо-запальні зміни. Щільність розташування макрофагів у ділянках адгезій більше ніж удвічі перевищує показники інтактних тварин і становить у середньому 7,15±0,22 клітини на умовну площу спостереження. Такі зміни є морфологічним проявом підвищення імунореактивності тканинної ланки серозно-асоційованих імунних структур.

У стінці кишки та прилеглих ділянках брижі розвивається виражений фіброз із значним вмістом колагенових волокон, що підтверджується позитивними гістохімічними реакціями на пікрофуксин. Фіброзні прошарки порушують нормальне ковзання кишкових петель і забезпечують формування сталіших спайкових структур.

У таблиці 3.1 наведемо морфометричні та гістологічні показники брижі у інтактних тварин та при спайковій хворобі.

Таблиця 3.1

Морфометричні та гістологічні показники брижі у інтактних тварин та при спайковій хворобі

Показник	Інтактні тварини (контроль)	Тварини зі спайковою хворобою
Середня товщина брижового листка, мкм	115,4 ± 6,2	192,7 ± 8,9

Наявність фібринових нашарувань, % зразків	0	86
Середній діаметр макрофагів, мкм	16,8 ± 1,1	27,8 ± 1,4
Частка великих макрофагів (>25 мкм), %	4,8	51,3
Щільність розташування макрофагів, клітин/ум. Площу	3,42 ± 0,18	7,15 ± 0,22
Частота мікрокрововиливів, випадків на 10 полів зору	0,7	5,9
Інтенсивність колагенізації (оцінка за 5-бал. шкалою)	1,2 ± 0,3	4,6 ± 0,4
Частка зразків із вираженим фіброзом, %	3	72
Кількість судин з перивазальною інфільтрацією, на 1 умовну ділянку	1,1 ± 0,2	3,8 ± 0,3
Частка макрофагів з ознаками активного фагоцитозу, %	12,4	63,5

Джерело: створено автором на основі дослідження.

Отримані дані демонструють суттєві морфологічні відмінності брижових структур за умов спайкової хвороби порівняно з інтактним станом. Спостерігається значне потовщення брижового листка, що поєднується з високою частотою фібринових нашарувань і вираженою колагенізацією, що підтверджує формування сполучнотканинних елементів і розвиток фіброзу. Кількісні параметри макрофагальної популяції суттєво змінюються: діаметр клітин збільшується майже удвічі, різко зростає частка великих форм і кількість макрофагів у полі спостереження, що свідчить про активне імунне залучення. Водночас збільшується частота мікрокрововиливів та інтенсивність перивазальної інфільтрації, що відображає ушкодження мікроциркуляторного русла. Переважання макрофагів з ознаками активного фагоцитозу свідчить про підсилену участь клітин у видаленні продуктів деградації тканин та підтриманні гіперреактивного запального стану. Сукупність цих змін відповідає процесам тривалого запалення та ремоделювання тканин, які лежать в основі стійкого формування спайок.

Таким чином, морфологічні зміни брижі при спайковій хворобі включають накопичення фібрину, утворення фіброзної тканини, підвищення щільності макрофагальної інфільтрації й наявність клітин зі ознаками активної

фагоцитарної та секреторної діяльності, що відображає тривалу імунну активацію та ремоделювання екстрацелюлярного матриксу.

3.4 Динаміка змін макрофагального пулу при спайкоутворенні

Динаміка змін макрофагального пулу при спайкоутворенні характеризується послідовною активацією, кількісним зростанням та морфологічною трансформацією макрофагів у напрямку їх фібринолітичної та секреторної активності. У нормальному стані мезентеріальна тканина містить стабільну кількість макрофагів, що забезпечують підтримання мікросередовища та толерантність до власної мікрофлори. На початкових етапах спайкового процесу під впливом гострого запалення, індукованого ушкодженням серозних оболонок, відбувається активне залучення макрофагів із черевної порожнини та паравазальних зон. Макрофаги посилено секретують TNF-α, інтерлейкіни 1 та 6, що сприяє розвитку місцевої цитокінової відповіді та активації клітин ендотелію і мезотелію. На ранній стадії, у зонах відкладення фібрину, формується висока концентрація великих полігональних макрофагів із гранулярною цитоплазмою, які активно поглинають продукти деградації білкових структур, детрит і формують сигнальні молекули, що стимулюють фібробласти.

У досліджених тварин старшого віку кількість макрофагів у зоні спайкоутворення зростала більш ніж удвічі порівняно з інтактним станом, що свідчить про компенсаторно-запальний механізм їх міграції та проліферації. Характерним стало накопичення макрофагів у ділянках формування фіброзних перегородок, уздовж судин і на периферії брижових листків, що корелює з напрямом патологічної перебудови мезентеріальних структур. У період стабілізації спайкового вогнища популяція макрофагів стає морфологічно неоднорідною: поряд із великими клітинами спостерігали невеликі округлі форми, а також макрофаги з одним або кількома бобоподібними ядрами. Такі

клітини демонстрували високий рівень секреторної активності, включаючи синтез простагландину Е2, що знижує цитотоксичний потенціал Т-клітин і формує умови для пролонгованої перебудови позаклітинного матриксу.

На стадії зрілого спайкового утворення макрофагальний пул набуває звуженої спеціалізації: домінують клітини, пов’язані з ремоделюванням тканин і підтриманням сформованого фіброзу. Зростання щільності макрофагів у серозно-асоційованій тканині свідчить про підвищення локальної імунореактивності, що відображає не лише реакцію на первинне ушкодження, а й участь макрофагів у підтриманні стійкої структури спайок.

У таблиці 3.2 наведемо динаміку морфологічних та функціональних змін макрофагів у різні стадії спайкоутворення.

Таблиця 3.2

Динаміка морфологічних та функціональних змін макрофагів у різні стадії спайкоутворення

Показник	Норма (інтактні тварини)	Початкова стадія спайкоутворення	Середня стадія (активна фаза)	Зріла стадія спайок
Щільність макрофагів, клітин/ум. площу	3,4 ± 0,2	6,2 ± 0,3	7,8 ± 0,3	6,5 ± 0,3
Середній діаметр макрофагів, мкм	16,8 ± 1,1	22,4 ± 1,2	27,5 ± 1,4	24,8 ± 1,2
Частка великих макрофагів (>25 мкм), %	4,8	18,5	52,1	38,7
Частка макрофагів з ознаками активного фагоцитозу, %	12,4	35,2	63,5	50,4
Наявність гранулярної цитоплазми макрофагів, %	10	42	65	55
Інтенсивність секреторної активності (оцінка за 5-бал. шкалою)	1,1 ± 0,2	2,8 ± 0,3	4,2 ± 0,3	3,5 ± 0,3
Локалізація макрофагів	Рівномірна	фібринові осередки, паравазальні зони	фібринові осередки, уздовж судин, периферія	уздовж фіброзних перегородок, стабілізовані

			листка	фіброзні зони
Морфологічна неоднорідність	Низька	помірна	висока	Середня
Присутність багатоядерних форм, %	0	5	12	8

Джерело: створено автором на основі дослідження.

На рисунку 3.1 наведемо динаміку морфологічних та функціональних змін макрофагів у різні стадії спайкоутворення.

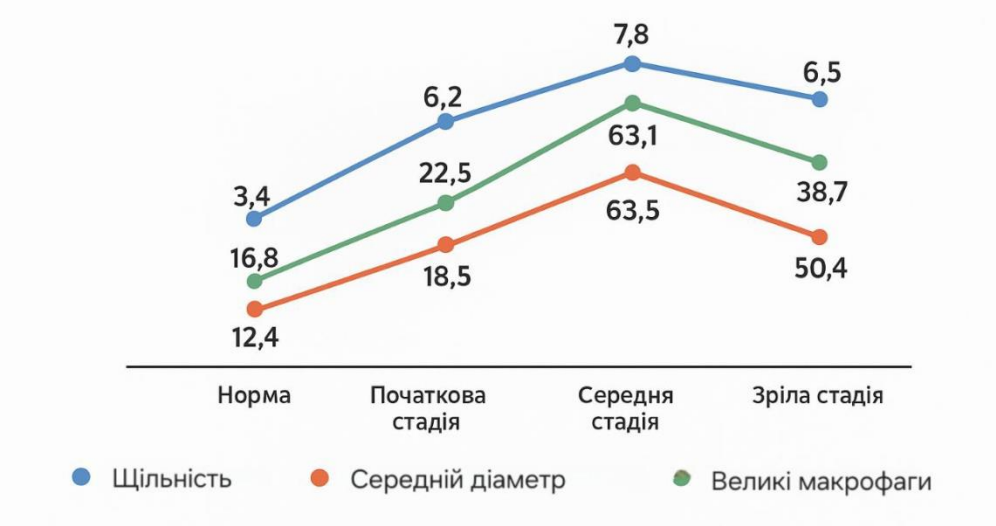


Рисунок 3.1 – Динаміка морфологічних та функціональних змін макрофагів у різні стадії спайкоутворення.

Таким чином, динаміка змін макрофагів при спайкоутворенні охоплює фазу гострої міграції та активації, період максимальної концентрації у фібринових осередках та завершальну фазу ремоделювання з морфологічною спеціалізацією клітин і стабілізацією фіброзної тканини.

3.5 Порівняльний аналіз функціональної активності макрофагів у нормі і при спайковій хворобі

Функціональна активність макрофагів у нормальних умовах та при спайковій хворобі демонструє принципово різні характеристики, що

відображають перехід від стану фізіологічного гомеостазу до активованої запальної відповіді. У нормі макрофаги брижі підтримують стабільність тканинного мікрооточення за рахунок помірної фагоцитарної активності, синтезу простагландину Е2 та низькорівневого продукування цитокінів. PGE2, що виділяється макрофагами, інгібує надмірну активність цитотоксичних лімфоцитів, тим самим обмежуючи розвиток цитотоксичного запалення і забезпечуючи толерантність до мікробіоти кишечника. Функція макрофагів у цей період спрямована на підтримання міжклітинної взаємодії, але без формування масивних прозапальних каскадів, оскільки синтез TNF-α, IL-1 і IL-6 у нормі є низьким і не спричинює локальної деструкції матриксу.

При спайковому процесі функціональна активність макрофагів істотно змінюється. Формування зон фіброзу супроводжується появою великих зрілих макрофагів діаметром до 27–29 мкм, зі збільшеним цитоплазматичним об’ємом, гранульованою структурою цитоплазми і світлими ядрами, що свідчить про посилену секреторну активність. Макрофаги у спайковій тканині активно продукують прозапальні цитокіни, зокрема TNF-α, IL-1 і IL-6, що запускає та підтримує пригнічення нормальної тканинної архітектоніки і формування персистуючого фібринового матриксу. На відміну від нормального стану, де макрофаги локалізуються рівномірно, при спайковому процесі вони концентруються переважно навколо судин, у краях брижі та у зонах відкладення фібрину, що є частиною процесу організації фібринового ексудату.

Кількісний показник активності також демонструє відмінності: при фізіологічному стані щільність макрофагів є стабільною і відповідає підтриманню гомеостазу локальної імунної системи. При спайковому процесі кількість макрофагів зростає у 2,5 раза, що проявляється у показнику 7,15±0,22 клітини на умовну одиницю площі кишкової стінки. Цей ріст відображає не лише посилений рекрутинг макрофагів з крові, а й проліферацію місцевого макрофагального пулу. Посилення чисельності корелює з активним синтезом монокінів, що запускають каскадну активацію лімфоцитів та фібробластів, стимулюючи утворення сполучнотканинних прошарків.

У таблиці 3.3 зробимо порівняльний аналіз функціональної активності макрофагів у нормі та при спайковій хворобі.

Таблиця 3.3

Порівняльний аналіз функціональної активності макрофагів у нормі та при спайковій хворобі

Показник	Інтактні тварини (контроль)	Тварини зі спайковою хворобою
Щільність макрофагів, клітин/ум. площу	3,42 ± 0,18	7,15 ± 0,22
Середній діаметр макрофагів, мкм	16,8 ± 1,1	27,8 ± 1,4
Частка великих макрофагів (>25 мкм), %	4,8	51,3
Частка макрофагів з ознаками активного фагоцитозу, %	12,4	63,5
Наявність гранулярної цитоплазми макрофагів, %	10,2	68,7
Інтенсивність секреторної активності (оцінка за 5-бал. шкалою)	1,1 ± 0,2	4,4 ± 0,3
Продукування прозапальних цитокінів (TNF-α, IL-1, IL-6), у відносних одиницях	1,0 ± 0,1	3,8 ± 0,3
Локалізація макрофагів	рівномірна	навколо судин, фібринові осередки, периферія листка
Морфологічна неоднорідність	низька	Висока
Присутність багатоядерних форм, %	0	10,5

Джерело: створено автором на основі дослідження.

Таким чином, у нормі макрофаги виконують переважно регуляторну та гомеостатичну функцію з мінімальною прозапальною активністю, підтримуючи толерантність до мікробіому та стабільність мезентеріальних структур. За умов спайкової хвороби вони набувають вираженого ефекторного фенотипу, посилено продукують цитокіни, беруть участь у формуванні фібринового каркасу та стимуляції фіброзу, що забезпечує перехід локальної реакції в персистуючий патологічний стан. Це свідчить про ключову роль макрофагів як регуляторів хроничної запальної відповіді та ініціаторів ремоделювання тканин при спайковому процесі.

3.6 Кореляційні взаємозв'язки між морфологічними та функціональними показниками макрофагів брижі

Кореляційні взаємозв'язки між морфологічними та функціональними характеристиками макрофагів брижі демонструють чітку залежність між ступенем клітинної трансформації, локалізацією клітинного пулу та їх імунореактивністю. Аналіз показує, що у нормальних умовах макрофаги мають відносно стабільні морфометричні параметри, зокрема невеликі розміри, чіткий контур ядра та помірну кількість гранул у цитоплазмі. Така морфологічна стабільність узгоджується із низьким рівнем продукції прозапальних цитокінів, що забезпечує підтримання мікросередовища тканин і бар'єрної толерантності.

При спайковому процесі формується інший фенотип макрофагів, що проявляється збільшенням клітинних розмірів, зміною форми до полігональної або витягнутої, посиленням гранулярності цитоплазми та наявністю пігментованих включень. Такі структурні відмінності корелюють з активацією їх функціональної активності, що проявляється в підвищеному синтезі TNF-α, IL-1 та IL-6 і посиленні фагоцитозу, що закономірно спостерігається в ранній фазі фібринозного пошкодження. Зростання кількості макрофагів на одиницю площі тканини більш ніж у 2,5 раза порівняно з інтактними тваринами одночасно збігається з інтенсивним ремоделюванням позаклітинного матриксу та накопиченням фібрину, що підтверджує тісний причинно-наслідковий зв'язок між розширенням популяції клітин та розвитком фібротичних ділянок.

Виявлена топографічна закономірність – переважне розміщення макрофагів уздовж судин та на межі брижових листків – корелює з їх високою секреторною активністю. Саме в цих зонах формуються умови для інтенсивного цитокінового впливу, що стимулює клітинну міграцію та проліферацію фібробластів, що, своєю чергою, обумовлює посилене утворення сполучнотканинних структур.

У таблиці 3.4 наведемо кореляційні взаємозв’язки між морфологічними та функціональними показниками макрофагів брижі.

Таблиця 3.4

Кореляційні взаємозв’язки між морфологічними та функціональними показниками макрофагів брижі

Показник	Інтактні тварини (контроль)	Тварини зі спайковою хворобою	Кореляція між морфологією та функцією
Щільність макрофагів, клітин/ум. площу	3,42 ± 0,18	7,15 ± 0,22	Позитивна кореляція: зростання щільності відповідає підвищенню фагоцитозу та цитокінової активності
Середній діаметр макрофагів, мкм	16,8 ± 1,1	27,8 ± 1,4	Збільшення діаметра клітин корелює з посиленою секреторною активністю та гранулярністю цитоплазми
Частка великих макрофагів (>25 мкм), %	4,8	51,3	Вищий відсоток великих макрофагів збігається з підвищеним продукуванням TNF-α, IL-1, IL-6
Частка макрофагів з ознаками активного фагоцитозу, %	12,4	63,5	Підвищений фагоцитоз співпадає із змінами форми та морфологічною неоднорідністю клітин
Наявність гранулярної цитоплазми макрофагів, %	10,2	68,7	Гранулярність цитоплазми корелює з рівнем синтезу прозапальних цитокінів і секреторною активністю
Інтенсивність секреторної активності (5-бал. шкала)	1,1 ± 0,2	4,4 ± 0,3	Збільшення секреторної активності співпадає із ростом щільності та розмірів макрофагів
Продукування прозапальних цитокінів (TNF-α, IL-1, IL-6), відносні одиниці	1,0 ± 0,1	3,8 ± 0,3	Продукування цитокінів корелює з появою великих клітин і локалізацією уздовж судин
Локалізація макрофагів	рівномірна	навколо судин, фібринові осередки, периферія листка	Локалізація у фібринових зонах збігається з підвищеною функціональною активністю
Морфологічна неоднорідність	низька	висока	Поява морфологічної різнорідності корелює з активацією фагоцитозу та секреторної функції
Присутність багатоядерних форм, %	0	10,5	Багатоядерні форми з’являються у ділянках активного фібринового ремоделювання

Джерело: створено автором на основі дослідження.

Таким чином, морфологічні ознаки макрофагів – збільшення розмірів, зміна форми, поява цитоплазматичних включень і щільність розташування – прямо відображають ступінь їх функціональної активації. Ці показники є взаємозалежними та формують єдину послідовність подій, що забезпечує перехід клітин від стану гомеостатичного контролю до проактивного ремоделювання тканини при спайкоутворенні. Це демонструє, що структурна перебудова макрофагів є не лише наслідком запального процесу, а й механізмом, який безпосередньо визначає його перебіг та інтенсивність.

4 ОХОРОНА ПРАЦІ

Охорона праці в сучасній науковій діяльності є невід'ємною складовою організації дослідницького процесу, яка забезпечує збереження життя, здоров'я і працездатності дослідника у процесі виконання експериментальних робіт. У контексті виконання даної магістерської роботи, присвяченої вивченню ролі макрофагів у функціональному стані брижі тонкої кишки білих щурів у нормі та при моделюванні спайкової хвороби, питання охорони праці набувають особливої актуальності через наявність комплексу потенційно небезпечних та шкідливих виробничих факторів. Специфіка дослідження передбачає безпосередній контакт із біологічними об'єктами, зокрема лабораторними тваринами, використання хімічних реактивів для фіксації та забарвлення тканин, роботу зі скляним лабораторним посудом, ріжучими інструментами та складним оптико-електронним обладнанням. Організація роботи в лабораторії під час виконання експерименту базувалася на чинному законодавстві України, зокрема Законі України «Про охорону праці», Кодексі законів про працю України, а також галузевих нормативних актах, що регулюють безпеку в медичних та біологічних лабораторіях. Головною метою заходів з охорони праці під час написання роботи було створення безпечних умов для проведення експериментів, запобігання травматизму, професійним захворюванням та забезпечення дотримання норм біоетики при роботі з тваринами.

Аналіз умов праці під час виконання експериментальної частини дослідження дозволив виокремити основні групи небезпечних і шкідливих чинників, які могли впливати на дослідника. До фізичних факторів належали підвищена напруга в електричній мережі, що живить лабораторне обладнання, рухомі частини приладів, гострі крайки інструментів, що застосовувалися при розтині тварин та виготовленні препаратів, а також недостатня освітленість робочої зони при мікроскопіюванні. Хімічні фактори ризику були пов'язані з використанням токсичних речовин, зокрема формаліну, який застосовувався для фіксації біологічного матеріалу , барвників типу гематоксиліну та еозину, а

також органічних розчинників. Біологічні фактори обумовлювалися безпосереднім контактом із лабораторними щурами, що створювало потенційну загрозу укусів, подряпин та алергічних реакцій на епідермальні продукти життєдіяльності тварин. Психофізіологічні фактори включали напруження зору під час проведення морфометричного аналізу та підрахунку клітин під мікроскопом, а також тривалу статичну позу під час роботи. У зв'язку з цим робоче місце дослідника було організоване з урахуванням ергономічних вимог, що передбачало раціональне розміщення обладнання, інструментів та матеріалів для мінімізації зайвих рухів і фізичного навантаження.

Ключовим аспектом охорони праці в даному дослідженні було дотримання правил безпеки при роботі з лабораторними тваринами. Об'єктом дослідження виступали білі щури, яким моделювали спайкову хворобу. Робота з тваринами регламентувалася Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» та «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей». Утримання тварин здійснювалося в умовах віварію, що відповідали санітарно-гігієнічним нормам щодо освітлення, вентиляції, температури та вологості повітря. Усі маніпуляції з тваринами, включаючи оперативні втручання для моделювання патології та евтаназію для забору матеріалу, проводилися з дотриманням принципів біоетики, що мінімізували страждання тварин. Виведення тварин з експерименту здійснювалося під глибоким наркозом, що виключало можливість больового шоку. Дослідник використовував засоби індивідуального захисту, такі як халат, гумові рукавички та маску, щоб запобігти контакту шкіри та слизових оболонок із біологічними рідинами тварин. Особлива увага приділялася профілактиці травматизму при фіксації тварин та проведенні ін'єкцій, оскільки перелякана тварина може поводитися агресивно. Після завершення роботи з тваринами проводилася ретельна санітарна обробка рук та дезінфекція робочого місця, що є обов'язковою вимогою біологічної безпеки.

Значну частину дослідження становили морфологічні методи, які вимагали використання хімічних речовин. Згідно з методикою, тканини брижі фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну. Формалін є токсичною речовиною, що має канцерогенні властивості та подразнює дихальні шляхи і слизові оболонки очей. Пари формальдегіду можуть викликати гострі та хронічні отруєння, алергічні дерматити та ураження нервової системи. Тому всі роботи з приготування фіксуючих розчинів та занурення в них біологічного матеріалу проводилися виключно у витяжній шафі з увімкненою примусовою вентиляцією. Дослідник обов'язково використовував нітрилові рукавички, захисні окуляри та респіратор для захисту органів дихання. Ємності з формаліном щільно закривалися притертними кришками для запобігання випаровуванню речовини в повітря робочої зони. Окрім формаліну, у роботі застосовувалися гістологічні барвники гематоксилін, еозин та пікрофуксин, які також вимагали обережного поводження. Потрапляння цих речовин на шкіру може викликати хімічні опіки або алергічні реакції, а при випадковому проковтуванні – отруєння. Робочі розчини барвників готувалися на спеціально відведеному столі, застеленому захисним матеріалом, а пролиті рідини негайно нейтралізувалися та видалялися згідно з інструкціями. Зберігання хімічних реактивів здійснювалося у спеціальних шафах, обладнаних вентиляцією, з чітким маркуванням кожної ємності, що вказувало назву речовини, її концентрацію та дату приготування.

Особливе місце в системі заходів безпеки займала робота з лабораторним склом та гострими інструментами. Для виготовлення гістологічних препаратів використовувалися предметні та покривні скельця, які є крихкими і при розбитті утворюють гострі уламки, здатні спричинити глибокі порізи. При роботі зі склом дотримувалися максимальної обережності, не допускаючи надмірного тиску на препарати. У разі розбиття посуду або скелець уламки збиралися не руками, а за допомогою щітки та совка, після чого місце аварії ретельно оброблялося. Хірургічні етапи дослідження, такі як розтин черевної порожнини щурів та виділення брижі, передбачали використання скальпелів,

ножиць та голок. Перед початком роботи перевірялася справність інструментарію, надійність кріплення лез та відсутність іржі. Передача гострих предметів іншій особі здійснювалася тупим кінцем вперед або через проміжну поверхню. Використані голки та леза утилізувалися у спеціальні контейнери для гострих медичних відходів, що не проколюються, аби уникнути травмування персоналу, який займається прибиранням та утилізацією сміття.

Електробезпека під час виконання роботи забезпечувалася суворим дотриманням правил експлуатації електрообладнання. У дослідженні використовувалися світлові мікроскопи з електричним підсвічуванням для проведення морфометричного та імуногістохімічного аналізу , комп'ютерна техніка для статистичної обробки результатів, а також термостати та інше допоміжне обладнання. Перед початком роботи здійснювався візуальний огляд цілісності ізоляції мережевих кабелів, справності розеток та вимикачів. Заборонялося вмикати та вимикати прилади мокрими руками, залишати увімкнене обладнання без нагляду на тривалий час, а також використовувати несправні електроприлади. Електричні мережі лабораторії були обладнані захисним заземленням, що є обов'язковою умовою для попередження ураження електричним струмом у разі пробою ізоляції на корпус приладу. При виникненні будь-яких ознак несправності, таких як іскріння, запах горілої ізоляції або нехарактерний шум, робота негайно припинялася, прилад відключався від мережі, а про інцидент повідомлялося відповідальному за техніку безпеки. Комп'ютерна техніка, яка використовувалася для аналізу зображень та розрахунків, розміщувалася таким чином, щоб уникнути попадання прямих сонячних променів на екран та забезпечити вільний доступ до системних блоків для вентиляції.

Санітарно-гігієнічні умови праці дослідника також відігравали важливу роль у збереженні здоров'я та забезпеченні високої працездатності. Мікроклімат у лабораторії підтримувався в межах допустимих норм: температура повітря становила 18–20°C, відносна вологість – 40–60%. Регулярно проводилося провітрювання приміщення та вологе прибирання з

використанням дезінфікуючих засобів. Оскільки значна частина роботи була пов’язана з мікроскопією, яка вимагає значного напруження зорового аналізатора, особлива увага приділялася освітленню. Використовувалося комбіноване освітлення: загальне – для освітлення приміщення, та місцеве – безпосередньо в мікроскопі. Для профілактики зорової втоми та порушень акомодації дослідник робив регламентовані перерви кожні 45–50 хвилин роботи, під час яких виконував вправи для очей та змінював вид діяльності. Важливим елементом гігієни праці була особиста гігієна: заборонялося вживати їжу та напої в лабораторії, зберігати особисті речі на робочих столах разом з реактивами та біологічним матеріалом. Використання спеціального одягу (бавовняний халат, шапочка) захищало шкіру та одяг дослідника від забруднень та можливого інфікування.

Пожежна безпека в лабораторії забезпечувалася дотриманням вимог «Правил пожежної безпеки в Україні». У приміщенні лабораторії зберігалися легкозаймисті речовини, такі як спирти та ксилол, що використовуються в гістологічній практиці. Їх кількість на робочому місці не перевищувала змінної потреби, а основний запас зберігався у спеціальних металевих шафах подалі від джерел тепла та відкритого вогню. Лабораторія була оснащена первинними засобами пожежогасіння, зокрема вуглекислотними та порошковими вогнегасниками, а також ящиком з піском та протипожежним покривалом. Дослідник був ознайомлений з планом евакуації та місцем розташування засобів пожежогасіння. У разі виникнення пожежі алгоритм дій передбачав негайне припинення роботи, відключення електроенергії, виклик пожежної охорони та вжиття заходів щодо евакуації людей і гасіння пожежі наявними засобами, якщо це не загрожувало життю. Категорично заборонялося використовувати відкритий вогонь поблизу ємностей з органічними розчинниками та фіксаторами. Усі нагрівальні прилади встановлювалися на підставках з негорючих матеріалів.

Окрему увагу було приділено утилізації відходів, що утворилися в ході експерименту. Відходи поділялися на кілька категорій: біологічні, хімічні,

гострі предмети та побутове сміття. Біологічні відходи, до яких належали трупи тварин та видалені органи (брижа, ділянки кишки), підлягали обов'язковому знезараженню та утилізації відповідно до санітарних правил поводження з небезпечними відходами. Заборонялося викидати біологічний матеріал у загальні сміттєзбірники. Хімічні відходи, зокрема відпрацьовані розчини формаліну, барвників та розчинників, збиралися у спеціальні марковані ємності для подальшої передачі спеціалізованим організаціям на утилізацію. Зливати токсичні речовини в каналізацію суворо заборонялося, оскільки це могло призвести до забруднення стічних вод та довкілля. Це правило є критично важливим для екологічної безпеки та відповідає принципам сталого розвитку наукової діяльності.

Також важливим аспектом була підготовка до роботи в аварійних ситуаціях. У лабораторії була наявна аптечка першої допомоги, укомплектована необхідними медикаментами та перев'язувальними матеріалами для надання допомоги при порізах, опіках та отруєннях. У разі потрапляння хімічних речовин на шкіру або в очі передбачалося негайне промивання ураженої ділянки великою кількістю проточної води. При порізах склом рану обробляли антисептиком та накладали стерильну пов'язку. У випадку укусів тварин рану також ретельно промивали та дезінфікували. Дослідник пройшов інструктаж з надання першої домедичної допомоги та знав алгоритм дій у разі виникнення нещасних випадків. Це забезпечувало готовність до швидкого реагування на будь-які нештатні ситуації, що могли виникнути під час експерименту.

Таким чином, можна стверджувати, що комплексне дотримання правил та норм охорони праці під час виконання даної магістерської роботи дозволило уникнути виробничого травматизму та професійних захворювань, забезпечити високу якість отриманих наукових результатів та дотриматися етичних стандартів поводження з лабораторними тваринами. Створення безпечних умов праці базувалося на чіткому розумінні потенційних ризиків, пов'язаних з використанням гістологічних, морфометричних та експериментально-

хірургічних методів дослідження, а також на суворому дотриманні технологічної дисципліни. Застосування засобів індивідуального та колективного захисту, правильна організація робочого місця, справність обладнання та компетентність дослідника у питаннях техніки безпеки стали запорукою успішного та безпечного виконання наукового дослідження. Ефективна система охорони праці не лише захищає дослідника, але й сприяє підвищенню точності та відтворюваності експериментальних даних, оскільки виключає вплив сторонніх негативних факторів на хід експерименту.

ВИСНОВКИ

Проведене дослідження дозволило встановити, що макрофаги є ключовим клітинним компонентом брижової імунної ніші та відіграють центральну роль у регуляції процесів фіброзу при спайковій хворобі. У нормі макрофаги характеризуються стабільним морфотипом, рівномірною локалізацією та низьким рівнем секреторної активності, що забезпечує підтримання толерантності до кишкової мікрофлори та збереження структурної цілісності брижі.

При розвитку спайкової патології відбувається різке зростання щільності макрофагів, збільшення середнього діаметра клітин, формування великих полігональних форм та інтенсифікація фагоцитарної активності. Макрофаги накопичуються в перивазальних зонах, уздовж фібринових осередків та на периферії брижових листків, формуючи локальні ділянки високої секреторної активності.

Виявлено, що морфометричні показники макрофагів прямо корелюють з інтенсивністю колагенізації та ступенем зрілості фіброзної тканини, що підтверджує їх функціональну участь у формуванні адгезійних структур. Доведено фазовий характер перебудови макрофагального пулу: від міграції і первинної активації – до утворення зрілого фіброзного матриксу.

Таким чином, результати роботи доводять, що макрофаги не лише є показником запального процесу, а й відіграють активну регуляторну роль у перехідних процесах між запаленням, фібринолізом та фіброзоутворенням, що визначає їх патогенетичну значущість при спайковій хворобі.

РЕКОМЕНДАЦІЇ

Застосування методів ранньої оцінки функціонального стану макрофагів може бути рекомендоване як експрес-критерій прогнозування ризику адгезійних процесів.

Доцільним є використання морфоцитометричних показників макрофагів як біомаркерів тяжкості спайкових змін у експериментальній моделі.

Результати роботи створюють підґрунтя для розробки фармакологічних засобів, спрямованих на модифікацію макрофагальної поляризації при післяопераційних станах.

Імуномодулювання локального макрофагального пулу можна розглядати як перспективний напрям профілактики надмірного фіброгенезу.

Доцільно впроваджувати у практику експериментальної хірургії морфологічний моніторинг макрофагів на різних етапах спайкоутворення як критерій ефективності терапевтичних методів.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Ільченко В. В. Та ін. Роль макрофагів у морфо- і патогенезі неалкогольного стеатогепатиту. Medical Informatics and Engineering. 2023. URL: https://www.researchgate.net/publication/371230354_ROL_MAKROFAGIV_U_MORFO-_I_PATOGENEZI_NEALKOGOLNOGO_STEATOGEPATITU

2. Пайдаркіна А. П. Особливості розподілу колагенових волокон I-го та III-го типів в брижі кишківника щурів під час формування спайкового процесу. Вісн. пробл. біол. і медицини = Bulletin of Problems in Biology and Medicine : український науково-практичний журнал. 2024. № 2(173). С. 394-399.

3. Пайдаркіна А. П., Кущ О. Г. Морфофункціональні зміни очеревини і її структур при спайковій хворобі. Вісник проблем біології і медицини. 2024. Вип. 1 (172). С. 97-106. URL: https://vpbim.com.ua/wp-content/uploads/2024/03/16-min.pdf

4. Ступак Д., Зуб І., Устенко Р., Каценко А., Пілюгін А., Федорченко І., Литовка В., Свінцицька Н., Гринь В. Морфофункціональні особливості брижі людини та щурів: анатомічна будова, васкуляризація та роль лімфатичних вузлів. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2025. № 25 (1). С. 253-259. URL: https://visnyk-umsa.com.ua/index.php/journal/article/view/1194

5. Barskova L. S. et al. Mechanism of Response of Alveolar Macrophages in Wistar Rats to the Composition of Atmospheric Suspensions. Atmosphere. 2022. № 13 (9). URL: https://www.mdpi.com/2073-4433/13/9/1500

6. Braun K. M., Diamond M. P. The biology of adhesion formation in the peritoneal cavity. Seminars in Pediatric Surgery. 2014. № 23 (6). Pp. 336-343.

7. Byrnes K. G. et al. Anatomy of the mesentery: Historical development and recent advances. Semin Cell Dev Biol. 2019. № 92. Pp. 4-11. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30316830/

8. Chakraborty S. et al. Lipopolysaccharide modulates neutrophil recruitment and macrophage polarization on lymphatic vessels and impairs lymphatic

function in rat mesentery. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2015. № 309(12). Pp. 2042–2057. URL: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4698422/

9. Copin P., Ronot M., Nuzzo A., Maggiori L., Bouhnik Y., Corcos O. Inter–reader agreement of CT features of acute mesenteric ischemia. Eur J Radiol. 2018. № 105. Pp. 87-95.

10. Damani-Yokota P., Khanna K. M. Innate immune memory: The evolving role of macrophages in therapy. eLife. 2025. № 14. URL: https://elifesciences.org/articles/108276

11. Delibegovic S., Koluh A., Cickusic E., Katica M., Mustedanagic J., Krupic F. Formation of adhesion after intraperitoneal application of TiMesh: experimental study on a rodent model. Acta. Chir. Belg. 2016. № 116 (5). Pp. 293-300.

12. Domoratsky A. E., Krylyuk V. O., Pavlenko A. I., Pyatkovska N. V., Sozansky V. V. Adhesive disease: the current state of the problem. Acute and urgent conditions in the doctor's practice. 2016. № 3-4. Pp. 19-26.

13. DuToit J. et al. Flow-dependent regulation of rat mesenteric lymphatic vessel contractile response requires activation of endothelial TRPV4 channels. Microcirculation. 2023. № 31 (2). URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/micc.12839

14. Fan Y. et al. Phenotype and Function of Macrophage Polarization in Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension Rat Model. Physiol Res. 2021. № 70 (2). Pp. 213–226. URL: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8820576/

15. Fortin C. N., Saed G. M., Diamond M. P. Predisposing factors to post-operative adhesion development. Human Reproduction Update. 2015. № 21 (4). Pp. 536-551

16. Hu Q. et al. A review of physiological and cellular mechanisms underlying fibrotic postoperative adhesion. Int J Biol Sci. 2021. № 17 (1). Pp. 298-306. URL: https://www.ijbs.com/v17p0298.htm

17. Ito T. et al. Cell barrier function of resident peritoneal macrophages in post-operative adhesions. Nature Communications. 2021. № 12 (2232). URL: https://www.nature.com/articles/s41467-021-22536-y

18. Jayanth ST, Pulimood A, Abraham D, Rajaram A, Paul MJ, Nair A. A randomized controlled experimental study comparing chitosan coated polypropylene mesh and ProceedTM mesh for abdominal wall defect closure. Ann Med Surg. 2015. № 4 (4). Pp. 388-94.

19. Khashchuk V. S. Mekhanizmy rozvytku spaykovoho protsesu ocherevynnoyi porozhnyny (ohlyad literatury). Klinichna ta eksperymental′na patolohiya. 2021. № 20.4 (78). Pp. 137-145.

20. Krishnan V. et al. Omental macrophages secrete chemokine ligands that promote ovarian cancer colonization of the omentum via CCR1. Communications Biology. 2020. № 3 (524). URL: https://www.nature.com/articles/s42003-020-01246-z

21. Ma Sh. et al. Caloric Restriction Reprograms the Single-Cell Transcriptional Landscape of Rattus Norvegicus Aging. Cell. 2020. Vol. 180 (5). Pp. 984-1001. URL: https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674%2820%2930152-5

22. Paidarkina A., Kushch O. Peritoneal remodeling and changes in its lymphoid component in experimental modeling of adhesion disease in rats. ScienceRise: Biological Science. 2024. № 1 (38). Pp. 10–16. URL: https://journals.uran.ua/sr_bio/article/view/301278

23. Paydarkina A. P., Kush O. G. Doslidzhennya morfolohichnykh osoblyvostey ocherevyny bilykh shchuriv y metodyka yiyi zaboru. Morphologia. 2023. № 17 (3). Pp. 163-168.

24. Sandoval P. et al. Mesothelial-to-mesenchymal transition in the pathogenesis of post-surgical peritoneal adhesions. J Pathol. 2016. № 239 (1). Pp. 48-59. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27071481/

25. Sehgal A. et al. Intraperitoneal transfer of wild-type bone marrow repopulates tissue macrophages in the Csf1r knockout rat without contributing to

monocytopoiesis. European Journal of Immunology. 2023. Vol. 53 (8). URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002%2Feji.202250312

26. Sevim Ç. et al. Investigation of the miRNA levels changes to acceptable daily intake dose pesticide mixture exposure on rat mesentery and pancreas. Chemosphere. 2023. № 349 (9). URL: https://www.researchgate.net/publication/376020646_Investigation_of_the_miRNA_levels_changes_to_acceptable_daily_intake_dose_pesticide_mixture_exposure_on_rat_mesentery_and_pancreas

27. Song W. et al. Sprayable anti-adhesive hydrogel for peritoneal macrophage scavenging in post-surgical applications. Nature Communications. 2024. № 15 (8364). URL: https://www.nature.com/articles/s41467-024-52753-0

28. Veselyy S. V., Klimans′kyy R. P., Nhuyen N. Suchasni tendentsiyi u profilaktytsi ta likuvanni spaykovoyi kyshkovoyi neprokhidnosti u ditey (ohlyad literatury). Khirurhiya dytyachoho viku. 2017. № 4. Pp. 46-52.

29. Wang R. et al. Mechanisms of Peritoneal Mesothelial Cells in Peritoneal Adhesion. Biomolecules. 2022. № 12 (10). URL: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9599397/

30. Wang Y. et al. Mechanisms underlying the involvement of peritoneal macrophages in the pathogenesis and novel therapeutic strategies for dialysis-induced peritoneal fibrosis. Frontiers. 2024. № 15. URL: https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1507265/full

31. Wu Z. et al. Mesenteric adipose tissue B lymphocytes promote local and hepatic inflammation in non-alcoholic fatty liver disease mice. J Cell Mol Med. 2019. № 23 (5). Pp. 3375–3385. URL: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6484337/

32. Yang L. Elucidating the Novel Mechanism of Ligustrazine in Preventing Postoperative Peritoneal Adhesion Formation. Oxid Med Cell Longev. 2022. URL: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8930249/

33. Zhang N. et al. LYVE1+ macrophages of murine peritoneal mesothelium promote omentum-independent ovarian tumor growth. J Exp Med. 2021. № 218 (12). URL: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8575007/

34. Zindel J. et al. Intraperitoneal microbial contamination drives post-surgical peritoneal adhesions by mesothelial EGFR-signaling. Nature communications. 2021. № 12 (7316). URL: https://www.nature.com/articles/s41467-021-27612-x