

К.П. ОМАРОВА, Ж.С. СУНДЕТОВ, А.Н. ЖЕКСЕНОВА, Г.Е. ТАСКОЖИНА

СОСУДИСТЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ РЕАКЦИИ В ОЧАГЕ АСЕПТИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ У КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ФЕТАЛЬНОЙ ТКАНИ ПЕЧЕНИ

Западно-Казахстанская государственная медицинская академия имени Марата Оспанова, г. Актобе

Актуальность. Успешное решение таких проблем как регенерация и заживление ран, как лечение гепатитов, циррозов печени, склеротических процессов, ревматических болезней или костно-суставных заболеваний связаны с вопросами управления реакциями соединительной ткани [1-4].

Хорошо известно, что в целом ряде случаев классические методы лечения воспалительных процессов не дают хорошего результата, либо заживление затягивается в более продолжительный срок. В связи с этим ведутся постоянные поиски и разработки лечебных препаратов и средств, ускоряющих заживление ран, регулирующих воспаление и более раннее образование грануляционной ткани и эпителизации раны, а также повышающих местные и общие защитные реакции тканей [5,6].

Цель исследования - изучение влияния фетальных гепатоцитов на клеточные реакции в очаге асептического воспаления.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование проведено на 92 белых нелинейных крысах массой тела 180-200 гр., находящихся в условиях вивария научного центра ЗКГМА им. М. Оспанова. Асептическое воспаление вызывалось по модификации Селье у всех экспериментальных животных, разделенных на две группы. В опытной группе животным после вызванного асептического воспаления вводили фетальный материал сразу, инъекции фетального материала производили однократно вблизи воспалительного участка. Фетальный материал готовили в стерильных условиях в операционном блоке научного центра, соблюдая все правила асептики и антисептики. У новорожденных крысят после декапитации извлекали печень, затем её помещали в стерильный прибор для отделения печеночных клеток от стромы [7]. Из расчёта на 1 гр. массы ткани печени добавляли 1 мл физиологического раствора (в 1 мл взвеси содержится до 1×10^7 живых клеток) [8].

Контролем служили животные с асептическим воспалением, которым вводили 0,4 мл физиологического раствора. Для изучения воспалительного процесса в динамике животных забивали через 6, 12, 24, 48, 72 часа и на 5, 7, 12, 14 сутки. В указанные сроки брали образовавшийся гранулемный мешок с охватом здоровой ткани. Материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина и заливали парафином, срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином по Ван-Гизону и азур 2-эозином.

Клеточные реакции в очаге воспаления изучали с помощью морфометрии на гистологических препаратах. При этом стандартно определяли толщину клеточного вала, фибробластической капсулы, плотность нейтрофилов, макрофагов, малодифференцированных и зрелых фибробластов в клеточном вале и за его пределами в периферической зоне, количество слоёв фибробластов в капсуле, концентрацию и степень дегрануляции тучных клеток в очаге (средний показатель дегрануляции - СПД по формуле Astaldu и Verga), а также количество «активных» (т.е. полнокровных) сосудов-артериол, капилляров и венул-подсчитывали на препаратах, окрашенных эритрозинном, с помощью стандартной сетки площадью 50 тыс. мкм², охватывавшую периферическую зону очага воспаления со стороны эпидермиса. Количество коллагена в фибробластической капсуле оценивали морфометрически с помощью окулярной сетки на препаратах, окрашенных пикрофукцином по Ван-Гизону [9]. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Проведенные исследования показали, что при введении фетального материала в период лейкоцитарной и макрофагальной фаз воспаления максимальная концентрация тучных клеток в периферической зоне очага воспаления и максимальная степень их дегрануляции у животных контрольной группы наблюдается через 2 суток от начала воспалительного процесса. У опытных животных максимальные значения этих показателей регистрировались через 3 суток, что указывает на запаздывание реакции тучных клеток. В этот же период воспаления (1-е сутки) у опытных животных установлено уменьшение количества полнокровных сосудов, обеспечивающих развитие воспалительного отека и миграцию лейкоцитов из крови в очаг воспаления. С этим, вероятно, связаны существенные различия процесса формирования лейкоцитарного вала вокруг некротического участка, толщина которого у опытных крыс через 12 часов была вдвое больше, чем у

контрольных ($112 \pm 8,0$ и $56,5 \pm 2,6$ мкм соответственно; $p < 0,01$), а максимальная плотность нейтрофилов в нем $12,1 \pm 3,2$ и $21,6 \pm 2,7$ соответственно; ($p < 0,01$), то есть в 1,5 раза меньше. Снижение плотности клеточного вала у опытных животных наблюдалось и в макрофагальной фазе. Максимальная плотность макрофагов у крыс, получавших фетальную ткань, оказалась в 1,5 раза ниже, чем у контрольных $28,7 \pm 3,4$ и $49,7 \pm 2,2$ соответственно; ($p < 0,05$) при одинаковой толщине вала $101,3 \pm 8,0$ и $104,3 \pm 14,8$ мкм).

Формирование более рыхлого клеточного вала в острый период воспаления в условиях введения фетального материала, вероятно, обусловлено следующими причинами. Во-первых, снижение активации микрососудистого русла под влиянием фетального материала приводит к уменьшению общей или локальной концентрации альбуминоидных комплексов плазмы в очаге воспаления, которые по данным И.В. Афанасьева, взаимодействуя с перекисными радикалами, образуют нейтрофильный хемотоксический фактор [10]. Во-вторых, фетальный материал способен стабилизировать клеточные мембраны, которые в свою очередь вызывают изменение функций и свойств мембран [11], отражаясь на плотности упаковки нейтрофилов и макрофагов в клеточном вале.

В начальной стадии пролиферативной реакции происходит образование малодифференцированных фибробластов с последующим формированием фибробластической капсулы. У животных контрольной группы в периферической зоне очага воспаления максимальное количество малодифференцированных фибробластов насчитывалась $13,0 \pm 0,9$ клеток на 5000 мкм², а у животных опытной группы - лишь $5,0 \pm 0,5$ ($p < 0,001$). Уменьшение максимального количества малодифференцированных фибробластов в 2,7 раза на фоне введения фетального материала свидетельствует об угнетении пролиферативной активности фибробластов, что, по-видимому, связано со стабилизацией клеточных мембран и снижением транспорта в клетки ионов Ca^{2+} , являющихся мощным стимулятором пролиферации [12].

Несмотря на выраженное угнетение пролиферации фибробластов под действием фетального материала, фибробластическая капсула в этих условиях начинает формироваться раньше и уже к 3-м суткам в ней насчитывается в 2,5 раза больше слоев фибробластов, чем у животных контрольной группы ($p < 0,05$), что указывает на ускорение дифференцировки фибробластов под действием фетального материала. Однако после 7 суток воспаления рост капсулы у подопытных животных прекращается, число слоев фибробластов в ней стабилизируется, тогда, как у животных контрольной группы число слоев фибробластов в капсуле продолжает увеличиваться и к 10 суткам превышает в 1,8 раза, чем у опытных крыс ($p < 0,01$). Тем не менее толщина капсулы в этот срок в обеих группах почти одинакова ($31,2 \pm 3,2$ и $27,4 \pm 4,2$ мкм) за счет большого накопления количества коллагена у опытных ($p < 0,05$).

О более раннем завершении воспалительного процесса у животных, получивших фетальный материал, свидетельствуют и данные о количестве полнокровных сосудов в очаге воспаления, которые у опытных животных к 10-м суткам уменьшаются, а у крыс контрольной группы продолжает расти.

Заключение. Таким образом, при введении фетальных гепатоцитов в очаг воспаления увеличивается активность и ускоряется фибробластическая фаза за счет интенсивного накопления и быстрой дифференцировки фибробластов.

Следовательно, фетальные ткани интенсивно стимулируют фибриллогенез, что ведет к раннему завершению воспалительного процесса с образованием прочной фибробластической капсулы.

Литература:

1. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. - М.: Медицина. - 1981. - 312 с.
2. Чернух А.М. Воспаление. - М.: Медицина. - 1979. - 448 с.
3. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. - М.: Медицина. - 1991. - 272 с.
4. Хрущов Н.Г. Цитохимическое исследование происхождения и функции клеток рыхлой соединительной ткани. - Москва. - 1967. - 24 с.
5. Сухих Г.Т. Трансплантация фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1998. - Т. 126. - Прил. 1. - С. 3-17.
6. Репин В.С. Трансплантация клеток: новые реальности в медицине // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1998. - №1. - С. 14-28.
7. Доскалиев Ж.А., Омарова К.П. К вопросу о получении фетальных гепатоцитов и оценка их жизнедеятельности // Астана медициналық журналы. - 2000. - № 4. - С. 80-81.
8. Хрущов Н.Г. Гистогенез соединительной ткани. - М.: Наука. - 1976. - 117 с.
9. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. - М.: Медицина. - 1990. - 387 с.
10. Афанасьев И.Е. Химико-фармакологический журнал. - 1985. - №1. - С. 11-23.
11. Колосова Н.Г., Шишкина Л.Н. Бюллетень экспериментальной биологии. - 1989. - №1. - С. 71-74.
12. Гренадер А.К. Биофизика. - 1984. - Т. 29. - Выпуск 5. - С. 840-841.

ТҮЙІН

К.П. ОМАРОВА, Ж.С. СУНДЕТОВ, А.Н. ЖЕКСЕНОВА, Г.Е. ТАСҚОЖИНА

ФЕТАЛЬДЫҚ БАУЫР ТІНІН ЕНГІЗГЕНДЕ ЕГЕУҚҰЙРЫҚТАРДАҒЫ АСЕПТИКАЛЫҚ ҚАБЫНУ ОШАҒЫНЫҢ ТАМЫРЛЫҚ ЖӘНЕ КЛЕТКАЛЫҚ РЕАКЦИЯСЫ

Марат Оспанов атындағы Батыс Қазақстан мемлекеттік медицина академиясы, Ақтөбе қаласы.

Қабыну ошағына фетальдық гепатоциттерді енгізгенде фибробластардың қарқынды жинақталуымен тез дифференсациялануы әсерінен фибробластикалық фазаның тездетілуі және белсенділігі артады. Сонымен фетальдық тіндер фибриллогенезді қуаттайды, ал ол қабыну процесінің ерте аяқталуы мен нығыз фибробластикалық капсуланың түзілуіне әкеледі.

SUMMARY

K.P. OMAROVA, ZH.S. SUNDETOV, A.N. ZHEKSENOVA, G.E. TASKOZHINA

VASCULAR AND CELLULAR REACTIONS IN THE FOCUS OF ASEPTIC INFLAMMATIONS IN RATS DURING FETAL HEPATIC TISSUE INTRODUCTION

West Kazakhstan Marat Ospanov state medical academy, Aktobe city

During introduction of fetal hepatocytes into the antiseptic inflammation focus the activity and fibroblastic phase are increasing due to intensive accumulation and early differentiation of fibroblasts. Thus, fetal tissues stimulate considerably fibrillogenesis that results in early completion of inflammatory process with formation of dense fibroblastic capsule.

А.С. КУЗДЫБАЕВ, С.И. КУБЕНОВ, К.О. БАЙБОСИНОВ, Р.Т. ШАКЕНОВА

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Западно-Казахстанская государственная медицинская академия имени Марата Оспанова, г. Ақтөбе

Задача данной работы - выяснение возможностей использования биохимических исследований активности кислой фосфатазы и катепсинов в миокарде при определении давности смерти с учетом температуры окружающей среды.

Для биохимического исследования миокарда с целью изучения активности катепсинов были применены микроэкспресс-методики, основанные на спектрофотометрическом определении количества кислоторастворимых продуктов ферментного гидролиза гемоглобина [1-10].

Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г, которым наносилась смертельная черепно-мозговая травма. Трупы животных хранили при температурах +5°, +18-20° и +30° С и относительной влажности воздуха 40-60 %. Материалы для исследования миокарда брали через 6, 12, 24, 36, 48 часов после смерти. В контрольной группе миокард исследовали сразу же после забоя животных, соответственно каждому сроку наблюдения забито по 10 животных.

Биохимическое исследование активности кислой фосфатазы. Температура - 5° С. При хранении трупа в условиях +5° С в миокарде отмечается достоверный подъем активности кислой фосфатазы к 12