

УДК: 616-001.17: 616-092.9: 616-003.93

В.И. Обыденко, А.В. Патеюк, Б.И. Кузник

ВЛИЯНИЕ ВИЛОНА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ОЖОГОВОЙ РАНЫ, МОРФОЛОГИЮ ТИМУСА И НАДПОЧЕЧНИКОВ У ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Росздрава (ректор - заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В. Говорин)

Резюме. Применение вилона при термической травме у крыс приводит к сокращению продолжительности воспалительного процесса в очаге поражения, сокращаются сроки репаративной регенерации кожи. В надпочечниках под влиянием вилона ослабевает стрессовая гипертрофия органа, что сопровождается снижением активности стресс-системы. В тимусе значительно быстрее восстанавливается морфофункциональная структура, при этом отмечается увеличение количества лимфоцитов в корковом веществе, с образованием обособленных групп.

Введение. Проблема изучения регуляторных механизмов поддержания гомеостаза занимает особое место в современной медицине. Регуляция поддержания постоянства внутренней среды представляет собой сложную многоуровневую систему, включающую нейроэндокринные, иммунные, клеточные и молекулярные механизмы [11]. Несмотря на иерархичность, все механизмы регуляции гомеостаза выполняют единую задачу, направленную на координацию процессов биосинтеза и сохранение генетического постоянства клеточного состава органов и тканей организма. Осуществление этой задачи стало возможным благодаря продукции и секреции целого ряда клеточных медиаторов [13,14,15,16]. Ведущая роль в поддержании гомеостаза многоклеточных существ отводится регуляторным пептидам [6,7,8,10,13,14,15,16]. Именно они в первую очередь определяют основные параметры формирования компенсаторно-приспособительных реакций организма на стрессорные воздействия [9,16]. Вот почему нарушение пептидной регуляции и, следовательно, переноса информационных молекул между клетками, неизбежно ведет к развитию патологии, сопровождающейся снижением устойчивости организма к дестабилизирующим факторам внешней и внутренней среды. Активное изучение регуляторных пептидов привело к радикальному переосмыслению механизмов регуляции гомеостаза. Выяснилось, что воздействие на физиологические процессы оказывают олиго-

пептиды. Эти фрагменты обладают определенной направленностью действия, специфичностью и адекватной активностью [9,17]. Это подтолкнуло к созданию синтетических коротких пептидов на основе аминокислотного анализа комплексных препаратов, получивших наименование цитомедины [9,13,14,15,16]. Изучение механизма их действия представляется актуальной теоретической и практической задачей.

Наше внимание привлек тимомиметик - вилон (Lys-Glu), полученный путем направленного химического синтеза на основании аминокислотного анализа препарата тимуса - тималина [13,14,15,16]. Ранее установлено, что вилон обладает выраженными иммуномодулирующими свойствами, способствует нормализации системы гемостаза, проявляет противоопухолевое действие и может применяться в качестве стимулятора регенерации при нарушении репаративных процессов [5,7,8,9].

Целью исследования данной работы явилось изучение действия вилона на процессы регенерации кожи при термической травме на фоне иммобилизационного стресса.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 60 белых беспородных крысах - самцах в возрасте 5-6 месяцев, массой 180 - 200 граммов. В соответствии с целями и задачами исследования экспериментальные животные были разделены на 3 основные группы:

I группа - 15 крыс, подверженных термической травме. Животным путем термокоагуляции моделировали кожное "окно". Травма наносилась под эфирным наркозом. На затылочной поверхности головы крысы удаляли участок кожи до подкожной клетчатки площадью 100 mm^2 . II группа - 15 животных с аналогичными воздействиями, но после иммобилизационного стресса. Стресс вызывался путем однократной 48 часовой иммобилизации. III группа - 15 крыс с иммобилизационным стрессом и термической травмой для коррекции показателей иммунитета и активации процессов регенерации получала вилон в дозе 0,1 мг/кг массы ежедневно в течение 10 дней, начиная с третьих суток после травмы. В качестве сравнения использовалась интактная (контрольная) группа - 15 животных. Для исследования использовали кожу, тимус, надпочечники подопытных животных. Гистологические исследования осуществляли традиционным способом. Использовались морфометрические методы [1].

Результаты исследования и их обсуждение. Установлено, что в области ожога развивается

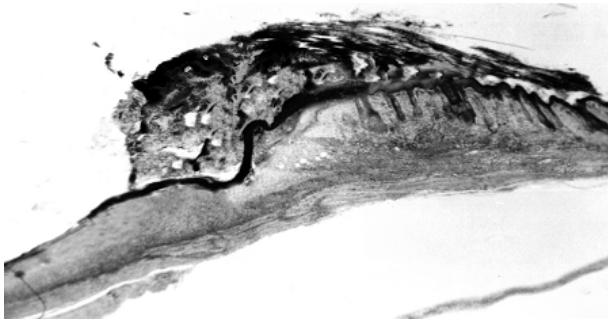


Фото 1. Краевая эпителилизация на 5 сутки после термокоагуляции под воздействием вилюна. Окраска: гематоксилин-эозин; об.x8; ок.x15. а-струп; б-эпителий с краев раны; в-пролиферация фибробластов.

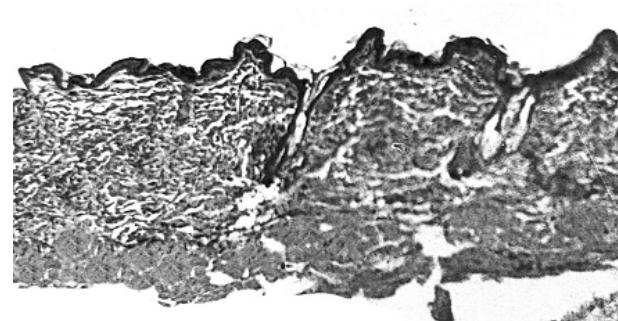


Фото 2. 24 сутки, восстановленная кожа и ее производные - III группа. Окраска: гематоксилин-эозин, об.x8, ок.x15.

тический воспалительный процесс. Через сутки после термокоагуляции рана во всех группах животных выглядела однотипно и соответствовала IIIА - IIIБ степени ожога. Микроскопически в зоне коагуляции наблюдалось формирование некротического дегрита, покрытого пленкой из нитей фибрлина, пропитанной форменными элементами. В дерме отмечалась диффузная лейкоцитарная инфильтрация тканей. Кровеносные сосуды в области раны разрушались и тромбировались, что являлось стандартной реакцией на термическое повреждение. Увеличенная проницаемость сосудов приводила к экссудации плазмы крови в ткани и развитию воспалительного отека кожи, что, как известно, является закономерной реакцией сосудистой стенки на развивающуюся деструкцию тканей и образования огромного количества кислых радикалов из разрушенных биомембранных клеток. Повышенная лейкоцитарная реакция в зоне поражения соответствовала инициальной фазе воспаления, выделяемой рядом авторов в процессе заживления кожных ран [12].

На третьи сутки в течение раневого процесса отмечалась вторая макроскопически выделяемая фаза заживления - раннее уменьшение размеров раны в результате контракции. При микроскопическом исследовании наблюдалось утолщение дна раневого дефекта за счет лейкоцитарной инфильтрации, которая на этот срок достигла максимальной плотности. Среди лейкоцитов большую часть составляли нейтрофилы.

Пятые сутки у животных, получавших вилюн, характеризовались переходом в макрофагическую фазу воспаления, в то время как количество макрофагов в I группе животных было достоверно ниже, чем в III, а во II - практически отсутствовали. Кроме того, у животных III группы определялись упорядоченно расположенные

тучно-клеточные скопления, что подчеркивает усиление функции этих клеток, как регуляторов местного гомеостаза.

Как следствие, наблюдалась пролиферация элементов соединительной ткани - появлялось значительное количество фибробластов. Появление фибробластов у животных, получавших вилюн, свидетельствовало о начале reparativeного периода. У этих крыс были отмечены признаки краевой эпителизации (Фото 1).

Четырнадцатые сутки после термической травмы для животных I и II групп характеризовались воспалительно-регенераторной фазой течения раневого процесса, так как в это время при микроскопическом исследовании под струпом определялись как макрофаги, так и фибробlastы. Для III группы этот период характеризовался завершением фибробластической фазы.

Начало отторжения струпа и процесс полной эпителизации раны у животных, получавших вилюн, проходил раньше, а площадь соединительнотканного рубца была минимальной по сравнению с другими группами животных (Фото 2).

Учитывая изменения иммунного статуса, мы установили, что процесс посттравматической регенерации кожи протекает на фоне морффункциональных изменений иммунокомпетентных органов, а именно центрального органа лимфопоэза и иммуногенеза - тимуса.

Через сутки после травмы в тимусе экспериментальных животных развивались признаки акцидентальной инволюции. На этом фоне происходило уменьшение массы органа. Такое состояние с незначительной динамикой наблюдалось практически до пятых суток.

На пятые сутки, в тимусе животных, получавших вилюн, начиналось активное заселение лимфоцитами и восстановление коркового вещества. Кроме того, происходило увеличение коли-

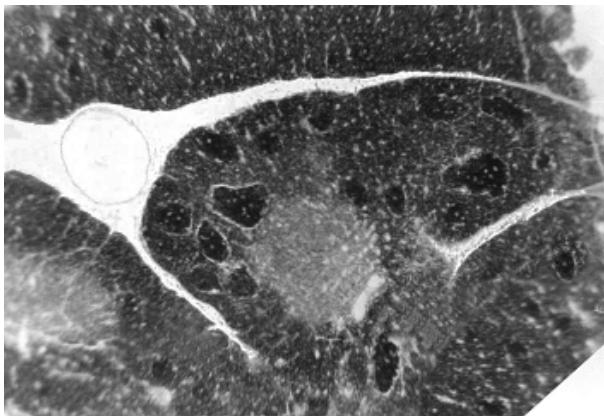


Фото 3. Вариации размеров, форм и расположения участков лимфоцитов с более высокой плотностью в корковом веществе долек тимуса у животных, получавших вилон. Окраска: гематоксилин-эозин, об.х8, ок.х15

чества тканевых базофилов, тогда как в тимусе интактных крыс выявлялись лишь единичные тучные клетки.

Через 14 суток после травмы у животных I группы лимфоциты появлялись только в субкапсулярной зоне, образуя тонкий, местами прерывающийся слой; у животных II группы динамика была незначительной; у III группы животных полностью восстанавливалось корково-мозговое соотношение, но в корковом веществе отдельных долек прослеживались шаровидные образования, схожие по своему строению с мозговым веществом.

Полное восстановление цитоархитектоники долек тимуса у животных III группы наблюдалось на 21 сутки, но при этом в корковом веществе формировались особые структуры разнообразной формы и конфигурации, в которых располагались плотно контактирующие друг с другом лимфоциты. Такие образования имели самую разнообразную локализацию и выраженную структурированную границу, состоящую из тонких ретикулиновых волокон (Фото 3).

У животных I и II групп микроскопическое строение тимуса восстанавливалось только на 24 сутки и практически не отличалось от контроля.

Учитывая влияние стресса на экспериментальных животных, мы обратили внимание на структурные и морфологические изменения надпочечниковых желез и проследили их связь с вилочковой железой.

Через сутки после термической травмы надпочечники резко увеличивались в размерах. При морфометрическом исследовании слоев коры надпочечников крыс экспериментальных групп, вы-



Фото 4. Дегрануляция тучных клеток. III группа, 5 сутки после травмы. Окраска: ШИК-реакция, х 400.

явились морфологические признаки повышения функциональной активности коркового вещества надпочечных желез, причем более выраженные изменения были у стрессированных животных.

Сравнение морфологических параметров коры надпочечников нестressedированных крыс и животных, предварительно подверженных иммобилизации, свидетельствует о том, что термическая травма сама по себе вызывает менее выраженные изменения, чем в комбинации со стрессом.

Через трое суток после термической травмы надпочечники всех групп экспериментальных животных продолжали увеличиваться.

На пятые сутки при морфометрическом исследовании у животных I группы значительной динамики не отмечалось, в исследуемых надпочечниках крыс II группы наблюдалось дальнейшее увеличение массы органа. В то же время у крыс, получавших вилон, адреналовые железы не только переставали увеличиваться, но даже уменьшались в размерах. Также отмечалось уменьшение размеров каждой зоны коры. Обращает на себя внимание тот факт, что впервые при выявлении тучно-клеточного компонента стромы мы выявили на границе коркового и мозгового вещества скопления тканевых базофилов на стадии активной дегрануляции, о чем свидетельствовало наличие ШИК+ гранул (Фото 4). Этого не наблюдалось ни у I, ни у II групп животных.

В последующие сроки отмечалось восстановление морфометрических параметров надпочечников, хотя во II группе сохранялись признаки активации коркового вещества. На 21 сутки структура надпочечников во всех группах практически соответствовала норме.

Из вышесказанного следует, что применение вилона у крыс, подвергнутых термической трав-

ме на фоне иммобилизационного стресса, при-водило к ускорению процессов репаративной ре-генерации кожи с максимальным восстановлени-ем структуры. Это происходило на фоне тучно-клеточной реакции с вовлечением в очаг воспа-ления иммунокомпетентных клеток, регулирую-щих процессы репарации. Всё это, в конечном итоге, сопровождалось сокращением продолжи-тельности воспалительного процесса ожоговой раны. Кроме того, ослабление стрессовой гипер-трофии надпочечников под влиянием вилона, сопровождалось увеличением массы тимуса, вос-становлением его морфологической структуры, увеличением количества лимфоцитов в корковом веществе с образованием обособленных групп тимоцитов.

Таким образом, непосредственно в ране, на фоне применения вилона, сокращается продол-жительность воспалительного процесса. Это свя-зано с вовлечением в очаг поражения иммуно-компетентных клеток, развитием повторной туч-но-клеточной реакции, что стимулирует более ранний переход экссудативной фазы воспаления в пролиферативную. Все это ускоряет процессы репаративной регенерации кожи на месте ожого-вой раны с формированием минимального соеди-нительнотканного рубца.

Под влиянием вилона восстанавливается морффункциональная структура тимуса, значи-тельно быстрее нормализуется его масса, увели-чивается количество лимфоцитов в корковом ве-ществе с образованием обособленных групп лим-фоцитов; ослабляется стрессовая гипертрофия надпочечников, что приводит к снижению актив-ности стресс-системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руко-водство.- М.: Медицина, 1990.-384с.
2. Баркаган З.С., Мамот А.П. Диагностика и корректи-рующая терапия нарушений гемостаза - М.: Нью-диамед, 2001. - 296 с.
3. Будажабон Г.Б. Взаимосвязь иммунитета и гемос-таза в клинике.- Автореф. дисс. д.м.н. - СПб., 1988.- 32с.
4. Витковский Ю.А. Роль цитокинов в регуляции сис-темы гемостаза.- Автореф. дисс. д.м.н.- Чита, 1997.- 40с.
5. Зимин Е.А. Патогенетическое обоснование приме-нения вилона при лейомиомах матки // Автореф. дисс. к.м.н. - Чита, 2001.-20с.
6. Князькин И.В., Полякова В.О. Действие вилона на тимус и селезенку в радиационной модели преждев-ременного старения // Успехи геронтологии.- 2002.- Вып. 9.- С.105-109.
7. Кузник Б.И. Цитомедины - семья пептидов на все случаи жизни // Пептидные биорегуляторы - Цито-медины.- С.-П., 1992.-С.83-84.
8. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Витковский Ю.А. и др. Применение пептидных биорегуляторов в хирургии и онкологии.- Чита, 2001.-352 с.
9. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Пеп-тидные тимомиметики. С.-Пб. Наука. 2000. 157с.
10. Степанов А.В., Цепелев В.Л., Цепелев С.Л., Аюши-ев О.Д. Пептидные регуляторы гуморального иммунитета. Чита, "Поиск", 2002.- 215с.
11. Труфакин В.А., Шурлыгина А.В. Проблемы гисто-физиологии иммунной системы // Иммунология. - 2002.-№1- С. 4-7.
12. Федоров Д.Н., Ивашкин А.Н., Шинин В.В. и др. Морфологическая и иммунологическая характе-ристика репаративных процессов в длительно не заживающих ранах. // Архив патологии.- 2002.- №1.- С.8-11.
13. Хавинсон В.Х. Влияние синтетических пептидов тимуса и эпифиза на процессы иммuno - и гистоге-неза: Тезисы VI Международного конгресса по им-мунореабилитации и реабилитации в медицине // Int. J. Immunoreabilification.-2000.-T.2.-№2.-С.6.
14. Хавинсон В.Х. Тканеспецифическое действие пеп-тидов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2001.-Т.-132. №8.-С. 228-229.
15. Хавинсон В.Х., Егорова В.В., Тимофеева Н.М. и др. Влияние пептидов вилона и эпителиона на всасы-вание глюкозы и глицина в различных отделах тонкой кишки старых крыс // Бюллетень экспери-ментальной биологии и медицины.- 2002.-Т.-133. №5.-С. 570-573.
16. Хавинсон В.Х., Малинин В.В., Чалисова Н.И. и др. Тканеспецифическое действие пептидов в культу-ре тканей крыс разного возраста // Успехи герон-тологии.- 2002.-вып. 9.- С.95-100.
17. Шатаева Л.К., Ряднова И.Ю., Хавинсон В.Х. Ис-следование информационной ценности олигопеп-тидных блоков в регуляторных пептидах и белках // Успехи современной биологии.-2002.- Т. 122.- №3.- С.281-288.