

УДК: 616-001.17: 616-092.9: 612.017.1: 616-005.1-08

ОБЫДЕНКО В.И., ПАТЕЮК А.В., БАРАНЧУГОВА Л.М.
ВЛИЯНИЕ Т-АКТИВИНА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ОЖОГОВОЙ РАНЫ, МОРФОЛОГИЮ ТИМУСА, НАДПОЧЕЧНИКОВ И СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА У ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

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

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 (12). 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 (14, 15, 16, 17). Ведущая роль в поддержании гомеостаза многоклеточных существ отводится регуляторным пептидам (7, 8, 9, 11, 14, 15, 16, 17). Именно они в первую очередь определяют основные параметры формирования компенсаторно-приспособительных реакций организма на стрессорные воздействия (10, 17). Вот почему нарушение пептидной регуляции и, следовательно, переноса информационных молекул между клетками, неизбежно ведет к развитию патологии, сопровождающейся снижением устойчивости организма к дестабилизирующему факторам внешней и внутренней среды.

Активное изучение регуляторных пептидов привело к радикальному переосмыслению механизмов регуляции гомеостаза. Выяснилось, что воздействие на физиологические процессы оказывают олигопептиды. Эти фрагменты обладают определенной направленностью действия, специфичностью и адекватной активностью (10, 18). Это подтолкнуло к созданию синтетических коротких пептидов на основе аминокислотного анализа комплексных препаратов, получивших наименование цитомедины (10, 14, 15, 16, 17). Изучение механизма их действия представляется актуальной теоретической и практической задачей.

Наше внимание привлек Т-активин. Это пептидный препарат, полученный экстракцией из

тимуса крупного рогатого скота, представляет смесь полипептидов с молекулярной массой от 1500 до 6000 дальтон (14, 15, 16, 17). Установлено, что Т-активин обладает выраженными иммуномодулирующими свойствами, способствует нормализации системы гемостаза, проявляет противоопухолевое действие и может применяться в качестве стимулятора регенерации при нарушении reparативных процессов (6, 8, 9, 10).

Целью исследования данной работы явилось изучение действия Т-активина на морфологию тимуса и надпочечников, систему гемостаза и процессы регенерации кожи при термической травме на фоне иммобилизационного стресса.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 40 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 - 10 крыс, подверженных термической травме. Животным путем термоагуляции моделировали кожное "окно". Травма наносилась под эфирным наркозом. На затылочной поверхности головы крысы удаляли участок кожи до подкожной клетчатки площадью 100 мм²; II группа - 10 животных с аналогичными воздействиями, но после иммобилизационного стресса. Стресс вызывался путем однократной 48 часовой иммобилизации; III группа - 10 крыс с иммобилизационным стрессом и термической травмой для коррекции показателей иммунитета и активации процессов регенерации получала Т-активин 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 - 10 животных.

Для исследования использовали кровь, кожу, тимус, надпочечники подопытных животных.

У животных определяли содержание лейкоцитов в периферической крови, исследовали некоторые показатели свертываемости крови и фибринолиза. Все методы, применяемые в наших исследованиях, опубликованы в руководствах (2). Гистологические исследования осуществляли традиционным способом. Использовались морфометрические методы (1).

Все полученные данные обработаны методом вариационной статистики для связанных и не связанных между собой наблюдений, а так же вычислены показатели достоверности различий (Р) (5). Весь цифровой материал представлен в

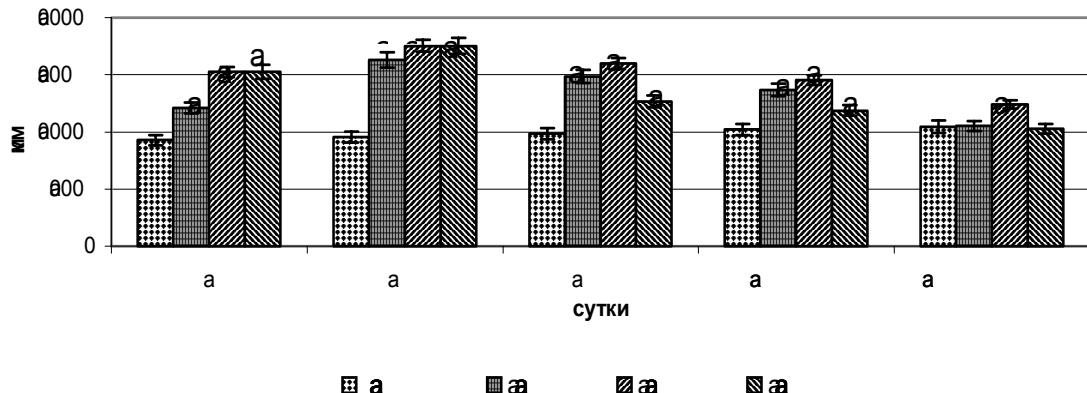


Рис. 1. Динамика числа лейкоцитов у крыс после термической травмы и предварительного иммобилизационного стресса.

виде графиков, с этой целью использовались программы Microsoft Excel 2003, и "BIOSTAT".

Результаты исследования и их обсуждение. Наши наблюдения показали, что уже на первые сутки после термической травмы у крыс развивался выраженный лейкоцитоз, нарастающий вплоть до третьих суток (рис. 1). Особенно сильно число лейкоцитов возрастало у животных, подвергшихся дополнительному стрессу.

Увеличение числа лейкоцитов при термической травме является следствием развития воспалительного процесса, который выступает в качестве защитной реакции, приводящей в конечном итоге к ликвидации патологического процесса.

На пятые сутки во всех экспериментальных группах число лейкоцитов начинало снижаться. У животных, получавших Т-активин, этот процесс был наиболее выражен, и к 14 дню эксперимента число лейкоцитов практически возвращалось к норме, тогда как в аналогичной группе животных, которой вводили физ. раствор, даже на 21 сутки лейкоцитоз сохранялся.

Наши наблюдения показали, что у крыс по-

сле термической травмы развивается гиперкоагуляция: резко сокращается время свёртывания крови и рекальцификации плазмы, АЧТВ, протромбиновое и тромбиновое время, значительно возрастает концентрация фибриногена, тормозится тотальный эуглобулиновый и хагеманзависимый фибринолиз.

Тяжесть этих проявлений более выражена у предварительно стрессированных животных. Введение на этом фоне Т-активина способствует более быстрой нормализации коагуляционного гемостаза и фибринолиза и ликвидирует опасность развития тромботических осложнений.

При гистологическом изучении структуры очага термического повреждения выявлено, что в области ожога развивается типичный 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 детрита, покрытого пленкой из нитей фибрина, пропитанной форменными элементами. В дерме от-

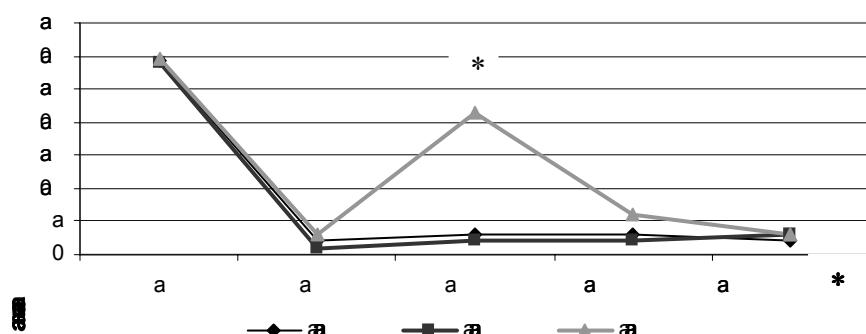


Рис. 2. Динамика количества тканевых базофилов у крыс после термической травмы и предварительного иммобилизационного стресса.

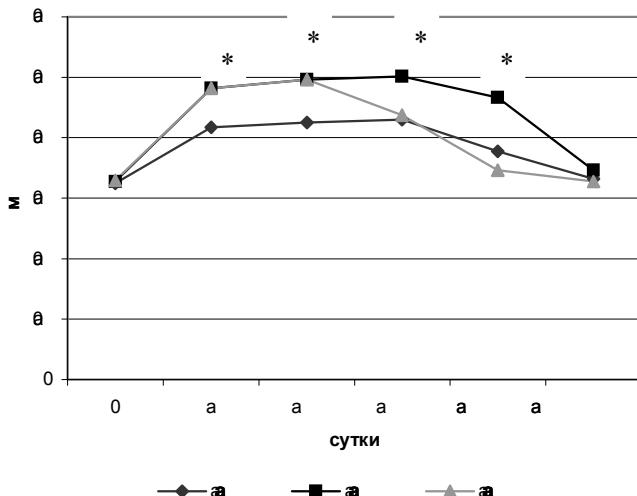


Рис. 3. Динамика массы надпочечников у крыс после термической травмы и предварительного иммобилизационного стресса.

мечалась 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 (13).

На третьи сутки в течении 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 достигала максимальной плотности. Среди лейкоцитов большую часть составляли нейтрофилы.

Пятые сутки у животных, получавших Т-активин, 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 (рис.2).

Как следствие, наблюдалась пролиферация элементов соединительной ткани - появлялось

значительное количество фибробластов. Появление фибробластов у животных, получавших Т-активин, свидетельствовало о начале репаративного периода. У этих крыс были отмечены признаки краевой эпителизации.

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 Т-активин, проходил раньше, а площадь соединительнотканного рубца была минимальной по сравнению с другими группами животных.

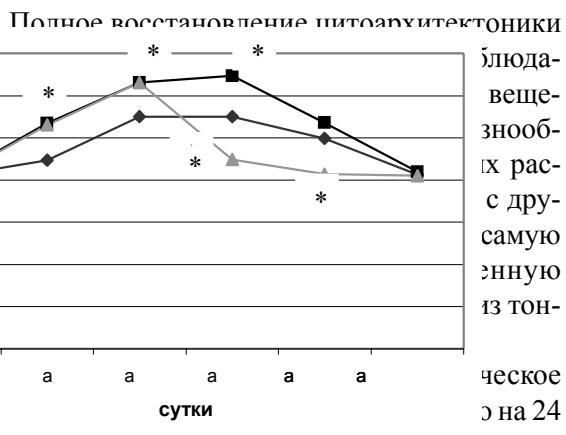
Далее мы установили, что процесс посттравматической регенерации кожи протекает на фоне морффункциональных изменений иммунокомпетентных органов, а именно центрального органа лимфопоэза и иммуногенеза - тимуса.

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 Т-активин, начиналось активное заселение лимфоцитами и восстановление коркового вещества. Кроме того, происходило увеличение количества тканевых базофилов, тогда как в тимусе интактных крыс выявлялись лишь единичные тучные клетки.

Рис. 4. Динамика толщины коркового вещества надпочечников у крыс после термической травмы и предварительного иммобилизационного стресса.

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.



На пять 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 Т-активин, 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. Этого не наблюдалось ни у I, ни у II групп животных.

Через сутки после термической травмы надпочечники резко увеличивались в размерах (рис.3). При морфометрическом исследовании слоев коры надпочечников крыс экспериментальных групп, выявились морфологические признаки повышения функциональной активности коркового вещества надпочечных желез, причем более выраженные изменения были у стрессированных животных (рис.4).

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 Т-активин, 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. 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 Т-активина у крыс, подвергнутых термической травме на фоне иммобилизационного стресса, приводило к ускорению процессов reparативной регенерации кожи с максимальным восста-

новлением структуры. Это происходило на фоне тучно-клеточной реакции с вовлечением в очаг воспаления иммунокомпетентных клеток, регулирующих процессы репарации. Всё это, в конечном итоге, сопровождалось сокращением продолжительности воспалительного процесса ожоговой раны. Кроме того, ослабление стрессовой гипертрофии надпочечников под влиянием Т-активина, сопровождалось увеличением массы тимуса, восстановлением его морфологической структуры, увеличением количества лимфоцитов в корковом веществе с образованием обособленных групп тимоцитов.

Выводы:

1. Термическая травма приводит к развитию гиперкоагуляции у крыс. Тяжесть этих проявлений более выражена у предварительно стрессированных животных. Введение на этом фоне Т-активина способствует более быстрой нормализации коагуляционного гемостаза и фибринолиза и ликвидирует опасность развития тромботических осложнений.
2. Непосредственно в ране, на фоне применения Т-активина, сокращается продолжительность воспалительного процесса. Это связано с вовлечением в очаг поражения иммунокомпетентных клеток, развитием повторной тучно-клеточной реакции, что стимулирует более ранний переход экссудативной фазы воспаления в пролиферативную. Все это ускоряет процессы репаративной регенерации кожи на месте ожоговой раны с формированием минимального соединительнотканного рубца.
3. Под влиянием Т-активина восстанавливается морффункциональная структура тимуса, значительно быстрее нормализуется его масса, увеличивается количество лимфоцитов в корковом веществе с образованием обособленных групп лимфоцитов; ослабляется стрессовая гипертрофия надпочечников, что приводит к снижению активности стресс-системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов// М.: Медицина, 1990.- 384с.
2. Баркаган З.С. Диагностика и корректирующая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Мамот // - М.: Ньюдиамед, 2001. - 296 с.
3. Будажабон Г.Б. Взаимосвязи иммунитета и гемостаза в клинике / Г.Б. Будажабон// Автореф. дисс. д.м.н. - СПб., 1988.-32с.
4. Витковский Ю.А. Роль цитокинов в регуляции сис- темы гемостаза / Ю.А. Витковский // - Автореф. дисс. д.м.н.- Чита, 1997.-40с.
5. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц // М.: Практика. -1999. - 459с.
6. Зимин Е.А. Патогенетическое обоснование применения вилона при лейомиомах матки / Е.А. Зимина // Автореф. дисс. к.м.н. Чита, 2001.-20с.
7. Князькин И.В. Действие вилона на тимус и селезенку в радиационной модели преждевременного старения / И.В. Князькин, В.О. Полякова // Успехи геронтологии.- 2002.- Вып.- 9.- С.105-109.
8. Кузник Б.И. Цитомедины - семья пептидов на все случаи жизни. Пептидные биорегуляторы/Б.И. Кузник// Цитомедины.- С.-П., 1992.-С.83-84.
9. Кузник Б.И. Применение пептидных биорегуляторов в хирургии и онкологии / Б.И. Кузник, В.Х. Хавинсон, Ю.А. Витковский // Чита, 2001.-352 с.
10. Морозов В.Г. Пептидные тимомиметики / В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин // С.-Пб. Наука. 2000. 157с.
11. Степанов А.В. Пептидные регуляторы гуморального иммунитета / А.В. Степанов, В.Л. Цепелев, С.Л. Цепелев, О.Д. Аюшиев//Чита, "Поиск", 2002.- 215 с.
12. Труфакин В.А. Проблемы гистофизиологии иммунной системы /В.А. Труфакин, А.В. Шурлыгина // Иммунология. - 2002.-№1- С. 4-7.
13. Федоров Д.Н. Морфологическая и иммунологическая характеристика репаративных процессов в длительно не заживающих ранах / Д.Н. Федоров, А.Н. Ивашкин, В.В. Шинин// Архив патологии.- 2002.- №1.- С.8-11.
14. Хавинсон В.Х. Влияние синтетических пептидов тимуса и эпифиза на процессы иммуно - и гистогенеза: Тезисы VI Международного конгресса по иммунореабилитации и реабилитации в медицине/В.Х. Хавинсон// Int. J. Immunoreabilitation.-2000.-T.2.- №2.-С.6.
15. Хавинсон В.Х. Тканеспецифическое действие пептидов /В.Х. Хавинсон// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2001.-Т.-132. №8.- С. 228-229.
16. Хавинсон В.Х. Влияние пептидов вилона и эпитеиона на всасывание глюкозы и глицина в различных отделах тонкой кишки старых крыс / В.Х. Хавинсон, В.В. Егорова, Н.М. Тимофеева// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2002.-Т.-133. №5.-С. 570-573.
17. Хавинсон В.Х. Тканеспецифическое действие пептидов в культуре тканей крыс разного возраста / В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин, Н.И. Чалисова// Успехи геронтологии.- 2002.-вып. 9.- С.95-100.
18. Шатаева Л.К. Исследование информационной ценности олигопептидных блоков в регуляторных пептидах и белках / Л.К. Шатаева, И.Ю. Ряднова, В.Х. Хавинсон// Успехи современной биологии.-2002.- Т. 122.-№3.-С.281-288.