

Міжклітинні взаємодії у процесі загоювання експериментальної шкірної рани

На модели експериментальної кожної рани у белых крыс изучено взаимодействие тучных клеток (ТК) и фибробластов в динамике раневого процесса на протяжении 20 сут после повреждения. Установлено, что реакция со стороны ТК наблюдается не только на раннем воспалительном этапе раневого процесса, но и в более поздние сроки. Показано увеличение количества ТК, повышение их функциональной активности, высвобождение и накопление гистамина и серотонина в регенеративной фазе раневого процесса, соотносимое с динамикой фибробластической реакции. Увеличение числа ТК, максимальное накопление аминов совпадают с увеличением количества фибробластов, усиленным новообразованием соединительной ткани на фоне резкого сокращения площади раневого дефекта. Существование тучноклеточно-фибробластических взаимодействий, реализуемых медиаторами воспаления, может представлять важное звено в цепи причинно-следственных отношений раневого процесса, модуляция которых в конечном счете определяет успешность патогенетической терапии ран.

Вступ

Концепція загоювання ран як ауторегуляторного механізму, що діє на клітинно-тканинному рівні, виходить з міжклітинних і міжмедіаторних взаємодій, які визначають зміну клітинних фаз у рановому вогнищі та вираження репаративних процесів. Першорядну роль у цих процесах відіграють фібробласти, що продукують вуглеводно-білкові комплекси основної речовини, утворюють колагенові, ретикулінові, еластичні волокна тощо. Мабуть, цим визначається успішність застосування культивованих фібробластів при опікових ранах [5], а також субстратів для клітинних асоціацій, необхідним компонентом яких є фібробласти [6]. Менше вивчене значення тучних клітин (ТК) у репаративних процесах. Дані, отримані останнім часом в основному *in vitro* або з застосуванням фармакологічних агентів, не виключають їх вплив на загоювання, яке реалізується за допомогою біологічно активних речовин (БАР): гістаміну, серотоніну, гепарину. Вважають також, що концентрація біогенних амінів та їх метаболітів у шкірній рані може бути показником процесу загоювання [7].

На моделі експериментальної шкірної рани у білих щурів нами показано, що ТК і біогенні аміни, гістамін і серотонін спричиняють ранні запальовальні явища [2, 3]. Виражена реакція ТК на більш пізніх етапах загоювання, можливі взаємодії з іншими клітинами дозволяють припустити їх поліфункціональність. Це підтверджують і

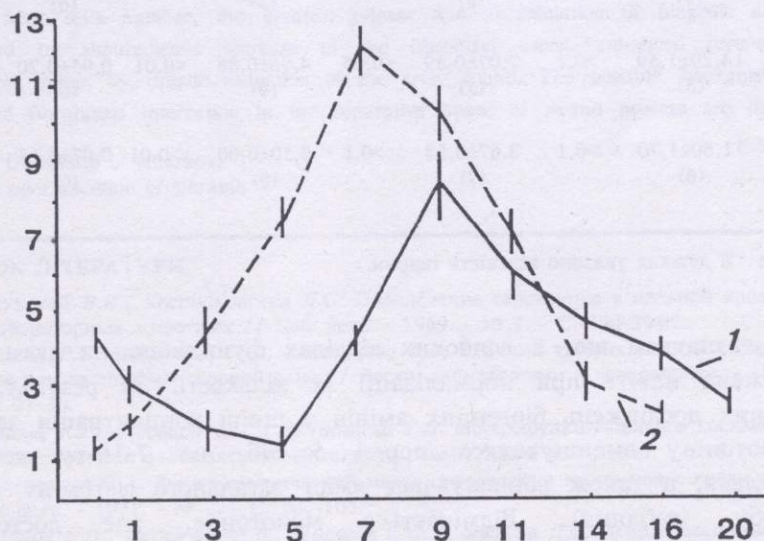
дослідження про вплив запалювальних цитокінів на обмін глюкози у фібробластах шкіри у культурі тканини [8]. Метою нашого дослідження було зіставлення морфофункціонального стану ТК з активністю фібробластів за природних умов розвитку ранового процесу.

Методика

Експерименти проведені на кондиційних білих щурах лінії Вістар. Моделлю ранового процесу була еспериментальна шкірна рана [2, 3]. ТК, гістамін, серотонін і фібробласти вивчали на 1-20-ту добу після нанесення рани. В указані строки тварин декапітували, на дослідження брали частини шкіри ранового вогнища. ТК забарвлювали толуїдиновим синім. Підраховували окремо в субепідермальних і глибоких шарах дерми з урахуванням дегрануляції. Біогенні аміни визначали модифікованими флуореметричними методами [1, 4]. Число фібробластів визначали за допомогою морфометричних методів на зрізах, забарвлених гематоксилін-еозином. Для об'єктивної оцінки загоювання користувалися планиметричними, морфологічними методами (пікрофуксин, гематоксилін-еозин). Одержані результати обробляли статистично за методом Фішера з застосуванням таблиць Стюдента.

Результати та їх обговорення

Число ТК у субепідермальних шарах протягом 5-ти діб достовірно не змінювалося. Частина їх дегранульована незначною мірою. В глибоких шарах дерми кількість ТК знижена (рисунок). Далі число ТК в обох відділах збільшується, сягаючи піку на 7-9-ту добу. Повільно збільшувалася кількість ТК у поверхневих шарах включно до 20-ї до-



Кількість тучних клітин (1) і фібробластів (2) у рановому вогнищі в процесі заживлення експериментальної шкірної рани. По осі абсцис — час після пошкодження (доба); по осі ординат

Концентрація (мкг/г) гістаміну А та серотоніну Б у зоні пошкодження під час загоювання експериментальної шкірної рани у щурів

Умова досліджу	Гістамін				Серотонін			
	загальний		вільний		загальний		вільний	
	x±Sx	P	x±Sx	P	x±Sx	P	x±Sx	P
До пошкодження (контроль)	11,05±1,04 (16)		3,98±0,75 (8)		1,93±0,19 (9)		0,22±0,016 (14)	
Після пошкодження через								
1 добу	11,86±1,50 (5)	>0,1	6,63±0,31 (5)	<0,05	0,78±0,24 (5)	<0,05	0,51±0,04 (6)	<0,001
3 доби	12,76±2,02 (9)	>0,1	6,61±0,52 (6)	<0,05	0,92±0,08 (5)	<0,05	0,40±0,04 (6)	<0,01
5 діб	10,65±1,16 (8)	>0,1	5,91±0,20 (5)	<0,05	0,78±0,23 (12)	<0,05	0,45±0,03 (6)	<0,001
7 діб	16,35±2,29 (9)	<0,05	7,61±1,11 (8)	<0,02	3,10±0,49 (8)	<0,05	0,61±0,05 (6)	<0,001
9 діб	15,70±1,93 (12)	<0,05	7,35±1,12 (8)	<0,2	5,12±0,94 (8)	<0,01	0,64±0,09 (6)	<0,001
11 діб	13,75±2,14 (9)	>0,1	6,80±0,23 (9)	<0,05	3,75±0,74 (9)	<0,05	0,75±0,09 (6)	<0,001
14 діб	12,09±0,86 (9)	>0,1	5,98±0,20 (8)	<0,05	7,99±1,68 (5)	<0,01	1,41±0,16 (6)	<0,001
16 діб	14,29±1,59 (5)	>0,1	7,07±0,59 (5)	<0,05	4,96±0,86 (9)	<0,01	0,95±0,20 (6)	<0,001
20 діб	11,60±1,70 (6)	>0,1	3,67±0,53 (7)	>0,1	2,50±0,60 (9)	>0,01	0,97±0,18 (6)	<0,001

Примітка. В дужках указано кількість тварин.

би. Слід зазначити що, в глибоких відділах функціональна активність ТК виражена навіть при нормалізації їх кількості. За результатами патохімічних досліджень біогенних амінів у шкірі концентрація загального серотоніну зменшувалася перші 5 діб, на 7-16-ту добу - збільшувалася, а також збільшувався вміст загального гістаміну на 7-9-ту добу (таблиця). Відмічається монотонне, але достовірне збільшення вільної фракції моноамінів протягом усього дослідження, зіставлення з дегрануляцією ТК.

Динаміка фібробластичної реакції представлена на рисунку. Кількість фібробластів поступово збільшується на 5-ту добу, досягаючи максимуму на 7-9-ту добу, до 14-ї доби вона не відрізняється від значень, які були на 3-тю добу.

Отримані результати свідчать, що по закінченню запалювальної стадії ранового процесу збільшення функціональної активності ТК у рановому вогнищі, накопичення гістаміну та серотоніну, збільшується з посиленою фібробластичною реакцією, різким скороченням площі ранового дефекту, повним звільненням ранової поверхні від некротизованих тканин, посиленням новоутворенням сполучної тканини. Механізм цих явищ пов'язаний, можливо, з впливом ТК, які секретують біогенні аміни на метаболізм фібробластів, регуляцію їх проліферації, диференцировки, синтез компонентів сполучної тканини. Існування тучноклітинно-фібробластичних взаємодій, що реалізуються медіаторами запалення, може бути важливою ланкою в ланцюгу причинно-наслідкових відношень ранового процесу, модуляція яких у кінцевому рахунку визначає успішність патогенетичної терапії ран.

R.U.Lipshits, T.V.Zvyagintseva

INTERCELLULAR INTERACTIONS IN EXPERIMENTAL SKIN WOUND HEALING

On the model of skin wound in white rats in the dynamics of wound process the interaction of mast cells and fibroblasts was studied. Quantitative, morphological and functional changes of mast cells, the content of free and total histamine and serotonin, the reaction of fibroblasts in the focus of skin lesion during 20 days after injury were investigated. It was established that the mast cells played an important role not only in the early inflammatory phase but also in the later time of wound process. An increase in the mast cells count, in their functional activity, in free and total histamine and serotonin content during the reparative phase of wound process corresponding to the fibroblast reaction was observed. The increase in the mast cells number, the greatest release and accumulation of biogenic amines were paralleled by simultaneous increase in the fibroblast count, enhanced forming of new connective tissue, by drastic reduction of the area wound. The possible mechanisms of mast cells and fibroblasts interaction in the reparative phase of wound process are discussed.

Medical University of Kharkov,
Ministry of Education of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кулинский В.И., Костюковская Л.С. Определение серотонина в цельной крови человека и лабораторных животных // Лаб. дело. - 1969. - № 7. - С. 390-394.
2. Липищ Р.У., Цераидис Г.С., Звягинцева Т.В. Реакция тучных клеток в поврежденной коже при экспериментальной ране // Вестн. дерматологии и венерологии. - 1984. - № 1. - С. 23-30.
3. Липищ Р.У., Цераидис Г.С., Звягинцева Т.В. Морфофункциональное состояние тучных клеток кожи вне очага экспериментальной раны // Там же. - 1986. - № 6.
4. Мецержкова С.А. Флуорометрический метод определения гистамина в крови и тканях // Лаб. дело. - 1971. - № 2. - С. 103-105.
5. Туманов В.П., Глуценко Е.В., Морозов С.С., Саркисов Д.С. Использование культивированных фибробластов при лечении ожоговых ран // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1990. - 2, № 4. - С. 400-402.
6. Caldwell M.D. Local glutamine metabolism in wounds and inflammation // Metabolism. - 1989. - 38, № 8, suppl. 1. - P. 34-39.

7. *Maeno Yoshitaka*. Experimental studies on the vital reaction in wounded skin - simultaneous observation of biogenic amines in incised skin wounds // Nagoya Med. J. - 1991. - 36, № 1. - P. 23-24.
8. *Taylor D.J., Taragher E.B., Evanson J.M.* Inflammatory cytokines stimulate glucocorticoid uptake and glycolysis but reduce glucose oxidation in human dermal fibroblasts in vitro // Circ. Schoch. - 1992. - 37, № 2. - P. 105-110.

Харків. мед. ун-т
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 10.07.95