

М. В. Проша

Реакція регенеруючої сполучної тканини на ацетилхолін у динаміці денерваційно-реіннерваційного процесу

Исследовали грануляционную ткань тыльных ран обеих стоп у крыс на 7-е сутки заживления в условиях многократных аппликаций ацетилхолина (АХ) в концентрациях 0,02 и 0,0002 г/л. В норме АХ вызывал усиление воспалительной реакции и отрицательно сказывался на состоянии регенерирующих тканей кожи. В ранние сроки после передавливания правого седалищного нерва патологическая реакция денервированных ран на АХ усиливалась (быстро формировались трофические язвы), неденервированных контралатеральных ран — уменьшалась по сравнению с интактными животными. На более позднем сроке нейродистрофического процесса в денервированных и неденервированных ранах отмечалось позитивное действие АХ. После реиннервации происходила нормализация холинореактивности грануляционной ткани двусторонне нанесенных ран.

Вступ

Дослідження тонких механізмів реактивності сполучної тканини залишається складною проблемою. Одним із шляхів її вирішення є вивчення процесу регенерації, де означена тканина бере активну участь, забезпечуючи закриття різноманітних дефектів. Пластична функція сполучної тканини яскраво проявляється при загоєнні ран; порушення цієї функції внаслідок різних причин зумовлює утворення трофічних виразок, лікування яких складне [13, 16]. Однією з причин, що призводить до появи виразок на шкірі, є травма периферичної нервої системи. Це викликає загальні порушення стану організму та структурно-метаболічні розлади у вогнищі денервації [1, 2]. Зміна чутливості та реактивності тканин до медіаторів і гормонів разом зі стійкими зрушеннями у їх концентрації, як вважається, є одним з головних механізмів нейродистрофічного процесу [3, 7]. Для його фармакологічної корекції доцільно використовувати холіноміметики для компенсації відносного переважання адренергічного ланцюга регуляції [5].

Метою нашої роботи було дослідження холінореактивності регенеруючої сполучної тканини шкіри на моделі нанесення ран з їх місцевою обробкою розчином ацетилхоліну (АХ) у різні терміни після пошкодження периферичного нерва.

Методика

Експерименти проведено на 44 нелінійних шурах-самцях масою 140–170 г. Денервацію дистальної частини задньої кінцівки виконували за асептичних умов передавлюванням правого сідничного нерва на межі верхньої та середньої третин стегна під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Шкірні рани наносили видаленням повношарових ділянок шкіри розмірами 5×7 мм на тильних поверхнях обох стоп під аналогічним наркозом. Нанесення ран на стопах виконували

© М. В. Проша, 1999

одночасно з десенервациєю нерва та виявленням змін в структурі та функції тканин.

На 3–6-тижневому періоді обробляли рану ацетилхоліном або чистим ланцюгом макрофагів ранового процесу, що включала в себе заливання в параспінальну рану фронтальною хромовими кватроподібними кислотами методом введення макрофагів (МФ) в рану обчисловими квасцями з діаметром 130×130 мкм.

У кожній з десенервованих та середнього віку лівих стоп виявлені рані за критерієм та

Результати
При місцевому введення ацетилхоліну в рану судин, що виходять з неї, виникає некротизація, яка відбувається на шкірі відповідно до розташування регенеративних зон. Розглянемо залежність від часу дії ацетилхоліну в ділянці ран.

Таблиця 1. Вплив ацетилхоліну на холінореактивність грануляційної тканини в десенервованих та середнього віку лівих стоп

Група десенервованих стоп	Час дії АХ, мін	Зміна чутливості до АХ, %
Десенервовані стопа	0	100
Десенервовані стопа	15	100
Десенервовані стопа	30	100
Десенервовані стопа	60	100
Десенервовані стопа	120	100
Середнього віку ліві стопа	0	100
Середнього віку ліві стопа	15	100
Середнього віку ліві стопа	30	100
Середнього віку ліві стопа	60	100
Середнього віку ліві стопа	120	100

Примітка. Таблиця 1.

* Р < 0,01 – статистично значуща залежність.

одночасно з денервацією, через 7 діб або через 42 доби після неї. Це дозволяло виявити зміни чутливості регенеруючих тканин у динаміці денерваційно-реінерваційного процесу. Контрольним тваринам наносили рані тільки на стопах.

На 3-6-ту добу ділянку загоєння рані стоп контролючих і дослідних тварин обробляли маззю на основі ланоліну, що містила АХ у концентрації 0,02 г / л, або чистим ланоліном двічі на добу. Евтаназію всіх тварин робили на 7-му добу ранового процесу введеним летальної дози тіопенталу натрію. Ділянку шкіри, що включала в себе рану, фіксували в 10 %-му нейтральному формаліні та заливали в парафін. Зрізи (товщиною 8 мкм) робили перпендикулярно поверхні рані у фронтальній її площині й забарвлювали азуром II-еозином та галоцианін-хромовими квасцями [9]. Морфометрію регенеруючої сполучної тканини здійснювали методом оцінки її клітинного складу [6]. Кількість фібробластів (Φ), макрофагів (М), поліморфноядерних лейкоцитів (ПЯЛ) у грануляційній тканині рані обчислювали в 10 полях зору на зрізах, забарвлених галоцианін-хромовими квасцями з використанням квадратно-сітчастої окулярної вставки розмірами 130×130 мкм.

У кожній групі вираховували середні значення показників (М) та помилку середнього (m) окремо для денервованих ран правої кінцівки та неденервованих ран лівої кінцівки. Достовірність відмінностей між показниками оцінювали за критерієм t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

При місцевому впливі розчину АХ в інтактній групі відмічаються різке розширення судин, загальмоване дозрівання грануляційної тканини та її вторинна некротизація, змертвіння регенеруючого епідермісу, яке може розповсюджуватися на шкіру крайів рані, збільшення розмірів дефекту. Сполучнотканинний регенерат має підвищену кількість М і ПЯЛ, що відображає посилення запалення в ділянці рані; крім того, збільшується число Φ (табл. 1, 2). Подібні

Таблиця 1. Клітинний склад грануляційної тканини правих (денервованих) і лівих (неденервованих) ран стоп після місцевого впливу чистого ланоліну ($M \pm m$)

Умова досліду	Кількість клітин у полі зору		
	Фібробласти	Макрофаги	Поліморфноядерні лейкоцити
Без денервації (контроль, $n = 10$)			
з нанесенням ран			
з правого і лівого боку	$55,2 \pm 2,0$	$50,5 \pm 1,9$	$40,1 \pm 2,6$
Денервація одночасно з нанесеним			
ран на стопах ($n = 6$)			
з правого боку	$41,4 \pm 1,8$	$29,4 \pm 0,9^*$	$25,1 \pm 1,8$
з лівого боку	$45,5 \pm 1,7$	$35,9 \pm 1,0^*$	$25,6 \pm 1,9$
Денервація за 7 діб до нанесення			
ран на стопах ($n = 5$)			
з правого боку	$56,5 \pm 3,2$	$42,4 \pm 1,7$	$34,8 \pm 4,0$
з лівого боку	$49,5 \pm 2,0$	$42,0 \pm 1,4$	$37,6 \pm 2,2$
Денервація за 42 доби до нанесення			
ран на стопах ($n = 6$)			
з правого боку	$54,9 \pm 2,4$	$56,6 \pm 3,7$	$47,6 \pm 3,9$
з лівого боку	$63,2 \pm 7,7$	$49,2 \pm 2,2$	$39,9 \pm 2,3$

Примітка. Тут і в табл. 2 n — кількість досліджених ран у кожній групі,

* $P < 0,01$ — статистично достовірна різниця між показниками правих та лівих ран.

результати відмічались у наших більш ранніх дослідженнях [4], що були проведені на моделі загоєння ран на спині у щурів. Можливим механізмом такого ефекту може бути полегшення вивільнення гістаміну з тканинних базофілів при холінергічній стимуляції [8, 15]. Отже, дія АХ на шкіру рану при його місцевому застосуванні полягає у посиленні симптомів запалення в ділянці рани, що негативно відбувається на регенеруючих тканинах шкіри.

Вплив розчину АХ на рани, денервовані в ранні терміни, є надзвичайно негативним. Такий висновок можна зробити навіть без мікроморфологічного дослідження, а тільки на основі спостереження за швидким перетворенням більшості подібних ран у трофічні виразки. Відмічається набряк кінцівки, розширення дефекту на бічній поверхні стопи та втрати пальців внаслідок самокалічення. Незважаючи на суттєві відмінності зовнішнього вигляду ран у щурів цієї групи, клітинний склад грануляційної тканини не дуже сильно відрізняється від контролю. Зовсім іншою була дія АХ на контралатеральні (неденервовані) рані дослідних тварин. Відмічається істотне зменшення їх розмірів, зниження числа ПЯЛ, та підвищення Ф, повна відсутність патологічних змін грануляційної тканини. Все це вигідно відрізняє вплив АХ на рани з неушкодженою іннервацією від його дії як на денервовані рани, так і на рани у інтактних тварин.

Патологічну зміну реакції на АХ, відмічено у ранні терміни денерваційного процесу. Відбувається це саме під час дегенерації нервових волокон нижче від місця травми нерва. За літературними даними [14, 17, 18], при різноманітних подразненнях з аферентних нервових волокон вивільнюються деякі фізіологічно активні речовини з прозапальною дією. Можна припустити, що ці фактори, які мають біологічний ефект, подібний до АХ, виходять під час валеровської дегенерації у дерму, змінюючи її реактивність. На цьому фоні вплив розчину АХ викликає різке порушення регенераторних процесів. Дати пояснення протилежним змінам холінреактивності неденервованих ран можна, якщо врахувати наші дані відносно дослідження адренореактивності на цьому ж терміні денервації

Таблиця 2. Вплив ацетилхоліну на клітинний склад грануляційної тканини правих (денервованих) і лівих (неденервованих) ран стоп (M±m)

Умова досліду	Кількість клітин у полі зору		
	Фібробласти	Макрофаги	Поліморфноядерні лейкоцити
Без денервації (контроль, n = 10)			
з нанесенням ран			
з правого і лівого боку	63,6 ± 2,3**	57,7 ± 1,6**	56,1 ± 2,5**
Денервація одночасно з нанесенням ран на стопах (n = 6)			
з правого боку	36,7 ± 1,7*	40,9 ± 1,5**	32,4 ± 25*,**
з лівого боку	67,3 ± 1,7*,**	36,1 ± 1,2	15,1 ± 0,9*,**
Денервація за 7 діб до нанесення ран на стопах (n = 5)			
з правого боку	62,9 ± 1,8*	41,1 ± 1,8*	23,5 ± 2,0*
з лівого боку	49,8 ± 1,7*	33,9 ± 1,1*,**	36,3 ± 2,5*
Денервація за 42 доби до нанесення ран на стопах (n = 6)			
з правого боку	67,4 ± 3,0**	55,3 ± 3,2	47,5 ± 3,8
з лівого боку	60,4 ± 29	52,1 ± 2,4	47,3 ± 3,3

** P < 0,01

[12]. Негативні впливи на заживлення ран залежать від підвищення концентрації АХ, але не є однозначними. Однак, погіршення заживлення ран відбувається відсутністю антагоніста АХ, який є нейродістректором.

На більш ранніх стадіях заживлення ран через 7 діб від нанесення ран відбувається відсутністю підвищення концентрації АХ в ранах як доказується підвищеною розвитку грануляційної тканини, зменшеною кількості нейтрального запалення та зменшеною кількістю клітинного компонента заживлення. На більш пізніх стадіях заживлення ран відбувається збільшення кількості клітинного компонента заживлення, якщо відсутність АХ відбувається відсутністю підвищення концентрації АХ в ранах як доказується підвищеною розвитку грануляційної тканини, зменшеною кількості нейтрального запалення та зменшеною кількістю клітинного компонента заживлення.

Реіннервація заживлення ран відбувається відсутністю підвищення концентрації АХ, подібно до дії АХ на ділянці рани, якщо відсутністю підвищення концентрації АХ в ранах як доказується підвищеною розвитку грануляційної тканини, зменшеною кількості нейтрального запалення та зменшеною кількістю клітинного компонента заживлення.

Таким чином, заживлення ран відбувається відсутністю підвищення концентрації АХ в ранах як доказується підвищеною розвитку грануляційної тканини, зменшеною кількості нейтрального запалення та зменшеною кількістю клітинного компонента заживлення.

M. V. P. REACTI- ON AC- DENER-

The granulation tissue was less proliferative in the group, A, than in the control group. A positive effect of acetylcholine on the regeneration of ulcers was less pronounced in the group, A, than in the control group. A negative effect of acetylcholine on the regeneration of ulcers was more pronounced in the group, A, than in the control group.

[4], що були зумовлені механізмом дії базофілів на рану при його відрізанні в ділянці рани,

є надзвичайно морфологічного перетворенням кінцівки, рознаслідок само-
відрізання ран у щурів ю відрізняється (неденервовані) від інших, зниження грануляційної іннервациєю варин.

денерваційного окон нижче від різноманітних фізіологічних факторів, які залежать від валеровської вплив розчину яснення проти-
важко врахувати термін денервациї

нуляційної стоп (M±m)
буру
оліморфноядерні лейкоцити

56,1 ± 2,5**

32,4 ± 25*, **
51 ± 0,9*, **23,5 ± 2,0*
36,3 ± 2,5*47,5 ± 3,8
47,3 ± 3,3

[12]. Негативний характер реакції на норадреналін денервованих і неденервованих ран зумовлений, як можна припустити, стресовою реакцією у вигляді підвищення вмісту деяких фізіологічно активних речовин у кровотоці. Не дивно, що при високому вмісті катехоламінів та інших «гормонів стресу» переважно ерготропної дії [1], застосування екзогенного норадреналіну привело до погіршення трофіки регенеруючих тканин шкіри, а вплив його функціонального антагоніста АХ — речовини з трофотропною дією — навпаки, до покращання стану рані. Отже, можна зробити висновок про різноспрямовані зміни холінреактивності в денервованих і неденервованих ранах під час ранніх термінів нейродистрофічного процесу.

На більш пізному терміні нейродистрофічного процесу, при нанесенні ран через 7 діб після пошкодження нерва, дія АХ призводить до покращання стану регенеруючої сполучної тканини. Позитивний ефект медіатора відмічається в ранах як денервованих, так і неденервованих кінцівок, і полягає у швидкому розвитку грануляційної тканини, активної епітелізації, відсутності ознак надмірного запалення та вторинної некротизації тканин у ділянці дефекту. Морфометричне дослідження виявило асиметрію між денервованими та неденервованими ранами, але, на відміну від попереднього терміну експерименту, протилежного знаку. На боці передавлення сідничного нерва при дії АХ спостерігається збільшення числа Ф та М, і зменшення ПЯЛ порівняно з неденервованою кінцівкою. Позитивний ефект АХ може зумовлюватися значним посиленням адренергічного каналу регуляції, що є типовим для нейродистрофічного процесу [5]. Отже, холінреактивність регенеруючої сполучної тканини на середньому терміні денервациї залишається зміненою, причому не тільки в денервованих, але й у неденервованих ранах шкіри.

Реіннервація стоп після передавлення сідничного нерва, підтверджена нейрогістологічними дослідженнями, призводить до часткової нормалізації холінреактивності регенеруючої сполучної тканини в ранах обох кінцівок. При дії АХ, подібно до інтактної групи, відмічається посилення запальної реакції у ділянці рані, але морфометричне дослідження не виявило повного відновлення реакції на медіатор. Це може бути пов'язано з тривалістю ендокринних змін і метаболічних порушень після пошкодження ділянок периферичної нервової системи [10, 11].

Таким чином, нами зареєстровані фазні зміни реактивності регенеруючої дерми до АХ як у денервованих, так і в неденервованих ранах шкіри у тварин з передавленням сідничним нервом.

M. V. Prosha

REACTIONS OF REGENERATING CONNECTION TISSUE ON ACETYLCHOLINE UNDER DYNAMICS DENERVATIVE-REINNERVATIVE PROCESS

The granulation tissue of wounds on upper surface of feet on the 7th day under repeated acetylcholine (ACh) application (0,02 g/1) was studied. In the control group, Ach induced intensification of inflammatory process and bad condition of regenerating tissue of skin. This pathological reaction increased (fastly appeared ulceration) at once after crushing of right sciatic nerve in the denervated wound. It was less pathological in the contralateral (innervated) wounds. The effect of ACh was positive on later term of neurodystrophic process in the denervated wound and in the

contralateral one. Cholinceptive of granulation tissue of bilateral wound became normal after reinnervation.

A.A. Bogomolets National Medical University, Kiev

М. С. Гнатюк

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ажина Я.И. Трофическая функция нервной системы. — М.: Наука, 1990. — 672 с.
2. Багрова Т.А., Грибоедова Т.В. Динамика кислородного обмена в травматически поврежденных нервных стволах. — В кн.: Периферическая нервная система. Вып. 13. — Минск: Навука і тэхніка, 1990. — С. 6-17.
3. Бергер Э.Н. Нейрогуморальные механизмы нарушения тканевой трофики. — К.: Здоров'я, 1980. — 104 с.
4. Грабовой А.Н., Проша М.В. Состояние гемомикроциркуляторного русла раненых регенераторов при адрен- и холинергической стимуляции. — В кн.: Структурно-функциональные единицы и их компоненты в органах висцеральных систем в норме и патологии. — Харьков, 1991. — С. 59.
5. Гриценов А.И., Рыбаченко П.В., Фомин Р.Ф. и др. Нейродистрофические расстройства при минно-взрывной травме и возможности их коррекции // Воен.-мед. журн. — 1993. — № 1. — С. 31-39.
6. Кабак К.С.Ю Костинский Г.Б. Количественное исследование клеточного состава регенерирующей соединительной ткани: — В кн.: Морфология человека. Вып. 12, 1982. — 2 с.
7. Левин С.Л. О втором принципе закона денервации // Вест. АМН СССР. — 1985. — № 10. — С. 78-85.
8. Липшиц Р.У., Нечитайлло Ю.Д. Влияние ацетилхолина на освобождение гистамина в раннюю фазу острого асептического воспаления // Физiol. журн. — 1988. — 34, № 4. — С. 53-56.
9. Луппа Х. Основы гистохимии. — М.: Мир, 1980. — 343 с.
10. Нечипуренко Н.И., Гаврилина Т.В. Функциональное состояние некоторых эндокринных желез при травматическом поражении периферических нервов. — В кн.: Периферическая нервная система. — Вып. 10. Минск: Наука и техника, 1987. — С. 31-34.
11. Нечипуренко Н.И., Грибоедова Т.В. Состояние некоторые ферментов углеводного обмена, молочной и пировиноградной кислот при нейродистрофическом процессе в эксперименте. Там же. — Вып. 11. — Минск: Наука и техника. — 1988. — С. 11-16.
12. Проша М.В. Вплив норадреналіну на регенеруючу дерму в динаміці нейродистрофічного процесу // Фізiol. журн. — 1996. — 42, № 3-4. — С. 98.
13. Шехтер А.Б. Репаративная регенерация и дисрегенерация (роль межклеточных взаимодействий). — В кн.: Современные проблемы регенерации. Фармакологическая регуляция регенерации. — Йошкар-Ола, 1987. — С. 48-62.
14. Basbaum A.I., Levine J.D. The contribution of the nervous system to inflammations and inflammatory disease // Can. J. Physiol. and Pharmacol., 1991. — 69, № 5. — С. 647-651.
15. Blandina P., Fantozzi R., Mannatoni P.F., Masini E. Characteristics of histamine release evoked by acetulcholine in isolated rat mast cells // J.Physiol. — 1980. — 301, № 7. — P. 281-293.
16. Krasner D. Minimizing factors that impair wound healing: a nursing approach // Ostome Wound Manage. — 1995. — 41, № 1. — P. 22-32.
17. Pinter T., Szolcsanyi J. Plasma extravasation in the skin and pelvic organs evoked by antidromic stimulation of the lumbosacral dorsal roots of the rat // Neuroscience. — 1995. — 68, № 2. — P. 603-614.
18. Shakhanebeh J., Abo-Galyon Y. Effects of inflammation on plasma extravasation and mast cell response in normal and denervated rat skin // Skin Pharmacol. — 1996. — № 9. — P. 203-210.

Нац. мед. ун-т
ім. акад. О. О. Богомольця, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 25.03.97

Вплив ендокринних гормонів при токсичному зараженні

В патологічному стані відбувається зміна в структурі та функції класичної та не класичної нервової тканини, що веде до дії гормонів та інших факторів на нервову тканину.

Вступ

Місцевий імунний відповідь відбувається в різноманітніх тканинах тіла, зокрема в крові, які безпосередньою залежністю від генетично індивідуальних умов, при яких вони реагують на певні агенти на поверхні та всередині тіла, певною мірою залежною від пошкодження тканин, пальниковому процесу, під час пластом і місцевої логічних умов та функцій систем повинності та імунності, зокрема ного коліту. Особливість цієї залежності з великою мірою відбувається не дослідженням, а при його ураженням.

Метою нашої роботи було дослідження тету кишечника та місцевої логічних умов та функцій систем повинності та імунності, зокрема ного коліту. Особливість цієї залежності з великою мірою відбувається не дослідженням, а при його ураженням.

Методика

Дослідження проводилися на три

© М. С. Гнатюк,