

Сполучна тканина щурів та її реакція на гостре локальне запалення в різних органах

А.І. Березнякова¹, В.Ф. Черемісіна¹, О.Д. Жемела², Г.П. Гученко¹

¹Національний фармацевтичний університет, Харків;

²Національний університет ім. В.Н. Каразіна, Харків; e-mail: chermishav@gmail.com

Фазові зміни сполучної тканини щурів у відповідь на місцеве пошкодження мають як локальний, так і генералізований характер. Етапність процесів, що відбуваються у віддалених від вогнища запалення органах, відповідають класичній схемі розвитку запальної реакції: на ранніх строках – переважання ексудативних явищ, які на більш пізніх строках (2 доби) змінюються проліферацією. Секреторна активність тучних клітин, індекс гранулолізу мастоцитів сполучної тканини шлунка збільшувалася в 1,7 раза, а оптична щільність знижувалася. На 2-гу добу вміст лейкоцитів і кількість макрофагів сполучної тканини шлунка виявився суттєво меншими за значення в контролі і знижувалися в 1,6 раза відносно 6-годинних показників. Кількість тучних клітин відновлювалася до значень контрольної групи. Одержані результати свідчать про те, що при місцевому запаленні змінюється і стан міжклітинної речовини сполучної тканини. Разом з реакцією клітин імунної системи – лейкоцитів, макрофагів, тучних клітин, спостерігаються генералізовані зміни клітин фібробластичного ряду – підвищення їх кількості, продукції колагену, зміни проліферативного потенціалу.

Ключові слова: гостре запалення; сполучна тканина; фібробласти; макрофаги; тічні клітини; колаген.

ВСТУП

Нині широко обговорюється роль імунної системи в реакціях адаптації до дії екстремальних факторів [1]. Так, детально охарактеризовано значення лімфоїдних клітин у регуляції регенерації тканин і метаболічних процесів в організмі, [2], активно вивчається участь системи фагоцитуючих мононуклеарів у цих процесах [3], а також висловлюється гіпотеза про регуляторну роль системи тучних клітин [4]. Зазначені клітинні елементи не ізольовані один від одного, а знаходяться в тісному взаємозв'язку і реалізують основний спектр своєї активності в складі сполучної тканини. Реакція організму на дію різних екстремальних чинників багато в чому залежить від стану сполучної тканини. Найбільш яскравим прикладом цього є запалення. В останні роки теорія запалення зазнала значних змін. Традиційні уявлення

про місцевий характер цього типового патологічного процесу доповнені теорією системного запалення [5], а вона поділяється далеко не всіма авторами. Водночас не викликає сумніву той факт, що реакція сполучної тканини, яка складає основу запалення, не обмежується лише місцем ушкодження, а охоплює всю тканину загалом. При цьому слід очікувати, що вираженість реакції повинна змінюватися з віддаленням від місця запалення. При всій очевидності такого припущення, воно виявилось недостатньо експериментально обґрунтованим.

Мета нашої роботи – вивчення стану сполучної тканини різних органів щурів в умовах гострого запалення.

МЕТОДИКА

Експеримент проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 250-270 г, яких було

розділено на 2 групи – контрольну (n=10) та дослідну (n=20). Тварин препарували в один самий час доби під етамінал-натрієвим наркозом [6].

Традиційно для експериментального відтворення гнійного асептичного запалення використовують різні хімічні подразнюючі агенти – скипидар, кротонове масло, формалін тощо, а також інертні речовини – каолін, вату, пластик, дерево, скло. Ексудативне запалення моделюють за допомогою декстрану і карагінину. Щоб уникнути подальшої наявності флогогенного агента в осередку, застосовують моделі термічного або променевого запалення. Крім того, існує ціла низка моделей інфекційного запалення [6]. Нами було обрано скипидарне запалення як легко відтворювана, точнодозуюча і безпечна для персоналу класична модель гострого локального асептичного запалення з вираженою клітинною реакцією. Цей процес викликали одноразовим введенням 0,5 мл скипидару під шкіру спини [7]. Тварин виводили з експерименту через 6 год (n=10) і 2 доби (n=10) після його введення.

Для підтвердження розвитку запальної реакції на обох термінах оцінювали показники периферичної крові за допомогою 18-параметрового геманалізатора Celly 70. Для гістологічного дослідження і вивчення реакції сполучної тканини у щурів вилучали тимус, надниркові залози, шлунок, кишечник, слизову альвеолярного відростка парадонта і шкіру зі спини (місце введення скипидару). Матеріал фіксували в 10%-му нейтральному формаліні, цинковому фіксаторі, фіксаторі Буена. Стандартне гістологічне проведення виконували за допомогою автоматичного тканинного процесора Leica TP1020 з наступним заливанням матеріалу в парафін на процесорі Leica EG1160. Гістологічні зрізи товщиною 3-5 мкм готували на санному мікротомі Leica SM2000R.

Для оцінки загальної морфологічної картини і кількості фібробластів в органах препарати фарбували гематоксиліном і еозином. Тучні клітини візуалізували за допомогою

гістохімічного фарбування протеогліканів основним коричневим. Функціональну активність мастоцитів вивчали за середньою оптичною щільністю клітин, визначення якої проводили автоматично за допомогою програми Відеотест Морфологія 5.2. Також обчислювали індекс гранулолізу і коефіцієнт дегрануляції як показника мерокринової та апокринової секреції відповідно [8]. Перший розраховували як відсоток мастоцитів з оптичною щільністю не більше ніж 0,150 ум.од., а коефіцієнт дегрануляції – як відсоток тучних клітин з явищами виходу гранул за межі цитоплазми. Підрахунок макрофагів проводили на препаратах, пофарбованих імуногістохімічно за допомогою первинних антитіл Mouse Anti-Rat Monocytes / Macrophages [CD 68] Monoclonal Antibody (Millipore) із застосуванням ензиматичного демаскування антигенів. Кількість лейкоцитів оцінювали за експресією CD45 (Mouse Anti-Rat CD45; BD Bioscience). Проліферацію клітин сполучної тканини аналізували за експресією Ki-67 (Mouse Anti-Human Ki-67; BD Bioscience). Наразі як вторинні антитіла використовували Biotin Goat Anti-Mouse Ig (Multiple Adsorption; BD Bioscience). Імуногістохімічне фарбування здійснювали непрямим пероксидазним методом за стандартними протоколами [9], візуалізацію реакції антиген-антитіло - за допомогою 3,3-діамінобензидину. Кількість клітин сполучної тканини підраховували з використанням світлового мікроскопа Leica DM2500 при збільшенні об'єктива у 100 разів у 20 полях зору з наступним перерахунком на 1 мм². Вираженість інтерстиціального набряку оцінювали за відносною часткою сухої речовини і води в досліджуваних органах, а також вимірюванням діаметра судин мікроциркуляторного русла (прекапілярів, капілярів і посткапілярних венул). Сушу масу органів визначали висушуванням зразків у термостаті при 37° С до постійної маси.

Обмін колагену в досліджуваних органах оцінювали за сумарним вмістом оксипроліну

методом Bergman і Loxely за реакцією з парадиметиламінобензальдегідом. Спектрофотометричне визначення концентрації оксипроліну в пробах проводили при довжині хвилі 558 нм. При цьому обчислювали вміст оксипроліну в мікрограмах на 1 мг сухої речовини органа, кількість колагену – на одиницю сухої маси і відсоток колагену в органі. Для визначення кількості колагену застосовували множинний коефіцієнт 6,94 [10].

Аналіз результатів виконували в пакеті статистичних програм Statistica 8.0. Значення представляли у вигляді середнього арифметичного (M) \pm стандартна помилка середнього (m). Для оцінки значущості відмінностей між групами застосовували критерій Манна-Уїтні. При перевірці статистичних гіпотез використовували 5%-й рівень значимості [11].

Експериментальні маніпуляції здійснювали відповідно до принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986), «Загальних принципів експериментів на тваринах», схваленими І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та вимог «Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» (2012) [12].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені морфологічні дослідження свідчать, що через 6 год після підшкірної ін'єкції скипидару в ділянці запалення в глибоких шарах дерми і в підшкірній клітковині спостерігалися вогнища деструкції сполучної тканини з вираженим набряком. Перифокально визначалася виражена лейкоцитарна інфільтрація, дифузна міомаліяція, інтерстиціальний набряк. Всі деривати шкіри були збережені. Навколо структур дерми спостерігали дифузне гнійне запалення. На 2-гу добу межі вогнища деструкції стали більш вираженими. У центрі його посилювався набряк, а з зовнішнього боку від сформованого лейкоцитарного валу визначали досить широкий

шар грануляційної тканини з новоутвореними капілярами, фібробластами і поперечно-по-смуговою м'язовою тканиною з вогнищевим запаленням без міомаліяції (без некрозу). Осередок деструкції чітко спостерігався в підшкірній жировій клітковині. У дермі були мінімальні явища запалення – інфільтрація окремими лімфо-гістіоцитарними елементами, а також слабо виражений набряк.

У периферичній крові при запаленні розвивався нейтрофільний лейкоцитоз: кількість нейтрофілів інтактних тварин становила $2,57 \pm 0,20 \cdot 10^3/\text{л}$, а через 6 год збільшувалася до $4,65 \pm 0,54 \cdot 10^3/\text{л}$ ($P \leq 0,05$). У дослідній групі достовірно знижувався вміст лімфоцитів з $7,20 \pm 0,35 \cdot 10^3$ до $5,78 \pm 0,52 \cdot 10^3/\text{л}$. Крім реакції клітин білої крові через 6 год підвищилася кількість тромбоцитів з $638,00 \pm 22,96 \cdot 10^3$ до $855,69 \pm 53,10 \cdot 10^3/\text{л}$ і тромбокрити з $0,43 \pm 0,01$ до $0,56 \pm 0,03$ %. Це, мабуть, є частиною неспецифічної стресорної реакції на вплив флогогену. До 2-ї доби вміст лімфоцитів периферичної крові був знижений щодо контролю ($5,99 \pm 0,43 \cdot 10^3/\text{л}$), а решта показників білої крові і тромбоцитів відновлювалася до контрольних значень.

Оцінка відносного вмісту сухої речовини і води в досліджених органах свідчить про те, що розвиток ексудативних явищ спостерігається не тільки в осередку запалення, а й на віддаленні від нього (табл. 1). Так, на 6-ту годину розвитку запалення відносна маса сухої речовини надниркових залоз і шкіри у вогнищі запалення ставала менше, ніж в інтактних органах. Це вказувало на розвиток набряку. У тимусі і кишечнику показники не змінювалися. На 2-гу добу в надниркових залозах відносна маса сухої речовини збільшувалася порівняно з 6-годинними показниками і поверталася до контрольних значень. У тимусі та кишечнику співвідношення сухої речовини і води не відрізнялися від контрольних значень. При цьому в шкірі спини у вогнищі запалення спостерігали наростання ексудативних явищ. Проведені морфометричні дослідження

свідчать також про збільшення в вогнищі запалення через 6 год після введення скипидару (див. табл. 1) діаметра дрібних судин (прекапілярів, капілярів, посткапілярних венул). Відзначали також розширення судин мікроциркуляторного русла (МЦР) у тимусі. У надниркових залозах, кишечнику і слизовій альвеолярного відростка пародонта на відстані від вогнища запалення діаметр судин не відрізнявся від значень контрольної групи. Через 2 доби в тимусі діаметр судин МЦР залишався збільшеним відносно контролю (див. табл. 1). У ділянці запалення в шкірі спини підвищувалися показники як щодо контролю, так і відносно значень, що спостерігалися через 6 год. В інших досліджених органах статистично значущих змін не відбувалося. Таким чином, у вогнищі запалення збільшувався діаметр дрібних судин і підвищувалася їх проникність з

розвитком набряку. На віддаленні від вогнища запалення вміст води в органах також дещо підвищувався, але це не було пов'язано зі змінами просвіту судин МЦР.

При аналізі реакції встановлено, що загальне число клітин сполучних тканин через 6 год після ініціації запалення збільшувалося в капсулі надниркових залоз в 1,4 раза порівняно з контролем (табл. 2). В інших органах на ранньому терміні достовірних змін не спостерігали. На 2-гу добу загальний вміст з клітин більшився в надниркових залозах і тимусі в 1,7 раза, слизовій альвеолярного відростка пародонта – в 1,5 раза порівняно з контролем. Водночас у шлунку знижувалася в 1,5 раза сумарна кількість клітин сполучної тканини. Аналіз експресії Ki-67⁺ свідчить, що проліферативна активність клітин сполучної тканини в різних органах у відповідь на запалення

Таблиця 1. Показники стадії ексудації в органах щурів при гострому скипидарному запаленні (M±m)

Схема досліджу	Органи	Суха маса, %	Вода, %	Діаметр судин мікроциркуляторного русла, мкм
Контроль	Надниркові залози	32,7±1,81	67,31±1,81	10,7±1,89
	Тимус	24,9±0,51	75,1±0,51	10,5±1,15
	Кишечник	21,1±1,91	79,1±1,91	11,9±1,17
	Слизова альвеолярного відростка пародонта	50,5±3,47	49,5±3,47	11,1±1,05
	Шкіра спини (місце введення)	42,8±1,12	57,2±1,12	11,1±1,05
Запалення 6 год	Надниркові залози	28,8±0,46*	71,2±0,46*	10,4±0,82
	Тимус	25,1±0,82	75,1±0,82	15,1±0,37*
	Кишечник	22,7±0,65	77,4±0,65	12,4±2,08
	Слизова альвеолярного відростка пародонта	41,3±2,66*	58,7±2,66*	10,4±0,97
	Шкіра спини (місце введення)	23,5±1,01*	76,5±1,01*	17,0±0,91*
2 доби	Надниркові залози	33,4±1,74**	66,6±1,74**	11,8±0,94
	Тимус	25,3±0,85	74,7±0,85	13,6±1,57*
	Кишечник	22,1±0,40	77,9±0,40	9,9±0,29
	Слизова альвеолярного відростка пародонта	50,6±1,77**	49,4±1,77**	11,7±0,91
	Шкіра спини (місце введення)	19,2±2,11*	80,9±2,11*	21,9±0,80*/**

Примітки: тут і в табл. 2, 3 * P≤0,05 відносно контролю; ** P≤0,05 відносно дослідної групи (6 год).

змінюється неоднаково. Через 6 год після введення скипидару в 3,8 раза збільшувалася кількість проліферуючих клітин сполучної тканини шкіри порівняно з контролем (див. табл. 2). У капсулі надниркових залоз, навпаки, цей показник знизився в двічі. На 2-гу добу запалення вміст Кі67⁺-клітин сполучної тканини збільшувався в надниркових залозах, тимусі і шкірі спини в 6,4, 2,7 і 7,1 раза відповідно порівняно з контролем. У шлунку число клітин, які діляться, знижувалося в 2,4 раза порівняно з 6-годинними показниками.

Відомо, що стромальні клітини в фізіологічному стані мають невисоку проліферативну активність. При цьому діляться переважно клітини фібробластичного ряду. Дефінітивні форми лейкоцитів, макрофагів і тучних клітин можуть проліферувати під впливом низки факторів [13-15]. Однак у цілому вони не схильні до поділу. Тому

експресію ядерного протеїну Кі-67, що спостерігалася в сполучній тканині, можна пов'язати переважно з фібробластиками, частково лімфоцитами (в тканинах, асоційованих з лімфовузлами, наприклад, в кишечнику) і малодиференційованими клітинами-попередниками. При оцінці внеску окремих типів клітин у формування реакції на запалення встановлено, що через 6 год після введення скипидару в сполучнотканинній капсулі надниркових залоз у 1,5 раза підвищувалася кількість клітин фібробластичного ряду. Щільність лейкоцитів, навпаки, знижувалася в 3,4 раза, число макрофагів і тучних клітин не змінювалося. Однак спостерігалася активна дегрануляція мастоцитів, про що свідчило підвищення коефіцієнта дегрануляції втричі зниження оптичної щільності стовбурних клітин. Активація секреції мастоцитів капсули надниркових залоз у розвитку адаптивних реакцій організму має

Таблиця 2. Загальна кількість клітин сполучної тканини щурів в різних органах та показники проліферації при гострому скипидарному запаленні (M±m)

Схема досліджу	Органи	Кількість клітин	
		загальна	Кі-67 ⁺
Контроль	Надниркові залози	2178,6±174,86	44,4±5,85
	Тимус	1290,3±140,65	49,8±14,37
	Кишечник	4103,1±211,68	364,2±38,16
	Шлунок	5209,3±101,73	84,1±18,93
	Слизова альвеолярного відростка пародонта	2140,1±178,54	38,1±6,20
Запалення 6 год	Надниркові залози	3102,0±302,06*	21,8±2,54*
	Тимус	1171,3±58,91	74,7±23,06
	Кишечник	3609,9±192,82	308,5±47,62
	Шлунок	4444,6±420,33	140,2±29,99
	Слизова альвеолярного відростка пародонта	2497,5±105,86	145,3±28,08*
2 доби	Надниркові залози	3708,8±78,79*	282,2±25,66*/**
	Тимус	2188,1±114,44*/**	135,4±25,76*
	Кишечник	4111,3±477,99	208,6±40,84*
	Шлунок	3364,5±153,28*/**	57,3±10,08**
	Слизова альвеолярного відростка пародонта	3145,2±228,93*	270,8±33,87*/**

важливе значення, оскільки адреналіновий стероїдогенез безпосередньо регулюється вазоактивними секретами тучних клітин [16]. До 2-ї доби абсолютна кількість фібробластів продовжувала збільшуватися. Вміст макрофагів, лейкоцитів і тучних клітин відповідав значенням у інтактних тварин. Показники функціональної активності мастоцитів відновлювалися до контролю.

На відміну від капсули надниркових залоз у сполучної тканини трабекул тимуса через 6 год після введення скипидару достовірних змін кількості клітин не відзначали (табл. 3). Спостерігалася активація тучних клітин - збільшувався коефіцієнт дегрануляції в 1,4 раза і індекс гранулолізу в 3,3 раза. Середня оптична щільність тучних клітин знижувалася відносно контролю в 1,4 раза. Через 2 доби в трабекулі тимуса різко (вдвічі) збільшувалася щільність фібробластів і кількість лейкоцитів порівняно з контролем (див. табл. 3). Вміст макрофагів і мастоцитів не змінювався. Коефіцієнт дегрануляції і оптична щільність тучних клітин поверталися до вихідних значень, а індекс гранулолізу залишався підвищеним щодо контролю.

У слизовій альвеолярного відростка пародонта на віддаленій від вогнища запалення ділянці через 6 год після ін'єкції скипидару часто підвищувалася щільність CD68⁺-макрофагів. Мабуть, така реакція має адаптивне значення, що пов'язано з необхідністю підвищення захисних властивостей навколишніх тканин з високим ризиком інфікування та пошкодження. Вміст інших типів клітин сполучної тканини не відрізнявся від такого у інтактних тварин. Функціональна активність мастоцитів не змінювалася. На 2-гу добу запалення кількість фібробластів у дермі збільшувалася вдвічі порівняно з контролем, а вміст інших клітинних типів не відрізнявся від нього. У власній пластинці і підслизовій кишкового каналу через 6 год різко збільшувалася кількість клітин фібробластичного ряду, а щільність лейкоцитів, навпаки, порівняно з контролем

знижувалася в 1,7 раза (див. табл. 3). Число макрофагів і тучних клітин, також як і показники їх функціональної активності, не змінювалися.

На 2-гу добу розвитку запалення кількість фібробластів продовжувала зростати (див. табл. 3). Абсолютне число тучних клітин знижувалося порівняно з контролем в 1,9 раза. Знижувався також в 1,5 раза і коефіцієнт дегрануляції. Кількість лейкоцитів і макрофагів була як у контролі.

Абсолютні показники клітинного складу сполучної тканини шлунка через 6 год не відрізнялися від значень контрольної групи (див. табл. 3). Секреторна активність тучних клітин, індекс гранулолізу мастоцитів сполучної тканини шлунка збільшувалася в 1,7 раза, а оптична щільність знижувалася. На 2-гу добу вміст лейкоцитів і кількість макрофагів сполучної тканини шлунка виявився суттєво нижчим за значення в контролі і в 1,6 раза відносно 6-годинних показників (див. табл. 3). Кількість тучних клітин відновлювалося до значень контрольної групи. Одержані результати свідчать про те, що при місцевому запаленні змінюється і стан міжклітинної речовини сполучної тканини. Через 6 год у шкірі спини в місці введення скипидару підвищувався в 1,3 раза вміст сумарного оксипроліну. У слизовій альвеолярного відростка пародонта (на віддаленні від запаленої ділянки) вміст оксипроліну знижувалася в 1,3 раза відносно рівня контролю, що свідчило про переважання в обміні колагену катаболічних процесів.

В інших досліджених органах показники обміну колагену не змінювалися порівняно з інтактними тваринами. До 2-ї доби запалення в обміні колагену починали переважати синтетичні явища. Вміст оксипроліну, а відповідно і колагену, збільшувався в надниркових залозах, тимусі, шлунку і шкірі в місці введення скипидару в 1,6, 1,8, 1,4 і 1,5 раза відповідно. У кишкового каналу вміст оксипроліну підвищувався порівняно зі значенням на 6-ту годину в 1,5 раза. У

Таблиця 3. Показники морфофункціональної активності сполучної тканини трабекул тимусу, кишечника та шлунка у щурів при скипидарному запаленні (M±m)

Схема досліджу	Фібробласти	Макрофаги (CD68 ⁺)	Тучні клітини	Коефіцієнт дегрануляції тучних клітин, %	Індекс гранулолізису тучних клітин, %	Оптична щільність тучних клітин, ум.од.	Лейкоцити (CD45 ⁺)
Тимус							
Контроль	600,1±113,60	302,7±69,88	170,4±11,91	54,5±2,59	7,5±2,51	0,3±0,01	206,2±56,43
Запалення							
6 год	544,8±60,53	221,1±14,91	147,2±8,76	73,8±3,96*	24,8±3,79*	0,2±0,006*	258,4±52,23
2 доби	1294,9±80,78**/**	252,2±23,77	231,1±35,12	52,2±4,54**	19,1±2,62*	0,2±0,02	407,8±67,06*
Кишечник							
Контроль	779,8±65,64	451,4±80,70	390,3±29,68	66,7±4,30	88,6±3,91	0,1±0,004	2469,5±267,22
Запалення							
6 год	1265,4±135,99*	534,4±77,00	358,1±31,91	66,3±6,37	81,1±8,78	0,1±0,008	1452,1±153,10*
2 доби	1824,1±219,31**/**	355,9±54,16	209,9±47,93**/**	43,3±6,35**/**	86,5±5,55	0,1±0,01	1694,9±407,50
Шлунок							
Контроль	1579,8±192,17	318,3±49,50	117,5±22,26	61,0±5,34	52,1±2,48	0,2±0,008	3125,1±171,67
Запалення							
6 год	1441,3±98,88	392,2±42,39	116,2±20,86	71,9±6,21	86,3±3,75*	0,1±0,001*	2494,9±452,04
2 доби	1232,7±71,22	240,7±44,89**	146,3±12,16	48,3±6,34**	59,2±5,91**	0,1±0,01**	1744,8±129,90*

слизовій альвеолярного відростка пародонта він залишалася зниженим щодо контролю. Проведені дослідження вмісту оксипроліну у шурів через 2 тиж після введення скипидару свідчили про його підвищення в слизовій альвеолярного відростка пародонта до $11,35 \pm 0,89$ мкг/мг сухої маси. Отже, на ранніх термінах у віддалених від місця запалення ділянках переважають катаболічні явища. Пізніше, в продуктивну фазу запалення, у них починають наростати анаболічні процеси, як і в шкірі спini в місці введення скипидару.

Таким чином, у відповідь на локальне гостре запалення, в сполучній тканині різних органів відзначали активацію секреції тучних клітин, медіатори яких викликають підвищення проникності судин. Це призводило до генералізованого набряку. Найбільш активно реагували на вплив мастоцити залозистих ендокринних органів - надниркових залоз і тимуса, які беруть безпосередню участь у реалізації реакції стресу і відповіді організму на введення флогогенного агента.

Механізм модулюючої дії мастоцитів на процеси репарації може бути пов'язаний з гальмуванням нейтрофілів, а також з регуляцією альтеративних явищ і активацією моноцитів-макрофагів, головним чином відповідальних за ранове очищення вогнища запалення. Крім опосередкованого ефекту тучних клітин через нейтрофіли і моноцити, спостерігалася, можливо, і пряма стимулююча дія тучноклітинних медіаторів на фібробласти [17]. Під час розвитку місцевої запальної реакції відзначається генералізоване збільшення кількості клітин фібробластичного ряду. Крім цього, змінюється їх проліферативна активність і підвищується колагенопродукція. Це, ймовірно, слугує патогенетичною основою фіброзних змін. На віддаленій від місця введення скипидару ділянці в сполучній тканині слизової альвеолярного відростка пародонта різко збільшувався вміст макрофагів, міграція яких до місць підвищеної

небезпеки пошкодження і проникнення інфекції має адаптивний характер. Однак високий вміст гістіоцитів, може бути однією з ланок розвитку реакцій гіперчутливості, що часто виникає при хронічних стресах.

ВИСНОВКИ

1. Фазові зміни сполучної тканини шурів у відповідь на місцеве запалення мають як локальний, так і генералізований характер.

2. Етапність процесів, що відбуваються у віддалених від вогнища запалення органах, відповідають класичній схемі розвитку запальної реакції: на ранніх строках – переважання ексудативних явищ, які на більш пізніх (2 доби) змінюються проліферацією.

3. Разом з відповіддю з боку клітин імунної системи – лейкоцитів, макрофагів, тучних клітин, спостерігаються генералізовані зміни клітин фібробластичного ряду – підвищення їх кількості, підвищення продукції колагену, зміни проліферативного потенціалу.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

**A. I. Bereznyakova¹, V. F. Cheremisina¹,
O.D. Zhemela², G.P. Guchenko¹**

CONNECTING RIBBON AND ITS REACTION TO ACUTE LOCAL INFLAMMATION IN DIFFERENT ORGANS

Phase changes in the connective tissue of rats in response to local injury are both local and generalized. The stage of the processes occurring in the far inflammation of the organs corresponds to the classical pattern of development of the inflammatory reaction: at the early stages - the predominance of exudative phenomena, which at a later date (two days) change on proliferation. The secretory activity of mast cells, the granulosis index of mastocytes of the connective tissue of the stomach increased 1.7 times, and the optical density decreased. On day 2, the content of leukocytes and the number

of macrophages of the connective tissue of the stomach was significantly lower than the values in the control and decreased by 1.6 times in relation to the 6-hour indicators. Indicators of mast cells were restored to the control group values. The obtained results indicate that with local inflammation the condition of the intercellular substance of the connective tissue. Along with the answer from the cells of the immune system - leukocytes, macrophages, mast cells, there are generalized changes on the part of cells of the fibroblastic series - increasing their number, increasing collagen production, and changing the proliferative potential.

Keywords: acute inflammation; connective tissue; fibroblasts; macrophages; mast cells; collagen.

¹National University of Pharmacy, Kharkiv;

²National University of them N.V. Karazin, Kharkiv; e-mail: cheremishav@gmail.com

**А. И. Березнякова, В.Ф. Черемисина В.Ф.,
О.Д. Жемела, Г.П. Гученко**

СОЕДИНИТЕЛЬНАЯ ТКАНЬ КРЫС И ЕЕ РЕАКЦИЯ НА ОСТРОЕ ЛОКАЛЬНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ В РАЗНЫХ ОРГАНАХ

Фазовые изменения соединительной ткани крыс в ответ на местное повреждение носят как локальный, так и генерализованный характер. Этапность процессов, происходящих в отдаленных от очага воспаления органах, соответствуют классической схеме развития воспалительной реакции: на ранних сроках – преобладание экссудативных явлений, которые на более поздних сроках (двое суток) изменяются пролиферацией. Секреторная активность тучных клеток, индекс гранулолизису мастоцитов соединительной ткани желудка увеличивалась в 1,7 раза, а оптическая плотность снижалась. На 2-е сутки содержание лейкоцитов и количество макрофагов соединительной ткани желудка оказался существенно ниже значения в контроле и снижались в 1,6 раза относительно 6-часовых показателей. Показатели тучных клеток восстанавливались до значений контрольной группы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при местном воспалении меняется и состояние межклеточного вещества соединительной ткани. Наряду с ответом со стороны клеток иммунной системы – лейкоцитов, макрофагов, тучных клеток, наблюдаются генерализованные изменения со стороны клеток фибробластического ряда – повышение их количества, повышение продукции коллагена, изменения пролиферативного потенциала.

Ключевые слова: острое воспаление; соединительная ткань; фибробласты; макрофаги; тучные клетки; коллаген.

REFERENCES

- Nicholskiy I. The reaction of the blood system in hypoxia and circulation of hematopoietic stem cells. *Environment and Health*. 2012;2:79-80.

- Babaeva A. Regeneration and system of immunogenesis. M.: Medicine. 1985: 255. [Russian].
- Yushkov B, Abidov M, Danilova I et al. Non-immunological functions of macrophages. Ekaterinburg: UrO RAN. 2011: 246. [Russian].
- Artashyan O, Yushkov B, Mukhlylnina E. Study of the functional activity of mast cells under immobilization stress. *Cytology*. 2006; 48 (8):665-8. [Russian].
- Gusev E, Chereshnev V, Yurchenko L. System inflammation from position of typical pathological process theory. *Cytokine and inflammation*. 2007; 6 (4):9-21. [Russian].
- Reznikov O, Solovyov A, Stefanov O. Biotic examination of preclinical and other scientific researches carried out on animals: method. *Bulletin of Pharmacology and Pharmacy*. 2006; 7:47-61. [Ukrainian].
- Ataman O. Pathophysiology. General pathology. Textbook for Higher Educational Institutions. Kyiv: New Book. 2006; 592. [Ukrainian].
- Wagner D, Young V, Tannenbaum S. Mammalian nitrate biosynthesis: incorporation of ¹⁵NH₃ into nitrate is enhanced by endotoxin treatment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1983; 80:4518-21.
- Korkushko O, Pisaruk A, Asanov E et al. Changes in blood oxygen function in arterial hypoxemia in elderly and senile people. *Bukovynska medichny News*. 2011;3(59):200-4. [Ukrainian].
- Ellinidi V, Anikeeva N, Maksimova N. Practical immunohisto-cytochemistry. Methodical recommendations. SPb.: VCERM RME of Russia. 2002; 36 p. [Russian].
- Chrishan S. Determination of collagen content, concentration and sub-types in kidney tissue. *Kidney Research: Experimental Protocols*. NY: A Humana Press. 2008; 16:223-35.
- General ethical principles of animal experiments: materials of the First National Congress on Bioethics. 2001. K: NASU. 16. [Ukrainian].
- Gubler E, Genkin A. The application of nonparametric criteria for statistics in biomedical research. L.: Medicine. 1973; 141. [Russian].
- Zupan J, Komadina R, Marc J. The relationship between osteoclastogenic and anti-osteoclastogenic pro-inflammatory cytokines differs in human osteoporotic and osteoarthritic bone tissues. *J Biomed Sci*. 2012;19:28-32.
- Gordon S, Taylor P. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol*. 2005; 5:953-64.
- Freidlin I, Totolyan A. Cells of immune system. SPb: Science. 2001; 3:197.
- Nascimento M, Hayashi S, Riella M et al. Elevated levels of plasma osteoprotegerin are associated with all-cause mortality risk and atherosclerosis in patients with stages 3 to 5 chronic kidney disease. *Braz J Med Biol Res*. 2014;22:1-8.
- Garbuzenko E, Nagler A, Pickholtz D et al. Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis. *Clin. Exp. Allergy*. 2002; 32(2):237-146.

Матеріал надійшов до редакції 07.11.2017