

СИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ СПИНОМОЗГОВЫХ УЗЛОВ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ЗАЖИВЛЕНИЯ КОЖНОЙ РАНЫ ТРОМБОЦИТАРНЫМ КОНЦЕНТРАТОМ

Алексеева Н.Т., Семенов С.Н., Фетисов С.О.

*Воронежская медицинская академия
им. Н.Н. Бурденко, Воронеж,
e-mail: fetisovbiol@bk.ru*

Нейроны спинномозговых узлов (СМУ) играют важную роль в функционировании соматических и вегетативных рефлекторных дуг. Восстановление нервных клеток поврежденных вследствие травмы периферических отростков напрямую зависит от их функционального состояния [2, 5]. Учитывая, что изменение количества РНК в цитоплазме нейроцитов является одним из существенных и постоянных показателей, характеризующих повышение или снижение их функциональной активности [3], проведено исследование содержания РНК и общего белка в нейронах СМУ при моделировании естественного течения раневого процесса и при стимуляции регенерации раны тромбоцитарным концентратом (ТК).

Работа выполнена на 126 самцах взрослых белых беспородных крыс, массой 150–220 г. Для моделирования раневого процесса крысе нанесли линейный разрез на передней поверхности бедра размерами $1 \times 0,5$ см. Первой экспериментальной группе лечение ран не производили, второй группе животных в раневой дефект однократно вносили сгусток тромбоцитарного концентрата с концентрацией тромбоцитов не менее 1 млн/мкл. Животные выводились из эксперимента на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е, 28-е сутки равными группами, включая группу виварного контроля. Производили иссечение поясничных ганглиев L_{II} – L_V как соответствующих нервам, иннервирующим область нанесенной раны. Для выявления РНК фиксированные в жидкости Карнуа срезы окрашивали азуром В (рН 4,0) по методу S. Shea (S. Shea, 1970). Суммарный белок выявляли окрашиванием реактивом сулема – бромфеноловый синий (D. Mazia, 1953). Цитофотометрию для выявления количественного эквивалента содержания РНК и суммарного белка производили при $\times 400$ на однолучевом цитофотометре с диаметром оптического зонда 1 мкм плаг-методом при различных длинах волн (540–570 мкм) в максимуме поглощения для изучаемых веществ. Оптическую плотность продуктов реакции выражали в условных единицах. На основе литературных данных [4] и бимодального характера распределения морфометрических показателей нейронов СМУ, мы выделяли 2 основные группы нейронов: А-клетки со средним поперечником более 30 мкм, светлым перикарионом и глыбчатым распределением субстанции Ниссля; В-клетки со средним попе-

речником меньше или равным 30 мкм, округлые клетки с темным перикарионом и диффузным распределением вещества Ниссля. Исследовали по 100 клеток каждого типа в нескольких полях зрения для каждого препарата. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Манна-Уитни и метода Фишера.

Измерения, проведенные в контрольной группе животных, показали, что значение оптической плотности РНК для А-типа нейронов составляет $0,44 \pm 0,07$ усл. ед., для В-типа нейронов – $0,56 \pm 0,04$ усл. ед.

Динамика изменения содержания РНК, измеренного по показателю оптической плотности, после нанесения раны характеризуется сменяющимися друг друга фазами – снижение показателя в начальные сроки сменяется его ростом к 28-м суткам исследования. Содержание РНК в А-клетках на 1-е сут исследования составляло $0,41 \pm 0,04$ усл. ед. ($p > 0,05$), на 3 сут достоверно снижалось до значения в $0,38 \pm 0,03$ усл. ед. ($p < 0,05$). В дальнейшем наблюдался рост содержания РНК в крупных А-нейроцитах, на 5-е сутки содержание РНК уже превышало контрольное значение на $0,05$ усл. ед., максимальное значение показатель оптической плотности имел на 14-е сутки эксперимента – $0,53 \pm 0,03$ усл. ед. ($p < 0,05$), к 28-м сут исследования статистически значимых отличий в содержании РНК, в сравнении с 14 сут эксперимента, не наблюдалось. Содержание РНК в малых В-нейроцитах, при пониженном до $0,52 \pm 0,02$ усл. ед. ($p < 0,05$) показателе на 1-е сут, характеризовалось активным ростом к 7 суткам исследования ($0,72 \pm 0,04$ усл. ед.) и плавным нарастанием показателя с 7-х по 28-е сутки эксперимента ($0,84 \pm 0,03$ усл. ед.).

Введение ТК в рану вызывало изменения оптической плотности РНК во многом отличные от процесса естественного заживления. На 1-е сут после внесения ТК количество РНК в А- и В-клетках начинало превышать контрольные показатели – $0,47 \pm 0,04$ ($p > 0,05$) и $0,59 \pm 0,02$ ($p < 0,05$) соответственно. В дальнейшем происходило нарастание показателей, с максимумом для А-нейронов на 7-е сутки ($0,69 \pm 0,07$ усл. ед.) и для В-нейронов на 14-е сутки ($0,92 \pm 0,05$ усл. ед.), сменяющиеся затем плавным снижением. Оптическая плотность РНК в А-клетках на 28-е сут эксперимента возвращалась к контрольному значению, а в В-клетках снижалась до значения $0,68 \pm 0,03$ усл. ед., достоверно ($p < 0,05$) превышая значения контроля.

Показатели оптической плотности общего белка в исследованных группах закономерно демонстрировали схожую с содержанием РНК динамику изменений. Однако значения оптической плотности окрашенного белкового субстрата характеризовались меньшей амплитудой изменений в процессе эксперимента и для А-клеток на 1-е и 28-е сутки были близки к контролю.

Анализируя полученные данные можно отметить, что более высокое значение показателя оптической плотности РНК и его рост для нейроцитов В-типа может соответствовать процессу увеличения числа малых нейронов с признаками реактивных изменений в процессе заживления раны, установленному в результате анализа морфологических и тинкториальных свойств нейронов СМУ в этом эксперименте [1]. Явлениям первичного раздражения, выражавшихся для А-нейроцитов в виде хроматолитических изменений цитоплазмы в начальные сроки исследования, соответствует снижение количества РНК в таких нейронах в период с 1-х по 3 сутки исследования. Рост содержания РНК и суммарного белка, вследствие увеличения показателя оптической плотности продуктов реакции, при введении ТК можно расценивать как следствие активации репаративных процессов в ране и реиннервации поврежденного участка кожи и мягких тканей. Более быстрому заживлению соответствует и процесс снижения показателей оптической плотности РНК и белка в направлении контрольных значений на 28-е сутки эксперимента.

Список литературы

1. Семенов С.Н. Морфофункциональные изменения нейронов спинномозговых узлов при ранах мягких тканей / С.Н. Семенов, А.А. Глухов, Н.Т. Алексеева, А.П. Остроушко, С.О. Фетисов // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2011. – Т. IV, №3. – С. 557–561.
2. Ansel J. Skin-nervous system interactions / J. Ansel, A. Kaynard, C. Armstrong et al. // J. of investigative dermatology. – 1996. – Vol. 106, №1. – P. 198–204.
3. Bastian I. Differential expression of microRNA-1 in dorsal root ganglion neurons / I. Bastian et al // Histochem Cell Biol. – 2011. – Vol. 135. – P. 37–45.
4. Tandrup T. A method for unbiased and efficient estimation of number and mean volume of specified neuron subtypes in rat dorsal root ganglion // J Comp Neurol. – 1993. – Vol. 329, №2. – P. 269–276.
5. Vetter I. The response of dorsal root ganglion axons to nerve growth factor gradients depends on spinal level / I. Vetter, Z. Pujic, G. Goodhill // Journal of neurotrauma. – 2010. – №27. – P. 1379–1386.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СВЕТОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ РАН МЯГКИХ ТКАНЕЙ

Глухов А.А., Алексеева Н.Т., Остроушко А.П.

*Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко, Воронеж,
e-mail: fetisovbiol@bk.ru*

В настоящее время в медицинской практике применяется широкий спектр физических факторов для лечения различной патологии. Среди них важное место занимает светотерапия ран, так как поляризованный свет активизирует клеточные и гуморальные защитные механизмы, усиливая фагоцитоз, что, ускоряет заживление ран [3]. Правильность выбора различных методов при лечении асептических ран подтверждается направленною структурно-метаболических изменений в области раневого дефекта [1, 2].

Цель исследования – провести экспериментально-морфологическое обоснование целесообразности использования светотерапии при лечении асептических ран мягких тканей.

Материалы и методы. Исследования выполнены на крысах самцах массой 260–280 г. Животным под наркозом на передней поверхности бедра в асептических условиях наносили стандартную линейную рану 1,0×0,5 см. Выделены три экспериментальные группы. Светотерапию в опытных группах начинали сразу после моделирования ран, применяли аппарат «Биотрон компакт» (Швейцария) с диаметром светового фильтра 4 см, генерирующий видимую и инфракрасную часть спектра солнечного света (от 400 до 2000 им.), исключая ультрафиолетовый диапазон, что делает его безвредным, не представляющим опасности для глаз. Источник света располагали на расстоянии 10 см от раны, под углом падения луча 90°. В первой опытной группе во время смены асептической повязки на рану воздействовали поляризованным облучением в течение 8 мин 1 раз в сутки и через 8 часов выполняли смену асептической повязки без проведения поляризованного облучения. Во второй опытной группе во время смены асептической повязки на рану воздействовали поляризованным облучением в течение 8 минут 2 раза в сутки с интервалом 8 часов. В контрольной группе лечение заключалось в ежедневной смене асептических повязок 2 раза в сутки с интервалом 8 часов, поляризованное облучение не проводилось. Через 1, 3, 5 и 7 суток животных выводили из опыта по 7 особей на каждый срок эксперимента. Участки кожи и подкожной клетчатки с ранами иссекали блоком, помещали в 10% раствор нейтрального формалина для последующего гистологического исследования, при котором устанавливали характер и скорость заживления ран. На препаратах окрашенных гематоксилином и эозином, а также по Ван-Гизону оценивалась динамика морфологических изменений по следующим критериям: выраженность и глубина некротических повреждений, наличие кровоизлияний, вид клеточной инфильтрации, неогенез, полнота, выраженность и характер репаративных процессов (формирование грануляционной ткани, направление и структура коллагеновых волокон, эпителизация). Одним из объективных показателей заживления ран является измерение их площади по методу Л.Н. Поповой.

Результаты исследования и их обсуждение. В результате макроскопического наблюдения отмечено значительное нарастание отечности тканей контрольных ран в первые 3-е суток от начала опыта. Края раны гиперемированы, частично покрыты белесоватым налетом. К 5-м суткам отек спадал, но заживление ран происходило медленнее, по сравнению с опытными группами. В ранах животных опытных