

УДК 611.018

ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕАКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ В РАНЕВОМ ПРОЦЕССЕ

¹Чепурненко М.Н., ²Чепурненко Д.А.¹ГБОУ ВПО «СЗГМУ имени И.И. Мечникова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург,
e-mail: mrgchep@gmail.com;²ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург

Цель исследования – выявить реактивные изменения клеток и тканей на этапах заживления кожной раны в зоне «молекулярного сотрясения» с позиции концепции о функциональных гистионах. Материалом для исследования регенерационных процессов явились ткани различного генеза кожи крыс и мышей. Сроки фиксации были выбраны с учетом ранее изученных гистологических изменений при нанесении различных видов повреждений подопытным животным, т.е. через 6 часов, 24 часа, на 3, 6, 15 и 25-е сутки после повреждения. Для характеристики реактивных изменений клеток и тканей был использован следующий комплекс гистологических исследований: световая и электронная микроскопии; процессы пролиферации регистрировали методом одноволновой цитоспектрофотометрии с помощью разработанного прибора. Процессы дифференциации и синтеза биологически активных веществ выявляли цитохимическими методами. Иммуногистохимически выявляли антиген ядерной пролиферации, позволяющий идентифицировать клетки в синтетическом периоде митотического цикла. Морфометрическими методами регистрировали количественные и качественные изменения гистологических элементов, проводили статистическую обработку результатов, а также применяли математическое моделирование для описания индивидуального характера течения клеточных реакций в процессе заживления ран. Заключение. Реактивные изменения клеток и тканей в раневом процессе базируются на закономерностях эмбрионального и постэмбрионального гистогенеза. Эти характеристики включают активацию и пролиферацию малодифференцированных клеток, их дифференциацию и взаимодействие с последующей адаптивной перестройкой регенерата. Для каждой фазы регенерации тканей кожи характерна гетероморфия клеточных элементов: внутридифференциальная и междифференциальная. Междифференциальная гетероморфия определяется на межтканевом уровне взаимодействия при регенерации органа, формируется т.н. функциональный гистион. На основе гистологического исследования клеточного состава функциональных гистионов с целью математического моделирования формирования функциональных гистионов грануляционной ткани были включены клетки пяти клеточных дифферонов: нейтрофильные лейкоциты, тканевые базофилы, макрофаги, клетки фибробластического дифферона и эндотелиоциты. Диагностика распространения зоны «молекулярного сотрясения» необходима для выбора методов хирургической обработки и предотвращения отсроченной гибели тканевых элементов, приводящей к осложнению в раневом процессе.

Ключевые слова: ткани кожи, гистологический процесс, раневой процесс, пролиферация, дифференциация, тканевые элементы, рана

CHARACTERISTICS OF REACTIVE CHANGES OF CELLS AND TISSUES IN THE WOUNDED PROCESS

¹Chepurnenko M.N., ²Chepurnenko D.A.¹I.I. Mechnikov State Medical University, Saint Petersburg, e-mail: mrgchep@gmail.com;²Military Medical Academy, Saint Petersburg

The purpose – to reveal the morphofunctional properties of cells and tissues at the stages of healing of a skin wound in the zone of «molecular concussion» from the perspective of the concept of functional histions. Tissues of various genesis of the skin of rats and mice were material for studying regenerative processes. The fixation dates were selected taking into account previously studied histological changes during the application of various types of damage to experimental animals, i.e. after 6 hours, 24 hours, on the 3rd, 6th, 15th and 25th day after the damage. The following set of histological studies was used to characterize reactive changes in cells and tissues: light and electron microscopy; proliferation processes were recorded by single-wave cytospectrophotometry using the developed device. The processes of differentiation and synthesis of biologically active substances were detected by cytochemical methods. Nuclear proliferation antigen was revealed immunohistochemically, which made it possible to identify cells in the synthetic period of the mitotic cycle. Using morphometric methods, quantitative and qualitative changes in histological elements were recorded, statistical processing of the results was carried out, and mathematical modeling was used to describe the individual nature of the course of cellular reactions during wound healing. Conclusion: Reactive changes in cells and tissues in the wound process are based on the laws of embryonic and postembryonic histogenesis. These characteristics include activation and proliferation of poorly differentiated cells, their differentiation and interaction with subsequent adaptive restructuring of the regenerate. Each phase of skin tissue regeneration is characterized by heteromorphy of cellular elements: intradifferential and interdifferential. Interdifferon heteromorphy is determined at the interstitial level of interaction during organ regeneration, the so-called «Functional histion.» On the basis of a histological study of the cellular composition of functional histions with the goal of mathematical modeling of the formation of functional histions of granulation tissue, five cellular differons were included: neutrophilic leukocytes, tissue basophils, macrophages, fibroblastic differon cells and endotheliocytes. Diagnosis of the spread of the «molecular concussion» zone is necessary to select surgical treatment methods and prevent delayed death of tissue elements, leading to complications in the wound healing process.

Keywords: skin tissue, histological process, wound healing, proliferation, differentiation, tissue elements, wound

Регенерация тканей является предметом изучения исследователей теоретических и клинических дисциплин, которые внесли значительный вклад в понимание механизмов восстановления тканей после повреждения. Большой вклад в изучение проблемы регенерации тканей с гистогенетических позиций внесли профессора А.А. Заварзин, Н.Г. Хлопин, С.И. Щелкунов, А.А. Клишов и другие.

Фундаментальные работы профессоров Н.Н. Аничкова, И.В. Давыдовского, С.С. Гирголава, Д.С. Саркисова, И.А. Ерюхина, Ю.Г. Шапошникова и других являются настольными книгами для исследователей, занимающихся проблемами регенерации тканей.

Несмотря на имеющиеся достижения, остаются недостаточно изученными теоретические вопросы посттравматического гистогенеза тканей кожи при различных видах механического повреждения, в том числе и огнестрельном ранении [1].

Огнестрельное повреждение включает разные факторы воздействия: механическое, термическое, химическое действие пороховых газов, микробное обсеменение и др. Каждый из этих факторов вносит свой вклад в общую картину огнестрельного повреждения тканей [1].

При этом представляет интерес исследование влияния каждого из перечисленных факторов в отдельности, в последние годы большое внимание уделяется кинетической составляющей повреждающего агента. Это связано с тем, что при огнестрельном ранении кинетическая составляющая формирует зону «молекулярного сотрясения».

Особенность гистологической картины в зоне «молекулярного сотрясения» заключается в индивидуальном характере клеточных и тканевых реакций, возникновении различных форм гибели клеток, которые наблюдаются даже при заживлении ран, резкие расстройства гемомикроциркуляции, изменение клеточного состава в процессе заживления ран вследствие формирования органо-тканевого комплекса – грануляционной ткани.

Диагностика распространения зоны «молекулярного сотрясения» необходима для выбора методов хирургической обработки и предотвращения отсроченной гибели тканевых элементов, приводящей к осложнению в раневом процессе.

Цель исследования: выявить морфофункциональные свойства клеток и тканей на этапах заживления кожной раны в зоне «молекулярного сотрясения» с позиции концепции о функциональных гистионах.

Материалы и методы исследования

На первом этапе исследования была разработана экспериментальная модель повреждения, стандартизированная по исполнению для получения репрезентативных данных. Это необходимо для количественной оценки гистологических изменений в тканевых элементах [1–3].

В 1-й серии экспериментов были использованы белые мыши массой 20–30 граммов. В межлопаточную область спины животным наносили сквозное ранение кожи пробойником диаметром 3 мм. Кинетическая энергия, прикладываемая к нему, соответствовала энергии, возникающей при выстреле из пневматической винтовки.

Во 2-й серии экспериментов были использованы белые беспородные крысы массой 200–300 граммов. Для нанесения механической травмы была использована установка по передаче кинетической энергии окружающим раневой канал тканям. Подопытным животным в область голени наносили механическую травму, эквивалентную по энергии удару пули калибром 5,6 мм.

Материалом для исследования регенерационных процессов явились ткани различного генеза кожи крыс и мышей. Сроки фиксации были выбраны с учетом ранее изученных гистологических изменений при нанесении различных видов повреждений подопытным животным (через 6 часов, 24 часа, на 3, 6, 15 и 25-е сутки после повреждения).

Для характеристики реактивных изменений клеток и тканей был использован следующий комплекс гистологических исследований: световая и электронная микроскопия; процессы пролиферации регистрировали методом одноволновой цитоспектрофотометрии с помощью прибора, созданного на кафедре. Процессы дифференциации и синтеза биологически активных веществ выявляли цитохимическими методами. Иммуногистохимически выявляли антиген ядерной пролиферации, позволяющий идентифицировать клетки в синтетическом периоде митотического цикла. Морфометрическими методами регистрировали количественные и качественные изменения гистологических элементов, проводили статистическую обработку результатов, а также применяли математическое моделирование для описания индивидуального характера течения клеточных реакций в процессе заживления ран [1].

Гистогенетический подход предполагает изучение состояния тканей в норме, т.е. до нанесения повреждения, считая это «нулевой» фазой регенерации [1].

Указанный комплекс гистологических исследований для изучения каждой фазы регенерации тканей кожи позволит оценить гетероморфию клеточных элементов: внутридифферонную и междифферонную. Междифферонная гетероморфия определяется на межтканевом уровне взаимодействия при регенерации органа, формируется т.н. функциональный гистион [1].

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка фазности течения регенерационного процесса и характеристика реактивных изменений клеток и тканей в раневом процессе основывались на установленных гистогенетических закономерностях «нулевой» фазы регенерации.

После нанесения повреждения кожи, в 1-е сутки, отмечаются изменения в нейтрофильных лейкоцитах периферической крови в количественном и качественном эквиваленте. Данные изменения наблюдаются в процессах дифференциации и синтеза биологически активных веществ – ферментативных катионных белков. Это свидетельствует о фазе воспалительной реакции в разворачивающемся регенерационном процессе (рис. 1).

К концу первых суток эксперимента устанавливается гетероморфия в популяции нейтрофилов по активности катионных белков. Отмечается повышение количества нейтрофилов периферической

крови с высокой активностью катионных белков и понижение числа клеток со слабой и умеренной активностью катионных белков. Отмечается снижение концентрации катионных белков в нейтрофильных гранулоцитах к 3-м суткам опыта и дальнейшее нарастание концентрации катионного белка к 25-м суткам регенерации, что отражает снижение внутридифферонной гетероморфии.

У экспериментальных животных после нанесения механической травмы с передачей кинетической энергии, эквивалентной огнестрельному ранению, формировалась «зона молекулярного сотрясения». Особенность гистологической картины в зоне «молекулярного сотрясения» заключается в индивидуальном характере клеточных и тканевых реакций, возникновении различных форм гибели клеток, которые наблюдаются даже при заживлении ран, в резких расстройствах гемомикроциркуляции, изменении клеточного состава в процессе заживления раны вследствие формирования органо-тканевого комплекса – грануляционной ткани.

К 3-м суткам эксперимента появляются реактивные изменения в виде мгновенной и ранней отсроченной гибели клеток практически всех тканевых элементов кожи, что обуславливает снижение внутри- и междифферонной гетероморфии. Это сигнализирует о начале фазы ранних посттравматических изменений.

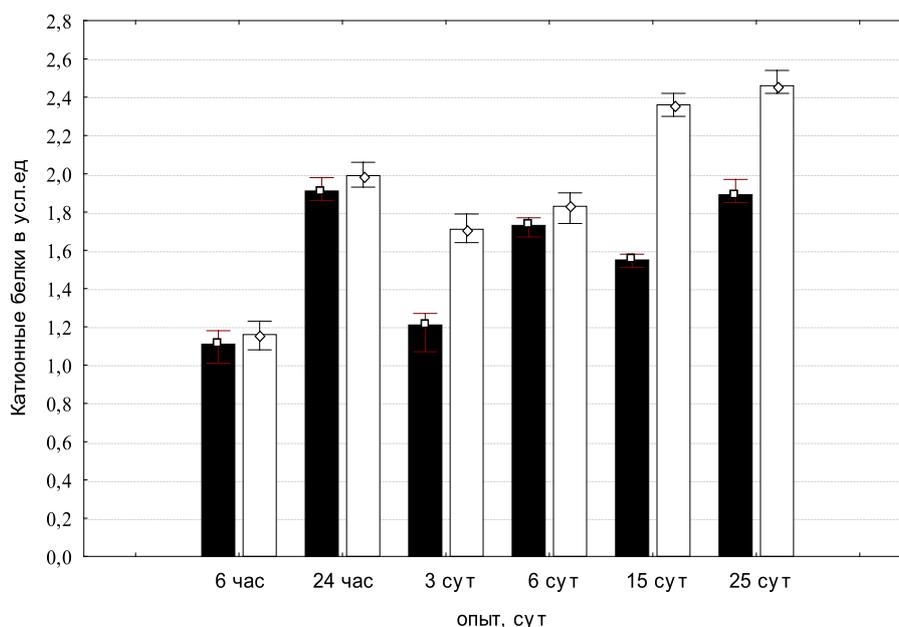


Рис. 1. Профиль катионных белков периферической крови в нейтрофильных лейкоцитах. Обозначения: белый – палочкоядерные нейтрофилы; черный – сегментоядерные нейтрофилы



Рис. 2. Реакция на PCNA в ядрах эпителиоцитов волосяного фолликула. 3-и сутки. X 252

Миграция гематогенных клеточных элементов (лейкоцитов, тканевых базофилов, макрофагов) в «зону молекулярного сотрясения» как следствие начала формирования лейкоцитарного вала и постепенного увеличения междифферонной гетероморфии. Однако с междифферонной гетероморфией можно наблюдать и внутридифферонную гетероморфию при формировании функционального гистиона воспаления, представляющего собой кооперацию эндотелиоцитов, нейтрофильных лейкоцитов, тканевых базофилов. Появление макрофагов является дальнейшим развитием грануляционной ткани.

Гистологическим маркером перехода от фазы воспаления к фазе регенерации является увеличение клеток, экспрессирующих ген ядерной пролиферации (PCNA). Ведущими гистологическими элементами с 3-х суток эксперимента становятся клетки, вступающие в митотический цикл. В эпителиальной ткани кожи это не только кератиноциты росткового слоя эпидермиса, но и кератиноциты наружных волосяных влагалищ, сохранивших жизнеспособность (рис. 2).

Иммуногистохимически выявлен антиген ядерной пролиферации в составе эпителиального регенерата. В соединительных тканях кожи активация пролиферации отмечается в: периваскулярных клетках, фибробластах дермы и эндомизии подкожной мышцы.

Индекс пролиферации с 3-х по 15-е сутки в «зоне молекулярного сотрясения» снижается, что доказывается изменением количественного содержания ДНК в ядрах

фибробластов при исследовании методом цитоспектрофотометрии.

В фазе дифференцировки тканевых элементов происходит постепенное образование регенерата, являющегося очередной фазой регенерационного гистогенеза. Гистологическим критерием этой фазы является формирование особой органотканевой структуры – грануляционной ткани. Отмечается увеличение степени междифферонной гетероморфии, с преобладанием клеточных элементов рыхлой волокнистой соединительной ткани и дифферона эндотелиоцитов.

Гистологическим показателем фазы дифференцировки является возрастание внутридифферонной и междифферонной гетероморфии тканевых элементов в соединительных тканях кожи. В регенерационном гистионе ведущими гистологическими элементами являются фибробласты, эндотелиоциты и макрофаги.

К 25-м суткам эксперимента междифферонная гетероморфия регенерата снижается медленно и длительное время остается на достаточно высоком уровне. В гистионе адаптивной фазы регенерационного гистогенеза гистологическими ведущими элементами являются фиброциты.

Характеристика изменения клеточного состава функциональных гистионов служит надежным диагностическим критерием и является показателем последовательности течения регенерационного процесса. На основе гистологического исследования клеточного состава функциональных гистионов с целью математического моделирования формирования функциональных гисти-

онов грануляционной ткани были включены клетки пяти клеточных дифферонов: нейтрофильные лейкоциты, тканевые базофилы, макрофаги, клетки фибробластического дифферона и эндотелиоциты. Выстроенная математическая модель регенерационного процесса тканей кожи выявляет временные особенности индивидуального изменения клеточного состава функциональных гистионов регенерата.

Заключение

Реактивные изменения клеток и тканей в раневом процессе базируются на закономерностях эмбрионального и постэмбрионального гистогенеза. Эти характеристики включают активацию и пролиферацию малодифференцированных клеток, их дифференциацию и взаимодействие с последующей адаптивной перестройкой регенерата [4; 5]. Для каждой фазы регенерации тканей кожи характерна гетероморфия клеточных элементов: внутридифферонная и междифферонная. Междифферонная гетероморфия определяется на межтканевом уровне взаимодействия при регенерации органа, формируется т.н. функциональный гистион. На основе гистологического исследования клеточного состава функциональных гистионов с целью математического моделирования формирования функциональных гистионов грануляционной ткани были включены клетки пяти клеточных дифферонов: нейтрофильные

лейкоциты, тканевые базофилы, макрофаги, клетки фибробластического дифферона и эндотелиоциты [5]. Диагностика распространения зоны «молекулярного сотрясения» необходима для выбора методов хирургической обработки и предотвращения отсроченной гибели тканевых элементов, приводящей к осложнению в раневом процессе [1; 2; 5].

Список литературы

1. Данилов Р.К. Раневой процесс: гистогенетические основы. СПб.: ВМедА им. С.М. Кирова, 2007. 380 с.
2. Русакова С.Э., Одинцова И.А. Экспериментальные модели для изучения камбиальных свойств тканей // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2017. Т. 3 (59). С. 120–122.
3. Миргородская О.Е., Горбулич А.В., Одинцова И.А., Данилов Р.К. Междифферонные взаимодействия в условиях дезинтеграции тканей кожи // Морфологические науки и клиническая медицина: материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посв. 100-летию со дня рождения засл. деятеля науки РСФСР и ЧАССР, д-ра мед. наук, профессора Валентины Васильевны Амосовой. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2019. С. 103–106.
4. Бирин В.В., Одинцова И.А., Русакова С.Э. Сравнительная характеристика пролиферации фибробластов и функциональной активности тучных клеток в регенерационном гистогенезе после огнестрельного повреждения // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2020. Т. 39. № 1. С. 42–47.
5. Чепурненко М.Н. Морфо-математическая модель гистионов регенерационного гистогенеза. // Вопросы морфологии XXI века. Выпуск 4. Сборник научных трудов: «Учение о тканях. Гистогенез и регенерация» / Под ред. И.А. Одинцовой, С.В. Костюкевича. СПб.: Издательство ДЕАН. 2015. С. 204–208.