

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КИСЛОТОМОДИФИЦИРОВАННЫХ РАСТВОРОВ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК КОЖИ КРЫС ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ РАН

© 2017 Д. А. Атякин, А. О. Чуян, А. А. Андреев, А. Р. Карапитьян

ФГБОУ ВО «ВГМУ им. Н. Н. Бурденко» Минздрава России

*Тучные клетки играют значительную роль во всех фазах раневого процесса, оказывая влияние на пролиферацию и реконструкцию ткани в коже. Заживление раны обусловлено протеканием биохимических реакций, для которых величина рН имеет ключевое значение. При этом, связь между величиной водородного показателя и активностью тучных клеток достоверно не выяснена. В статье представлены результаты исследования эффектов кислотомодифицированных растворов на морфофункциональное состояние тучных клеток в паравульнарной и раневой зонах кожи крыс в процессе лечения смоделированных в эксперименте ран. Исследование позволило выявить, что применение раствора с измененной кислотностью (рН 5,0) вызывает изменение состояния клеток изучаемого дифферона с усилением их секреторной деятельности. Динамика заживления раневого дефекта демонстрирует наличие корреляции с величиной индекса дегрануляции тучных клеток. Выяснилось, что наибольший эффект проявляется на первые сутки, а стимулирующее влияние продолжается до полной эпителизации раневого дефекта.*

*Ключевые слова:* тучные клетки, раны, регенерация, кислотность экссудата.

Тучные клетки (ТК) распространены в организме практически повсеместно [11]. Ранее роль тучных клеток в большинстве случаев связывали с аллергией и патологической реакцией на антигены. Однако современные исследования свидетельствуют о значительном многообразии функций ТК, которые реализуются с помощью синтеза и секреции широкого спектра биологически активных соединений [1, 5, 8, 12, 13]. Особое значение ТК имеют в развитии раневого процесса, в т.ч. благодаря влиянию на пролиферацию и гистоархитектонику тканей в условиях воспаления, в т.ч., коже [1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 13]. Процесс регенерации характеризуется высокой метаболической активностью и основывается на биохимических реакциях, для которых величина рН имеет большое значение [7]. Однако, связь между величиной водородного показателя и морфологическими характеристиками ТК до сих пор остается неизученной.

Цель исследования – изучение влияния кислотомодифицированных растворов на

морфофункциональное состояние тучных клеток в паравульнарной и раневой зонах при лечении экспериментальных ран.

**Материалы и методики.** Исследование проведено на 30 самцах белых беспородных крыс, которые были разделены на 2 экспериментальные группы (контрольная и опытная) по 15 особей в каждой. Животным каждой группы исследования проводилось моделирование ран мягких тканей по оригинальной методике с последующим ежедневным лечением в стандартном объеме.

*Моделирование ран мягких тканей.* На предварительно выбритом от шерсти участке области холки крысы кожа дважды обрабатывается 0,05 % водным раствором хлоргексидина биглюконата и промывается физиологическим раствором. Накладывается трафарет и скальпелем иссекается кожа и подкожная клетчатка вместе с поверхностной фасцией в виде эллипса диаметром  $\approx 1,5 \text{ см}^2$ . Проводится удаление струпа и некротизированных участков в пределах здоровых тканей, с последующим закрытием дефекта стерильной марлей и фиксацией к окружающей коже водонепроницаемой пленочной повязкой.

Рана ежедневно обрабатывается соответствующим раствором: водой для инъекций (рН – 6,2) в контрольной, а в опытной группе используется 0,9 % раствор NaCl (рН – 5,0).

Для забора материала животных вывели из эксперимента на 1, 3, 5, 7 и 14 сутки.

Атякин Дмитрий Андреевич – ВГМУ им. Н. Н. Бурденко, директор НИИ экспериментальной биологии и медицины, д. м. н., E-mail: earth-mars38@yandex.ru.  
Чуян Артем Олегович – студент 5 курса ВГМУ им. Н. Н. Бурденко, E-mail: artem-chuyan@yandex.ru.  
Андреев Александр Алексеевич – ВГМУ им. Н. Н. Бурденко, профессор кафедры общей хирургии, д. м. н., E-mail: a.andreev@vsmaburdenko.ru.  
Карапитьян Артем Ромэнович – студент 5 курса ВГМУ им. Н. Н. Бурденко, E-mail: ark\_136@mail.com.

Материал фиксировался в 10 % формалине с последующим обезвоживанием, изготовлением парафиновых срезов и окрашиванием толуидиновым синим для избирательного выявления ТК [9]. Плотность ТК, окружающих рану, определяли на стандартизированных полях зрения с помощью светового микроскопа МикМед 6 (ЛОМО), которые получали при использовании объектива  $\times 40$  с помощью программного пакета «Микро-Анализ View» (ОАО ЛОМО – Микросистемы). У каждого лабораторного животного анализировалось не менее 35 полей зрения. Функциональное состояние ТК оценивали по индексу дегрануляции, который представляет собой отношение числа дегранулированных клеток к общему числу ТК, выраженное в процентах.

Статистическую обработку данных проводили с использованием MS Office Excel, оценку достоверности различий осуществляли с помощью критерия Стьюдента с уровнем значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждения.** Процессы заживления кожной раны сопровождались выраженной реакцией тучных клеток в околораневой зоне. Согласно данным гистологического исследования общее количество тучных клеток в контрольной группе на первые сутки составляло  $4,89 \pm 3,89$  в поле зрения, а индекс дегрануляции –  $41,23 \pm 0,42$  %.

В опытной группе наблюдалась массивная секреция продуктов биосинтеза тучными клетками, проявившаяся максимальным на протяжении раневого процесса индекс дегрануляции –  $47,49 \pm 13,39$  %. Кроме того, было выявлено более высокое содержание ТК в околораневой области кожи в сравнении с контрольной группой, количество которых составило  $7,75 \pm 4,88$ .

К периоду пролиферативных преобразований (с 3-их по 5-е сутки) в контрольной группе индекс дегрануляции снизился с  $43,05 \pm 0,54$  % до  $34,54 \pm 4,54$  %, количество ТК возросло с  $4,18 \pm 3,64$  до  $7,82 \pm 6,51$ . В то же время, в опытной группе ИД сохранялся на уровне  $40,17 \pm 6,7$  %, а число ТК увеличилось с  $6,48 \pm 4,28$  до  $8,36 \pm 4,33$ .

На 7-е сутки в контрольной группе наблюдалось существенное повышение индекса дегрануляции по сравнению с прошлым сроком наблюдения, достигая максимальных значений за весь период исследования данной группы (до  $51,44 \pm 21,86$  %), что коррелировало с уровнем развития грануляционной ткани при заживлении раны. В опытной группе индекс дегрануляции умеренно по-

высился до  $43,71 \pm 1,61$  %, общее количество ТК увеличилось в обеих экспериментальных группах (контрольной и опытной) и составило  $5,08 \pm 2,96$  и  $9,01 \pm 5,85$  соответственно в поле зрения, что свидетельствовало о нарастании регенераторных проявлений.

Длительная и более интенсивная дегрануляция ТК с 3-х суток в опытной группе связана с пролиферативной фазой раневого процесса. Возможно, что повышенная функциональная активность ТК сопровождалась стимуляцией ангиогенеза и образованием грануляционной ткани, обусловленной биоэффектами триптазы и других секреторируемых медиаторов.

К завершающему этапу исследования – 14-е сутки эксперимента, в контрольной группе индекс дегрануляции значительно снизился –  $23,19 \pm 0,44$  % по сравнению с данными за 7-е сутки, тогда как в опытной группе он был более высоким –  $40,92 \pm 5,41$  %. Общее количество ТК в паравульнарной и раневой зонах контрольных животных составляло  $6,76 \pm 4,63$ , опытной группы –  $8,19 \pm 4,40$ . Уменьшение общего количества ТК с увеличением дегранулирующих клеток в опытной группе совпадало со значимым уменьшением площади раны между 7 и 14 сутками в репаративной фазе раневого процесса. Вместе с этим, больший индекс дегрануляции на 14-е сутки в опытной группе указывал на более активное влияние ТК по отношению к репаративным процессам, поскольку известны активирующие эффекты протеаз ТК, в т.ч. триптазы, на клетки фибробластического дифферона с вовлечением их в пластические процессы заживления ран [1, 10].

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. Применение кислотомодифицированного раствора с pH 5,0 при обработке области раны вызывало активизацию секреторной деятельности ТК и интенсификацию поступления продуктов биосинтеза во внеклеточный матрикс.

2. В опытной группе лабораторных животных наибольший регуляторный эффект ТК на процессы репарации в раневом повреждении проявлялся на 1-е сутки эксперимента.

3. При использовании кислотомодифицированного раствора (pH 5,0) обнаружена корреляция между динамикой заживления раны и морфофункциональным состоянием ТК.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Н. Т. К вопросу о роли тучных клеток в процессе заживления ран / Н. Т. Алексеева, А. А. Глухов // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2011. – Т. 4. – № 4. – С. 864-871.
2. Алексеева Н. Т. Гистоплазиметрическая характеристика асептического раневого процесса при различных методах регионального воздействия / Н. Т. Алексеева // Фундаментальные исследования – 2014. – № 10-5. – С. 817-821.
3. Алексеева Н. Т. Участие клеточного компонента в регенерации раны / Н. Т. Алексеева // Журнал анатомии и гистопатологии – 2014. – Т. 3. – № 1 (9). – С. 9-15.
4. Алексеева Н. Т. Морфологическая реакция тучных клеток при регенерационном процессе в коже под действием обогащенной тромбоцитами плазмы крови / Н. Т. Алексеева, Д. Б. Никитюк // Вопросы морфологии XXI века. Выпуск 4. Сборник научных трудов: «Учение о тканях. Гистогенез и регенерация». – 2015. – С. 66-71.
5. Алексеева Н. Т. Аналитическая морфология репаративной регенерации в коже под действием различных региональных факторов / Н. Т. Алексеева, Д. Б. Никитюк, С. В. Ключкова // Журнал анатомии и гистопатологии – 2015. – Т. 4. – № 1 (13). – С. 26-37.
6. Алексеева Н. Т. Морфологические особенности раневого процесса в коже при региональном лечебном воздействии: автореф. дис. д-ра мед. наук / Алексеева Наталья Тимофеевна – Орб., 2015. – 41 с.
7. Андреев А. А. Значение кислотности при регенерации мягкой ткани / А. А. Андреев [и др.] // Вестник Воронежского института высоких технологий. – 2016. – № 2 (17). – С. 17-19.
8. Атякшин Д. А. Оценка эффективности выявления тучных клеток в тощей кишке монгольских песчанок с помощью гистохимических методик / Д. А. Атякшин, А. С. Бурцева, Д. А. Соколов // Журнал анатомии и гистопатологии – 2016. – Т. 5. – № 4. – С. 85-89.
9. Атякшин Д. А. Гистохимия ферментов / Д. А. Атякшин, И. Б. Бухвалов, М. Тиманн. – Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2016. – Разд. 3.5. Окрашивание толуидиновым синим. – С. 58-65.
10. Фибробласты дермы: особенности цитогенеза, цитофизиологии и возможности клинического применения / А. И. Зорина [и др.] // Гены и клетки – 2011. – Т. 6. – № 2. – С. 15-26.
11. Characterization of mast cell populations using different methods for their identification / Atiakshin D. [et al.] // Histochem Cell Biol. – 2017. – P. 1-12. doi: 10.1007/s00418-017-1547-7.
12. Mast cells in tissue healing: from skin to the gastrointestinal tract / R. Kennelly [et al.] // Curr Pharm Des. – 2011. – Vol. 17. – № 34. – P. 3772-3775 (4).
13. Ng MFY. The role of mast cells in wound healing / MFY Ng // Int Wound J. – 2010. – Vol.7. – № 1. – P. 55-61. doi: 10.1111/j.1742-481X.2009.00651.x

## EVALUATION OF THE INFLUENCE OF ACID-MODIFIED SOLUTIONS ON MORPHOFUNCTIONAL STATE OF RAT SKIN MAST CELLS AT TREATMENT OF EXPERIMENTAL WOUNDS

© 2017 D. A. Atiakshin, A. O. Chuyan, A. A. Andreev, A. R. Karapitian

Medical University «Voronezh State Medical University N. N. Burdenko» Russian Ministry of Health

*Mast cells play a significant role in all phases of the wound process, affecting the proliferation and reconstruction of tissue in the skin. Wound healing is caused by the course of biochemical reactions, for which the pH value is of key importance. At the same time, the relationship between the value of the hydrogen index and the activity of mast cells has not been elucidated. The article presents the results of the study of the effects of acid-modified solutions on the morphofunctional state of mast cells in the paravulnary and wound areas of the skin of rats during the treatment of experimentally modeled wounds. The study revealed that the use of a solution with a changed acidity (pH 5.0) causes a change in the state of the cells of the studied differon with an increase of their secretory activity. The dynamics of healing of the wound defect demonstrates the presence of correlation with the magnitude of the degranulation index of mast cells. It was found out that the greatest effect is manifested on the first day, and the stimulating effect continues until the complete epithelization of the wound defect.*

*Keywords: mast cells, wounds, regeneration, acidity of exudate.*