

На правах рукописи

Кенсовская Инна Михайловна

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ
ТКАНИ КОЖИ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОЛАКТИНА
(экспериментальное исследование)**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2015

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Изатулин Владимир Григорьевич**

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор **Лебединский Владислав Юрьевич**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Янин Владимир Леонидович**

(Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии, г. Ханты-Мансийск)

доктор медицинских наук **Семченко Валерий Васильевич**

(Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина, профессор кафедры анатомии, гистологии, физиологии и патологической анатомии, г. Омск)

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Барнаул)

Защита состоится «___» _____ 2015 г. в «___» часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.05 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; <http://ngmu.ru/dissertation/361>)

Автореферат разослан «___» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

А. В. Волков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Проблема изучения воспаления имеет длительную историю и остается актуальной на сегодняшний день (Чернух А. М., 1979; Кузин М. И., Костюченко Б. М., 1981; Изатулин В. Г., 2000; Озерская О. С., 2007 и др.).

Несмотря на пристальное изучение восстановительных процессов в коже и большое количество средств природного и синтетического происхождения, обладающих выраженными репаративными свойствами, интерес к этой проблеме не снижен и в настоящее время, так как используемые препараты не всегда эффективны (Arndt К. А., 2009; Горяйнова Е. Г. с соавт., 2010 и др.).

Однако, по мнению специалистов, улучшить свойства уже сформированного рубца кожи крайне сложно и практически невозможно (Зорина А. И. с соавт., 2011; Berman В., Zell D., 2009). Решение этой задачи может значительно упроститься, если коррекцию цито- и гистогенеза в ней проводить на ранних этапах развития восстановительного процесса и формирования регенерата.

Цель исследования. Выявить особенности цито- и гистогенеза соединительной ткани кожи в восстановительном процессе при использовании пролактина.

Задачи исследования

1. Изучить в эксперименте морфофункциональные изменения структур кожи в динамике восстановительного процесса.
2. Выявить в эксперименте изменения соединительнотканых элементов кожи при внутримышечном введении пролактина.
3. Определить особенности морфофункциональных изменений структур кожи в условиях местного применения пролактина.
4. Провести сравнительный анализ полученных результатов и определить условия оптимизации восстановительного процесса в коже с целью достижения выраженного косметического эффекта и формирования его оптимальных биомеханических свойств.

Научная новизна. Впервые с учетом комплекса гистологических, морфометрических, биомеханических и биохимических методов исследования изучено и показано стимулирующее влияние на цито- и гистогенез

восстановительного процесса в коже местного использования гормона пролактин, который ранее использовался по другому назначению.

Показано, что при местном использовании пролактина отмечается большая сохранность клеток соединительной ткани дермы, имеющих высокую функциональную активность, что в дальнейшем обеспечивает более оптимальное течение восстановительного процесса в ней, предопределяя в конечном итоге возникновение более тонкого и косметического рубца.

Установлено, что пролактин позволяет воздействовать на восстановительный процесс в дерме, предопределяя более оптимальный характер его течения: изменения сосудов микроциркуляторного русла, волокон соединительной ткани, эпителия и др.

В рамках выполненной работы на достаточном объеме экспериментального материала разработаны новые подходы к оптимизации процесса заживления ран кожи, что и определяет дальнейшие перспективы использования пролактина при их лечении и коррекции других воспалительных реакций в ране.

Теоретическая и практическая значимость. С учетом выявленных особенностей цито- и гистогенеза восстановительного процесса в коже при местном использовании гормона пролактин определены возможные пути воздействия на него, а также на характер ремоделирования рубца кожи в отдаленные сроки.

Наряду с этим использование полученных разработок показало их перспективность как в дерматологической, так и в косметологической практике, что позволяет широко их рекомендовать для апробации в клинике.

Новые сведения о его действии могут быть использованы в учебном процессе в курсах гистологии, патологической физиологии, фармакологии, пластической хирургии, дерматологии и косметологии, на кафедрах медицинских вузов и биологических факультетов университетов, а также в экспериментальной практике научно-исследовательских институтов и лабораторий, занимающихся вопросами разработки новых препаратов для коррекции заживления ран.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Местное использование пролактина в ранний посттравматический период снижает альтерацию, активизирует метаболизм клеток, их

взаимодействие, стимулирует синтетические процессы в них, создавая условия для адекватного развития восстановительных процессов в коже.

2. Местное применение пролактина, вызывая направленное изменение морфофункциональных свойств структурных элементов в дерме, обеспечивает в конечном итоге достижение выраженного косметического эффекта и формирование оптимальных биомеханических свойств рубца кожи при заживлении ее ран.

Апробация основных положений работы. Результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на научно-практической конференции (Санкт-Петербург, 2009); на межрегиональной научно-практической конференции «Реабилитация хирургических больных в условиях модернизации отечественного и регионального здравоохранения» (Чита, 2013); на ежегодных областных научно-практических конференциях дерматологов Иркутской области (Иркутск, 2009–2014); на межкафедральном совещании кафедр гистологии, цитологии и эмбриологии, анатомии человека, фармакологии, нормальной и патологической физиологии Иркутского государственного медицинского университета (Иркутск, 2013).

Внедрение в практику. Полученные результаты внедрены в учебный процесс Иркутского государственного медицинского университета на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии (в разделах «Кожа» и «Защитные реакции организма»), на кафедре патологической физиологии (в разделе «Воспаление и регенерация»), на кафедре кожных болезней (в разделе «Рубцы кожи»).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 работ, в том числе 5 статей в журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций основных результатов материалов диссертации.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 19 таблиц и 34 рисунков. Указатель литературы представлен 222 источниками, из которых 68 – зарубежных авторов.

Личный вклад автора. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 205 беспородных крысах самцах с массой тела $170 \pm 15,2$ г, содержащихся на строгой диете в условиях вивария. Животные были разделены на 3 группы: 1-я (контрольная) группа – 65 крыс, которым внутримышечно вводили физиологический раствор; 2-я группа – 65 крыс, которым однократно в течение 7 суток от начала эксперимента внутримышечно вводили пролактин; 3-я группа – 65 крыс, которым в течение 7 суток (двукратно) для коррекции восстановительного процесса местно применяли пролактин на гелевой основе. Исходное состояние дермы исследовано на материале от 10 интактных животных.

Модель воспалительно-репаративного процесса. Экспериментальным животным (в состоянии наркоза) в межлопаточной области через трафарет электрокоагулятором наносили кожные раны диаметром 6 мм.

Характеристика препарата, способ его применения. В эксперименте использован пролактин в растворе для внутримышечного введения (25 ед./кг) и препарат гормона на гелевой основе (5 %) для местного применения, основой изготовления которого был индифферентный гель (Озерская О. С., 2007).

Определение содержания гормонов в плазме крови. Содержание пролактина в плазме крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью стандартного набора «ИФА-пролактин-01». Содержание кортикостерона определяли по методу О. К. Ботвиньева и Ю. Е. Вельтищева в модификации В. В. Малышева с соавт. (1985).

Изучение динамики воспалительно-репаративного процесса. Визуально оценивали следующие признаки: выраженность перифокального воспаления; скорость формирования грануляционной ткани; характер и сроки эпителизации; степень васкуляризации рубца и его качество (нормотрофический, гипотрофический, гипертрофический).

Раневой процесс изучали гистологическими, морфометрическими и гистохимическими методами на микропрепаратах, изготовленных из экспериментального материала, который забирали через 2, 6, 12 часов, через 1, 2, 3, 5, 7, 15, 30, 60 и 180 суток от начала эксперимента. Выведение животных производили методом декапитации. Выделенный фрагмент кожи делили на три

части: первую часть фиксировали в 10 %-м растворе нейтрального формалина с последующей заливкой в парафин (срезы толщиной 7–10 мкм); вторую (центральную) часть использовали для изучения биомеханических свойств рубца кожи, а третью – для определения содержания жидкости.

Реакция клеточных элементов и межклеточного вещества изучена на расстоянии 450–500 мкм от краев раны.

Для изучения цито- и гистогенеза соединительной ткани кожи применяли окрас кигематоксилин-эозином и азур-II-эозином – для морфометрических исследований (Меркулов Г. А., 1969), пикрофуксином по методу Ван-Гизона и пикрофуксином по методу М. К. Васильцова (1971) – для оценки состояния клеток, межклеточного вещества соединительной ткани и определения содержания коллагена.

Определяли количество полнокровных сосудов в парараневой зоне (Автандилов Г. Г., 1990): в каждом препарате в 50 полях зрения подсчитывали их количество, а затем пересчитывали последнее на площадь 1 мм². Одновременно с этим определяли общую площадь, занимаемую сосудами, а затем, разделив ее на количество сосудов, получали среднее значение площади поперечного сечения одного полнокровного сосуда (в мкм²).

Морфофункциональное состояние тучных клеток оценивали по их количеству в 1 мм² и по среднему показателю их дегрануляции (СПД) по формуле Astaldi & Verga (Терентьева Э. И., 1968).

Подсчет относительного количества клеточных элементов (лейкоцитов, макрофагов и фибробластов) производили при увеличении в 1 350 раз и использовали для этого формулу G. Hjelman, O. Wegelius (1954).

Определение содержания жидкости в коже. Из 3-й части образца кожи вырубали пробойником её фрагмент диаметром 3 мм, взвешивали его, после чего помещали в термостат при температуре 60 °С и проводили высушивание до постоянного веса. По разнице в весе (между исходным и окончательным) судили о содержании жидкости в коже и степени её отёка (Васильцов М. К., 1974).

Определение биомеханических характеристик кожи. Для определения биомеханических свойств кожи в области восстановительного процесса использован метод О. С. Мишарева с соавт. (1984).

Методы статистической обработки полученного материала. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы

Statistica 6.1 (StatSoft Inc., USA). Учитывая, что большинство полученных данных не соответствовали закону нормального распределения, их расчет проведен непараметрическим методом, а все результаты представлены медианой, 25-м и 75-м перцентилями (Гланц С., 1999). Анализ значимости различий между группами осуществляли с использованием методов непараметрической статистики (U-тест Манна – Уитни) (Реброва О. Ю., 2002). За критический уровень значимости было принято значение $p = 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Воспаление независимо от его генеза имеет общебиологические закономерности развития. Тем не менее, всегда присутствуют специфические его особенности, характерные для того или иного его вида, в том числе и раневого (Шехтер Б. А. с соавт., 1990; Маянский Д. Н., 1991), которые практически не отличаются от описанных ранее в научной литературе (Румянцева Е. Е., 2006; Арндт К. А., 2009).

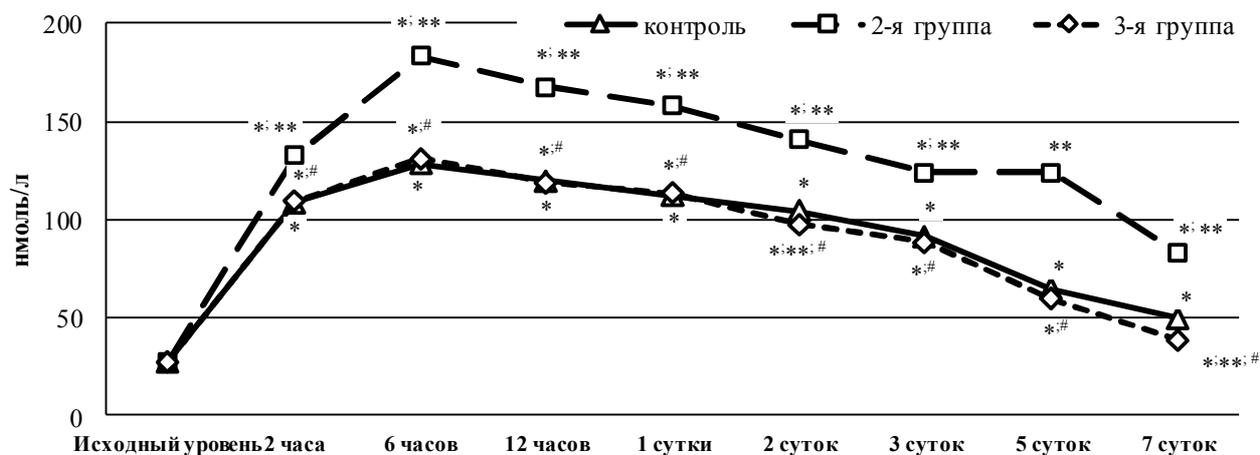
В тоже время в выполняемой работе специфика исследования заключается в том, что восстановительный процесс в коже изучается на фоне изменения как общего уровня, так и местного содержания пролактина (Изатулин В. Г., 1999; Немирович-Данченко Е. А., Фомичёва Е. Е., 2002).

Тщательное изучение его начальных этапов продиктовано тем, что именно они запускают всю программу ответной реакции, что в дальнейшем существенно отражается на конечном результате этого процесса (Озерская О. С., 2007).

В результате проведенных исследований установлено, что цито- и гистогенез соединительной ткани в коже при использовании пролактина имеет ряд особенностей, проявляющихся в изменении общего и местного гормонального статуса. Так, наибольшее содержание пролактина в плазме крови отмечается через 6 часов после нанесения раны у животных 2-й группы – 183,5 нмоль/л. Второе ранговое место по уровню его содержания занимает 3-я группа, а наиболее низкий уровень пролактина отмечается в контроле.

У животных 1-й группы подъем уровня пролактина в крови выявляется, начиная с 2 часов от начала эксперимента, и достигает максимальных значений

к 6 часам, что обусловлено их стрессорной реакцией на травму. В последующие сроки он постепенно снижается до исходного уровня (рисунок 1).



Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы; # – значимое отличие показателей 2-й и 3-й групп

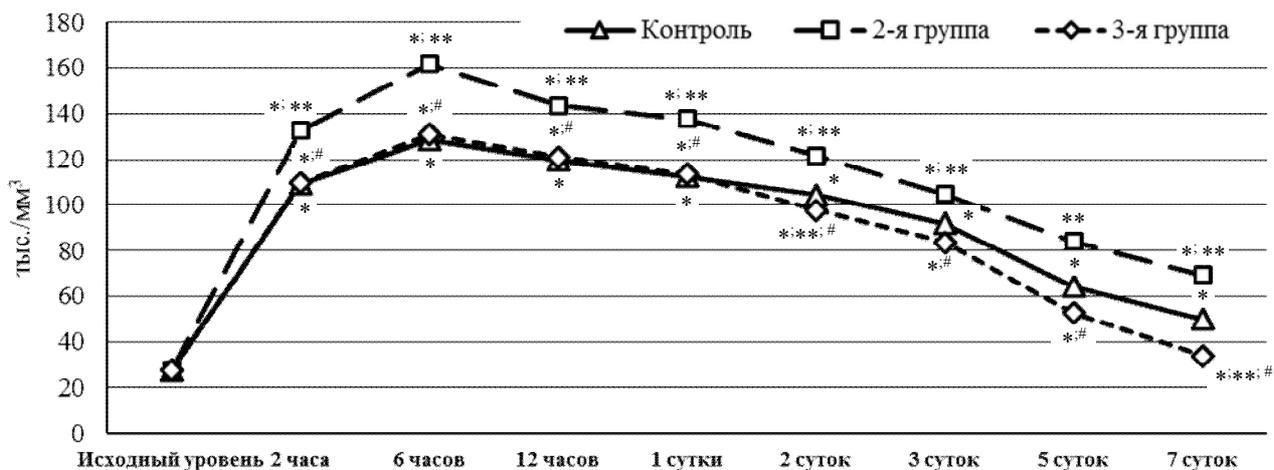
Рисунок 1 – Динамика изменения содержания пролактина в плазме крови (нмоль/л)

Во 2-й группе выявлена такая же закономерность изменения содержания гормона, но его уровень в 1,43 раза больше значений в контроле и он более продолжителен. В 3-й группе содержание гормона в крови существенно не отличается от его уровня в контроле. Следовательно, эндокринный статус животных значимо не изменяется, что не вызывает корректирующих влияний со стороны высших центров эндокринной регуляции, а различия в содержании пролактина у животных 2-й и 3-й групп обусловлены прежде всего способом его введения.

Изучение динамики восстановительного процесса в коже показало, что в парараневой зоне в ранние сроки в большей или меньшей степени наблюдается альтерация клеточных элементов и других её структур, но их поражение при использовании пролактина выражено меньше, чем в контроле.

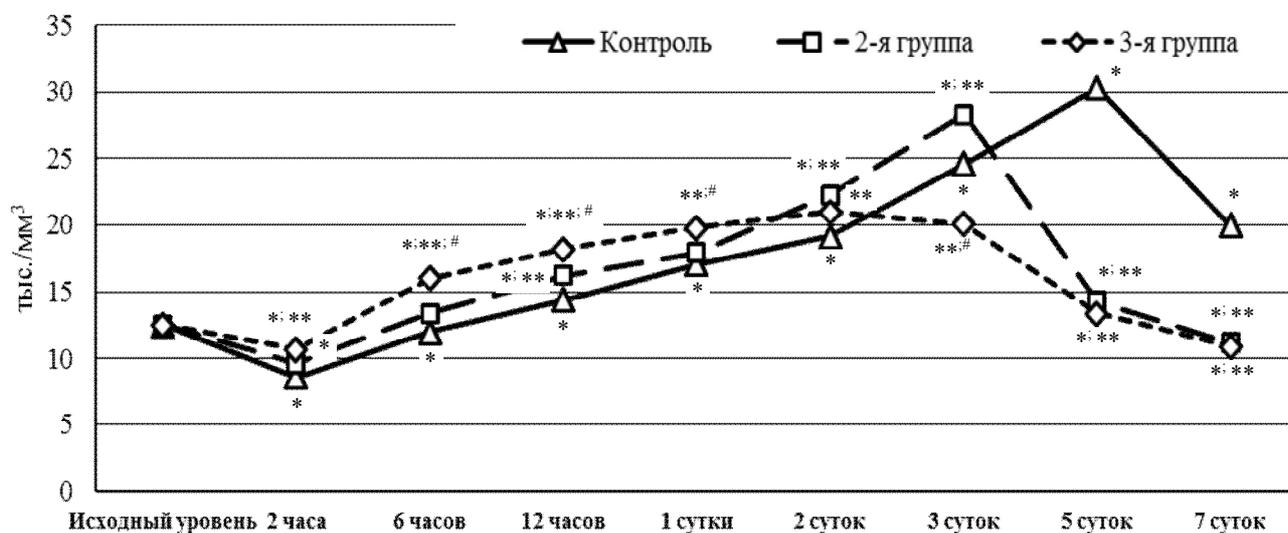
На это достоверно указывает суммарное количество сохранившихся в очаге воспаления клеток соединительной ткани (лейкоцитов, макрофагов и фибробластов), а также содержание в ней коллагена (рисунки 2, 3, 4 и 5).

В значительной мере это обусловлено стресс-лимитирующим эффектом пролактина (Малышев В. В. с соавт., 1997), повышающим и резистентность клеток в ранние сроки воспаления (Изатулин В. Г., 1999).



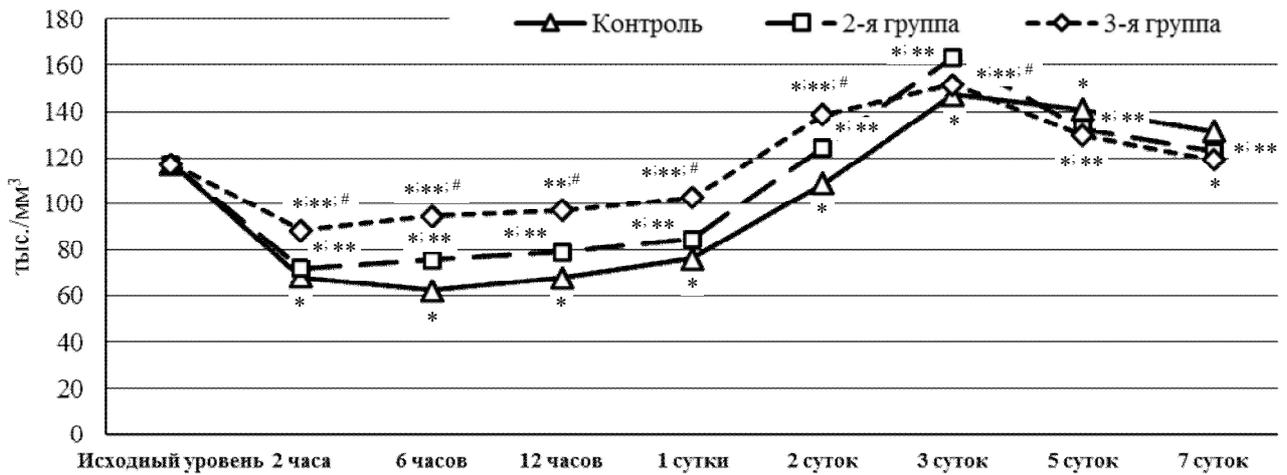
Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы; # – значимое отличие показателей 2-й и 3-й групп

Рисунок 2 – Динамика изменения количества лейкоцитов в очаге раневого воспаления (тыс./мм³)



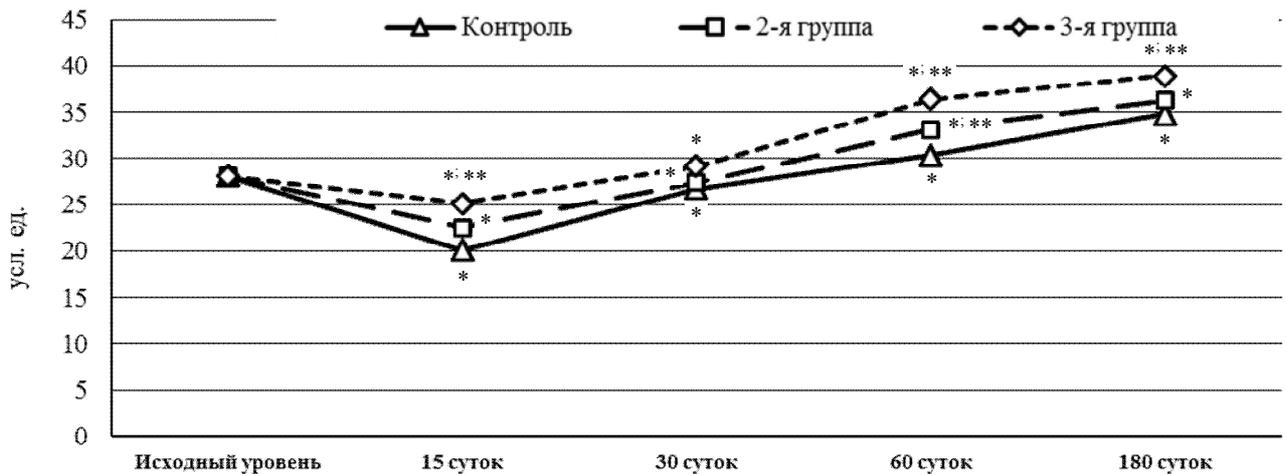
Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы; # – значимое отличие показателей 2-й и 3-й групп

Рисунок 3 – Динамика изменения количества макрофагов в очаге раневого воспаления (тыс./мм³)



Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы; # – значимое отличие показателей 2-й и 3-й групп

Рисунок 4 – Динамика изменения количества фибробластов очаге раневого воспаления (тыс./мм³)



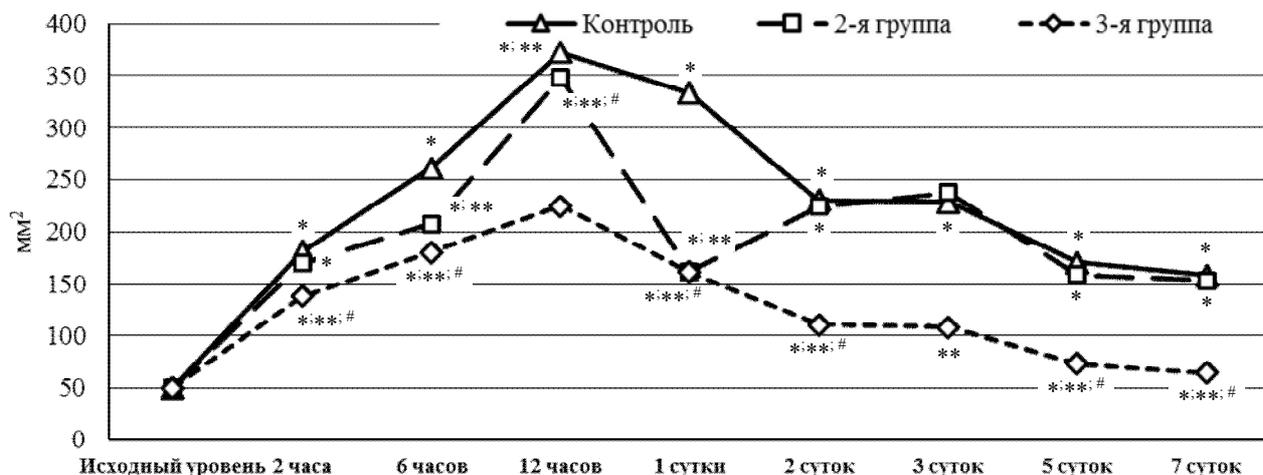
Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы

Рисунок 5 – Динамика изменения содержания коллагена в рубце кожи (усл. ед.)

Также позитивным является и то, что при воздействии пролактина отмечается большая сохранность сосудистого русла в области восстановительного процесса (рисунок 6), что, несомненно, в дальнейшем играет существенную роль и в развитии клеточных реакций.

Кровеносные сосуды, находящиеся в зоне поражения, тромбируются и разрушаются, отмечается полнокровие как капилляров, так и более крупных сосудов. Выявлен переваскулярный отек, что является закономерной реакцией

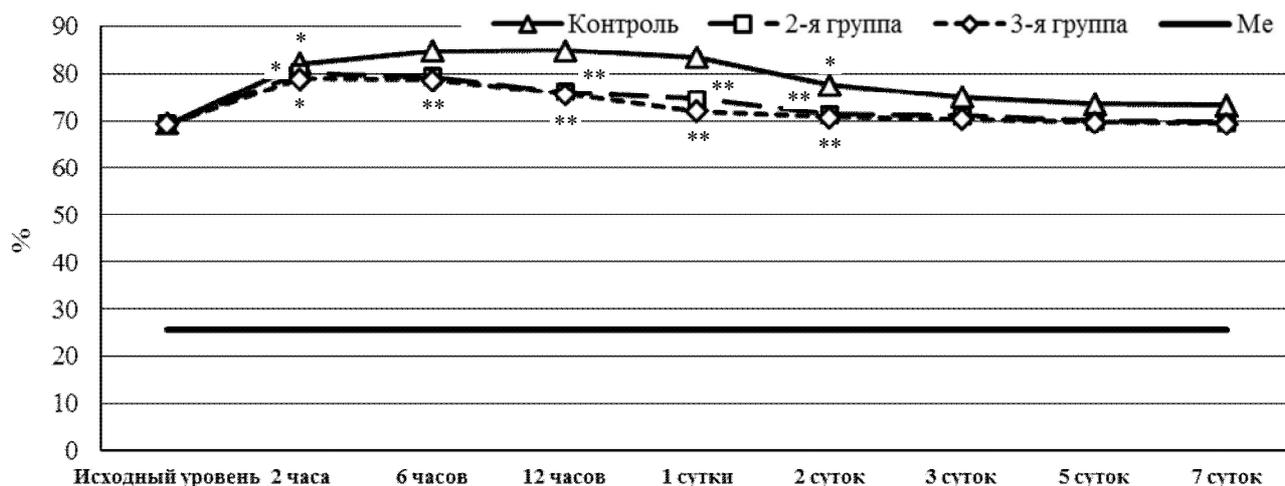
на повреждение. Увеличивается проницаемость сосудов, что приводит к экссудации плазмы крови из них в окружающие ткани.



Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы; # – значимое отличие показателей 2-й и 3-й групп

Рисунок 6 – Динамика изменения количества кровеносных сосудов в очаге раневого воспаления (мм²)

Содержание жидкости (рисунок 7) в окружающих рану тканях увеличивается на 23 % ($p < 0,05$) за счет отека и достигает максимальных значений к 12 часам. Во 2-й и 3-й группах её количество увеличивается на 16 % и 14 % соответственно, достигая максимальных значений в более ранний срок – 2 часа.

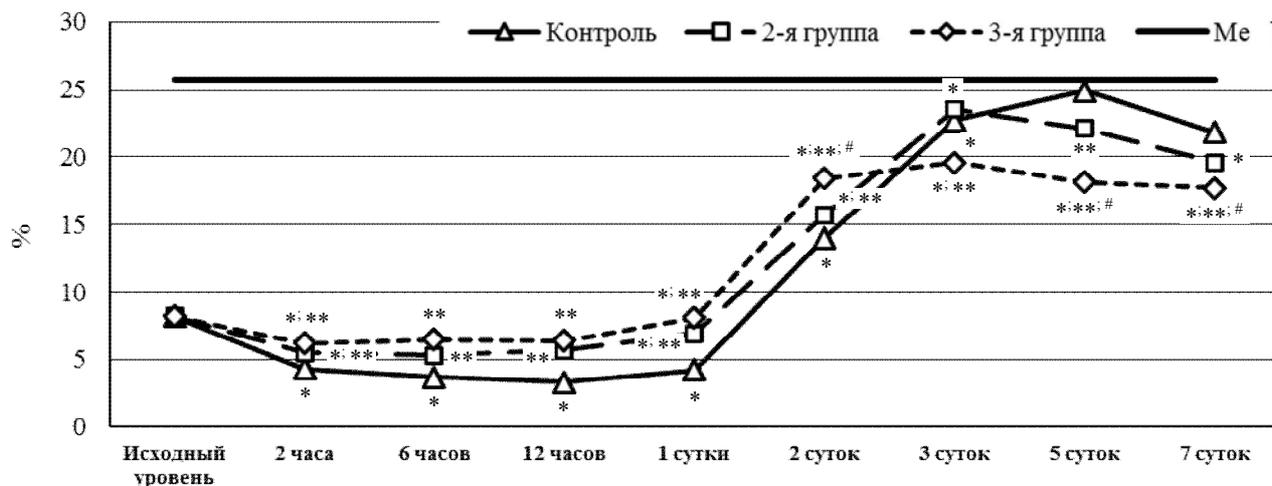


Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы

Рисунок 7 – Динамика изменения содержания жидкости в очаге раневого воспаления (%)

Этому способствует активно высвобождающийся из гранул тучных клеток (рисунок 8) гистамин. Количество тучных клеток во 2-й и 3-й группах в 1,7 и 1,9 раза больше, чем в контроле, где их СПД достигает максимальных величин – 0,8 (0,77; 0,83).

Гистамин в очаге воспаления также способствует эмиграции лейкоцитов в область повреждения и стимулирует фагоцитоз нейтрофилов (Шиходыров В. В. с соавт., 1986; Быков В. А., 1999).



Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы; # – значимое отличие показателей 2-й и 3-й групп

Рисунок 8 – Динамика изменения количества тучных клеток в очаге раневого воспаления (тыс./мм³)

Так, количество лейкоцитов в зоне поражения во всех группах достигает максимальных значений к 6 часам и существенно снижается к концу 1-х суток. Оценивая лейкоцитарную реакцию, следует сделать акцент на следующем: число лейкоцитов во 2-й группе превышает их количество в контроле и в 3-й группе более чем в 1,4 раза ($p < 0,05$) (см. рисунок 2). Начиная с 3-х суток эксперимента в инфильтрате отмечается массовая гибель нейтрофилов.

Макрофагальная фаза воспаления у животных 1-й группы развивается с 12 часов по 7-е сутки наблюдения включительно. Формирование «демаркационного» вала завершается на 3–5-е сутки эксперимента. При этом он достигает максимальной ширины (78,3 мкм) в контроле, тогда как во 2-й группе он тоньше в 1,27 раза (см. рисунок 3). Максимальное количество макрофагов в области восстановительного процесса отмечается в контроле на 5-е сутки эксперимента, во 2-й группе – на 3-и сутки, в 3-й группе – на 2-е

сутки. Это говорит в пользу того, что макрофаги в 3-й группе обладают более высокой функциональной активностью.

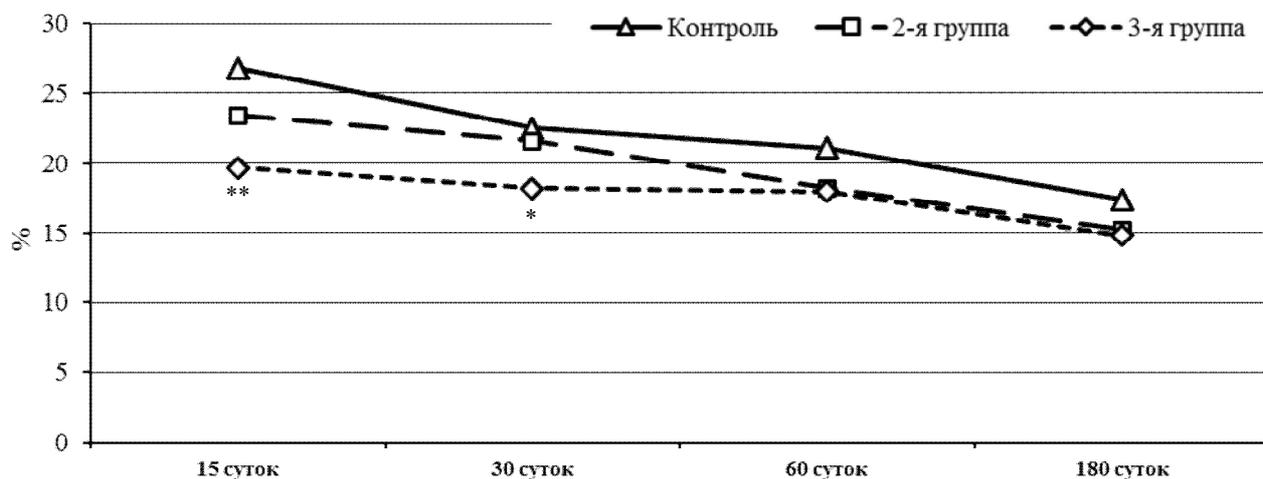
Репаративный период восстановительного процесса (фибробластическая фаза) занимает более продолжительное время, чем предшествующие периоды. В контрольной группе он протекает со 2-х по 15-е сутки, а максимальное количество фибробластов в области раны во всех группах отмечается на 3-и сутки эксперимента, причем наибольшее их количество отмечается во 2-й группе, а наименьшее – в контроле (см. рисунок 4). Наряду с этим количество фибробластов в срок от 2 часов до 2 суток в регенерате максимальное, что говорит об их большей сохранности.

Этот факт подтверждают исследования В. Г. Изатулина (1999), который установил, что на цито- и гистогенез в коже большое влияние оказывает сохранившийся пул фибробластов в парараневой зоне, клетки которого обладают информацией о её интактной структуре в этой области (Зорина А. И. с соавт., 2011).

Так, с 5-х суток они начинают синтезировать коллаген, а к концу 15-х суток раневой дефект заполняется молодой грануляционной тканью. В этот срок содержание коллагена в области восстановительного процесса во 2-й группе достигает 22,5 усл. ед., что в 1,12 раза больше, чем в контроле (см. рисунок 5). Ещё большие различия отмечаются, по сравнению с результатами в 3-й группе – более чем в 1,25 раза.

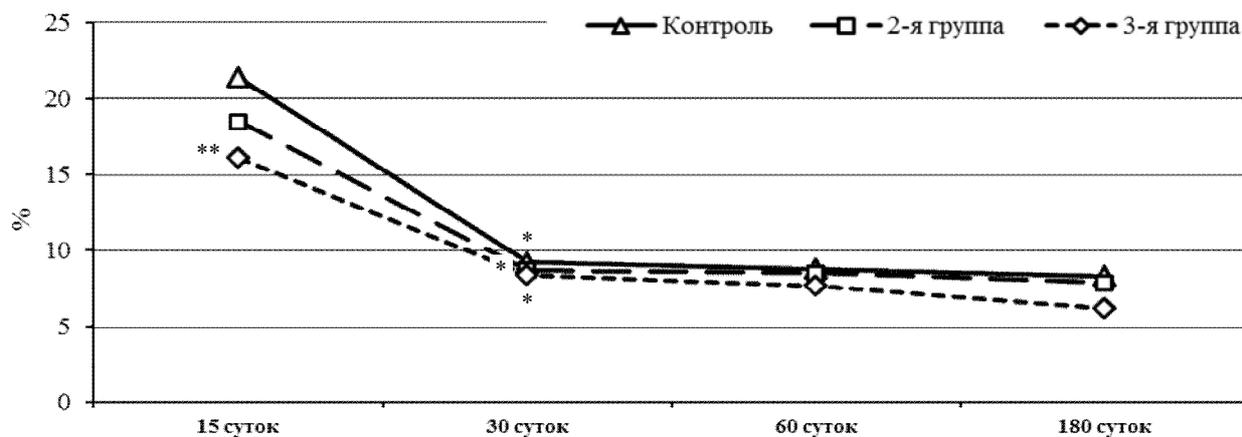
Наряду с этим, объективную информацию о темпах формирования и созревания грануляционной ткани дают относительные объёмы основных элементов кожи: соединительнотканых клеток, волокон, сосудов, а также жидкости (см. рисунок 7) (рисунок 9).

Выявлено, что на 15-е сутки эксперимента (рисунок 10) менее васкуляризирована грануляционная ткань во 2-й группе, где количество сосудов составляет 18,5 (16,7; 19,2) % её объема, что в 1,16 раза меньше, чем в контроле – 21,4 (20,1; 24,3) %. В 3-й группе данный показатель имеет наименьшие значения – 16,1 (15,4; 17,8) %.



Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы

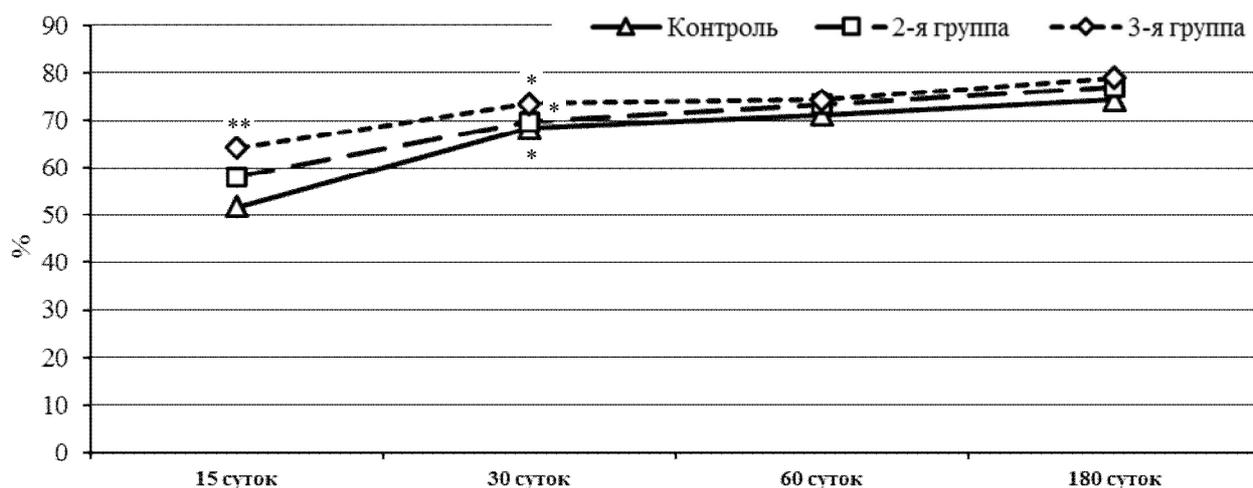
Рисунок 9 – Динамика изменения относительного объёма клеток в рубце кожи (%)



Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы

Рисунок 10 – Динамика изменения относительного объёма сосудов в рубце кожи (%)

Относительный объем волокон (рисунок 11) в грануляционной ткани в этот срок, напротив, был самым высоким у животных 3-й группы – 64,2 (61,9; 64,7) %, а самым низким – в контроле, причем эти различия носят выраженный характер.

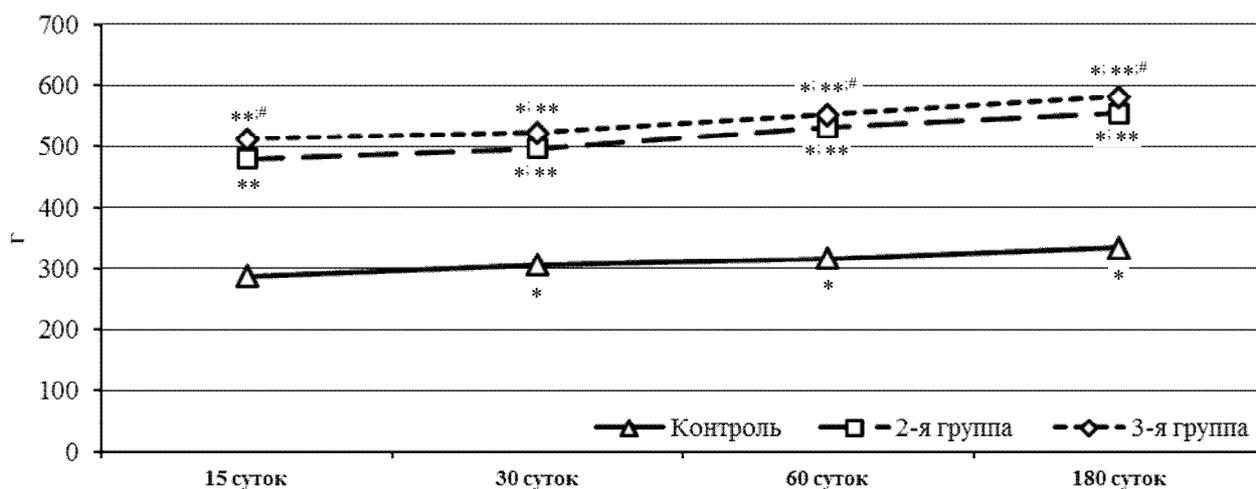


Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы

Рисунок 11 – Динамика изменения относительного объёма волокон в рубце кожи (%)

Содержание коллагена (см. рисунок 5) в 3-й группе имело максимальное значение и было на 25 % больше, чем в контроле, – 20,1 (19,3; 22,8) усл. ед.

Аналогично изменяются и биомеханические свойства образующегося рубца кожи. Так, его прочность (рисунок 12) в срок 15 суток была значительно больше во 2-й и 3-й группах (в 1,68 и 1,75 раза) по сравнению с контролем, а его упругость также была выше – в 1,37 и 1,45 раза соответственно.



Примечание: * – значимое отличие от показателей предыдущего срока; ** – значимое отличие от показателей контрольной группы; # – значимое отличие показателей 2-й и 3-й групп

Рисунок 12 – Динамика изменения прочности рубца кожи (Г)

На 30-е сутки эксперимента в 1-й и 2-й группах относительный объём сосудов (см. рисунок 10), значительно снижаясь по отношению к предыдущему сроку, имел наибольшие значения в контроле – 9,2 (8,5; 10,3) %, но не имел различий, по сравнению с данными во 2-й и 3-й группах ($p < 0,05$).

Также в этот срок в контрольной группе отмечается максимальный объём клеток, минимальный объём волокон, минимальное содержание коллагена, что свидетельствует о меньшей степени зрелости рубца кожи. Наилучшие характеристики этих показателей имеет рубец кожи в 3-й группе.

Всё это отражается и на биомеханических характеристиках сформировавшегося рубца кожи. Так, по сравнению с контролем, его прочность (см. рисунок 12) и упругость во 2-й группе были, соответственно, в 1,63 и 1,44 раза больше, чем в контроле. Значимых отличий результатов их изучения во 2-й и 3-й группах не выявлено.

В последующие сроки наблюдения отмечаются аналогичные изменения как результатов изучения относительных объёмов структурных элементов кожи, так и биомеханических свойств сформировавшегося рубца кожи.

Так, к 180-м суткам эксперимента во 2-й группе относительный объём сосудов (см. рисунок 10) продолжает снижаться и составляет 7,9 (6,4; 8,3) %, что в 1,05 раза ниже, чем в контроле, а в 3-й группе их уменьшение (на 34 %; $p < 0,05$) более выражено – до 6,2 (5,7; 7,5) %. Изменение относительного объёма клеток (см. рисунок 9) в рубце имеет противоположную тенденцию, которая происходит на фоне снижения популяции клеточных элементов во всех группах эксперимента. Так, во 2-й группе относительный объём клеток в этот срок достигает 15,2 (13,1; 17,2) %, что в 1,15 раза меньше, чем в контроле. Относительный объём клеток в 3-й группе не имеет значимых отличий от аналогичного показания во 2-й группе, но в 1,18 раза больше, чем в контроле.

Относительный объём волокон (см. рисунок 11) и содержание коллагена (см. рисунок 5) в этот же срок во 2-й группе незначительно больше, чем в контроле, – в 1,03 и 1,04 раза соответственно. Значимые различия характеристик этих показателей выявлены только при сопоставлении их значений в 1-й и 3-й группах эксперимента, когда они, соответственно, в 1,06 и 1,12 раза больше, чем в контроле.

Аналогичные изменения отмечаются и при изучении биомеханических свойств сформировавшегося рубца кожи. Так, в срок 180 суток характеристики

прочности (см. рисунок 12) и упругости рубца кожи во 2-й и 3-й группах были больше, чем в контроле, в 1,24 и 1,48 раза и 1,66 и 1,8 раза соответственно.

Во 2-й группе формирование рубца, по сравнению с контролем, происходит более эффективно. Так, если в контрольной группе нормотрофический рубец возникает в 60 % случаев, то во 2-й группе он формируется не менее чем в 70 % наблюдений, а в 3-й группе – в 100 % случаев.

Следовательно, при местном использовании пролактина течение восстановительного процесса в коже как по сравнению со 2-й группой, так и при сопоставлении с контролем имеет существенные и значимые отличия.

Так, у животных 3-й группы сохранившихся клеток в зоне поражения в посттравматический период, по сравнению со 2-й группой (см. рисунки 2, 3 и 4), больше, и они имеют более высокую функциональную активность, что, вероятно, обусловлено более быстрой кумуляцией гормона в парараневой зоне при местном использовании препарата.

Об этом же свидетельствует и меньшая степень поражения микрососудов и выраженность отёка окружающих тканей в зоне восстановительного процесса.

Также в этой области отмечается минимальная лейкоцитарная инфильтрация (см. рисунок 2) структур кожи, и формируется наиболее узкий лейкоцитарный вал с наибольшей плотностью расположения в нем клеток.

Макрофагальная фаза восстановительного процесса у животных 3-й группы характеризуется тем, что «демаркационный» вал у них в 1,4 раза тоньше, чем в контроле, а максимальное количество макрофагов (см. рисунок 3) в области повреждения отмечается на 2–3-и сутки эксперимента, что раньше, чем в других группах, на 2–3 суток. Кроме того, макрофаги у них обладают более высокой функциональной активностью.

Также, следует отметить и бóльшую сохранность фибробластов (см. рисунок 4) в посттравматический период. Так, к 6 часам их число в зоне регенерации составляет 94,5 (91,4; 96,5) тыс./мм³, что в 1,52 раза ($p < 0,05$) больше, чем в контроле.

Об этом же свидетельствует и содержание коллагена (рисунок 5) в области раны, которое при местном использовании гормона достигает в срок 15 суток 25,1 (24,2; 27,3) усл. ед., превышая уровень его значений в контроле в 1,25 раза.

Менее выражена и васкуляризация грануляционной ткани в области формирующегося рубца, что свидетельствует о его большей зрелости. Так, в 3-й группе отмечаются (см. рисунок 6) наименьшие её характеристики – 16,1 (15,4; 17,8) %, что в 1,33 раза меньше, чем в контроле.

На всём протяжении формирования и ремоделирования рубца (15–180 суток) наименьшее количество клеток (см. рисунок 9) отмечается в 3-й группе, и оно значимо меньше, чем в контроле, а с 15-х по 30-е сутки – также ниже, чем во 2-й группе. Показатель относительного объёма волокон (см. рисунок 11), напротив, наивысший у животных 3-й группы, а самый низкий – в контроле, причем эти различия (в 1,24 раза) носят значимый ($p < 0,05$) характер.

Объём клеток (см. рисунок 9) в этой группе также самый низкий – 19,7 (17,4; 21,5) % ($p < 0,05$): в сравнении с контролем – в 1,36, в сравнении со 2-й группой – в 1,19 раза. В то же время относительный объём волокон (см. рисунок 11) в этой группе самый высокий – 64,2 (61,9; 64,7) % ($p < 0,05$), что в 1,24 раза больше, чем в контроле, и в 1,11 раза – чем во 2-й группе.

Содержание коллагена в 3-й группе (рисунок 5) в области формирующегося рубца и его биомеханические характеристики также имеют самые большие значения, что превышает их характеристики как по сравнению с контролем, так и по сравнению со 2-й группой: коллаген – в 1,25 и 1,12 раза, прочность (см. рисунок 12) – в 1,74 и 1,05 раза, упругость – в 1,47 и 1,19 раза соответственно ($p < 0,05$).

Наряду с вышеизложенным, завершение восстановительного процесса в коже (формирование и ремоделирование рубца) при местном использовании пролактина в отдаленные сроки завершается 100 %-м образованием нормотрофического типа рубца, что на 30–40 % лучше, чем в других группах.

Следовательно, при местном применении пролактина значительно изменяются структурные проявления и их продолжительность. Отмечается: повышение сохранности и резистентности клеток соединительной ткани в посттравматический период; снижение вторичной стресс-индуцированной альтерации клеток и сосудов в зоне травмы; повышение функциональной активности тучных клеток; активация фагоцитарной активности макрофагов; ускорение пролиферации и дифференцировки фибробластов; ускорение фибриллогенеза и формирование коллагеновых пучков; ускорение перикалибровки и регресс кровеносных сосудов грануляционной ткани.

Как следствие этого, формируется рубец кожи с более высокими биомеханическими характеристиками и эстетическими свойствами.

Следовательно, можно заключить, что в условиях применения пролактина наблюдается оптимизация не только острого, но и репаративного периодов раневого воспаления.

В целом полученные результаты позволили разработать концептуальную схему анализа морфофункциональных изменений соединительнотканых элементов кожи при заживлении её раны в условиях гиперпролактинемии.

ВЫВОДЫ

1. Повышение уровня пролактина в плазме крови у животных не обеспечивает в должной мере развития клеточно-сосудистых реакций при восстановительном процессе в коже вследствие того, что его кумуляция в этой области происходит в относительно отдаленные сроки, когда процессы альтерации практически завершены. Так, в сравнении с контролем, у животных данной группы отмечается: в 1,22 раза (6 часов) больше сохранившихся фибробластов, в 1,4 раза (1-е сутки) большее лейкоцитов, в 1,27 раза (2-е сутки) меньше ширина демаркационного вала, а формирование рубца происходит на 2 суток раньше.

2. Местное использование пролактина обеспечивает в ранний посттравматический период за счет ускоренной его кумуляции в области повреждения повышение сохранности и резистентности клеток, тканевых структур и снижает ишемические явления в зоне поражения. Так, по сравнению с контролем, у животных данной группы, в 1,52 раза (6 часов) больше количество сохранившихся фибробластов, формируется наиболее узкий лейкоцитарный вал (1-е сутки) с наибольшей плотностью расположения в нем клеток, демаркационный вал в 1,4 раза тоньше, а максимальное количество макрофагов отмечается на 2–3 суток раньше.

3. Достижение адекватной концентрации гормона пролактина при местном его применении стимулирует развитие клеточных реакций, их метаболизм в ходе воспалительного процесса, повышает их функциональную активность, тем самым не только обеспечивая сокращение сроков формирования рубца, но и предопределяя его более высокие клинико-

морфологические характеристики. Так, на 15-е сутки и в последующие сроки эксперимента в формирующемся рубце кожи, по сравнению с контролем, в 1,33 раза меньше сосудов, в 1,36 раза меньше клеток, но в 1,24 раза больше волокон и 1,25 раза – коллагена.

4. Рубец кожи, сформированный в условиях использования пролактина, имеет более высокие биомеханические характеристики, чем в контроле. Его прочность и упругость (15-е сутки) были во 2-й группе выше, чем в контроле, в 1,68 и 1,37 раза соответственно, а в 3-й группе они достигали максимальных значений и были выше, по отношению к результатам контрольной группы, в 1,74 и 1,47 раза соответственно.

5. В условиях местного использования пролактина к завершению эксперимента (180 суток) в 100 % случаев формируется нормотрофический тип рубца кожи, при резорбтивном действии гормона он возникает у 70 % экспериментальных животных, а в контроле данный показатель не превышает 60 %-го барьера.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты исследования могут быть использованы в работе научно-исследовательских институтов и лабораторий – для клинических испытаний пролактина по определению его эффективности в лечебном процессе при заживлении ран кожи и по купированию в них воспалительных процессов различного генеза.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Изатулин В. Г. Использование пролактина для заживления кожных ран в эксперименте / В. Г. Изатулин, В. Ю. Лебединский, **И. М. Кенсовская** // **Бюлл. ВСНЦ СО РАМН.** – 2008. – № 6. – С. 35–36.

2. Влияние локальной гиперлактинемии на морфологические и эстетические характеристики рубца кожи / В. Г. Изатулин, В. Ю. Лебединский, **И. М. Кенсовская**, Л. Б. Куклина и др. // **Сиб. мед. журн.** – 2014. – № 2. – С. 58–61.

3. **Кенсовская И. М.** Обоснование применения препарата лактин для коррекции морфогенеза рубцов кожи и его характеристик / **И. М. Кенсовская**, В. Г. Изатулин, В. Ю. Лебединский // **Сиб. мед. журн.**–2014. – № 4. – С. 44–48.

4. **Кенсовская И. М.** Роль разных пулов фибробластов в заживлении кожной раны при гиперлактинемии / **И. М. Кенсовская**, В. Ю. Лебединский, В. Г. Изатулин // **Сиб. мед. журн.**– 2014. –№ 8. – С. 34–38.

5. **Кенсовская И. М.** Сохранность клеточной популяции в дерме как предшественник формирования нормотрофического рубца кожи при заживлении её раны / **И. М. Кенсовская**, В. Г. Изатулин, В. Ю. Лебединский// **Бюлл. ВСНЦ СО РАМН.** – 2014. – № 8. – С. 44–47.

6. Локальная гиперлактинемия как способ коррекции характеристик рубцовой ткани/ **И. М. Кенсовская**, В. Г. Изатулин, В. Ю. Лебединский, Л. Б. Куклина и др. // Реабилитация хирургических больных в условиях модернизации отечественного и регионального здравоохранения: тез. науч.-практ.конф. – Чита, 2013. – С. 79–81.

Подписано в печать ##.##.2015. Бумага офсетная. Формат 60x84¹/₁₆.

Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 1,0

Тираж 100 экз. Заказ № 004-15.

РИО ИНЦХТ

(Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел. 29-03-37, 29-03-70. E-mail: arleon58@gmail.com)