

не способен ингибировать овуляцию. При ГПЭ наряду с нивелированием гиперплазии эндометрия не наблюдалось морфо-функциональных изменений, характерных для атрофии слизистой матки. Данное обстоятельство позволяет выбирать способ лечения, соответствующий поставленной цели. Его следует учитывать при нивелировании ГПЭ у женщин репродуктивного возраста, заинтересованных в восстановлении фертильности.

Результаты проведенных нами исследований согласуются с общепринятым мнением, что дидрогестерон является мощным, активным гестагеном, не имеющим сродства с эстрагенными и андрогенными рецепторами и не обладающим анаболической активностью [1].

Заключение

Преимуществом дидрогестерона является то, что доза, обеспечивающая секреторную трансформацию эндометрия, в два раза ниже дозы, необходимой для блокады овуляции, в то время как у большинства других гестагенов, доза, подавляющая овуляцию, значительно ниже дозы, трансформирующей эндометрий.

Литература / References

1. Кузнецова И.В. Гиперпластические процессы эндометрия // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2007. – № 5. – С. 58–63.

Kuznetsova I.V. Giperplasticheskie processy jendometrija // Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii. – 2007. – № 5. – С. 58–63.

2. Побединский Н.М., Кузнецова И.В., Томилова М.В. Развитие гиперпластических процессов эндометрия при хронической ановуляции // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 1. – С. 30–34.

Pobedinskij N.M., Kuznetsova I.V., Tomilova M.V. Razvitie giperplasticheskikh processov jendometrija pri hronicheskoj anovuljacii // Akusherstvo i ginekologija. – 2007. – № 1. – С. 30–34.

3. Прилепская В.Н., Цаллагова Е.В. Патогенетические аспекты ожирения и нарушения репродуктивной функции женщины // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 5. – С. 51–55.

Prilepskaja V.N., Callagova E.V. Patogeneticheskie aspekty ozhireniya i narusheniya reproduktivnoj funkcii zhenshhiny // Akusherstvo i ginekologija. – 2006. – № 5. – С. 51–55.

4. Соснова Е.А. Метаболический синдром // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2008. – Т. 7. – № 3. – С. 66–73.

Sosnova E.A. Metabolicheskij sindrom // Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii. – 2008. – Т. 7. – № 3. – С. 66–73.

Жарылкасынова Гавхар Жанузаковна (контактное лицо) – e-mail: gavhar72@inbox.ru.

УДК 591.82:615.324:591.471.271:616-001.4-003.9-07

Г.В. Хомулло, О.М. Довгилева, М.Б. Петрова

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФИБРОБЛАСТОВ НОВООБРАЗОВАННОЙ ТКАНИ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ РАН КОЖИ У ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ХИТОЗАНА

Кафедра биологии ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минзгравы России

В статье представлены результаты изучения морфо-функциональных особенностей репаративного процесса в коже при воздействии хитозаном. Электронно-микроскопическое исследование фибробластов грануляционной ткани позволило выяснить значение отдельных ультраструктурных компонентов клетки в реализации стимулирующего эффекта хитозана при заживлении ран кожи. Результаты экспериментального исследования предполагают целесообразность проведения дальнейших исследований с целью создания нового лекарственного вещества – природного стимулятора заживления ран кожи.

Ключевые слова: кожа, крысы, репаративный процесс, фибробласты, органеллы, коллагеновые волокна.

ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF THE NEWLY FORMED TISSUE FIBROBLASTS IN THE PROCESS OF SKIN WOUND HEALING IN ANIMALS CHITOSAN BEING APPLIED

G.V. Khomullo, O.M. Dovgileva, M.B. Petrova

Department of biology of Tver State Medical Academy

The article presents the results of studying of morpho-functional peculiarities of the skin reparative process while applying chitosan. The electronic-microscopic examination of the granulation tissue fibroblasts enabled us to find out the significance of some ultrastructural cell components in exerting the stimulating effect of the chitosan during the process of skin wound healing. The results of the experimental study demonstrate the expediency to carry out further investigations aimed at the designing of a new medicine – a natural stimulant of the skin wound healing.

Key words: skin, rats, reparative process, fibroblasts, organelles, collagen fibres.

Введение

В настоящее время весьма актуальным является поиск оптимальных способов стимуляции репаративных процессов с учетом индивидуальных особенностей организма [1–2]. Для сокращения сроков репарации используются различные физические (электропунктура, лазерное и другие виды излучений) и химические средства, в том числе искусственно синтезированные фармакологические препараты. Однако многим из них свойственны различные побочные эффекты. В последние годы возник интерес к веществам биогенного происхождения, в частности хитозану. Этот природный биополимер обладает иммуномодулирующим, противомикробным и противовоспалительным действиями [3]. Наши многолетние общеморфологические, цитологические и гистологические исследования влияния хитозана на заживление ран кожи [4–7] показали, что стимулирующий эффект препарата в значительной степени определяется изменением ультраструктурной организации фибробластов новообразованной ткани.

Цель исследования

Изучить ультраструктурную организацию фибробластов на различных этапах репаративного процесса в коже в условиях применения хитозана.

Материал и методы

Исследование проведено на 118 белых крысах-самцах линии «Вистар» средней массой 148 г, которые содержались и выводились из эксперимента в соответствии с международными рекомендациями и соблюдением принципов гуманного отношения к лабораторным животным. Под эфирным наркозом им наносились полнослойные дефекты кожи площадью 225 мм² на боковой поверхности тела. Крысы были разделены на две серии. На раны крыс первой (контрольной) серии ежедневно наносили вазелиновое масло. Вторую (опытную) серию составили животные, на раневые дефекты которых ежедневно наносили 1% суспензию хитозана (ЗАО «Биопрогресс»,

РФ, паспорт № 650) на льняном масле («Эколен» г. Тверь; № ФСП 42-0221-0790-01 Р № 000379/01-2001 от 12.04.2001). Эффективность действия суспензии хитозана оценивалась визуально, скорость заживления ран измерялась планиметрическим методом.

Для изучения морфологических изменений тканей регенерата на ультраструктурном уровне через 5 и 10 суток после операции брались биоптаты, которые фиксировались в глутаровом альдегиде, заливались в аралдит и изучались под электронным микроскопом LVEM5. Все исследования проводились в лабораториях научно-исследовательского центра ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России.

Результаты исследований и их обсуждение

Через 5 дней после операции популяция фибробластов у животных первой серии была представлена, в основном, молодыми формами. Это небольшие веретеновидные клетки с незначительным объемом цитоплазмы. В центре располагается ядро овальной или округлой формы. Оно окружено гладкой, двухконтурной кариолеммой, хорошо выражено перинуклеарное пространство (рис. 1). Характерной особенностью фибробластов контрольной серии является незначительное развитие органелл в цитоплазме (рис. 2).

У животных, находившихся в условиях применения хитозана, через 5 дней после операции нами были отмечены существенные отличия в структуре фибробластов.

Незрелые формы фибробластов находятся в состоянии функциональной активности, о чем свидетельствуют округлые крупные ядра, богатые хроматином с четким разделением на эу- и гетерохроматин, содержащие одно или два эксцентрично расположенных ядрышка, хорошо выраженное перинуклеарное пространство и поры в кариолемме. Цитоплазматическая сеть представлена системой узких канальцев и цистерн. Рибосомы чаще фиксированы на мембранах канальцев ретикулама. Крупные митохондрии

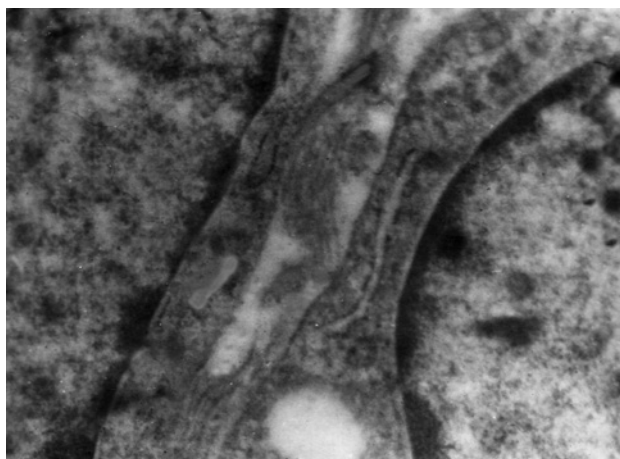


Рис. 1. Ядра молодых фибробластов, окруженные кариолеммой и четко выраженным перинуклеарным пространством. Контроль. 5 дней. ×20 000

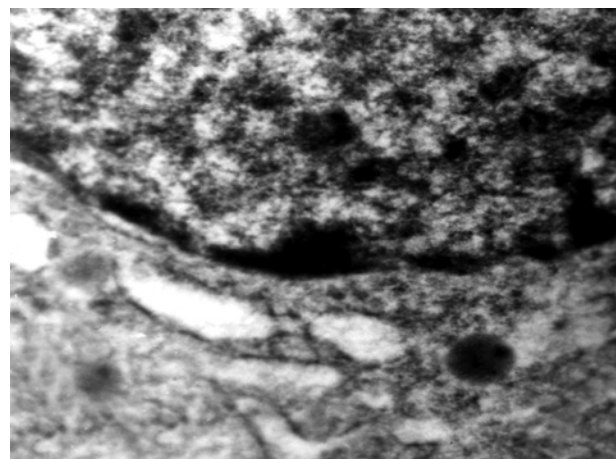


Рис. 2. Структура ядра и околоядерная зона молодого фибробласта с незначительным развитием органелл в цитоплазме. Контроль. 5 дней. ×20 000

распределены в цитоплазме равномерно и имеют характерную форму и структуру (рис. 3).

Наряду с описанными молодыми формами фибробластов в новообразованной ткани животных данной серии встречаются и более зрелые клетки с ярко выраженной коллагенсинтезирующей функцией и ультраструктурными признаками ускоренной эвакуации продуктов синтеза в межклеточное пространство. Это подтверждается присутствием крупных митохондрий с множественными, параллельно расположенными кристами и электронно-плотным матриксом. В межклеточном веществе грануляционной ткани располагаются широкие поля зрелых коллагеновых волокон с характерной поперечной исчерченностью. Волокна агрегируются в пучки, которые имеют упорядоченную направленность (рис. 4).

Через 10 дней после нанесения повреждения изучение ультраструктурного строения грануляционной ткани у животных контрольной серии выявило типичные морфологические особенности фибробластов, которые характеризовались различной степенью функциональной активности.

Молодые фибробласты остаются преобладающей формой у животных контрольной группы. Клетки имеют вытянутую форму и небольшой объем цитоплазмы вокруг них. Центральную часть клетки занимает крупное ядро овальной или округлой формы, которое отделено от цитоплазмы гладкой двухконтурной кариолеммой с четкими порами. Основную часть цитоплазмы этих клеток занимает гранулярный цитоплазматический ретикулум, который представлен сетью связанных между собой трубчатых структур, заполненных гомогенным мелкозернистым содержимым. Митохондрии немногочисленны, имеют типичную форму и распределены в цитоплазме равномерно.

Наряду с молодыми фибробластами в грануляционной ткани у животных контрольной серии встречаются и более зрелые клетки. Они характеризуются хорошо развитой гранулярной цитоплазматической сетью, на канальцах которой фиксированы рибосомы. Одновременно с ними встречаются и свободные рибосомы, образующие скопления. Средних размеров митохондрии распределены в цитоплазме равномерно. Пластинчатый комплекс развит достаточно хорошо. В межклеточном пространстве рядом с фибробластами обнаруживаются отдельные коллагеновые волокна.

В популяции фибробластов контрольных животных наряду с вышеописанными клетками обнаруживаются фиброциты (рис. 5). Синтетические процессы в них снижены, поэтому канальцы цитоплазматического ретикулума утрачивают правильную ориентацию, а затем фрагментируются. Снижено количество фиксированных и свободных рибосом, в митохондриях обнаруживаются просветленные участки с лизированными кристами. Пластинчатый комплекс развит слабо и представлен лишь отдельными вакуолями. В составе цитоплазмы фиброцитов часто встречаются фрагменты органелл в виде ламеллярных телец (рис. 6).



Рис. 3. Крупные митохондрии с правильно ориентированными кристами и полисомные комплексы в цитоплазме. Хитозан. 5 дней. $\times 25\ 000$

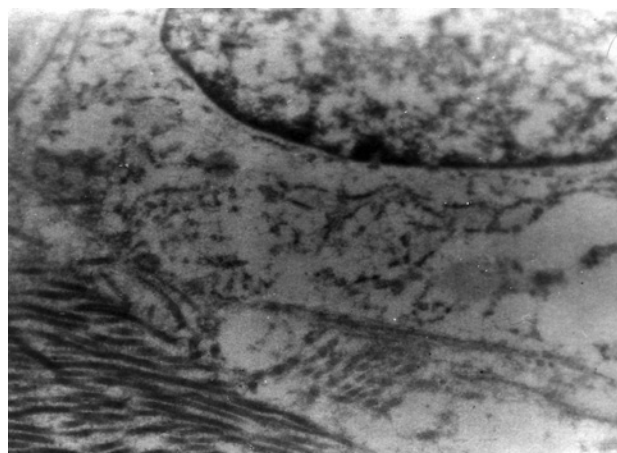


Рис. 4. Многочисленные коллагеновые волокна в экстрацеллюлярном пространстве. Хитозан. 5 дней. $\times 18\ 000$

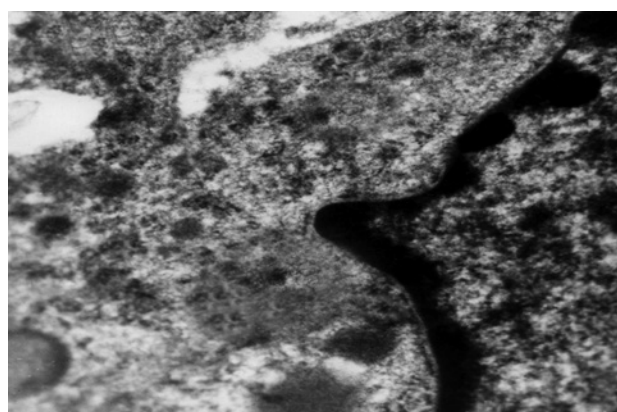


Рис. 5. Фиброцит с ядром неправильной формы и широким слоем гетерохроматина. Контроль. 10 дней. $\times 20\ 000$

У животных, находившихся в условиях применения хитозана, отмечаются существенные отличия в ультраструктуре фибробластических элементов новообразованной ткани. Через 10 дней после операции в молодой ткани преобладают зрелые формы фибробластов, находящиеся в состоянии высокой

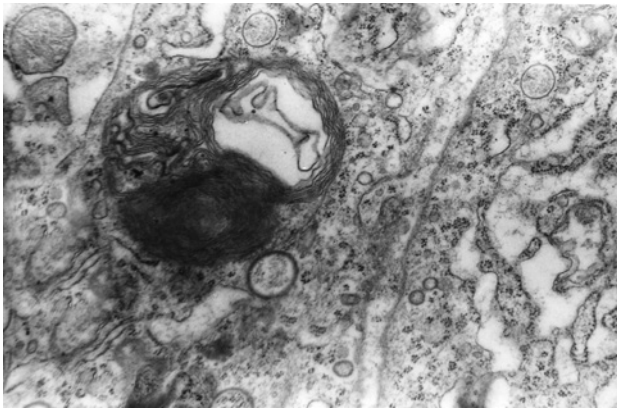


Рис. 6. Ламеллярное тельце и митохондрии с иррегулярными кристами в цитоплазме дегенерирующего фибробласта. Контроль. 10 дней. $\times 20\ 000$

функциональной активности и отличающихся высокой степенью зрелости. Эти клетки имеют крупные ядра с равномерным распределением хроматина. На границе двух клеток хорошо видны межклеточные контакты – десмосомы. В некоторых фибробластах встречаются ядра с измененной конфигурацией, кариолема которых образует небольшие инвагинации.

Цитоплазматический ретикулум занимает большую часть цитоплазмы. Канальцы его расширены, на них фиксировано большое количество рибосом. В периферической части цитоплазмы располагаются крупные митохондрии и множественный везикулярный материал. Высокая синтетическая активность зрелых фибробластов обусловлена особой ультраструктурой митохондрий, размеры которых сильно варьируют. Некоторые из них имеют средние размеры и нормальную структуру. Вместе с тем встречаются очень крупные митохондрии неправильной формы. Часть митохондрий имеет типичную структуру с отчетливо контурированными кристами, другие же характеризуются лизисом отдельных крист (рис. 7). Пластинчатый комплекс гипертрофирован, представлен расширенными микроцистернами, обилием микропузырьков и крупных вакуолей. Отдельные

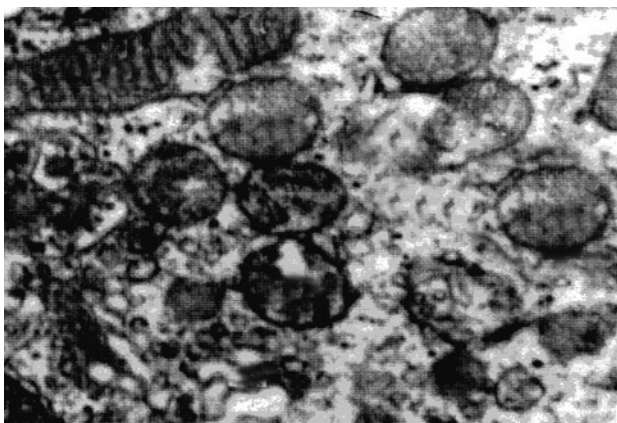


Рис. 7. Множество митохондрий с выраженными и частично лизированными кристами в цитоплазме активного фибробласта. Хитозан. 10 дней. $\times 22\ 000$

вакуоли, эвакуирующие содержимое в межклеточное пространство, сливаются с мембраной цитолеммы.

Одновременно с описанными фибробластами в новообразованной ткани животных данной серии обнаруживаются фиброциты, строение которых характеризуется снижением их функциональной активности. Ядра этих клеток имеют фестончатую форму вследствие инвагинации кариолеммы. Хроматин расположен около ядерной оболочки. Митохондрии набухают, увеличиваются в размерах, приобретают неправильную форму, а матрикс становится электронно-прозрачным. В большом количестве встречаются структурные компоненты дегенерирующих органелл в виде ламеллярных телец. Межклеточное вещество характеризуется обилием зрелых коллагеновых волокон с поперечной исчерченностью, расположенных в виде пучков (рис. 8).

Таким образом, ультраструктурные исследования фибробластов показали, что под воздействием хитозана происходит усиленное развитие гранулярного ретикулума в фибробластах, который является материальной основой их активной синтетической деятельности. Гораздо чаще, чем в контроле, рибосомы обнаруживались в виде больших агрегатов. Известно, что именно такие рибосомы активнее включают аминокислоты и синтезируют белок [8]. Кроме того, в фибробластах гипертрофируется пластинчатый комплекс, в котором происходит накопление веществ, образованных на рибосомах цитоплазматического ретикулума, и их последующее выделение из клетки. О повышенной секреторной деятельности фибробластов свидетельствуют изменения и других субмикроскопических структур [9]. При исследовании митохондрий нами отмечалось увеличение их общего количества и размеров. Число крист в них возрастало по сравнению с контролем, а матрикс характеризовался высокой оптической плотностью. Усиленная сравнительно с контролем продукция и экскреция фибробластами под влиянием хитозана коллагенового белка сопровождалась его ускоренной трансформацией в волокна. В новообразованной ткани крыс, на раны которых наносился хитозан,

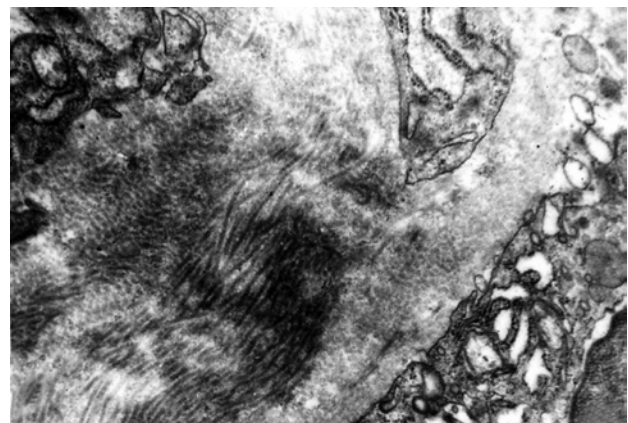


Рис. 8. Обширные поля правильно ориентированных коллагеновых волокон в межклеточном пространстве. Хитозан. 10 дней. $\times 20\ 000$

обнаруживались пучки зрелых коллагеновых волокон с характерной поперечной исчерченностью. Следовательно, в условиях применения местных аппликаций суспензии хитозана на раневые дефекты происходит значительная перестройка всех внутриклеточных органелл, осуществляющих синтез, накопление и выведение коллагена в межклеточное пространство.

Заключение

Эти данные позволяют нам утверждать, что одним из процессов, лежащих в основе стимулирующего эффекта хитозана, является усиление фибробластами процессов коллагеногенеза. Полученные нами ранее [7] результаты позволяют связать внутриклеточные перестройки фибробластов не только с усилением коллагеногенеза, но и образованием фосфоинозитов в цитоплазматическом ретикулуме, других мембранных структурах и их фосфорилированием в присутствии киназы до метаболитов.

Литература / References

1. Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика: перспективный инструмент персонализированной медицины [Электронный ресурс] / В.Г. Кукес, Д.А. Сычев. – Электрон. дан. – [Б.м.], 2008. – Режим доступа: <http://www.vechnayamolodost.ru/pages/biomedicin/klinifarmpe7.html>. – Загл. с экрана.
2. Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика: перспективный инструмент персонализированной медицины [Электронный ресурс] / В.Г. Кукес, Д.А. Сычев. – Электрон. дан. – [Б.м.], 2008. – Режим доступа: <http://www.vechnayamolodost.ru/pages/biomedicin/klinifarmpe7.html>. – Загл. с экрана.
3. Павлова Н.В. Цитологическая оценка влияния лазеротерапии на течение репарации кожи [Текст] / Н.В. Павлова [и др.] // Стоматология. – 2010. – № 1. – С. 33–36.
4. Павлова Н.В. Цитологическая оценка влияния лазеротерапии на течение репарации кожи [Текст] / Н.В. Павлова [и др.] // Стоматология. – 2010. – № 1. – С. 33–36.
5. Марквичева Е.А. Хитозан и его производные в биоинкапсулировании // Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихорева, В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002. – Гл. 6. – С. 315–324.

Markvicheva E.A. Hitozan i ego proizvodnye v bioinkapsulirovanii // Pod red. K.G. Skrjabina, G.A. Vihorevoj, V.P. Varlamova. – М.: Nauka, 2002. – Гл. 6. – С. 315–324.

4. Хомулло Г.В., Довгилева О.М. Влияние хитозана на регенерацию и клеточный метаболизм (обзор литературы) // Верхневолжский мед. журн. – 2011. – Т. 9. – Вып. 2. – С. 36–40.

Homullo G.V., Dovgileva O.M. Vlijanie hitozana na regeneraciju i kletochnyj metabolizm (obzor literatury) // Verhnevolzhskij med. zhurn. – 2011. – Т. 9. – Вып. 2. – С. 36–40.

5. Довгилева О.М., Хомулло Г.В., Петрова М.Б. Основные особенности репаративной регенерации кожи в условиях применения хитозана // Верхневолжский мед. журн. – 2011. – Т. 9. – Вып. 2. – С. 30–37.

Dovgileva O.M., Homullo G.V., Petrova M.B. Osnovnye osobennosti reparativnoj regeneracii kozhi v uslovijah primeneniya hitozana // Verhnevolzhskij med. zhurn. – 2011. – Т. 9. – Вып. 2. – С. 30–37.

6. Хомулло Г.В., Довгилева О.М. Цитологический состав экссудата при заживлении ран в условиях воздействия хитозана // Верхневолжский мед. журн. – 2011. – Т. 9. – Вып. 2. – С. 31–36.

Homullo G.V., Dovgileva O.M. Citologicheskij sostav jekssudata pri zazhivlenii ran v uslovijah vozdejstvija hitozana // Verhnevolzhskij med. zhurn. – 2011. – Т. 9. – Вып. 2. – С. 31–36.

7. Хомулло Г.В., Довгилева О.М., Петрова М.Б. Регенерация тканей и хитозан. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2013. – 132 стр.

Homullo G.V., Dovgileva O.M., Petrova M.B. Regeneracija tkanej i hitozan. – Tver': ООО «Izdatel'stvo «Triada», 2013. – 132 str.

8. Miller D.L., Ortega S., Bashayan O. et al. Compensation by fibroblast growth factor 1 (FGF1) does not account for the mild phenotypic defects observed in FGF2 null mice // Mol. Cell Biol. – 2000. – V. 20. – P. 2260–2268.

9. el-Ghalbzouri A., Gibbs S., Lamme E. et al. Effect of fibroblasts on epidermal regeneration // Br. J. Dermatol. – 2002. – V. 147. – № 2. – P. 230–243.

Петрова Маргарита Борисовна (контактное лицо) – заведующая кафедрой биологии ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России, д. б. н., профессор. Тел. 8-920-695-60-16; e-mail: pmargo-2612@mail.ru.

УДК 615.324:615.015

Н.С. Попов, М.А. Демидова, В.Г. Шестакова, Т.И. Елисева, Ю.Г. Казаишвили

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КОЖЕ КРЫС ПРИ НАРУЖНОМ ПРИМЕНЕНИИ ЭКСТРАКТА ПИЯВКИ МЕДИЦИНСКОЙ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ

ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России, Тверь

В экспериментах на 16 крысах с моделью термического ожога проведена оценка противоожоговой активности водного извлечения из пиявки медицинской лиофилизированной. У крыс опытной группы эпителизация ран отмечалась на 17-е сутки, что в 1,2 раза ($p < 0,05$) быстрее, чем в у крыс контрольной группы. Результаты гистологических исследований подтвердили более быструю регенерацию поврежденных участков кожи у животных, получавших препарат из пиявки медицинской. На 10-е сутки у крыс опытной группы сформированная грануляционная ткань имела свойственное строение и была почти полностью покрыта эпителиальным слоем. У подопытных животных, получавших экстракт пиявки, на 15-е сутки соединительная ткань была более зрелая, строение регенерата приближалось к строению здоровой кожи.

Ключевые слова: пиявка медицинская лиофилизированная, водное извлечение, термический ожог кожи, противоожоговое действие.