

УДК 576.32/36:612.79

© Комаревцева И.А., Попов Э.Н., Комаревцева Е.В., Заика А.В., 2009

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ Комаревцева И.А., Попов Э.Н., Комаревцева Е.В., Заика А.В.

Луганский государственный медицинский университет

Комаревцева И.О., Попов Е.М., Комаревцева К.В., Заика О.В. Морфологічна характеристика запальної реакції // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №2. – С. 56-59.

В роботі оцінку розвитку локальної запальної реакції робили методом морфологічного і морфометричного дослідження після ін'єкцій у шкіру експериментальних тварин нікотинової кислоти і *Cutis compositum*. Мікроін'єкції нікотинової кислоти викликали активну реакцію запалення з перевагою альтеративного і ексудативного компонентів, які тривали до кінця експерименту. Мікроін'єкції *Cutis compositum* супроводжувалися незначним запальним процесом із значними явищами репарації вже на ранніх стадіях. На прикінці експерименту зміни у шкірі тварин, які отримали *Cutis compositum*, мали ознаки організованого фібропластичного процесу, що з архітекtonіки майже відповідали нормальній дермі.

Ключові слова: морфологія шкіри, локальна запальна реакція

Komarevtseva I.A., Popov E.N., Komarevtseva K.V., Zaika A.V. Morphology of inflammatory reaction // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №2. – С. 56-59.

The morphology and morphology of skin was examined under conditions of the microinjections of nicotinic acid and *Cutis compositum*. The described changes reflect more active persistent alternative and exudative inflammatory reactions during nicotinic acid exposure in comparison with *Cutis compositum* microinjections. Early reparation and fibroplastic process proper to architectonics of normal dermal layers were stated at the end of experiment in animals subjected with injections of *Cutis compositum*.

Key words: morphology of skin cells, inflammatory reactions

Комаревцева И.А., Попов Э.Н., Комаревцева Е.В., Заика А.В. Морфологическая характеристика воспалительной реакции // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №2. – С. 56-59.

В работе оценку развития локальной воспалительной реакции осуществляли методом морфологического и морфометрического исследования после микроинъекций в кожу экспериментальных животных никотиновой кислоты и *Cutis compositum*. Микроинъекции никотиновой кислоты вызывали активную воспалительную реакцию с преобладанием альтеративного и экссудативного компонентов, персистирующую в течение всего времени эксперимента. Введение *Cutis compositum* сопровождалось минимальным воспалительным процессом, с выраженными явлениями репарации уже на ранних стадиях. К концу эксперимента изменения в коже животных, получивших *Cutis compositum*, характеризовались четко организованным фибропластическим процессом, вполне соответствующим по архитектонике поверхностным слоям дермы.

Ключевые слова: морфология кожи, локальная воспалительная реакция

В общем процессе репаративной регенерации, осуществляемом соединительнотканскими волокнами, при заживлении кожи ярко проявляется единство воспаления, регенерации и фиброза, которые по существу являются неразрывными компонентами целостной тканевой реакции на повреждение [1, 2, 7]. Весь процесс представляет собой динамическую саморегулирующуюся систему, в которой происходит кооперативное взаимодействие клеток (фибробластов, макрофагов, лаброцитов, эндотелия микроциркуляторного русла) между собой, с межклеточным матриксом (ГАГ, протеогликанами, фибронектином), клетками крови, а также коллагеновыми и эластиновыми волокнами на основе обратных связей [8, 9]. Таким образом, соединительную ткань кожи можно рассматривать как саморегулирующуюся систему, функционирующую на разных структурных уровнях – от функционального элемента (гистион) до уровня организма [3]. Активация одних клеточных систем каким-либо фактором вследствие сложной цепи взаимодействий включает другие системы, происходит каскад клеточных реакций, соединительная ткань уже на начальных этапах повреждения начинает реагировать как единая функциональная система, все реакции которой направлены на инактивацию патогенного фактора и репарацию [4, 5, 6]. Как для любого типового патологического процесса, этот механизм принципиально не зависит от повреждающего фактора и характера его действия, хотя имеет особенности.

Единство воспалительного и, собственно, репаративного компонента целостной реакции репаративной регенерации сохраняется во времени и пространстве. Проллиферативная фаза воспаления одновременно является и фазой репаративной регенерации. Фазы воспаления и регенерации разделены лишь условно, они накладываются друг на друга: уже на этапе альтерации начинается пролиферация фибробластов, а экссудация и инфильтрация, посте-

пенно затухая, остаются практически до окончания заживления. Регенерация и фиброз, протекающие при заживлении ран, также условно разделимые реакции, которые протекают одновременно [2, 9].

Материалы и методы исследования. При проведении данной работы эксперименты были поставлены на белых крысах линии Wistar, самцах, 16-ти недельного возраста, массой 200-300 г, которые были распределены на следующие группы:

1. Контрольная группа - животные, которым внутридермально вводили физиологический раствор -11 крыс.
2. Животные, которым внутридермально вводили никотиновую кислоту (НК) -16 крыс.
3. Животные, которым внутридермально вводили Кутис Композитум (КК) - 18 крыс.

Всего в эксперименте было использовано 45 животных. В экспериментальной работе использовали препараты провоспалительного и противовоспалительного действия. Исследования проводили на 9-ые сутки моделирования воспалительной реакции в коже. Выбранные нами сроки исследования были обусловлены процессом нормальной регенерации тканей после моделируемого асептического внутрикожного воспаления.

Все исследования проводились в одно и тоже время суток. Препараты вводили внутрикожно инсулиновым шприцем (глубина 1-2 мм) в 30 единовременных последовательных инъекциях при общем объеме вводимых растворов до 0,7 мл. Область введения – наружная поверхность левого бедра, которая являлась зоной морфологических исследований (область кожи контралатерального бедра являлась дополнительным морфологическим контролем).

Все лекарственные средства и изотонический раствор хлорида натрия (физиологический раствор) вводили 1 раз в 3 дня в общем объеме 0,7 мл. Препарат НК (1 % раствор) и препарат Кутис Композитум

(2,2% раствор) вводили в количестве 0,2 мл, разведённых физиологическим раствором до 0,7 мл.

Оценку развития локальной воспалительной реакции осуществляли методом морфологического и морфометрического исследования.

Фрагменты кожи (включая подкожную клетчатку) одинакового размера длиной 1 см и толщиной 0,3-0,4 см иссекали с латеральной поверхности бедра (непосредственно из зоны инъекций) сразу после умерщвления животных.

Исследование материала проводили по общепринятым в гистологической и патологоанатомической практике способам. Для обеспечения максимальной корректности морфометрического исследования методы обработки были строго унифицированы. При исследовании препаратов отмечали состояние эпидермиса, сосудов и соединительнотканного компонента дермы, наличие и характер клеточных инфильтратов, состояние придатков кожи (волосяных фолликулов, сальных желез).

Результаты исследования и их обсуждение.

Микроскопическая картина кожи контрольных животных и кожи с контралатерального бедра вполне соответствовала общепринятым показателям нормы. Это

касалось как микроскопического строения всех структурных компонентов, так и морфометрических показателей.

В коже животных всех исследованных групп были обнаружены универсальные проявления остро и подострого воспаления в виде полнокровия микроциркуляторного русла, отёка, незначительных лейкоцитарных, а затем – и лимфогистиоцитарных инфильтратов, в основном периваскулярных, субэпидермальных и периаднексальных, а в более поздних сроках – начальные проявления фибропластических процессов. Изменения были минимально выражены, что вполне согласуется с деликатностью проводимой манипуляции и использованными препаратами.

В группе, получавшей микроинъекции физиологического раствора, морфологические изменения были наименьшими и выражались в незначительном отёке дермы и единичных редких периваскулярных инфильтратах, представленных немногочисленными лейкоцитами. Это подтверждается данными морфометрического исследования, при котором значимое отличие установлено только для показателя объема, занимаемого на срезе разрыхленными отёчными участками (табл. №1).

Таблица 1. Общая описательная таблица (морфология %)

ГРУППА	Подгруппа ¹		Эпидермис	Сосуды	Коллагеновые волокна	Инфильтрат	Отечн., разр. участки	Железы	
Физраствор	малые сроки	M	3,68	0,28	48,8	0,00	46	2,72	
		Md	4,00	0,00	51,6	0,00	45,2	2,4	
		m	0,2	0,16	3,4	0,00	3,52	0,72	
	средние сроки	M	3,72	0,4	47	0,08	42,08	4,72	
		Md	4,00	0,00	46,8	0,00	41,6	5,2	
		m	0,16	0,2	3,4	0,08	4,2	0,88	
	большие сроки	M	3,28	0,4	45,28	0,08	47,8	3,08	
		Md	2,4	0,40	42,8	0,00	49,6	2,4	
		m	0,2	0,12	3,92	0,08	3,88	0,64	
	Total	M	3,56	0,36	47,32	0,04	44,84	3,52	
		Md	4,00	0,00	46,8	0,00	45,2	3,2	
		m	0,12	0,08	2,04	0,04	2,2	0,44	
	Никотиновая кислота	малые сроки	M	6,32	0,44	28,16	2,68	52,48	10,2
			Md	1,4	0,00	28,6	0,40	48,2	10,6
			m	0,64	0,16	3,88	0,80	3,76	5,2
средние сроки		M	5,2	0,28	29,76	1,56	49,88	12,76	
		Md	4,8	0,00	28,2	0,4	49,8	11	
		m	0,24	0,12	4,4	0,52	3,28	7,88	
большие сроки		M	5,44	0,84	26,4	4,32	53,84	7,18	
		Md	5,2	0,00	30,2	1,2	53,2	11,2	
		m	0,28	0,44	4,04	2,52	3,44	0,88	
Total		M	5,64	0,52	28,12	2,84	52,68	10,05	
		Md	5,2	0,00	28,6	0,6	50,8	11	
		m	0,24	0,16	2,36	0,88	2,0	3,12	
Cutis		малые сроки	M	3,8	0,68	59,48	0,68	31,04	5,32
			Md	3,2	0,00	60,4	0,00	28,4	4,8
			m	0,36	0,24	3,36	0,28	2,8	0,64
	средние сроки	M	4,04	0,36	45,6	2,36	40,6	5,4	
		Md	4,00	0,00	46	0,00	41,6	4,8	
		m	0,2	0,12	2,68	2,04	3,08	0,68	
	большие сроки	M	3,6	0,72	45	0,32	43,16	5,88	
		Md	4,00	0,00	49,2	0,00	36,8	4,8	
		m	0,24	0,24	3,28	0,16	3,32	0,84	
	Total	M	3,8	0,6	50,04	1,12	38,28	5,52	
		Md	4,00	0,00	50,0	0,00	36,00	4,80	
		m	0,16	0,12	1,96	0,68	1,88	0,40	
	Total	малые сроки	M	4,72	0,48	45,16	1,28	41,56	8,52
			Md	4,00	0,00	49,2	0,00	38,8	5,6
			m	0,32	0,12	2,88	0,36	2,28	2,12
средние сроки		M	4,40	0,32	39,84	1,52	44,32	10,76	
		Md	4,00	0,00	41,2	0,00	43,6	6,80	
		m	0,04	0,02	0,59	0,20	0,51	0,79	
большие сроки		M	4,24	0,68	37,92	1,76	48,92	3,24	
		Md	4,00	0,00	37,4	0,00	50,4	6,4	
		m	0,2	0,2	2,52	0,96	2,16	0,64	
Total		M	4,44	0,52	40,96	1,52	44,92	8,84	
		Md	4,00	0,00	41,2	0,00	44,00	6,4	
		m	0,12	0,08	1,52	0,44	1,24	1,28	

¹ Mean – M Median – Md Std. Error of Mean – m

Значительно более существенные в количественном отношении отличия обнаружены в группах, получавших НК и КК. При незначительной разнице абсолютных значений они, при сопоставлении с очевидными морфологическими феноменами, отражают тенденции в особенностях развития воспалительной реакции в исследованных условиях (рис. 1, 2).

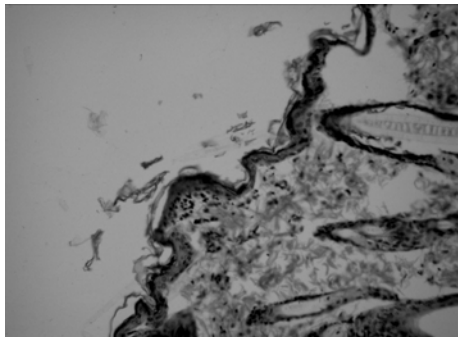


Рисунок 1. Очаговая субэпидермальная лейкоцитарная инфильтрация на средних сроках при введении Кузнецовского Композитума. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

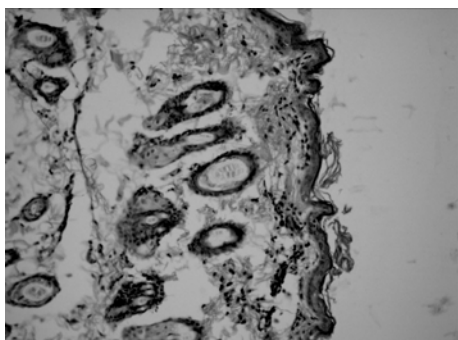


Рисунок 2. Периваскулярная и субэпидермальная лейкоцитарная и лимфогистиоцитарная инфильтрация на средних сроках при введении никотиновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

В целом, наиболее очевидные количественные различия были получены при сравнении средних показателей по группам, разделенным в соответствии с вводимыми препаратами.

При воспалительной реакции после первых инъекций никотиновой кислоты на препаратах были обнаружены периваскулярные (в основном) и субэпидермальные (в меньшей степени) инфильтраты, представленные нейтрофильными полиморфноядерными лейкоцитами. Редкие лейкоцитарные инфильтраты отмечались вблизи структур придатков кожи. В сосудах микроциркуляторного русла отмечалось краевое стояние лейкоцитов. Воспалительные инфильтраты при микроинъекциях КК занимали в начале и в конце эксперимента достоверно меньшую площадь. Примечательно то, что на больших сроках эксперимента интенсивность клеточной реакции при микроинъекциях КК существенно снижалась, в то время как при использовании никотиновой кислоты – отмечалось достоверное увеличение клеточной инфильтрации по сравнению с большими сроками исследований. Состав инфильтрата при этом отражает характер модели мезотерапевтического курса – острые реакции, закономерно вызываемые новыми инъекциями, накладываются на относительно «старые» предсуществовавшие процессы, очаговые

лейкоцитарные инфильтраты сочетались с более диффузными лимфогистиоцитарными.

Суммарный объем участков, занятых воспалительными инфильтратами после применения НК ($M=5,64\% \pm 0,24\%$) значительно превосходит таковой при использовании КК ($M=1,12\% \pm 0,68\%$) и в коже животных, которым вводили физиологический раствор ($M=0,04\% \pm 0,04\%$). Если при последовательных микроинъекциях НК размеры инфильтрации, слегка уменьшаясь от малых к средним срокам, достоверно возрастали к концу эксперимента, то при курсе КК – некоторое увеличение тканевой клеточной реакции к середине срока завершалось достоверным снижением инфильтрации дермы на большем сроке. Это позволяет предположить влияние противовоспалительного препарата не только на интенсивность, но и на динамику воспалительной реакции.

Вполне логичным и предсказуемым выглядит морфометрическое отражение сосудистого компонента воспалительной реакции во всех экспериментальных группах по сравнению с интактными животными. Площадь, занимаемая в коже разрыхленными и отечными участками, у животных, подвергнутых микроинъекциям НК ($M=52,68\% \pm 2,0\%$), значительно выше, чем при мезотерапии КК. Имеется тенденция к увеличению объема, занятого кровеносными сосудами при использовании, как КК, так и НК (соответственно $M=0,6\% \pm 0,12\%$ и $M=0,52\% \pm 0,16\%$), по сравнению с группой сравнения ($M=0,36\% \pm 0,08\%$). Небезынтересно, что данный параметр в группе, с использованием КК незначительно превосходит таковой при инъекциях НК, что, в общем контексте, может отражать особенности локальной воспалительной реакции.

Увеличенное значение площади, занимаемой в препаратах из группы, получавшей НК, эпидермисом ($M=5,64\% \pm 0,24\%$), отражает активность пролиферативных процессов, закономерно сопровождающих воспаление. Воспалительный процесс сопровождался гиперплазией базального слоя и гиперкератозом эпидермиса. У животных, подвергавшихся мезотерапевтическому воздействию КК, толщина эпидермиса практически не отличалась от группы сравнения ($M=3,8\% \pm 0,16\%$ и $3,56\% \pm 0,12\%$ соответственно).

Увеличение относительного объема, занимаемого придатками кожи (более существенное в группе, получавшей НК - $10,05\% \pm 3,12\%$, и незначительное при использовании КК - $5,52\% \pm 0,4\%$) можно также объяснить более выраженными воспалительными процессами: отеком, инфильтрацией и пролиферацией эпителиального компонента.

Пониженное содержание коллагеновых волокон в коже животных, получавших НК ($M=28,1\% \pm 2,36\%$), по сравнению с группой сравнения ($M=47,32\% \pm 2,04\%$) и, особенно, с животными, лечеными КК ($M=50,04\% \pm 1,96\%$), статистически достоверно, хотя, в значительной мере, обусловлено изменениями других вышеописанных относительных морфометрических параметров. Однако, существенное отличие в гистоархитектонике коллагеновых волокон в сосочково-ретикулярном слое дермы при микроинъекциях НК и КК несомненно (рис. 3, 4). Уже к середине эксперимента, а еще очевиднее – к концу эксперимента – коллагеновые волокна при мезотерапии КК в поверхностных слоях дермы представляют четкую плотно упакованную структуру. В

то же время, до конца эксперимента в коже всех животных, получавших НК, отмечалось преобладание рыхло расположенных, не организованных в компактную слоистую структуру волокон с редко «разбросанными» в них гистиоцитами и фибробластами.

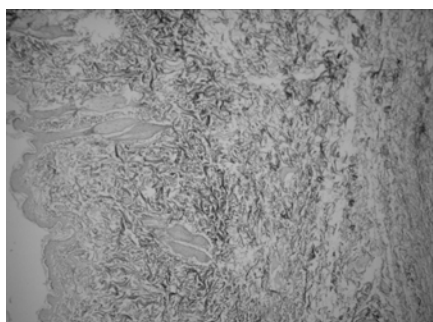


Рисунок 3. Коллагеновые волокна в дерме в конце эксперимента при введении никотиновой кислоты. Окраска по Ван Гизон. Увеличение 100.

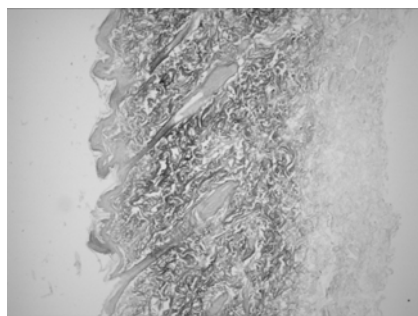


Рисунок 4. Коллагеновые волокна в дерме в конце эксперимента при введении Кутис Композитум. Окраска по Ван Гизон. Увеличение 100.

Отдавая отчет в том, что относительные гистостереометрические показатели сами по себе неизбежно находятся в определенной корреляционной зависимости, выявление взаимосвязи изменений морфометрических показателей дает дополнительную информацию для анализа компонентов местной воспалительной реакции (см. табл. 2).

Таблица 2. Корреляция показателей

Показатель		Сосуды	Коллагеновые волокна	Инфильтрат	Отечные и разрыхленные участки	Железы	Интенсивность хемотаксиса (мг белка/мл)	"Кислородный взрыв" (отп.ед.)	ДНК-фрагментация в кл-х дермы, % (биох. пок-ль апоптоза)	T1, мсек (продольная релаксация)	T2, мсек (поперечная релаксация)	Pa, % (внеклет. вода)	Pb, % (внутриклет. вода)
Эпидермис	r	-0,028	-0,347***	0,333***	0,188*	0,483***	0,083	0,070	0,347	0,150	0,317	0,207	-0,207
	p	0,727	<0,001	<0,001	0,019	<0,001	0,676	0,724	0,052	0,475	0,123	0,321	0,321
Сосуды	r	-	-0,142	0,244**	0,108	0,049	-0,146	0,090	0,041	0,017	0,004	-0,012	0,012
	p	-	0,077	0,002	0,179	0,547	0,459	0,648	0,824	0,937	0,986	0,955	0,955
Коллагеновые волокна	r	-	-	-0,463***	-0,904***	-0,479***	0,273	0,037	-0,185	-0,084	0,01	0,03	-0,03
	p	-	-	<0,001	<0,001	<0,001	0,160	0,854	0,311	0,690	0,964	0,888	0,888
Инфильтрат	r	-	-	-	0,332***	0,352***	0,185	0,314	0,472**	-0,042	0,113	0,142	-0,142
	p	-	-	-	<0,001	<0,001	0,347	0,104	0,006	0,840	0,590	0,499	0,499
Отечные участки	r	-	-	-	-	0,246**	-0,383*	-0,304	-0,174	-0,105	-0,101	-0,133	0,133
	p	-	-	-	-	0,002	0,044	0,116	0,341	0,618	0,633	0,528	0,528
Железы	r	-	-	-	-	-	0,099	0,212	0,680***	0,041	-0,027	0,174	-0,174
	p	-	-	-	-	-	0,615	0,278	<0,001	0,847	0,898	0,406	0,406
Интенсивность хемотаксиса (мг белка/мл)	r	-	-	-	-	-	-	0,463*	0,429	-0,207	-0,309	-0,178	0,178
	p	-	-	-	-	-	-	0,013	0,337	0,369	0,173	0,439	0,439
"Кислородный взрыв" (отп.ед.)	r	-	-	-	-	-	-	-	0,893**	-0,367	-0,394	-0,337	0,337
	p	-	-	-	-	-	-	-	0,007	0,102	0,077	0,135	0,135
ДНК-фрагментация в кл-х дермы, % (биох. пок-ль апоптоза)	r	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,369	-0,571**	-0,303	0,303
	p	-	-	-	-	-	-	-	-	0,070	0,003	0,141	0,141
T1, мсек (продольная релаксация)	r	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,508**	0,229	-0,229
	p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,009	0,270	0,270
T2, мсек (поперечная релаксация)	r	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,553**	-0,553**
	p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,004	0,004
Pa, % (внеклет. вода)	r	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-1,0***
	p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0,001

r – коэффициент корреляции; p – достоверность корреляции: *** <0,001; ** <0,01; * <0,05

Таким образом, микроинъекции никотиновой кислоты вызывали активную воспалительную реакцию с преобладанием альтеративного и экссудативного компонентов, персистирующую в течение всего времени эксперимента. Введение Cutis compositum сопровождалось минимальным воспалительным процессом, с выраженными явлениями репарации уже на ранних стадиях. К концу эксперимента изменения в коже животных, получавших Cutis compositum, характеризовались четко организованным фибропластическим процессом, вполне соответствующим по архитектонике поверхностным слоям дермы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Alibardi L. Structural and immunocytochemical characterization of keratinization in vertebrate epidermis and epidermal derivatives // Int. Rev. Cytol. – 2006. – Vol. 253. – P. 177-259.
2. Bickers D.R., Athar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease // J. Invest. Dermatol. – 2006. – Vol. 126. - № 12. – P. 2565-2575.

3. Boehm I. Apoptosis in physiological and pathological skin: implications for therapy // Curr. Mol. Med.- 2006. – Vol.6. - № 4. – P. 375-394.
4. Girardi M. Cutaneous perspectives on adaptive immunity // Clin. Rev. Allergy Immunol. – 2007. – Vol. 33. - № 1-2. – P.4-14.
5. Kuhn A., Bijl M. Pathogenesis of cutaneous lupus erythematosus // Lupus.- 2008. – Vol.17. - № 5. – P.389-393.
6. Makrantonaki E., Zouboulis C.C. Molecular mechanisms of skin aging: state of the art // Ann. N Y Acad. Sci. – 2007. – Vol. 1119. – P.40-50.
7. Moll R., Divo M., Langbein L. The human keratins: biology and pathology // Histochem. Cell Biol. – 2008. – Vol.129. - № 6. – P.705-733.
8. Okuyama R., Tagami H., Aiba S. Notch signaling: its role in epidermal homeostasis and in the pathogenesis of skin diseases // J. Dermatol. Sci. – 2008. – Vol. 49. - № 3. – P.187-194.
9. Pastore S., Mascia F., Mariani V. The epidermal growth factor receptor system in skin repair and inflammation // J. Invest. Dermatol. – 2008. - Vol. 128. - № 6. – P.1365-1374.

Надійшла 14.03.2009 р.
Рецензент: проф. Б.П.Романюк