

О ВОЗМОЖНОСТЯХ КОРРЕКЦИИ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-СТРОМАЛЬНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ

Нуртдинов М.А.¹, Шакирьянов А.А.¹, Биганяков Р.Я.², Маргвелашвили И.Г.¹

¹*ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России;*

²*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Башкортостан
Городская клиническая больница № 21 города Уфа.*

Авторами обследовано 2 больных с хроническими заболеваниями аноскопической области, находившихся на стационарном лечении в хирургическом отделении. Всем больным после проведения основного этапа операции в края раны был введен диспергированный биоматериал. В послеоперационном периоде с согласия добровольцев были проведены биопсии области заживления раны. Полученный материал был исследован иммуногистохимически. В первые 2-е суток основным фактором роста фибробластов выделялся в основном гранулоцитами. На 6-е сутки основным источником основного фактора роста фибробластов становились макрофаги и фибробластоподобные клетки. На 14-е сутки экспрессия выявлялась преимущественно в эндотелии новообразованных сосудов дермы. Аналогичная картина касалась экспрессии рецепторов к основному фактору роста фибробластов. Так, с 10-х суток данный рецептор был только в эндотелии новообразованных сосудов дермы. Максимальный уровень пролиферации и апоптоза наблюдался на 6-е сутки, при этом наибольшим потенциалом обладал эндотелий грануляционной ткани. Интенсивность апоптоза была высока как в эндотелии грануляционной ткани, так и в фибробластах соединительной ткани.

Ключевые слова: проктология, иммуногистохимия, апоптоз.

ON THE POSSIBILITIES OF CORRECTION OF EPITHELIAL-STROMAL RELATIONSHIPS

Nurtdinov M.A.¹, Shakirianov A.A.¹, Biganyakov R.Ya.², Margvelashvili I.G.¹

¹*Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia;*

²*City Clinical Hospital 21 in Ufa.*

The authors examined 2 patients with chronic diseases of the anopic region who were on inpatient treatment in the surgical department. All patients after the main stage of the operation, dispersed biomaterial was introduced into the wound edges. In the postoperative period, with the consent of the volunteers, biopsies of the area of wound healing were carried out. The resulting material was studied immunohistochemically. In the first 2 days, the main growth factor of fibroblasts was mainly granulocytes. On the 6th day, macrophages and fibroblast-like cells became the main source of the main fibroblast growth factor. On the 14th day, expression was detected mainly in the endothelium of the newly formed vessels of the dermis. A similar picture concerned the expression of receptors in the main factor of fibroblast growth. So, from the 10th day, this receptor was only in the endothelium of the newly formed vessels of the dermis. The maximum level of proliferation and apoptosis was observed on the 6th day, with the endothelium of the granulation tissue possessing the greatest potential. The intensity of apoptosis was high both in the endothelium of the granulation tissue and in the fibroblasts of the connective tissue.

Key words: proctology, immunohistochemistry, apoptosis.

Актуальность

В настоящее время клинические исследования сконцентрированы на ишемической болезни сердца [1, 2, 3], поскольку данное заболевание превалирует в структуре смертности и летальности. В то же время патогенетические исследования, и в том числе фармакотерапевтические изыскания, посвящаются дезинтоксикации [4, 5] организма.

Однако воспаление как ведущий патогенетический процесс остается в стороне от основных векторов развития медицинской и биологической науки. Ранее осуществлялись попытки моделировать воспалительный процесс на макете регенерации поджелудочной железы, при введении в ее ткань диспергированных биоматериалов [6]. Эти работы не получили дальнейшего развития в силу отсутствия протекционизма в этой области исследований. Хотя имеются сообщения из клиники Шалимова А.А. (1975) о лечении хронического панкреатита инъекционным способом [6].

Исследование генетических маркеров, обуславливающих хронизацию воспаления, не дало каких-либо ощутимых результатов в клиническом применении.

Псевдонаучные дискуссии о первичности эпителия или стромы давно канули в лету, однако эволюционно обусловленные процессы регенерации, когда при восстановлении разрушенных тканей область рубца заполняется соединительной тканью, до сих пор вызывает некоторое недоумение. Поскольку у рептилий имеются механизмы полноценной реституции.

Филогенетически наиболее примитивной тканью, доступной для исследования в человеческом организме, на наш взгляд, является толстокишечный эпителий. В этой связи нами проведено исследование возможностей коррекции эпителиально-стромальных взаимоотношений в аноскопической области, в частности, у больных с хроническими свищами прямой кишки.

В этой области, как известно, обитают наиболее примитивные формы микроорганизмов, симбионтов и антагонистов макроорганизма, поэтому воспалительный процесс характеризуется своими особенностями, то есть склонностью к хронизации и преобладанием склеротических явлений [6,7].

В качестве препарата, позволяющего модифицировать апоптоз, был взят диспергированный биоматериал, более известный под маркой «Аллоплант». Проведённые нами ранее исследования показали возможность изменения направления регенерации при использовании данного препарата [8]. В то же время оставалась возможность того, что плацебо также обладает подобным эффектом, кроме того, сама по себе инъекция в зоне

хронического воспаления, возможно, обладает неким разрыхляющим эффектом, канализацией, что, вполне возможно, приводит к терапевтическому воздействию.

Цель исследования. Изучить параметры регенерации в условиях хронического воспаления у проктологических больных в условиях раннего послеоперационного периода.

Материал исследования

У двух пациентов, оперированных по поводу эпителиального копчикового хода и параректального свища, с их добровольного согласия были взяты биопсийные материалы. Во время операции в обоих случаях было произведено обкалывание области хронического гнойника диспергированным биоматериалом. После выполнения основного, традиционного этапа оперативного вмешательства, производилось обкалывание 4–6 точек, на расстоянии 0,5 см от края послеоперационной раны. В каждую точку на середину глубины послеоперационной раны вводили 0,5 мл диспергированного биоматериала («Стимулятор регенерации»), разведенного 2,0 % раствором лидокаина. Введение осуществлялось исходя из ранее эмпирически полученных данных, что инфильтрация раствором препарата приводит к его распространению от точки вкола в среднем до 5 мм по радиусу.

Возраст больных был 34 и 39 лет, то есть трудоспособный. Оба пациента были мужчинами.

Методы исследования

Иммуногистохимическим способом выявляли степень уровней экспрессии в тканях: 1) основной фактор роста фибробластов и его рецептора; 2) ядерный антиген пролиферирующих клеток; 3) ферменты, родственные цистеиновым протеиназам, CPP32.

С этой целью применён набор с моно- и поликлональными антителами (Immuno Cruz Staining System) фирмы Santa Cruz Biotechnology, Inc.

Результаты. После проведения операции по поводу эпителиального копчикового хода и хронического свища прямой кишки больным был введен диспергированный биоматериал. В послеоперационном периоде на 2-е, 4-е, 6-е, 8-е, 10-е и 14-и сутки бралась биопсия. Исследовалась гистологическая динамика регенерации гнойной раны. Как отмечалось выше, забор биопсийного материала брался с согласия больных, оперированных по поводу эпителиального копчикового хода и параректального свища. У больных, которые были оперированы по поводу анальной трещины, биопсийный материал из анального канала не брался, в связи с риском возникновения осложнений после данной манипуляции.

Традиционные хирургические методы лечения проктологических заболеваний, сопровождающихся хроническими воспалительными реакциями, в большинстве ситуаций никак не влияют на дисрегенераторные процессы, в результате возникает нарушение трафика воспалительно-репаративных реакций, что не способствовало нормализации сроков заживления гнойных ран.

На наш взгляд, изначально полиморфно-ядерные лейкоциты включались в процесс малоэффективно, что в последующем привело к значительной стагнации миграции моноцитов и коллапсу содержания макрофагов в зоне репарации. Это в свою очередь рождало несовершенный фибриллогенез, формирование неполноценной грануляционной ткани. Далее каскадно следовал самопроизвольный некроз тканей, но более важными были патологические коннотации эпителиально-стромальных взаимоотношений.

Как результат этого процесса, в биопсийном материале выявлялась грубо оформленная слабо васкулированная соединительная ткань, она была покрыта атрофичным истонченным многослойным плоским эпителием. По краю рубца отмечался очаговый периваскулярный отек и слабая лимфоидная инфильтрация [8].

Гистологическая картина биопсийного материала **после введения биоматериала** выглядела, как описано ниже.

На 2-е сутки после введения наблюдался существенный коллапс воспалительных инфильтратов, преимущественно за счет резкого падения содержания нейтрофилов. В отдельных полях зрения отмечался умеренный инфильтрат, состоящий из полиморфно-ядерных лейкоцитов. Кроме того, в значительном количестве присутствовала эозинофилия, а также моноциты.

4-е сутки. В отличие от обычного заживления гнойной раны, в наших наблюдениях уже на 4-е сутки активировались фибробласты, последние лизировали коллаген.

6-е сутки. Все обследованные материалы показали наличие зрелой грануляции с вертикально расположенными сосудами, прогностически положительным моментом было наличие базальных мембран.

В 90 процентах случаев на 8-е сутки послеоперационного периода визуализировались закладки эпителия в виде слоеного пирога, с дифференцировкой по плоскоклеточному типу. При этом отмечалась высокая степень развития сосудов соединительной ткани.

На 10-е сутки, в зоне послеоперационного рубца, наблюдали явления среднего акантоза кожного эпителия, в котором были видны сосочковый и ретикулярные слои.

При исследовании в отдаленном послеоперационном периоде (полгода) в крестцово-копчиковой области определяли сформированность многослойного плоского

ороговевающего эпителия с низким акантозом и нормальной конфигурацией коллагена в сосочковом слое кожи. А в перианальной области выявили многослойный плоский ороговевающий эпителий со средним акантозом и низким уровнем склеротических процессов сетчатого слоя кожи.

Иммуногистохимическое исследование биопсийного материала в динамике после введения биоматериала установило следующие закономерности.

Впервые 2-е суток основной фактор роста фибробластов экспрессировался преимущественно гранулоцитами. Максимального уровня экспрессия основного фактора роста фибробластов достигала на 6-е сутки лечения, при этом ведущий процесс выполняли макрофаги и фибробластоподобные клетки (рис. 1).

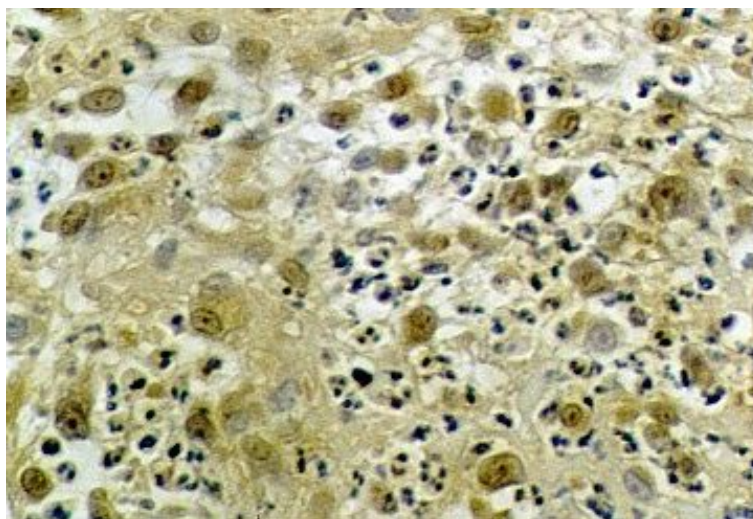


Рис. 1. Экспрессия основного фактора роста фибробластов на 6-е сутки после введения диспергированного биоматериала. Непрямой иммуноферментный метод с пероксидазой. x200

14-е сутки. Основной фактор роста фибробластов содержали только эндотелиальные клетки новообразованных сосудов дермы. Точно такая же динамика и локализация экспрессии рецептора, основного фактора роста фибробластов. Начиная с 10-х суток, локализация рецептора была преимущественно в эндотелии новообразованных сосудов дермы (рис. 2).

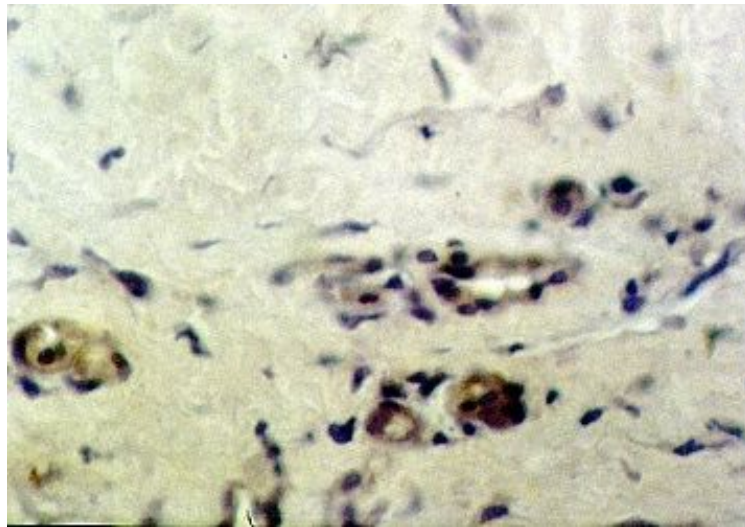


Рис. 2. Экспрессия рецепторов к bFGF на 6-е сутки после введения диспергированного биоматериала. Непрямой иммуноферментный метод с пероксидазой. x200

Максимальный уровень пролиферации и апоптоза достигался на 6-е сутки, при этом наибольшим пролиферативным потенциалом обладали эндотелиоциты грануляционной ткани (рис. 3).

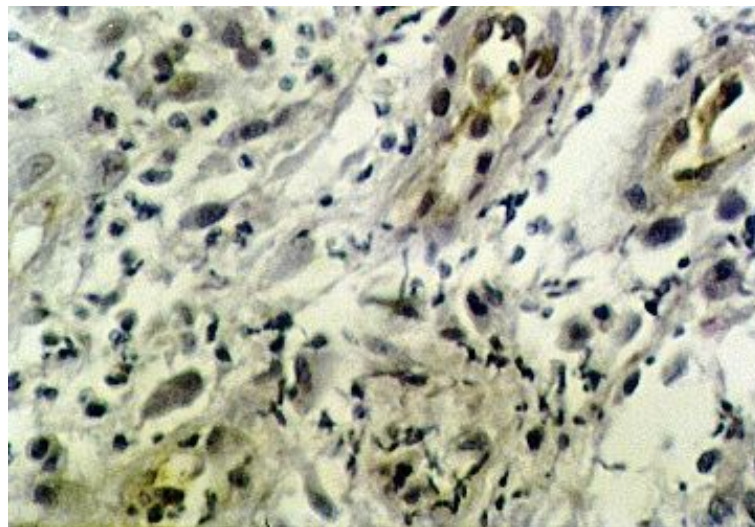


Рис. 3. Экспрессия PCNA на 6-е сутки после введения диспергированного биоматериала. Непрямой иммуноферментный метод с пероксидазой. x200

А интенсивный апоптоз происходил как в эндотелиоцитах грануляционной ткани, так и в фибробластах стромы (рис. 4).

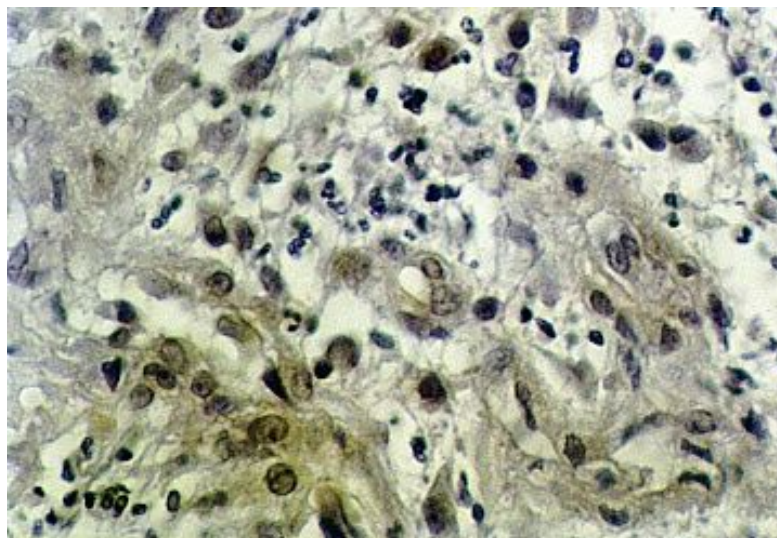


Рис. 4. Экспрессия CCR32 на 6-е сутки после введения диспергированного биоматериала. Непрямой иммуноферментный метод с пероксидазой. x200

Таким образом, использование биоматериала обеспечивало резкое снижение активности воспаления и усиливало миграцию моноцитов в зону послеоперационной раны. В последующем происходила дифференцировка моноцитов в макрофагально-фибробластический ряд. При этом согласовывались по времени выделение основного фактора роста фибробластов и его рецептора, что обеспечивало полноценность межклеточной кооперации. Применение индукции апоптоза усиливало разрастание и апоптоз эндотелия, что помогало росту грануляций. Наряду с этим отмечалась активация фибробластов в грануляционной среде, что приводило к тому, что грубая рубцовая ткань не образовывалась. Таким образом, уменьшались сроки послеоперационного периода и время заживления гнойных ран у исследуемых больных [8].

Однако, по нашему мнению, коррекция эпителиально-стромальных взаимоотношений происходит не только и не столько под влиянием характера вводимого биоматериала, но и самого процесса введения, то есть на эпителиально-стромальные взаимоотношения влияют уровень и степень хирургической агрессии.

Список литературы

1. Клинико-биохимические параллели на фоне традиционного лечения и лазеротерапии больных ИБС / И.М. Корочкин, А.В. Картелишев, С.Ю. Лешаков,

- Г.М. Капустина, Н.С. Вернекина, Г.В. Бабушкина, Н.А. Лебедева //Терапевтический архив. – 1988. – № 12. – С. 40-43.
2. Лазерная терапия в комплексном лечении больных артериальной гипертензией / Г.В. Бабушкина, С.В. Москвин. – Москва, 2013. – 104 с.
 3. Метаболизм некоторых простагландинов крови у больных со стенокардией на фоне гелий-неоновой лазерной терапии / Г.В. Бабушкина, Л.Т. Шаймухаметова, И.М. Корочкин, А.В. Картелишев, Г.М. Капустина, Л.Н. Мингазетдинова // Кардиология. – 1993. – № 2. – С. 12-15.
 4. Никитина И.Л. Поиск и фармакология новых индукторов монооксидазной системы – производных азолов: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Волгогр. гос. мед. ун-т. – Волгоград, 2004. – 44 с.
 5. Никитина И.Л. Сравнительный анализ лечебного эффекта индукторов цитохромов P450 гепазана и бензонала при токсическом поражении печени. Депонированная рукопись № 457-B2003 17.03.2003.
 6. Нуртдинов М.А. Оптимизация комплексного лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки в хирургической клинике: дис. ... д-ра мед. наук по специальности 14.00.27 – хирургия /Нуртдинов Марат Акдасович. – Уфа, 2005. – С.263.
 7. Усовершенствование оказания хирургической помощи больным с гастродуоденальными кровотечениями / А.Г. Хасанов, И.Ф. Суфияров, С.Х. Бакиров, А.Р. Мусин // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – 2012. – № 1. – С. 51-56.
 8. Биганяков, Р.Я. Возможности использования «стимулятора регенерации» в лечении проктологических заболеваний: автореф. дис. . канд. мед. наук. – Уфа, 2001. - 22 с.