

Е. В. КАДИЛОВ, В. А. МУГНЕЦЯН

ПРИМЕНЕНИЕ ГРАНУЛОТОКСИНА ПРИ ПОСТ- ТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖИ

Несмотря на значительное количество исследований, посвященных посттравматической регенерации кожи, до сего времени нет единого мнения о форме и исходе восстановления. Большинство авторов полагает, что заживление кожных ран завершается образованием компактного рубца, не перестраивающегося в нормальную кожу [1, 10, 23]. Однако отдельные авторы [19] считают возможным заживление кожных ран у млекопитающих без образования рубца. Не отрицая факта образования соединительнотканного рубца на месте раневого дефекта кожи, ряд исследователей [4, 7, 20] допускает возможность последующей перестройки рубца в нормальную кожу. По мнению различных авторов, полноценность регенерации кожи находится в зависимости от ряда условий: от взаимосвязи эпителия и соединительной ткани [2], от способа [22], места [26] нанесения раны. Описано восстановление дефекта даже при обширных ранениях [3, 24, 25]. Наши данные в отношении посттравматической регенерации кожи у собак [11], крыс [14], кроликов [12, 13, 15] подтверждают зависимость восстановительных процессов от условий, в которых они протекают [14, 16, 17]. Однако чаще всего, ускоряя превращение грануляций в рубец (что сокращает срок заживления раны), стимуляторы не приводили к восстановлению нормальной структуры, а следовательно, и функции поврежденного участка кожи. Не случайно, что в связи с этим отдельные авторы [18] рассматривают рубец как соединительнотканную заплату, покрытую эпителием.

Разделяя мнение некоторых исследователей [9] о том, что в принципе вполне возможно органотипическое восстановление кожи, мы поставили перед собой задачу изыскать способ регулирования роста грануляций, формирующих рубец. Относительно специфических средств воздействия на грануляции имеется сообщение [21] о положительном влиянии гранулотоксина (цитотоксическая сыворотка, полученная на грануляционную ткань) как стимулятора при вялых грануляциях.

Исходя из определенных концепций [8] о влиянии цитотоксических сывороток на трофические и пластические функции организма, мы решили получить гранулотоксин и испытать его влияние при посттравматической регенерации кожи, имея главной целью полноценное восстановление.

Методика исследования. Гранулотоксин нами получен путем гипериммунизации кроликов антигеном из грануляционной ткани обширных экспериментальных кожных ран белых крыс. Грануляции иссякали на 5-й день после нанесения раны. Как показали наши наблюдения, к этому сроку антиген содержал наибольшее количество белка, 5 мг/мл. Антиген вводился кроликам внутривенно по определенной схеме, причем общее количество введенного тканевого белка соответствовало 60 мг. По окончании гипериммунизации проверялась специфичность сыворотки по РСК, затем кролик обескровливался, полученная сыворотка консервировалась борной кислотой и разливалась по ампулам.

Определение стимулирующих и ингибирующих доз гранулотоксина проводилось путем титрации на белых крысах весом 150 г с экспериментальными кожными ранами. Раны наносились в области спины посредством вырезывания по шаблону округлого полнослойного лоскута диаметром 15 мм. В четырех точках, отступив на 3 мм от края раны, наносились внутрикожные метки тушью. После нанесения ран животным 3-х групп подкожно вводился гранулотоксин по 1 мл в разведениях 1:10, 1:100 и 1:1000, 6-кратно с интервалом в 3 дня между инъекциями; четвертая группа оставалась контрольной. Через каждые 4 дня определялся средний диаметр раны и измерялось расстояние между метками. Наблюдения велись до полного заживления ран. Материал, взятый для гистологического исследования, подвергался обычной обработке.

Результаты опытов. Сводные данные по измерению среднего диаметра кожных ран и расстояния между метками при введении гранулотоксина и в контрольной группе приведены в таблице.

Анализируя таблицу, нетрудно заметить, что заживление кожных ран быстрее всего наступило в группе, получившей гранулотоксин в разведении 1:10, на втором месте находятся контрольные животные, медленнее всего протекает заживление в группе, получившей гранулотоксин в разведении 1:1000.

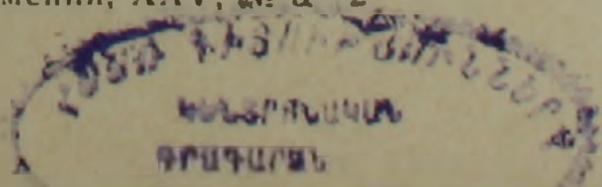
Таблица

Средние показатели диаметра кожной раны и расстояния между метками тушью при введении гранулотоксина* и в контроле

Название группы	Показатели	Д н и							
		1	4	8	12	16	20	24	28
Контрольная	диаметр раны	15,4	10,9	9,0	5,2	4,5	2,8	2,5	—
	расстояние между метками	21,2	17,4	13,4	12,6	12,6	11,8	11,5	—
Гранулотоксин 1:10	диаметр раны	16,2	13,8	6,4	3,0	2,6	—	—	—
	расстояние между метками	25,6	19,6	14,3	12,6	13,5	14,7	14,7	—
Гранулотоксин 1:100	диаметр раны	16,5	13,5	12,5	10,1	9,5	5,0	4,8	1,1
	расстояние между метками	21,6	18,5	15,6	15,2	13,0	13,4	13,1	14,3

* Учитывая, что гранулотоксин в разведении 1:1000 оказал действие, в основном аналогичное предыдущему разведению, данные по этой группе животных в таблице не приводятся.

Представляют интерес результаты измерений расстояния между метками. Во второй группе животных, в условиях введения гранулотоксина в разведении 1:10, к концу заживления расстояние между метками возросло и некоторое время сохраняло тенденцию к увеличению даже после полного зарубцевания раны. Это подтверждает справедливость



ПА-14720.

мнения [18] о том, что при заживлении кожной раны рубцом регенерационные процессы протекают не внутри раны, а вне ее. Аналогичное явление, но в меньшей степени, можно было наблюдать и в третьей группе животных. Контрольные животные по интенсивности процесса заживления занимали среднее положение.

Наблюдения за заживлением ран и гистологическое исследование материала позволили подметить отличительные особенности в развитии регенерационных процессов у животных различных групп.

У контрольных животных на 16-й день наблюдения в результате неравномерно протекающего процесса контракции рана имела звездчатую форму, диаметр ее был равен 4,5 мм (рис. 1).

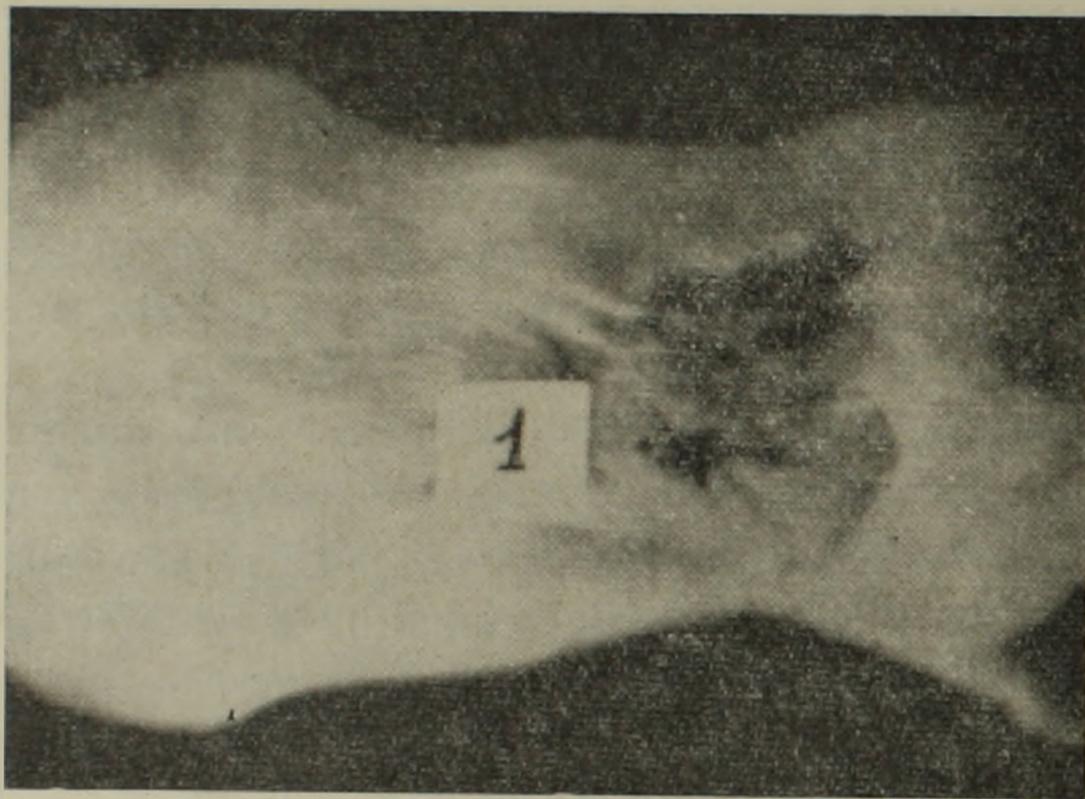


Рис. 1. Контрольная рана на 16-й день. Натуральная величина.

Гистологическое исследование материала от контрольных животных выявило типичную картину заживления раны с образованием компактного рубца со значительной площадью и резко отграниченного от подлежащих тканей. Эпидермис, покрывающий рубец, несколько толще, нежели на неповрежденных участках кожи, волосы и кожные железы в рубце отсутствуют (рис. 2).

Во второй группе животных, получивших гранулотоксин в разведении 1:10, на 16-й день практически завершился процесс заживления ран. Причем в результате интенсивно и равномерно протекающего процесса контракции рубец принял правильную округло-овальную форму. Указанный срок был взят для сопоставления с аналогичным показателем у животных остальных групп (рис. 3).

На срезах, взятых из области нанесенной раны, обращает на себя внимание резкое уменьшение размера рубца, свободно вмещающегося в поле зрения микроскопа. Несколько выступая над поверхностью кожи, он обнаруживает заметную неоднородность структуры, обусловленную расположением волокнистых структур межклеточного вещества в различных плоскостях (рис. 4).

В последней группе, обработанной гранулотоксином в разведении 1:1000, к сопоставимому сроку средний диаметр раны почти в 4 раза превышал размер раны предыдущей группы животных. Рана с неправильными краями была заполнена пышными грануляциями, местами выступающими над поверхностью (рис. 5).

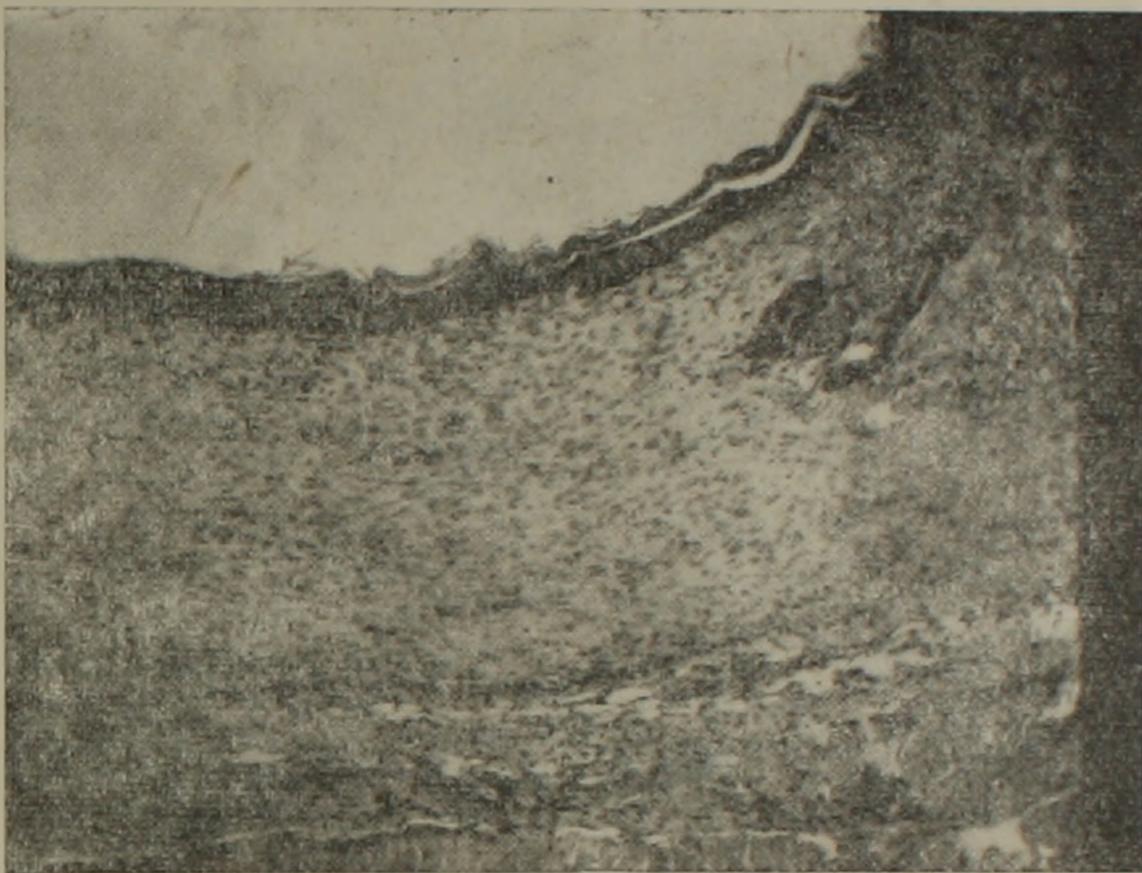


Рис. 2. Контрольная рана после заживления на 24-й день.
Образование компактного рубца. Ок. 12,5. Об. 10.

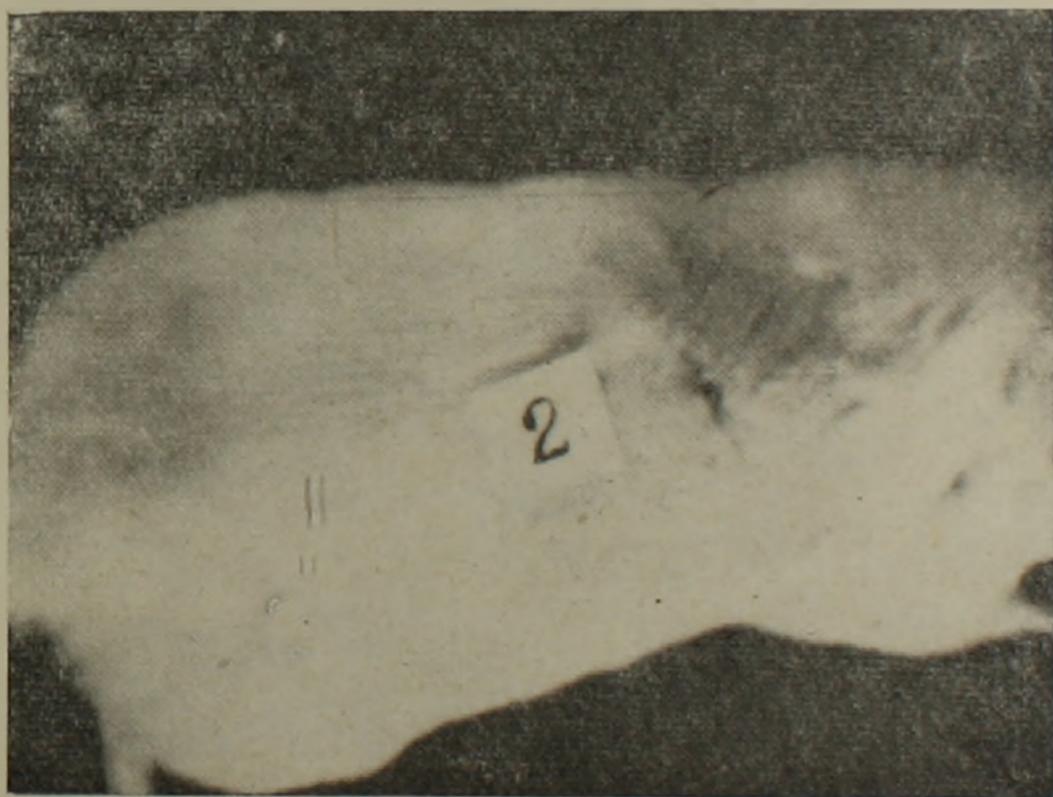


Рис. 3. Рана на 16-й день после введения гранулотоксина в разведении 1:10. Натуральная величина.

После заживления у животных этой группы на срезах обнаруживается обширный рубец, по площади и толщине значительно превышающий таковой у животных контрольной группы (рис. 6).

Результаты наших исследований дают основание прийти к следующим выводам.

Антигрануляционная цитотоксическая сыворотка (гранулотоксин) является специфическим средством воздействия на развитие грануляционной ткани при заживлении кожных ран.

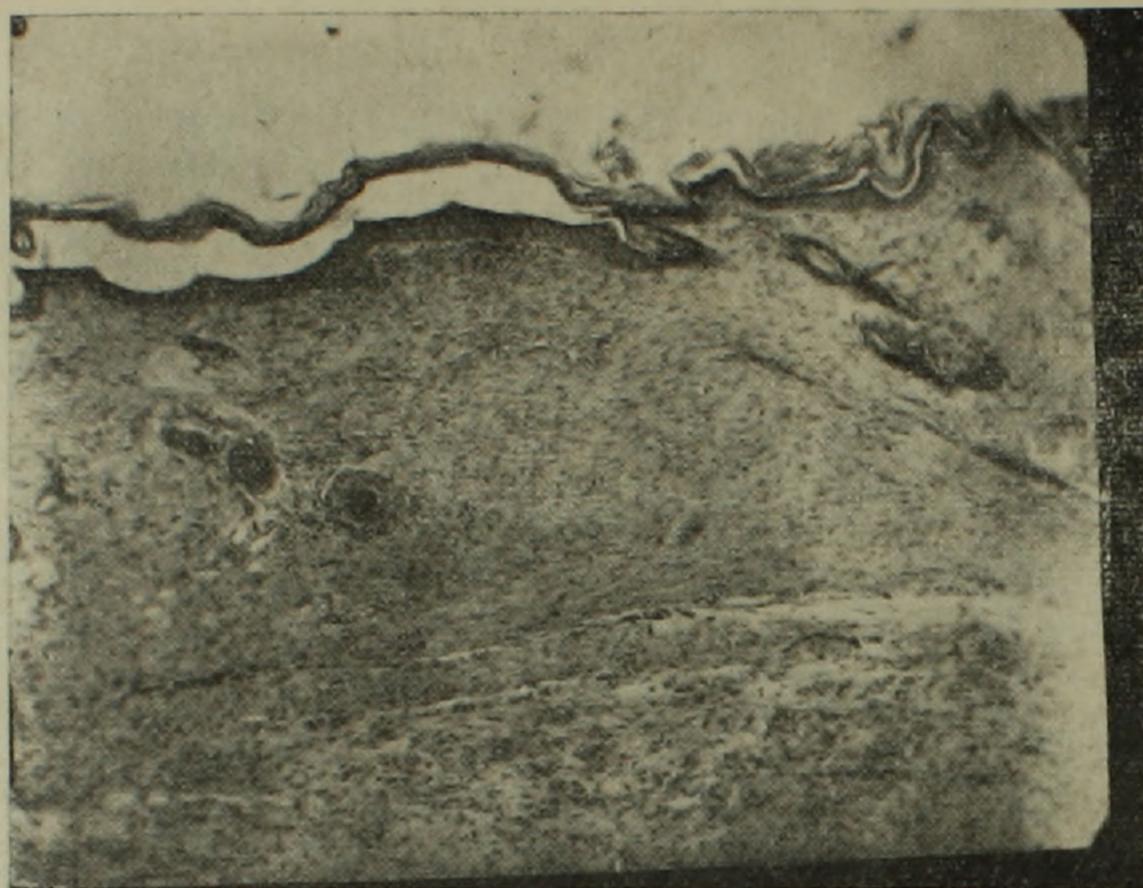


Рис. 4. Рана после заживления на 16-й день в условиях введения гранулотоксина в разведении 1:10. Рубец небольшого размера. Ок. 12,5. Об. 10.

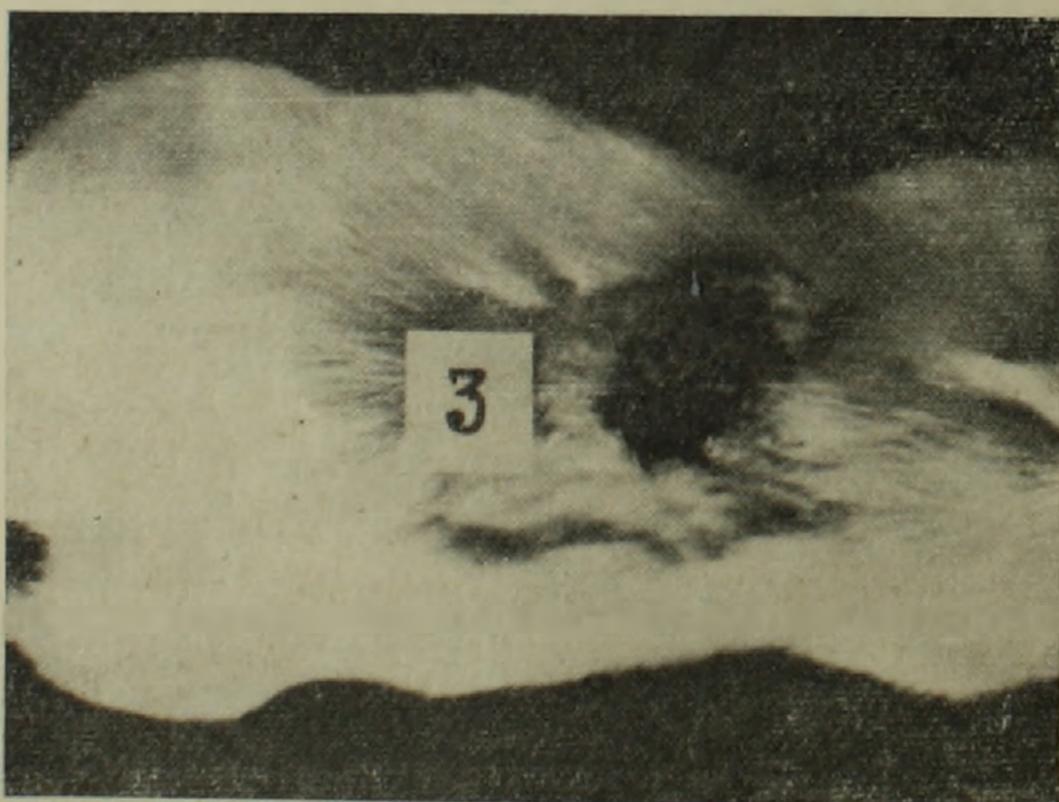


Рис. 5. Рана на 16-й день после введения гранулотоксина в разведении 1:100. Naturalная величина.

Применение гранулотоксина в разведении 1:10 ингибирует развитие грануляционной ткани, в результате чего отчетливо проявляется внеэпителиальный рост дермы, что приводит к сравнительно быстрой контракции раны и образованию значительно меньшего, по сравнению с контролем, рубца.

Гранулотоксин в разведениях 1:100 и 1:1000 стимулирует рост грануляций, что замедляет процесс контракции раны и обеспечивает образование обширного рубца, значительно большего по сравнению с контрольными животными.

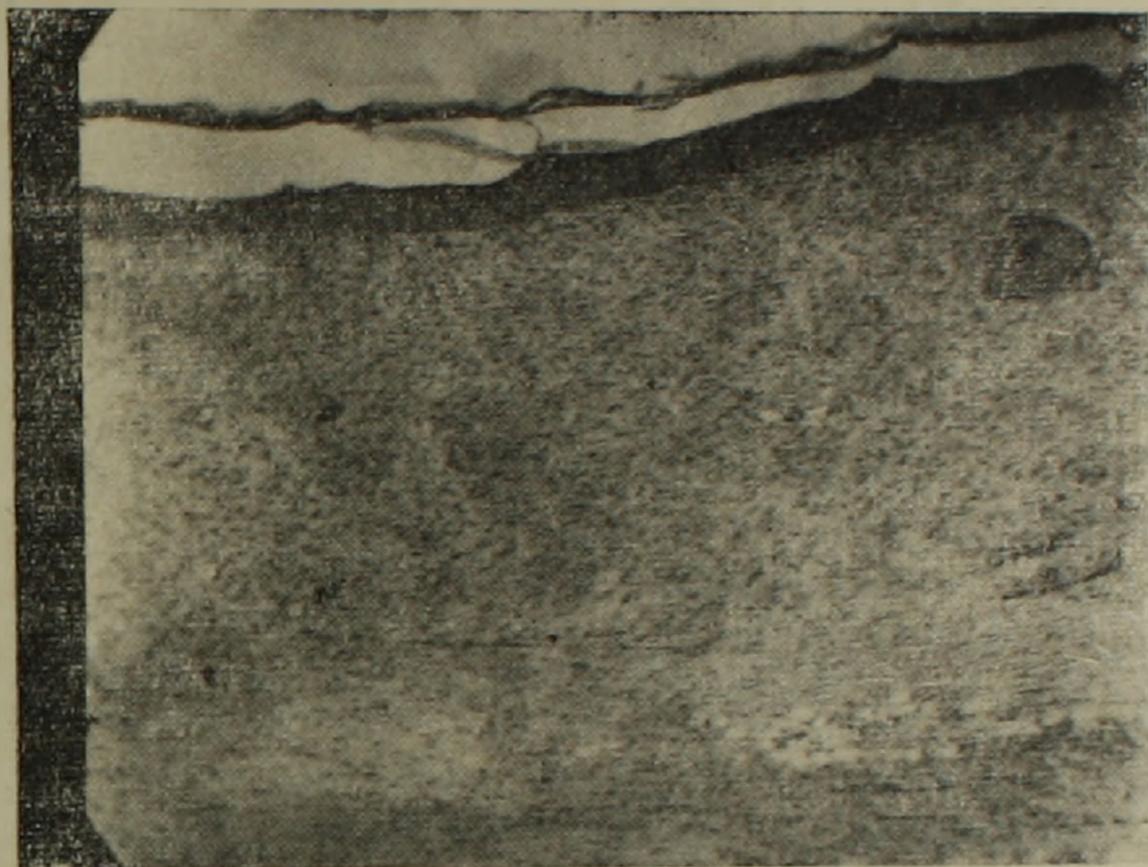


Рис. 6. Рана после заживления на 28-й день в условиях введения гранулотоксина в разведении 1:100. Образование обширного, толстого рубца. Ок. 12,5. Об. 10.

Применение гранулотоксина в ингибирующих дозах при посттравматической регенерации кожи может оказать ограничивающее влияние на процесс рубцевания, что представляет определенный интерес при обширных ранах.

Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт

Поступило 26.IX 1971 г.

Ե. Վ. ԿԱԳԻՎՈՎ, Վ. Ա. ՄՈՒՂՆԵՑՅԱՆ

ԳՐԱՆՈՒԼԱՏՈՔՍԻՆԻ ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ՄԱՇԿԻ ՀԵՏՎՆԱՍՎԱԾՔԱՅԻՆ ՎԵՐԱԿԱՆԳՆՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ներկա հետազոտության խնդիրն է միջոցներ գտնել, որոնք կարող են կարգավորել գրանուլացիոն հյուսվածքի վերակառուցումը սպիի: Առնետների փորձառական վերքի գրանուլացիոն հյուսվածքի անտիգենով ճազարների հիպերիմունիզացման ճանապարհով պատրաստվել է գրանուլատոքսին:

Շիճուկի առանձնահատուկ լինելը որոշվել է ԿԿՌ-ի (կոմպլեմենտի կապման ունակցիա), իսկ ակտիվությունն ստուգվել է մաշկային փորձառական վերք ունեցող առնետների վրա: Հաստատվել է, որ 1:10 նոսրացված գրանուլատոքսինը արգելակում է գրանուլացման զարգացումը, որն ապահովում է

վերքի կոնտրակցման արագ ընթացք ու սահմանափակ սպիի գոյացումը խրթանիչ ներգործություն է ունենում գրանուլացիայի զարգացման վրա, որը հանգեցնում է նրա փարթամ աճին, վերքի կոնտրակցման կասեցմանը, ավելի ուշ ապարինման և ավարտվում է լայն սպիի գոյացմամբ: Գրանուլատորսինի որոշակի դոզաների կիրառումով սպիացման պրոցեսը սահմանափակելու հրնարավորություն է ստեղծվում, իսկ այդ մեծ վերքի ժամանակ կարող է որոշակի նշանակություն ունենալ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аничков Н. Н., Волкова К. Г., Гаршин В. Г. Морфология заживления ран, М., 1951.
2. Аспиз М. Е. ДАН СССР, 6, 1949.
3. Аспиз М. Е. Труды ин-та морфологии животных АН СССР, 1954.
4. Браун А. А. Изв. АН СССР, 6, 1945.
5. Браун А. А. Сб. статей, изд. АН СССР, М.—Л., 1948.
6. Браун А. А. Проблемы регенерации и клеточного деления. М., 1959.
7. Браун А. А. Мат-лы IV конф. по регенерации и клеточному размножению. М., 1964.
8. Богомолец А. А. Хирургия, 12, 1944.
9. Есипова И. К. Очерки по проблеме регенерации. М., 1966.
10. Ефимов Е. А. Автореферат кандидатской диссертации. М., 1966.
11. Կաձիլով Ե. Վ. Երևանսկ. зоовет. ин-та, XXIII, 1958.
12. Կաձիլով Ե. Վ., Օվսեպյան Ա. Ա. Тезисы докл. II конференции по регенерации и клеточному размножению, М., 1960.
13. Կաձիլով Ե. Վ. Երևանսկ. зоовет. ин-та, XXV, 1962.
14. Կաձիլով Ե. Վ., Օվսեպյան Ա. Ա. Архив анатом., гистол. и эмбриол., 4, 1964.
15. Կաձիլով Ե. Վ., Խանին Ա. Ա. Бюлл. экспериментальной биологии и медицины, 7, 1967.
16. Կաձիլով Ե. Վ., Խանին Ա. Ա. Мат-лы 5-й конф. по регенерации и клеточному делению. М., 1968.
17. Կաձիլով Ե. Վ., Մեջլումյան Ա. Ա., Օվսեպյան Ա. Ա. Тезисы докладов IX международн. конгр. анатомов., Л., 1970.
18. Лиознер Л. Д. Изменение тканей и регенерация органов. М., 1970.
19. Маркелова И. В. Регенерация органов у млекопитающих. М., 1960.
20. Маркелова И. В., Тонконогова Ю. К. Проблемы регенерации и клеточного деления. М., 1959.
22. Խանին Ա. Ա., Մելիկ-Տանգյան Դ. Վ. Биологический журнал Армении, XXII, 7, 1969.
21. Нейман И. М., Винцентини К. М. Хирургия, 12, 1944.
23. Хомулло Г. В. ДАН СССР, 2, 1953.
24. Breedis C. Cancer Res., 14, 8, 1954.
25. Gillman T. Collog. internat. Centre nat. rech. Scient, 145, 1965.
26. Hageman G. Beitrag zur klin. chir, 180, 2, 1950.