

УДК 612.014+615.361

Э. Р. ПАШИНЯН, А. Г. АНТОНЯН

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ТКАНЕВОЙ РЕАКТИВНОСТИ
ЗДОРОВЫХ ЛИЦ МЕТОДОМ «КОЖНОГО ОКНА»

В статье приведены данные изучения миграции клеток методом «кожного окна» у 23 лиц. Динамическое изучение препаратов-отпечатков, полученных с зоны асептического воспаления в течение 48 ч., позволило отметить определенную закономерность процесса.

Местная клеточная реакция характеризовалась начальной гранулоцитарной массивной инфильтрацией зрелыми нейтрофилами, которая постепенно сменялась мононуклеарными элементами и завершалась процессом волокнообразования и миграцией фибробластов к 48 ч.

Клеточная реакция межтканевой ткани отражает активность ретикуло-гистиоцитарной системы организма и тем самым общую реактивность организма. Значение последней в возникновении и развитии патологических состояний делает понятной ценность изучаемого вопроса. До последних лет определение тканевой реактивности было затруднено отсутствием соответствующих методов исследования, доступных для проведения в клинике. Внедрение в практику метода «кожного окна», предложенного Ребаком [20], примененного у нас впервые Н. А. Краскиной и Н. И. Брауде [3] и видоизмененного А. И. Шуренковой [11], позволило изучить в динамике реакцию межтканевой ткани при различных состояниях организма. Применяемые ранее методы изучения клеточной реакции соединительной ткани с помощью кантаридинового пластыря [1, 5, 6, 8, 10] большей частью использовались для биохимического анализа жидкости пузыря. Изучению вопроса миграции лейкоцитов в «кожном окне» в экспериментах на животных, в клинике—у здоровых людей и при ряде патологических состояний посвятили свои исследования многие авторы [3, 7, 9, 11—13, 15—18, 20, 22, 23], которые показали, что местная реакция рыхлой соединительной ткани позволяет судить о ее функциональном состоянии в целом, а изучение мигрирующего клеточного состава в серии препаратов—отпечатков, полученных при этом, является одним из чувствительных методов определения реактивности организма.

Исследованиями отмечено, что у здоровых людей асептический воспалительный процесс характеризуется строгой последовательностью клеточной реакции различных фаз воспаления. В первые часы асептического воспаления в препаратах обнаруживаются полиморфнонуклеары с небольшой примесью мононуклеаров. К 12 ч. содержание поли- и мононуклеаров становится примерно одинаковым; в последующем число

мононуклеаров увеличивается и к 15 ч. достигает 80—85% всего клеточного состава [9, 20, 21]. Количество лимфоцитов, появляющихся в препаратах через 4—5 ч. после нанесения «кожного окна», увеличивается, достигая максимально 20—25%. Миграция фибробластов и волокнообразование являются завершающим этапом воспалительного процесса, наблюдающимся в препаратах через 24—28 ч. после воспроизведения «кожного окна». Такую закономерную последовательность клеточной миграции исследователи [2, 20] объясняют состоянием хемотаксических стимулов: повреждением целостности тканей и накоплением некротических ферментов, стимулирующих нейтрофильную реакцию; фрагменты же распавшихся нейтрофилов вызывают миграцию макрофагов.

Пейдж и Гуд [19] степень выраженности миграции клеток связывают с содержанием нейтрофилов в периферической крови; при отсутствии последних, по их данным, нормальный процесс местной воспалительной реакции нарушается.

По наблюдениям А. И. Щуренковой [11], пониженная реактивность организма характеризуется слабой миграцией элементов крови, вплоть до полного отсутствия выселения клеток, малым объемом цитоплазмы мононуклеаров и слабым волокнообразованием в заключительном этапе воспаления. Напротив, повышенной реактивности свойственно обилие клеток как в гранулоцитарной, так и мононуклеарной фазах миграции. Мононуклеары представляются в основном макрофагами с объемной цитоплазмой, а волокнообразование начинается сравнительно рано и хорошо представлено.

Настоящая работа посвящена изучению миграции клеток в зону асептического воспаления у 23 здоровых лиц методом Ребака, видоизмененного Щуренковой (легко ломающиеся покровные стекла заменены квадратами стерильных предметных стекол). Исследования проводились с целью установления нормальных соотношений процентного содержания мигрирующих клеточных элементов для дальнейшего использования их при исследовании больных сердечно-сосудистой патологией. Весь контингент был подвергнут клинико-лабораторному исследованию, патологических отклонений установлено не было. Возраст исследуемых—20—45 лет (мужчин—3, женщин—20).

Предварительно обработанную спиртом кожу в средней трети предплечья (внутренняя поверхность) скарифицировали размером 0,5×1 см. На слушенную поверхность после удаления поврежденных клеток эпидермиса накладывали поэтапно серию стерильных стекол. Для хорошей фиксации сверху стекла покрывали картонными квадратами соответствующих размеров, закрепляли липким пластырем и слегка забинтовывали. Общая продолжительность пробы составляла 24 ч. у 23 исследуемых и 48 ч. у 13 из них. Смену стекол производили каждые 4 ч., при этом седьмое стекло снимали через 24 ч. после его наложения. В результате у каждого исследуемого получали 7 препаратов. В полученных отпечатках после предварительной окраски по Паппенгейму подсчитыва-

ли 1000 клеточных элементов и выводили их процентные соотношения. Расположение клеток в препарате было равномерным (в один слой). Всего исследовано 157 стекол-отпечатков. Результаты всех исследований и средние показатели, полученные при статистической обработке, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Содержание полинуклеаров (п) и мононуклеаров (м) в „кожных окнах“ здоровых людей в динамике асептического воспаления (в ‰)

Длительность воспаления (в часах)													
4		8		12		16		20		24		48	
п	м	п	м	п	м	п	м	п	м	п	м	п	м
96,8	3,2	—	—	74,8	25,2	58,0	42,0	—	—	64,3	35,7	—	—
95,7	4,3	70,1	29,9	84,3	15,7	68,3	31,7	63,2	36,8	57,0	43,0	—	—
90,8	9,2	77,7	22,3	67,2	32,8	71,1	28,9	—	—	—	—	—	—
91,0	9,0	78,0	22,0	86,2	13,8	69,5	30,5	—	—	—	—	—	—
97,5	2,5	88,5	11,5	78,0	22,0	60,3	39,7	62,4	37,6	32,0	68,0	—	—
95,8	4,2	74,9	25,1	75,2	24,8	68,8	31,2	61,1	38,9	48,8	51,2	—	—
99,0	1,0	77,1	22,9	64,3	35,7	52,8	47,2	48,0	52,0	58,0	42,0	—	—
99,4	0,6	71,2	28,8	60,3	39,7	54,4	45,6	42,3	57,7	42,9	57,1	69,2	30,8
—	—	72,0	28,0	62,0	38,0	56,1	43,9	48,6	51,4	40,4	59,6	81,1	18,9
99,0	1,0	82,9	17,1	81,1	18,9	79,0	21,0	75,0	25,0	74,4	25,6	95,1	4,9
91,5	8,5	—	—	75,5	24,5	54,8	45,2	57,5	42,5	73,5	26,5	—	—
—	—	76,7	23,3	74,3	25,7	63,9	36,1	—	—	—	—	—	—
98,6	1,4	77,9	22,1	65,0	35,0	59,7	40,3	61,5	38,5	—	—	94,7	5,3
99,3	0,7	88,3	11,7	63,6	36,4	59,8	40,2	66,1	33,9	76,2	23,8	88,5	11,5
86,7	13,3	81,2	18,8	79,2	20,8	73,3	26,7	71,7	28,3	39,4	60,6	88,8	11,2
91,6	8,4	71,9	28,1	64,2	35,8	57,0	43,0	53,8	46,2	34,0	66,0	85,6	24,4
98,1	1,9	83,5	16,5	82,4	17,6	58,0	42,0	65,6	34,4	85,0	15,0	91,7	18,3
99,6	0,4	89,6	10,4	85,0	15,0	74,3	25,7	74,1	25,9	71,5	28,5	84,3	5,7
94,0	6,0	74,3	25,7	60,5	39,5	57,5	42,5	48,4	51,6	78,7	21,3	78,6	11,4
99,0	1,0	86,0	14,0	63,4	36,6	55,4	44,6	43,3	56,7	97,9	2,1	96,0	4,0
98,5	1,5	88,3	11,7	86,6	13,4	79,4	20,6	74,4	25,6	91,6	8,4	—	—
99,1	0,9	89,4	10,6	83,4	16,6	79,9	20,1	75,0	25,0	77,4	22,6	99,3	0,7
—	—	83,5	16,5	77,6	22,4	75,6	24,4	70,8	29,2	70,8	29,2	65,4	34,6
95,48	3,75	80,15	19,85	73,67	26,67	64,68	35,33	61,24	39,18	63,44	36,09	86,07	13,97

Клеточный состав мигрирующих элементов характеризовался следующим образом. В течение первых 4 ч. миграция была умеренно-клеточной, основную массу составляли полиморфноядерные элементы—нейтрофильные лейкоциты (99,6%), наблюдалось наличие единичных мононуклеаров. Морфология клеток была хорошо сохранена, никаких признаков дегенерации не обнаружено. Следует отметить, что в отличие от этого в последующие часы исследования в отдельных клетках, число которых к 24 ч. увеличивалось, появлялись нерезко выраженные признаки дегенерации клеток—гиперсегментация, гиперфрагментация, вакуолизация.

Во всех следующих препаратах (через 8, 12 ч. и т. д.) наблюдалась клеточная и обильноклеточная миграция элементов с постепенным нарастанием процентного содержания мононуклеаров (в первых 5 препаратах), которые к 20 ч. достигали максимальных показателей. В отличие от данных Ребака [20, 21], который отмечает максимальное число мо-

нонуклеаров к 16 ч., процентное содержание их к этому сроку, по нашим данным, составляло 35,33, а к 20 ч.—39,18%. Высокие показатели мононуклеаров к 16 ч. (40—50%) мы наблюдали у 10, к 20 ч. (50—57%)—у 5 из обследованных 23 здоровых лиц, у остальных в эти сроки—в пределах 25—42%. В последующем (через 24 и 48 ч.) содержание мононуклеаров вновь несколько снижалось, оставаясь, однако, на высоких цифрах (29,2; 34,6%).

Морфологически мононуклеары характеризовались клетками в основном больших размеров с круглым, овальным, бобовидным ядром, иногда неправильной формы. Ядерный хроматин распределен равномерно, иногда в нем определялись голубые нуклеолы. Цитоплазма довольно выражена, от голубого до интенсивно синего цвета; иногда в ней выявлялась мелкая азурофильная зернистость, расположенная в околядерном пространстве. В более поздние сроки исследования (24 ч., особенно 48 ч.) в цитоплазме мононуклеаров наблюдались фагоцитированные обрывки зрелых нейтрофилов и кокки. Морфологически мононуклеары напоминали разные стадии созревания моноцитов.

В препаратах, снятых через 48 ч., клеточный состав был менее обильным, встречались фибробласты, отмечалось выраженное волокнообразование, которое затрудняло подсчет форменных элементов. Одновременно к этому моменту исследования количество полиморфноядерных нуклеаров вновь превалировало над таковыми мононуклеаров (нейтрофильная реакция), что, по нашему мнению, являлось следствием инфицирования раневой поверхности. Известно, что методика исследования «кожного окна» требует строгого соблюдения асептики, инфицирование ее значительно изменяет состав клеточного экссудата. В данном случае следует учитывать то обстоятельство, что последний седьмой препарат, снятый нами к 48-му ч. исследования, был оставлен на поврежденном участке кожи в течение 24 ч. Наличие в препаратах кокков и фагоцитирующих нейтрофилов и мононуклеаров (макрофагов) свидетельствовало об инфицировании и соответствующей местной реакции. Что касается других элементов клеточного состава отпечатков, то, начиная с 1-го препарата (через 4 ч.), наблюдалось появление единичных эозинофилов, базофилов, а через 12 ч.—плазматических клеток (рис. 1).

Учитывая трудность дифференциации лимфоцитов и моноцитоподобных мононуклеаров, малые генерации которых морфологически были тождественны с лимфоцитами, при подсчете элементов мы объединили их в общую группу мононуклеаров. Тем не менее, в этой группе клеток число четко дифференцирующихся лимфоцитов, появляющихся уже через 4 ч. от начала пробы, достигало максимальных цифр (8%) к 16-му часу исследования.

Следует отметить, что в литературе до сих пор нет единого мнения в отношении происхождения мононуклеаров. Известно, что возникают они из двух источников: гематогенных элементов [24]—лимфоцитов [14, 21] и моноцитов [9, 25] и гистогенных элементов—адвентициальных клеток и оседлых макрофагов. В очаге асептического воспаления они

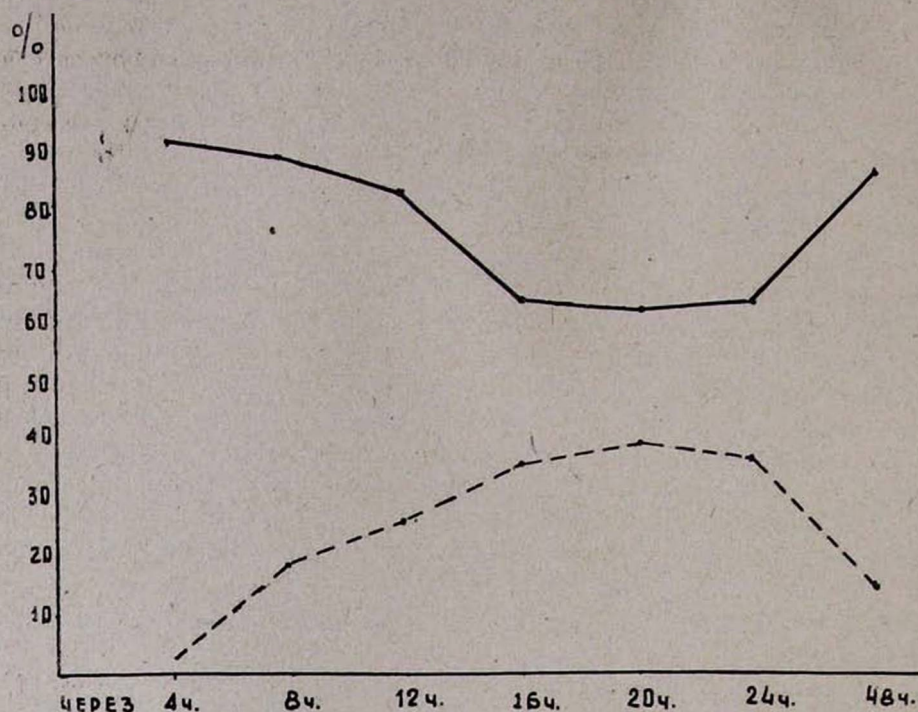


Рис. 1. Динамика изменений процентного содержания поли- и мононуклеаров в зоне асептического воспаления у здоровых лиц.

— полинуклеары, — — — — — мононуклеары.

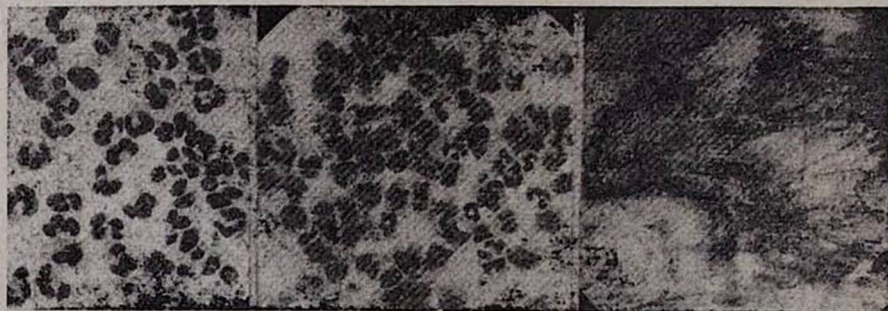


Рис. 2.

приобретают морфологическое сходство, и дифференциация их становится невозможной [2].

При изучении препаратов мы обратили особое внимание на процесс волокнообразования, описанный А. И. Шуренковой. В препаратах, начиная с 20 ч. после вызывания асептического воспаления, наблюдалось вытягивание цитоплазмных и ядерных субстанций нейтрофилов и мононуклеаров в длинные, хорошо очерченные нити и тяжи. В основном явления эти четко выявлялись через 48 ч. от начала пробы, но в отдельных случаях и через 24 ч. исследования.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют отметить, что местная клеточная реакция асептического воспаления характеризуется начальной гранулоцитарной массивной инфильтрацией, зрелыми нейтрофилами, сменяющимися постепенно мононуклеарными элементами, и завершается к 48 ч. процессом волокнообразования и миграцией фибробластов (рис. 2).

Установление нормальных процентных соотношений элементов клеточного состава межтканевой ткани в динамике асептического воспаления представляет не только теоретический, но и определенный практический интерес, т. к., являясь контролем, дает возможность правильно оценить результаты подобных исследований при различных патологических состояниях.

Институт кардиологии и сердечной хирургии
МЗ АрмССР

Поступила 5/IV 1971 г.

Է. Ռ. ՓԱՇԻՆՅԱՆ, Ա. Գ. ԱՆՏՈՆՅԱՆ

ԱՌՈՂՁ ՄԱՐԴԿԱՆՑ ՄՈՏ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔԱՅԻՆ ՌԵԱԿՑԻԱՅԻՆ
«ՄԱՇԿԱՅԻՆ ՊԱՏՈՒՀԱՆ» ՄԵԹՈԴՈՎ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ
ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ

Ա մ փ ո ղ ու մ

Աշխատանքում ներկայացված են «մաշկային պատուհան» կոչվող մեթոդով միջանկյալ հյուսվածքի բջջային ռեակցիայի ուսումնասիրության արդյունքները 23 առողջների մոտ:

Ասեպտիկ բորբոքման զոնայից ստացված (յուրաքանչյուր 4 ժամը մեկ, 48 ժամվա ընթացքում) պրեպարատ-դրոշմվածքների դինամիկ ուսումնասիրությունից երևում է, որ տեղային բջջային ռեակցիան բնորոշվում է ըսկրզնական գրանուլոցիտային մասսիվ ինֆիլտրացիայով՝ հասուն նեյտրոֆիլների կողմից, որոնք աստիճանաբար փոխվում են մոնոնուկլեարային էլեմենտների և ավարտվում ֆիբրոբլաստների միգրացիայով ու թելագոյացմամբ (48 ժամվա ընթացքում):

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бургсдорф М. В., Калинина Н. В. Клиническая медицина, 1940, 2—3, стр. 138.
2. Елисеев В. Г. Соединительная ткань. М., 1961.
3. Краскина Н. А., Брауде Н. И. В кн.: Гистохимические методы в нормальной и патологической морфологии. М., 1958, стр. 182.
4. Либерман Б. М. В кн.: Вопросы реактивности организма при внутренних заболеваниях. М., 1956, стр. 81.
5. Малкин З. И., Мясников К. Е., Мясникова З. А., Ишмухамутова Г. З. Клиническая медицина, 1941, 2, стр. 99.
6. Оверина Л. М. В кн.: Вопросы реактивности организма при внутренних заболеваниях. Л., 1956, стр. 60.

7. Селиванова Г. В. Лабораторное дело, 1969, 3, стр. 147.
8. Темирова К. В. В кн.: Вопросы реактивности организма при внутренних заболеваниях. М., 1956, стр. 9.
9. Фокина Н. Т., Денщикова Д. И. Проблемы гематологии и переливания крови, 1970, 4, стр. 51.
10. Черникова В. В. Врачебное дело, 1932, 3—4, стр. 178.
11. Щуренкова А. И. Здравсохранение Таджикистана, 1961, 4, стр. 38.
12. Щуренкова А. И. Лабораторное дело, 1962, 2, стр. 46.
13. Begemann H., Lavadsky E. Med. Clin., 1967, 62, 90.
14. Braunsteiner H., Paertan Y. and Phumb W. Blood May., 1958, XIII, 5, 417.
15. Eldinger D. Nature, 1962, 196, 4855, 683.
16. Gowland E. J. Path. Bact., 1964, 87, 347.
17. Yorre C. M., Leikin L. Am. J. clin. Path., 1959, 32, 335.
18. Libansky J. Acta Univ. Carol. (Praha), 1965, 11, 243.
19. Page A. R., Good R. A. Am. J. Path., 1958, 34, 645.
20. Rebuck J. Anat. Rec., 1949, 103, 497.
21. Rebuck Y., Growley Y. Ann. N. Y. Acad. sci., 1955, 59, 757.
22. Rits P., Wulff H. R. Acta Haemat., (Basel), 1960, 23, 276.
23. Wulff H. R., Rits P. Acta Haemat., (Basel), 1961, 26, 98.
24. Wulff H. R. et al. Acta path. microbiol. Scand., 1966, 68, 401.
25. Wulff H. R. Dan. med. Bull., 1967, 14, 254.