Туршилтийн амьтанд үүсгэсэн шархны хугацаанаас хамаарсан бүтцийн өөрчлөлтийг эдийн гистамины илрэлээр тодорхойлсон дүн

Х.Батбаяр[1,2], П.Анужин[1], Э.Баярмаа[1,3]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Эмгэг судлал шүүх эмнэлгийн тэнхим
[2]АШУҮИС, Био-Анагаахын хүрээлэн
[3]АШУҮИС, МЯЭ, Эмгэг суддлалын тасаг
Цахим шуудан: Batbayar.kh@mnums.edu.mn, Утас:99198841

Түлхүүр үг:

Шарх
Хугацаа
Бүтэц зүйн өөрчлөлт
Гистамин

Товч утга: Шархыг нөхөн сэргээх чухал чанар нь эсийн нарийн төвөгтэй бүрдэл бөгөөд эдгэрэлтийн явцыг үнэлэх урьдчилсан шалгуур болж чаддаг. Энэ үйл явцад шигүү мөхлөгт эсүүд чухал байрыг эзэлдэг ба эсүүд нь зөвхөн гэмтсэн бүсийн судасны урвалыг төдийгүй шарх дах дархлаа, хамгаалалт, нөхөн төлжих үйл явцын зохицуулагч юм. Бид шархны үүссэн хугацаанаас хамаарч гистамин болон бүтцийн онцлогыг судлах зорилго тавьж шарх үүссэнээс хойш 1, 2, 3, 4, 6, 8 дах цагууд дах эдийн бүтэц зүйн өөрчлөлт, гистамин, шигүү мөхлөгт эсийн онцлогыг тодорхойлох, шархны бүтэц зүйн өөрчлөлт, гистамин, шигүү мөхлөгт эсийн онцлогыг үүссэн хугацаанаас хамааруулан судлах зорилттойгоор судалгааг гүйцэтгэв. Судалгааг C57BL/6J үйлдвэрийн хулганы хүзүүний арын хэсгийн арьсанд шарх үүсгэн 1, 2, 3, 4, 6, 8 дахь цагуудад эдийн дээж авч нэг хэсгийг лаан цутгамал бэлтгэн үндсэн будгаар будах, үлдсэн хэсгийг хөлдөөгч микротомоор зүсч ортофталийн альдегидтай урвалд оруулж имидазолилэтиламины нэгдэл үүсгэж люминесцентэд бичил харуурт харав. Эдэд гистамин их хэмжээгээр агуулагдвал шар, дунд хэмжээгээр бол ногоон, бага хэмжээгээр бол цэнхэр өнгөөр гэрэлтэнэ. Эдийн бүтэц 1-8 цагийн дагуу бүтцээ алдаж үхжилийн зураглал тод болох, судсууд өргөсч цусаар дүүрч, цагаан эсүүд судасны ханад захлан улмаар бүтцээ алдсан эдийн голомт руу миграци хийх, эдийн завсар аажим ихсэж хөхлөг давхрага мэдэгдэхгүй болох, шигүү мөхлөгт эсүүд үндсэн будагт тод будагдаж аажим бүдгэрэх, цагаан эсийн тоо аажим буурах зүй тогтол ажиглагдаж байна. Ортофталийн альдегидийн урвал 1-2 цагт шар өнгийн илэрэлтэй, 3 дах цагаас ногоон өнгөтэй, 4 дэх цагт бүдгэрч 6 дах цагт цэнхэр өнгөтэй, 8 дахь цагт урвалгүй байна.

Үндэслэл: Шархыг нөхөн сэргээх чухал чанар нь эсийн нарийн төвөгтэй бүрдэл бөгөөд эдгэрэлтийн явцыг үнэлэх урьдчилсан шалгуур болж чаддаг. Энэ үйл явцад шигүү мөхлөгт эс (ШМЭ)-үүд чухал байрыг эзэлдэг. Эдгээр эсүүд нь зөвхөн гэмтсэн бүсийн судасны урвалыг төдийгүй шарх дах дархлаа, хамгаалалт, нөхөн төлжих үйл явцын зохицуулагч юм[1]. Их хэмжээний медиатор ялгаруулсаны улмаас шигүү мөхлөгт эсүүд нь шархны үрэвслийн үе шат дах лейкоцитын хариу урвалын үйл явцын зохицуулах нөлөө үзүүлдэг[2].

Арьсны бүрэн байдал сэргэж, эдийн дутагдал бүхий шарх аниж гэмтэл арилах нь нөхөн төлжил бөгөөд үрэвсэл, эдийн үржилтэй нягт уялдаатай байдаг бол эсийн ялгарал эдийн тогтвортой байдлыг идэвхитэй хангаж гэмтэлд үзүүлэх ерөнхий хариу урвалыг үүсдэг. Эдийн дутагдалыг арилгаж нөхөн сэргээх явцыг эс тус бүрийн нөлөө ба эс хоорондын нарийн харилцаа юм. Эдгээр өөрчлөлтүүд нь үрэвсэлт болон үржилтэд эгнээний эсийн тоон өөрчлөлтөөр тодорхойлогддог[3,4]. Асептик шархны шалтгаанаас үл хамааран дегрануляцийн индексийн өсөлт шархны эдийн дутагдалын эдгэрэлтийн хурдын өсөлттэй шууд хамааралтай бөгөөд энэ нь үрэвсэлийн үед нөхөн сэргээгдэлт дэх шигүү мөхлөгт эсийн тархалтын идэвхижил, фибробластуудад нөлөөлөн

коллагеногенезийн үйл явцыг идэвхижүүлсэн нь үзүүлэлтүүдээр батлагдаж байна[5,6,7].

Шигүү мөхлөгт эсүүдийн нөлөөгөөр фибробластуудын дегрануляцжих явцад шууд үйлчлэн тэдний үржилтийг идэвхижүүлсэний дүнд коллаген ширхэг хэлбэржинэ. Гистамин нь фибробластуудын үржил болон коллагены нийлэгжилийг өдөөдөг. Ангиогенез нь арьсны нөхөн төлжих явцыг тодорхойлдог тул шигүү мөхлөгт эс шархны эдийн дутагдалыг нөхөх мөхлөгт эдийн хөгжил, хэлбэржилтийг хангах ангиогенезийн гол хүчин зүйл болдог[8].

Манай оронд шархны эдгэрлийн хугацаанаас хамаарсан медиатрууд болон бүтцийн өөрчлөлтөд гарсан өөрчлөлтийн талаар хийгдсэн судалгааны мэдээлэл олдоогүй нь энэхүү судалгааг хийх шаардлага урган гарав.

Зорилго: Туршилтын амьтаны арьсанд үүсгэсэн шархны хугацаанаас хамаарсан бүтцийн өөрчлөлтийг эдийн гистамины илрэл, цагаан эсийн нэвчилтээр тодорхойлох

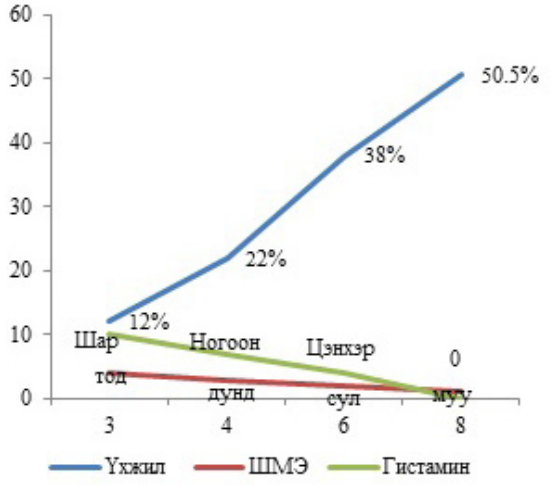
Зорилт:

1. Туршилтын амьтаны арьсанд үүсгэсэн шархны 1, 2, 3, 4, 6, 8 дах цагууд дах эдийн бүтэц зүйн өөрчлөлт, гистамин, шигүү мөхлөгт эсийн онцлогийг тодорхойлох
2. Шархны бүтэц зүйн өөрчлөлт, гистамин, цагаан эсийн нэвчилтийг үүссэн хугацаанаас хамааруулан судлах

Арга, аргачлал: Судалгааг туршилт судалгаан8ы загвараар C57BL/6J үйлдвэрийн 10 ширхэг хулганыг сонгон унтуулж хүзүүний арын нурууны хэсэгт ариун мэс заслын хутгаар 2 см урттай арьсны бүх давхрагыг хамарсан зүслэг хийж шарх үүсгэснээс 1, 2, 3, 4, 6, 8 дах цагт шархны эдээс арьсны бүх давхрагыг хамарсан 0.5 см урттайгаар хайчлан авч түүнийгээ 2 хувааж нэг хэсгийг лаан цутгамал бэлтгэн үндсэн будгаар будав. Үлдсэн хэсгийг гистаминыг тодорхойлох зорилгоор хөлдөөгч микротомоор зүсч бэлдмэлийг Кросс, Эвен, Рост (Cross et al.,1971)-ын люминесцент-гистохимийн аргаар боловсруулав. Бичил бэлдмэлүүдийг NICON маркийн бичил харуурыг ашиглан бүтцийн өөрчлөлт болон эдийн химийн үр дүнг люминесцентлэгдэх өнгөөр тодорхойлов. Люминесцент микроскопд эдэд гистамин их хэмжээгээр агуулагдвал шар, дунд хэмжээгээр бол ногоон, бага хэмжээгээр бол цэнхэр өнгөөр гэрэлтэнэ.

Үр дүн: Эдийн бүтцийг цагийн дагуу нэгтгэн үзвэл эд 1-8 цагт хэвийн байдлаас бүтцээ алдаж үхжилийн зураглал тод болж талбай ихсэх ($P<0.05$), судсууд өргөсч цусаар дүүрч, цагаан эсүүд судасны хананд захлан улмаар бүтцээ алдсан эдийн голомт руу нүүдэллэх, эдийн завсар ааж им ихсэж хөхлөг давхрага мэдэгдэхгүй болох, ШМЭ-үүд цагаа дагаж ааж им мөхлөгүүд цөөрсөнөөс үндсэн суурь будагт тодоос ааж им бүдгэрч будагдах зүй тогтол ажиглагдаж байна.

Эдэд агуулагдах гистамин ОРТ-тай урвал орох байдал шарх үүсгэсний дараах 1, 2 цагт их хэмжээгээр ялгарч шар буюу хүчтэй илрэлтэй, 3, 4 дэх цагт дунд хэмжээтэй ялгарч ногоон өнгийг өгч ааж им бүдгэрэх дунд урвалтай, 6 дах цагт баг хэмжээгээр ялгарч цэнхэр өнгийг буюу сул урвалын илрэлтэй байна. Харин 8 дахь цагт урвалгүй буюу гистамины ялгарал байхгүй байна ($P<0.05$) (Зураг 1).



Зураг 1. Эдийн үхжлийн талбай, гистамин, шигүү мөхлөгт эсийн будагдалтын цагийн үзүүлэлт

Хэлцэмж: Шарх гэмтэл үүссэнээс эхлэн эдэд 30 минутаас эхлэн гурав хоногт хариу урвалууд үүсдэг. Гэмтсэн эдэд эхний цагт хаван ихсэж хожуу хугацаанд гэмтлийн байдлаас харгалзан хаван болон бусад онцлог шинжүүд илэрдэг тухай Акопова В.И. (2016) нарын судалгаатай харьцуулан үзвэл эдийн бүтэц зүйн өөрчлөлтөнд ялангуяа хөвсгөр холбогч эдийн хоорондын хугацаагаа даган ихсэх зүй тогтолтой байх ба харин булчингийн ширхэгүүд будагдалт ааж им жигд буурах, бөөм бүтцээ алдах шинж илэрч байна. Эдгээр шинжүүдийг харьцуулан үзвэл шархны бүтэц зүйн ерөнхий шинж ижил төстэй хэлбэрээр явагдаж байгаа үр дүнтэй ижил байна.

Шарх үүсэнтэй холбоотойгоор эдийн хариу урвал болох үжил болохоос өмнө эд дэх эсүүдийн дасан зохицолын үр дүнд үрэвсэлийн урвал явагддаг. Гэмтлийн эхэн цаг, минутанд үрэвслийн медиаторуудын нөлөөгөөр судас огцом агшин тэлэгдэн өргөссөний үр дүнд цагаан эсүүд судсан дотор хана дагуу захлан ханыг давж миграци хийж нөхцөл бүрдэн хэмээн Vinay Kumar, Abul K. Abbas, Jon C. Aster. 2013 нар үзжээ. Бидний судалгааны үр дүнгээр бүх цагуудад судаснууд тэлэгдэж өргөссөн, эхний 1-3 цагт судасны цагаан эсийн захлалт, миграци тод ажиглагдаж байлаа. Харин 4 дэх цагаас эхлэн эдэд улаан эсүүд үзэгдэж байгаа нь судасны хана мөн гэмтэж улаан эс гадгашилсан гэж үзээж байна. Харин 6-8 дахь цагуудад үхжил илэрч байгаа өөрчлөлтүүд гарсан нь ижил зүй тогтолтой явагдаж байна.

Механик гэмтлийн дараах эдийн лейкоцитоз нь химийн нөлөөгөөр хязгаарлагддаггүй бөгөөд энэ нь шархны зааг дахь ферментийн идэвхжил нэмэгдэхээс илүү хүчилд нөлөөлдөг нь нотлогдсон. Ферментохистохимийн урвал харилцан адилгүй бөгөөд ферментийн үйл ажиллагааны өөрчлөлтийг хүчил, суурь илүү их үйлчлүүлсний дараа хүчлийн үхжил илүү өргөн урвал илүү нягтралтай үхжилийн өөрчлөлтийн шинж чанарыг S. Berg (1978) нар тогтоожээ. Бидний судалгаагаар шархны эхний 1-4 дэх цагуудад эдийн

бүтэц зүйн өөрчлөлтөөр илт ялгагдах өөрчлөлт бүхий үхжилийн шинжгүй байсан бөгөөд 6, 8 цагуудад үхжил илэрч гарч байгаа нь судлаачдынхтай адил байна. Хүний арьсны бүтэц зүйн өөрчлөл туршилт судалгааныхтай онолынг хувьд ижил байна.

Гистамины хамгийн их концентрацтай хэсэг нь арьс, ходоод гэдэсний зам, уушги өөрөөр хэлбэл гадаад орчинтой холбоо бүхий эдүүд юм. Хүний арьсанд дунджаар 8.5 мкг/г агуулдаг. Үүний хамгийн их хэмжээ нь зовхины арьс (30.3 мкг/г хүртэл), толгой, хүзүү, хамгийн бага нь хэвлийн арьсанд байдаг Gupta V., Wagner B.J. (2003) нар үзжээ. Бидний туршилт судалгааны үр дүнд арьсанд шарх үүсгэх замаар сэдээлт өгч 1-6 цагт арьсны эдийг ортофталийн альдегидаар үйлчлэхэд эдийн гистаминтай урвалд орж имидазолилэтиламин үүсч байснаар батлагдаж байна.

Зовхины арьсны мөхлөгт эс бусад хэсгүүдийнхээс бага зэрэг их, харин шигүү мөхлөгт эс их хэмжээгээр агуулагддаг тухай Жирнова Н. С. (2007) нар судалж зовхины арьсан дор гиалуроны хүчил оруулан 6 цагийн дараа шигүү мөхлөгт эсийг тоо хэвийн хэмжээнээс ихэссэн байх ба бидний судалгаагаар шигүү мөхлөгт эсийн тоонд ялгаа ажиглагдаагүй харин 4 дэх цагаас эхлэн шигүү мөхлөгт эсийн будагдалт буурч байгаа зүй тогтол ажиглагдлаа. Хучуур эдэд гистамин ихээр агуулагдах ба энэ тод шараар будагдаж байна. Бидний судалгаагаар цагаа дагаж гистамин аажим буурах зүй тогтолтой байна.

Дүгнэлт:

1. Шарх үүссэнээс хойш цагаа дагаж шигүү мөхлөгт эс дэх мөхлөгүүд цөөрч, гистамины ялгарал буурч байх ба харин үхжил аажим нэмэгдэж байна.
2. Шархны хугацаанаас хамаарч эдийн үхжилийн талбай нэмэгдэж байхад шигүү мөхлөгт эсээс ялгарах гистамины хэмжээ буурах урвуу хамааралтай байна.

Талархал: Энэхүү судалгааны ажлыг гүйцэтгэхэд гүн туслалцаа үзүүлсэн БАХ-ийн амьтны лабораторийн эрхлэгч БУ-ны доктор Б.Галиндэв, Био-АС-ийн ЭСШЭТэнхим, МЯСЭ-ийн Эмгэг судлалын тасгийн эрдэмтэн багш, ажилчиддаа талархал илэрхийлье.

Ном зүй:

1. *Жукова О.В. Патогенез и гистоморфологические особенности рубцовых изменений кожи. Клиническая дерматология и венерология. 2009.№ 4.С.4-9.*
2. *Клименко Н.А. Механизмы модулирующего влияния тучных клеток на лейкоцитарную реакцию при воспалении. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1993.№ 1.С.29-30.*
3. *Данилов, Р. К. Раневой процесс: гистогенетические основы / Р. К. Данилов. -Санкт-Петербург : ВМедА им. С. М. Кирова, 2008. -380 с.*
4. *Одинцова И. А. Закономерности процессов регенерационного гистогенеза в кожно-мышечной ране. Анатомия и военная медицина : материалы науч. конф. Санкт-Петербург: ВМедА, 2003.С.41-43.*
5. *Distinct role for c-kit receptor tyrosine kinase and SgIGSF adhesion molecule in attachment of mast cells to fibroblasts / Y. Koma [et al.] // Lab Invest. - 2005. -Vol. 85, № 3. -P. 426-435*
6. *Endogenous suppression of mast cell development and survival by IL-4 and IL-10 / K. Speiran [et al.] // J. Leukoc. Biol. -2009. -Vol. 85, № 5.-P. 826-836.*
7. *Mast cells enhance contraction of three-dimensional collagen lattices by fibroblasts by cell-cell interaction: role of stem cell factor/c-kit / T. Yamamoto [et al.] // Immunology. -2000. Vol. 99, № 3.-P. 435-439.*
8. *Коцюба А. Е. Особенности цитохимии тучных клеток в некоторых органах крысы. Цитология. 2008. Т. 50, № 12. С. 1023-1029.*

Study of histamine and structural changes depending on wound time in experimental animals

Batbayar Kh[1,2], Anujin P[1], Bayarmaa E[1,3]

[1]Department of Pathology and Forensic Medicine, School of Biomedicine. MNUMS
[2]Institute of Biomedicine
[3]Department of Pathology, MJTHospital
E-mail: Batbayar.kh@mnums.edu.mn, Tel: 99198841

Background: An important quality of wound regeneration is the complex composition of cells, which can be a preliminary criterion for assessing the healing process. In this process, mast cells play an important role, regulating not only the vascular response of the injured area, but also the immune, protective, and regenerative processes in the wound. Our goal is to study the histamine and structural features of the wound depending on the time of wound formation.

Aim: The aim of the study was to study the characteristics of mast cells depending on the time of their formation.

Materials and Methods: The study was performed on mice of the C57BL/6J line with posterior skin lesions on the back of the neck after 1, 2, 3, 4, 6 and 8 hours. If the tissue contains a large amount of histamine, it becomes yellow, moderately green and slightly blue. The tissue structure loses its structure within 1-8 hours, the picture of necrosis becomes distinct, the vessels dilate and fill with blood, leukocytes migrate to the vascular wall, and then migrate to the foci of deformed tissue, the tissue gap gradually increases, the mast layer becomes transparent, and mast cells stained with a primary dye, there is a pattern of attenuation and a gradual decrease in the number of leukocytes. The reaction of orthophthalaldehyde is yellow after 1-2 hours, green after 3 hours, disappears after 4 hours, blue after 6 hours and no reaction at 8 hours.

Keywords: wound, duration, structural changes, histamine.