

**Ключевые слова:** экспериментальный остеопороз, хроническая интоксикация нитратом натрия, оксид азота, пектин, костная ткань.  
Статья надійшла 11.09.2013 р.

**Key words:** modeled osteoporosis, chronic sodium nitrate intoxication, nitric oxide, pectin, bone tissue.  
Рецензент Непорада К.С.

УДК 616.5-002+616.5:576.3:616.079:616.155.3

Э.Э. Умеров

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь

## ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ КОЖИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКИХ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВАХ С УЧЕТОМ МАКРОФАГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ИНФИЛЬТРАТА

На основании проведенного иммуногистохимического исследования биоптатов кожи больных с трофическими язвами выделены две группы макрофагов, участвующих в развитии альтеративно-воспалительных процессов, в зависимости от их функциональной активности, достоверно резко превышающие показатели контрольной группы. Это позволило впервые рассчитать индекс макрофагальной активности, который свидетельствует о снижении фагоцитарной функции макрофагов, что может быть предиктором замедленных репаративных процессов при заживлении трофической язвы.

**Ключевые слова:** трофические язвы, кожа, морфология, иммуногистохимия, макрофаги.

Одним из самых частых и тяжелых хронических осложнений облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей и синдрома диабетической стопы является формирование ишемической трофической язвы, нередко приводящей к ампутации конечностей, которые фактически в мире выполняются каждые 30 секунд [3,12,14]. Неблагоприятный прогноз и относительная низкая эффективность терапии и профилактики рецидивов при ишемических трофических язвах обусловлены в первую очередь гемодинамическими расстройствами в результате органического поражения сосудистой стенки [3,6,12,14]. Однако известно, что важнейшим клеточным компонентом в патогенезе заживления ран являются макрофаги, которые в зависимости от функциональной активности продуцируют различные биологически активные вещества, инициируют и модулируют иммунные реакции, обеспечивают антимикробную защиту и фагоцитоз, регулируют пролиферативную активность других клеточных типов [5,10,11]. Несмотря на большое количество научной информации о роли макрофагальной системы при различных патологических состояниях, в том числе и в заживлении раны, отсутствуют четкие и объективные сведения о количественных и качественных показателях макрофагов и их соотношений в очаге поражения [1,4,8,11,12,13]. Поэтому, исследование макрофагальной активности воспалительного инфильтрата поможет интерпретировать характер и механизмы нарушений течения альтеративно-воспалительных и репаративных процессов в коже при ишемических трофических язвах и определить эффективность выбранного метода лечения.

**Целью** работы было изучение морфологической картины кожи у больных с трофическими язвами ишемического генеза с учетом макрофагальной активности воспалительного инфильтрата.

**Материал и методы исследования.** Морфологическое исследование биоптатов кожи нижних конечностей, взятых по краю трофической язвы, проведено в 12 случаях с ишемическими трофическими язвами (ТЯ): (n=6) при сахарном диабете (СД) и (n=6) при облитерирующем атеросклерозе сосудов нижних конечностей. В качестве контроля исследовали здоровую кожу умерших пациентов без сосудистой патологии и язвенных дефектов нижних конечностей (n=5). Эти клинические группы составили пациенты, проходившие лечение на клинических базах ГУ «КГМУ имени С.И. Георгиевского», в г. Симферополь. Каждый пациент получал подробную информацию о проводимом исследовании и давал информированное согласие на участие в исследовании. Забор материала для исследования проводился методом пункционной биопсии, пробойником диаметром 4 мм (Biopsy Punch 4,0 mm) с использованием инфильтрационной анестезии 2% раствором лидокаина. Иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) кожи проводили по стандартизированной методике [7] с использованием серийных парафиновых срезов толщиной 5 мкм, помещенных на адгезивные стекла, покрытые полизином («Menzel-Glaser», Германия) и реактивов компании DAKO с моноклональными антителами CD68 (Clone PG-M1, разведение 1:50) на автостейнере DAKO. Система визуализации EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH (Link), Code K8012 на автостейнере фирмы DAKO.

Морфометрическое исследование включало подсчет позитивных клеток в 3 полях зрения при увеличении 200. Интенсивность цитоплазматической экспрессии CD68 оценивали полуколичественным методом на основании выраженности окраски и количества гранул в цитоплазме по следующей схеме: слабая экспрессия и выраженная. Морфометрическое исследование включало подсчет клеток с помощью программы Software DP-SOFT. Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев [2] с использованием программы «MedStat» (серийный №MS0011) ДНПП ООО «Альфа», г. Донецк.

**Результаты исследования и их обсуждение.** ИГХИ с анализом позитивной реакции CD68 клеток позволили выделить различные генерации макрофагов (МФ), полиморфные по форме, размерам и интенсивности реакции. По нашему мнению, мелкие вытянутые макрофаги со слабой визуализацией коричневых гранул, рассеянно заполняющих цитоплазму клетки, имеют низкую функциональную активность.

Крупные округлые или овальные макрофаги с наличием отростков и выраженной пылевидной зернистостью, диффузно расположенных в цитоплазме клетки расценены как высоко функциональные.

Учитывая общность патогенетических механизмов при ишемических трофических язвах ИГХИ по группам не выделяли. При ТЯ различного генеза в базальных отделах эпидермиса и в сосочковом слое превалируют явления отека, МФ были единичны. Отдельные CD68+ клетки визуализируются в зоне эпидермо-дермальной границы. МФ имеют вытянутую форму, иногда с отростками, неравномерно распределенную в цитоплазме пылевидную зернистость, что определяет их низкую функциональную активность (рис.1).

Более многочисленными CD68+ клетки обнаружены на границе между сосочковым и сетчатым слоем при СД, где вдоль сосудов поверхностного сосудистого сплетения кожи располагались крупные воспалительные инфильтраты. В некоторых сосудах, в участках деструкции эндотелиальной выстилки определялись единичные адгезированные CD68+ клетки и единичные со слабой интенсивностью экспрессии в адвентиции. Количественные показатели позитивных CD68 макрофагов отображены в таблице 1.

Таблица 1

**Оценка распределения и интенсивности экспрессии CD68 макрофагов в воспалительном инфильтрате при ишемических ТЯ**

Экспрессия CD68	Ишемические ТЯ (n=12)	Контроль (n=5)
Общий пул	84,09±1,24*	10,14±0,43
Выраженная экспрессия	11,30±0,02*	5,10±0,41
Слабая экспрессия	72,79±1,22*	5,04±0,02
Индекс макрофагальной активности (ВЭ/СЭ)	0,15±0,02*	1,01±20,5

Примечание: \* – p<0,01, достоверность отличия показателей контрольной группы от исследуемой.

Общее количество CD68-позитивных макрофагов составило в среднем 84,09±1,24, что является достоверно отличным по отношению к контролю (10,14±0,43). Следует отметить, что наиболее интенсивная экспрессия CD68 в макрофагах определяется только в 11,30±0,02 клетках. Слабая экспрессия в макрофагах является преобладающей - 72,79±1,22 (рис.2). Данные показатели достоверно отличаются от группы контроля (p<0,01). Если в контрольной группе соотношение CD68 макрофагов со слабой и выраженной экспрессией (индекс макрофагальной активности) составляет 1,01±20,5, то у больных с ишемическими ТЯ индекс резко снижен и соответствует 0,15±0,02 за счет слабой фагоцитарной функции макрофагов. Характерно, что в группе больных облитерирующим атеросклерозом свободно расположенные макрофаги в дерме выявлялись реже. Однако большое количество их визуализируется в стенке сосуда с атеросклеротической бляшкой. Клетки расположены циркулярно в виде «луковичной шелухи» и имеют различную интенсивность экспрессии. Часть клеток была фрагментирована с экстраклеточным расположением иммунореактивного материала (рис.3).

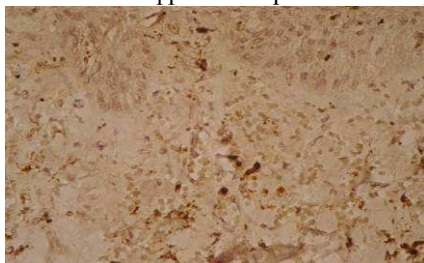


Рис.1. Экспрессия CD68+ в краях трофической язвы ишемического генеза. ИГХИ. x400.

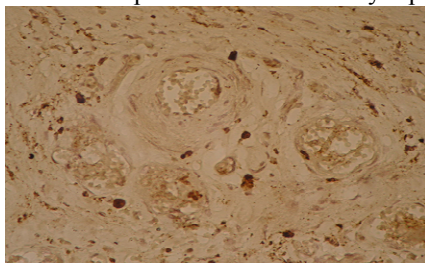


Рис.2. Экспрессия CD68 в периваскулярной области дермы при сахарном диабете. ИГХИ. x400

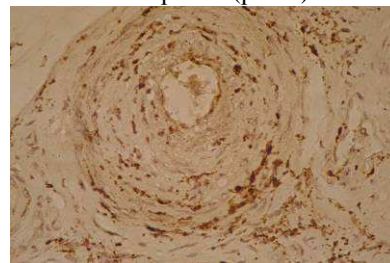


Рис.3. Экспрессия CD68 периваскулярно и в стенке сосуда при атеросклерозе. ИГХИ. x400

Проведенные ИГХИ позволили выделить две группы макрофагов, участвующих в развитии альтеративно-воспалительных процессов, в зависимости от их функциональной активности, достоверно резко превышающие показатели контрольной группы. Соотношение CD68 макрофагов со слабой и выраженной экспрессией (индекс макрофагальной активности) свидетельствует о снижении фагоцитарной функции макрофагов, что может быть предиктором замедленных репаративных процессов при заживлении раны.

**Заключение**

Выделенные два вида макрофагов в зависимости от выраженности экспрессии CD68 клеток: слабо- и высоко функциональные достоверно повышенные в очаге воспалительного инфильтрата при ишемических трофических язвах. Определение индекса макрофагальной активности, который достоверно снижается, при ишемических трофических язвах может быть критерием эффективности комплексного лечения.

**Перспективы дальнейших исследований.** Изучение морфологической картины в коже больных ишемическими трофическими язвами и определение макрофагальной активности воспалительного инфильтрата необходимо для выбора патогенетически обоснованной терапии и местного лечения, направленных на усиление фагоцитарной функции макрофагов, и снижении альтеративно-воспалительных процессов, развивающихся на фоне ишемии. Данные исследования могут быть использованы как критерий эффективности лечения.

**Литература**

1. Барнинова М.Э. Гетерогенность реакции макрофагов при заживлении ран нижних конечностей у больных сахарным диабетом / М.Э. Барнинова, О.Н. Сулаева / Морфология. – 2009. – Т. III, № 1. – С.22-27.

2. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях / С.Н.Лапач, А.В.Чубенко, П.Н.Бабич // К. – Морион – 2000 – 319с.
3. Удовиченко О.В. Патогенетическая роль диабетической микро-ангиопатии в развитии синдрома диабетической стопы / О.В. Удовиченко, М.Б. Анциферов, А.Ю. Токмаков // Проблемы эндокринологии. 2001. -№2.-С. 39-45.
4. Удовиченко О.В. Клинические и морфологические особенности репаративных процессов у больных с синдромом диабетической стопы / О.В. Удовиченко, А.Ю. Токмакова, М.Б. Анциферов [и др.] // Проблемы эндокринологии. 2003. - Т. 49, №1. - С. 19-24.
5. Федоров Д.Н. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика репаративных процессов в длительно не заживающих ранах / Д.Н. Федоров, А.Н. Ивашкин, В.В. Шинин [и др.] //Арх. патол. – 2002. – № 1. – С. 8-11.
6. Dobrian A.D. Diabetic state induces lipid loading and altered expression and secretion of lipoprotein lipase in human monocyte-derived macrophages / A. D. Dobrian // Atherosclerosis. 2000. - Vol. 153.- P. 191-201.
7. Dabbs D.J. Diagnostic immunohistochemistry / D.J. Dabbs // London: Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.
8. Zykova S. Studies on macrophage dysfunction in type 2 diabetes / S. Zykova. Tromso : University of Tromso, 2002.-76 p.
9. Mathieu P Rodero. Skin wound healing modulation by macrophages / Mathieu P Rodero, K.Khosrotehrani // Int J Clin Exp Pathol. -2010. № 3(7).- С. 643–653.
10. Mahdavian Delavary B. Macrophages in skin injury and repair /Mahdavian Delavary B., W.M. van der Veer , M. van Egmond M. [et. al.] / Immunobiology. -2011.- №216(7).-С.753-762.
11. Paknys G. Diabetes mellitus and cellular immunity / G. Paknys, A.J. Kondrotas, E. Kevelaitis // Medicina. – 2006. – Vol. 42, № 1. – P. 1-10.
12. Sweitzer S.M. What is the future of diabetic wound care? / S.M. Sweitzer // Diab. educ. – 2006.– Vol. 32, № 1. – P. 197-210.
13. Waltenberger J. Vascular endothelial growth factor-A-induced chemo taxis of monocytes is attenuated in patients with diabetes mellitus / J. Waltenberger, J. Lange, A. Kranz // Circulation. 2000. - Vol. 102. - P. 185- 190.
14. Williams R. The size of the problem: Epidemiological and Economic with Diabetes Mellitus/ R.Williams, M.Airey // Pharmacoeconomics. - 2000. - Vol. 18(3). - P. 225-238.

## Реферати

### ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ШКІРИ ПРИ ШЕМІЧНИХ ТРОФІЧНИХ ВИРАЗКАХ З УРАХУВАННЯМ МАКРОФАГАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЗАПАЛЬНОГО ІНФІЛЬТРАТУ

Умеров Е.Е.

На основі проведеного імуногістохімічного дослідження біоптатів шкіри хворих з трофічними виразками виділені дві групи макрофагів, що приймають участь у розвитку альтеративно-запальних процесів, у залежності від їх функціональної активності, достовірно різко перевищуючи показники контрольної групи. Це дозволило вперше розрахувати індекс макрофагальної активності, який свідчить про зниження фагоцитарної функції макрофагів, що може бути предиктором зповільнених репаративних процесів при загоєнні трофічної виразки.

**Ключові слова:** трофічна виразка, шкіра, морфологія, імуногістохімія, макрофаги.

Стаття надійшла 11.07.2013 р.

### SPECIFICS OF MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF THE SKIN IN ISCHEMIC TROPHIC ULCERS IN VIEW OF MACROPHAGE ACTIVITY OF INFLAMMATORY INFILTRATE

Umerov E.E.

Based on the undertaken immunohistochemical study of the skin biopsies of the patients with trophic ulcers, there have been identified two groups of macrophages involved in the development of alternative inflammatory processes, depending on their functional activity that reliably and dramatically exceeded control group parameters. This allowed for the first time to calculate the index of macrophage activity, which indicates a decline in the phagocytic function of macrophages that can be a predictor of delayed reparative processes in the healing of trophic ulcers.

**Key words:** trophic ulcers, skin, morphology, immunohistochemistry, macrophages.

Рецензент Єрошенко Г.А.

УДК 615.454.1+616.314.17-001]-092.9

С.Ю. Мечотіна

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

### ВПЛИВ МАЗІ АЛЬТАНОВОЇ НА МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ТКАНИН ПАРОДОНТА ЩУРІВ ПІСЛЯ ТРИВАЛОЇ ДІЇ ТРАВМУЮЧОГО ФАКТОРУ

У статті наведено результати гістологічного дослідження тканин пародонта білих щурів після тривалої дії травмуючого фактору, яких лікували маззю альтановою 2%. Показано, що морфологічна структура тканин пародонта щура суттєво не відрізняється від аналогічного утворення у людини. На гістологічних препаратах щурів контрольної групи, яких піддавали тривалій дії травмуючого фактору, нами виявлено глибокі деструктивні зміни в тканинах пародонта. Застосування мазі альтанової протягом 10-ти днів для лікування травматичного пародонтиту в щурів підсилювало регенеративні процеси в травмованих тканинах пародонта, що сприяло зміцненню зв'язкового апарату зуба.

**Ключові слова:** тканини пародонта щурів, травматичний пародонтит, мазь альтанова.

Робота є фрагментом НДР «Дослідження специфічної фармакологічної активності біологічно активних речовин рослинного походження», № державної реєстрації 0101U001130.

Застосування лікарських засобів рослинного походження з лікувально-профілактичною метою все більше привертає увагу фахівців. Це обумовлено тим, що вони мають широку і комплексну фармакологічну дію, є більш біодоступними для людського організму, рідше спричиняють побічні реакції, ніж синтетичні засоби. Мазь альтанова 2% — оригінальний вітчизняний лікарський препарат з шишок вільхи клейкої — *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. та вільхи сірої — *Alnus incana* (L.) Moench. родини березових — *Betulaceae*, основними діючими речовинами якого є алтан і диметилсульфоксид [5, 8]. В алтані домінують сполуки поліфенольної природи, які відносяться до групи гідролізуємих дубильних речовин — елаготаніни. Мазь альтанова проявляє антимікробну, протизапальну, ранозагоювальну (репаративну), антиоксидантну, мембраностабілізуювальну дію, знижує больову чутливість травмованих тканин. Показаннями до її застосування є піодермії, інфіковані стафілококом; трофічні виразки гомілки, ускладнені гнійною інфекцією; опіки легкого і середнього ступеня;