

## ЗАКРЫЩЕ СКРАЗНЫХ АДТУЛІН У ВУШНЫХ РАКАВІНАХ ЛАБАРАТОРНЫХ ПАЦУКОЎ І АКОМІСАЎ

**Радута А.Ф.**

*Рэспубліканскае навукова-даследчае унітарнае прадпрыемства  
«Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі»,  
г. Гродна, Беларусь*

*Исследованы особенности зарастания отверстий, механически образованных в ушных раковинах крыс породы Wistar и иглистых мышей с помощью макроскопического и гистологического методов. Процесс показан в динамике: 0, 1, 5, 15, 30 недель. У крыс через 15 недель после образования искусственного отверстия выявляются первые проявления регенерации хрящевой опоры ушной раковины, через 30 недель многие с новообразованных хондроцитов имеют выраженные капли жира. Отверстие оставалось большим (занимало 58,3 % от исходной площади дефекта в пласте хондроцитов). У акомисов через 5-30 недель после повреждения в значительной степени восстанавливалась хрящевая опора органа, мышцы, в коже – волосяные фолликулы и сальные железы. Через 30 недель после повреждения у акомисов присутствовали микроскопические отверстия (занимали 0,16 % от исходной площади дефекта в пласте хондроцитов), заполненные роговыми массами.*

*Показано, что у акомисов в регенерате ушной раковины новообразованная хрящевая ткань представляет собой сеть выростов, связанную по периметру с краем интактного хряща, что свидетельствует о том, что эта ткань восстанавливается в регенерате путем отрастания от интактного хряща.*

**Ключавыя словы:** пацукі, акомісы, вушная ракавіна, скразная адтуліна, рэгенерацыя

## CLOSING THROUGH HOLES IN THE AURICLES OF LABORATORY RATS AND SPINY MICE

**Raduta Alena F.**

*Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds  
of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Grodno, Belarus*

*The features of the overgrowth of a hole mechanically formed in the auricles of Wistar rats and spiny mice were studied using macroscopic and histological methods. The process is shown in dynamics: 0, 1, 5, 15, 30 weeks. In rats, 15 weeks after the formation of an artificial hole, the first manifestations of regeneration of the cartilaginous support of the auricle are revealed, after 30 weeks, many of the newly formed chondrocytes have pronounced fat drops. The hole remains large (it occupied 58.3% of the original defect area in the chondrocyte layer). In akomys, 5-30 weeks after the injury, the cartilaginous support of the organ, muscles, hair follicles and sebaceous glands in the skin are largely restored. 30 weeks after injury, akomys had microscopic holes (occupied 0.16% of the original area of the defect in the chondrocyte layer) filled with horny masses. It was shown that in akomys in the auricle regenerate, the newly formed cartilage tissue is a network of outgrowths connected along the perimeter with the edge of the intact cartilage, which indicates that this tissue is restored in the regenerate by regrowth from the intact cartilage.*

**Keywords:** rats, akomys, auricle, through hole, regeneration.

Найбольш простым і хуткім метадам ацэнкі рэгенератыўнай здольнасці млекакормячых на працягу многіх гадоў з'яўляецца вывучэнне працэсу зарастання штучна створанай скразной адтуліны ў іх вушных ракавінах (ВР). Адным з відаў, у якіх выяўлена адметная здольнасць да зарастання такой адтуліны, з'яўляюцца іглістыя мышы (акомісы) [1]. У даследаваннях было паказана, што механічныя дэфекты ў ВР гэтых жывёл, як правіла зробленыя ў выглядзе круглых адтулін прабойнікам дыяметрам 4 мм, цалкам зарасталі праз 32–85 дзён [1, 2, 3].

На працягу апошніх гадоў вывучаюцца клеткавыя і малекулярныя механізмы, якія спрыяюць рэгенерацыі ў гэтых жывёл. Пры гэтым вывучаюцца: малекулы міжклеткавага матрыксу, якія маюць ключавое значэнне ў падтрымцы праліферацыі хандрацытаў (ХЦ) і вызначэнні кірунку іх наступнай дыферэнцыроўкі [1]; зыходнае запаленчае клеткавае асяроддзе – нейтрафільныя лейкацыты і макрафагі, якія з'яўляюцца патэнцыйнай крыніцай рэгенератыўных сігналаў [2]; значэнне інервацыі на розных краях дэфекта ВР [4]; Нірро-Уар шлях, які адыгрывае важную ролю ў правільным развіцці органаў у цэлым, а таксама паляпшае функцыянальны стан органаў са слабымі рэгенераторнымі здольнасцямі [5] і іншае.

Аднак у ходзе раней праведзеных даследаванняў, звязаных з зарастаннем адтуліны ў ВР акомісаў, працэс не вывучаўся ў фармаце 2d, не была паказана яго дынаміка, што, у сваю чаргу, магло абумовіць памылковую інтэрпрэтацыю клеткавых механізмаў паходжання новай храстковай тканікі ў складзе рэгенерата.

У сувязі з адзначаным, **мэтай праведзенага даследавання** стала вывучэнне зарастання адтуліны ў ВР пацукоў пароды Вістар і іглістых мышэй (акомісаў) на грунце выкарыстання ўдасканаленага гісталагічнага метаду.

**Матэрыялы і метады даследавання.** Выкарыстаны пацукі пароды Wistar масай 250–300 г і акомісы масай 40–60 г. Жывёл трымалі ў стандартных умовах віварыя пры свабодным доступе да паўнавартаснага корму і вады. Усе маніпуляцыі з імі выконвалі ў адпаведнасці з ДАСТ 33215-2014, ДАСТ 33216-2014, ТКП 125-2008 (02040) «Належная лабараторная практыка», а менавіта, для стварэння дэфекта у ВР, забора ВР для даследвання рабіўся пад глыбокім эфірным наркозам.

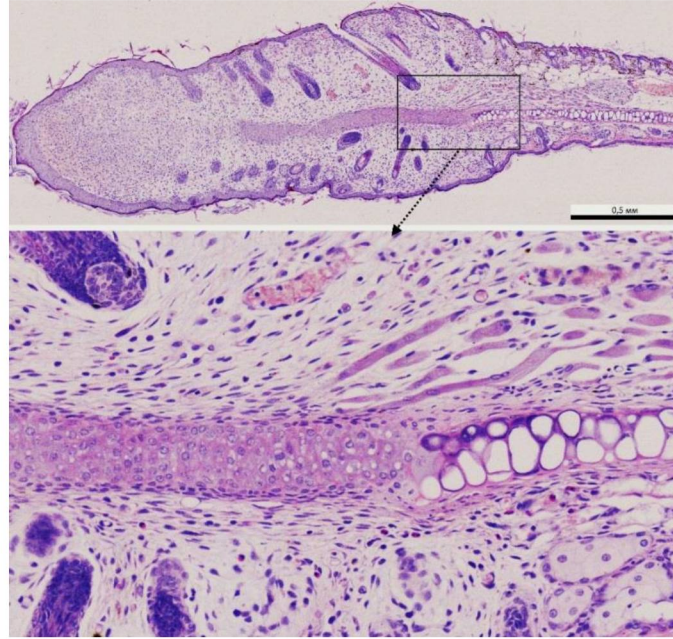
З дапамогай прабойніка дыяметрам 4 мм у пацукоў і мышэй стваралі круглую адтуліну у ВР, якую адразалі альбо непасрэдна пасля стварэння адтуліны, альбо праз 1, 5, 15, 30 тыдняў. Для правядзення гісталагічнага аналізу з атрыманага біяптата выразалі прамавугольны ўчастак з дэфектам у цэнтры памерам 6-7 мм на 13-14 мм, арыентаваны ўздоўж асноўнай восі ВР. Тканкі фіксавалі ў распраўленым стане ў сумесі фармалін-спірт-воцатная кіслата. Пасля прамыўкі ў вадзе ўчастак залівалі ў парафін па традыцыйнай метадыцы. Атрымлівалі папярочныя гісталагічныя зрэзы таўшчынёй 4,5 мкм, накіраваныя ўздоўж асноўнай восі ВР. Зрэзы рабілі серыйна з інтэрвалам 250 мкм. Іх афарбоўвалі гематаксілінам і эазінам.

Выкарыстоўвалі наступную методыку колькаснага вымярэння структур, якія ўтвараліся на месцы адтуліны ў храстковай апоры (ХА) ВР: з дапамогай праграмы *Paint* малявалі схему, на якой пазначалі скразны паветраны прасвет, мяккія тканкі, інтактную і новаўтвораную храстковую тканку; схемы асобных зрэзаў з адной ВР паслядоўна складалі ў 2d-мапы з пазначэннем найважнейшых структур. Апошнія выкарыстоўвалі для морфаметрыі, якую выконвалі з дапамогай праграмы *ImageJ*.

**Вынікі і іх абмеркаванне.** Макраскапічна ў пацукоў памер скразной адтуліны ў ВР праз тыдзень пасля яе стварэння трохі памяншаецца, затым змяняецца нязначна – адтуліна ў ВР застаецца незарослай і праз 30 тыдняў. У акомісаў памер адтуліны першыя два тыдні таксама мяняецца мала, затое праз 3-5 тыдняў пачынае істотна памяншацца. Праз 30 тыдняў адтуліна на вока не выяўлялася.

З дапамогай гісталагічнага даследавання былі высветлены тканева-клеткавыя механізмы закрыцця скразной адтуліны ў ВР. Так, у пацукоў у першыя суткі па перыметры створанага скразнога дэфекта адбываецца актыўнае развіццё посттраўматычнага запалення, ампутацыя аголеных фрагментаў храстковай пласцінкі (ХП), утвараецца грануляцыйная тканка (ГТ), ідзе хуткая эпідэрмізацыя пашкоджанага краю. Праз 5 тыдняў па краі былога пашкоджання запаленне змяншаецца і аб'ём ГТ памяншаецца, але фіброзная абалонка (ФА) на краях інтактнага пласта ХЦ выглядае патоўшчанай. Там жа з'яўляюцца першыя прыкметы праліферацыі камбіяльных ХЦ. Праз 15 тыдняў на праксімальным участку пашкоджанага краю адтуліны можна выявіць наросты новай храстковай тканкі, у клетках якой амаль няма кропель тлушчу. Праз 30 сутак прысутнічае больш новаўтворанай храстковай тканкі, многія ХЦ у ёй маюць выразныя кроплі тлушчу, хаця іх памер усё яшчэ істотна меншы, чым у інтактных ХЦ ХА ВР.

У акомісаў загойванне адтуліны ў ВР у першыя дні суправаджалася менш інтэнсіўнай запаленчай рэакцыяй, меншым развіццём ГТ і меншымі тэмпамі эпідэрмізацыі краёў раны. Праз 5-30 тыдняў пасля пашкоджання назіралася значна больш поўная рэгенерацыя пашкоджання ў ВР – у значнай ступені аднаўляліся храстковая апора органа, ВФ, СЗ, цягліцы (малюнак). Аднак заўважана, што нават больш, чым праз паўгады пасля стварэння дэфекта, у ВР захоўваецца мікраскапічная маленькая адтуліна, ссунутая ў дыстальным кірунку і запоўненая рагавымі масамі. Пытанне пра магчымасць яе канчатковага знікнення застаецца адкрытым.



**Малюнак 1. Выгляд прасімальнага краю адтуліны ў ВР акомісаў праз 5 тыдняў пасля яе стварэння. Бачны новаўтвораныя тканкі ўключна з рэгенератам ХА ВР.**

У акомісаў у рэгенерацыі ВР новаўтвораная хрстковая тканка ўяўляе сабой непарыўную сетку вырастаў, звязаную на перыметры адтуліны з краем інтакнага хрстка. Гэта сведчыць, што хрстковая тканка аднаўляецца ў рэгенерацыі шляхам адрастання ад краю інтакнага хрстка, прычым найбольш актыўна – на праксімальным участку адтуліны.

Дакладнае раскрыццё асаблівасцей клеткавых і малекулярных механізмаў рэгенерацыі тканак акомісаў на фоне такіх у іншых відаў грызуноў дазволіць даць адказы на пытанне, якія фактары забяспечваюць істотна больш паўнаватасную рэгенерацыю, што мае важнае значэнне ў рэгенератыўнай медыцыне – у тым ліку для стымуляцыі рэгенерацыі тканак чалавека.

### **Літаратура**

1. Seifert, A. W. Skin shedding and tissue regeneration in African spiny mice (*Acomys*) / A. W. Seifert // *Nature*. – 2012. – Vol. 489, № 7417. – P. 561-565. <http://doi.org/10.1038/nature11499>
2. Simkin, J. Macrophages are necessary for epimorphic regeneration in African spiny mice / J. Simkin [et al.] // *Elife*. – 2017. – May 16. <http://doi.org/10.7554/eLife.24623>
3. Gawriluk, T. R. Comparative analysis of ear-hole closure identifies epimorphic regeneration as a discrete trait in mammals / T. R. Gawriluk [et al.] // *Nature Communications*. – 2016. – № 7. <http://doi.org/10.1038/ncomms11164>.
4. Santos, M. D. Ear wound regeneration in the African spiny mouse *ACOMYS CAHIRINUS* / M. D. Santos [et al.] // *REGENERATION*. – 2016. – № 3. – P. 52–61. [10.1002/reg2.50](http://doi.org/10.1002/reg2.50).
5. Brewer, C. M. Adaptations in Hippo-Yap signaling and myofibroblast fate underlie scar-free ear appendage wound healing in spiny mice / C. M. Brewer // *DEVELOPMENTAL CELL*. – 2021. – Vol. 56, Iss. 19. – P. 2722–2740. <http://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.09.008>