

УДК 616-018-089-001.5: 612.014.44

© Н.Т.Алексеева, А.П.Остроушко, А.В.Лобцов, С.В.Лобас

Ключевые слова: лечение ран, светотерапия, структурно-функциональная оценка

Морфологическая характеристика тканевой реакции в ране при применении светотерапии

Н.Т.АЛЕКСЕЕВА, А.П.ОСТРОУШКО, А.В.ЛОБЦОВ, С.В.ЛОБАС

The morphological characteristic of fabric reaction in a wound at application light-therapy

N.T.ALEXEEVA, A.P.OSTROUSHKO, A.V.LOBTSOV, S.V.LOBAS

Институт хирургической инфекции Воронежской государственной медицинской академии имени Н.Н.Бурденко

Анализируются результаты экспериментального применения нового метода регионального воздействия на раневую поверхность поляризованного света на основании структурно-функциональной оценки очага поражения. Предлагаемый метод создает условия для удаления из раны всех веществ, ставших для организма токсичными, рана очищается и беспрепятственно заполняется здоровыми грануляциями.

Analyzed of experimental application of a new method of regional influence on wound a surface of polarised light on the basis of a structurally functional estimation of the centre of a lesion. The offered method frames conditions for excision from a wound of all substances which have become for an organism toxic, a wound is cleared and free filled with healthy granulations.

В связи с развитием новых хирургических технологий перед современной морфологией возникла задача оценки различных методов лечения применительно к запросам клиники. До настоящего времени одним из основных компонентов при лечении ран остается санация раневой поверхности, от качества проведения которой в большинстве случаев зависит последующая динамика течения патологического процесса, риск развития раневой инфекции. Значительный прогресс в лечении ран связан с внедрением в клиническую практику высокоэффективных методов региональной терапии с использованием лазерных, ультразвуковых, гидропресивных технологий, что позволило существенно повысить эффективность и качество лечения. В тоже время, возможности для совершенствования методов лечения ран еще не полностью реализованы, что обуславливает целесообразность продолжения и углубления исследований в указанном направлении.

Целью настоящего исследования явилось изучение эффективности применения различных режимов светотерапии при лечении ран в эксперименте на основании структурно-функциональной оценки очага поражения.

Методика исследования

Эксперименты поставлены на 72 беспородных белых крысах-самцах массой 200-220 г. Животные были разделены на контрольную и две опытные группы по 24 особи в каждой (6 животных на этап наблюдения). В стерильных условиях под общим обезболиванием (0,5 мл тиопентала натрия в разведении 1:10 в/м) наносили рану на переднюю поверхность бедра размером 1 см. На кожу швы не накладывали. В опытных группах осу-

ществляли воздействие светом с помощью Биоптрона: в первой опытной группе – однократно ежедневно по 6 мин., во второй группе свечение на рану проводилось 2 раза в сутки по 6 мин. с интервалом 8 часов.

Свет системы светотерапии Биоптрон характеризуется следующими свойствами: это поляризованный, полихроматичный свет с диапазоном длин волн от 480 нм до 3400 нм, не содержащий УФ лучей и характеризующийся низким уровнем энергии – плотность энергии составляет 2,4 Дж/см².

В контрольной группе светотерапию не проводили. Через 1, 3, 5, 7 суток после операции животных выводили из опыта и забирали материал для морфологического исследования. Все эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами проведения работы с использованием экспериментальных животных».

Полученные фрагменты тканей фиксировали в 10% нейтральном формалине, с последующей заливкой в парафин. Гистологическое исследование проводилось на парафиновых срезах толщиной 6 мкм, окрашенных гематоксилин-эозином.

Учитывая, что при раневом процессе выражена сосудистая реакция, изучали активность щелочной фосфатазы (ЩФ) – фермента, являющегося одним из маркеров транспорта через сосудистую стенку [4, 5].

Для проведения гистоэнзимологических исследований материал замораживали в петролейном эфире, охлажденным жидким азотом. Срезы толщиной 12 мкм получали в криостате при -20°C. Криостатные срезы, предназначенные для выявления ЩФ помещали на 3 мин. в охлажденную до 4°C смесь безводного ацетона и хлороформа (1:1) для экстракции липидов [1].

Активность ЩФ выявляли с использованием £-нафтилфосфата и соли диазония-прочного синего РР [2]. Гистоэнзимологические препараты заключали в глицерин-желатину и хранили в темноте.

При качественной оценке гистохимической реакции учитывали характер распределения выпавшего осадка. Число структур, активных по ЩФ определяли стереометрическим методом [3] при увеличении объектива $\times 40$ и окуляра $\times 7$ с использованием окулярной сетки.

Результаты и их обсуждение

При гистологическом исследовании мягких тканей в области раны у контрольной группы животных в 1 сутки наблюдали участки некроза с повреждением эпидермиса, кровоизлияниями; раневой дефект заполнен некротическими массами и большим количеством лейкоцитов (рис. 1).

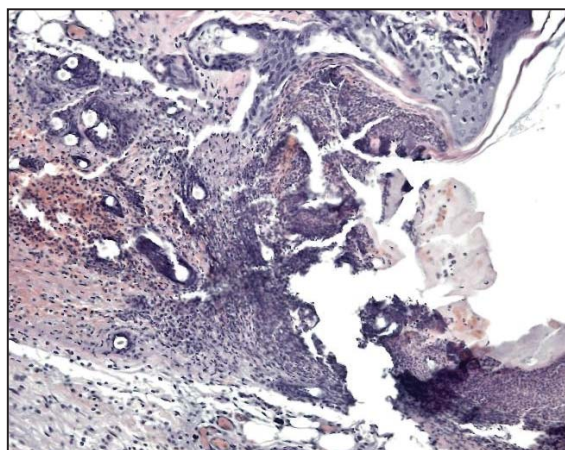


Рис. 1. По краям раны некротические массы с обильным скоплением нейтрофильных лейкоцитов (контрольная группа, 1 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

Под участками некроза – выраженное полнокровие капилляров, с зонами кровоизлияний. Воспалительная инфильтрация проникает в межмышечные пространства и состоит в основном из лейкоцитов. Мышечные волокна раздвинуты, отдельные с явлениями миолиза, определяется полнокровие капилляров со стазами лейкоцитов.

Под влиянием распада тканей, вследствие застоя крови, накопления CO_2 , уменьшения притока кислорода и изменения тканевого обмена возникает ацидоз, который способствует прогрессированию отека. Кислая реакция раневой среды также способствует повышению проницаемости сосудистых стенок.

Расширение сосудов сопровождается нарушением их проницаемости. Повышение проницаемости стенки сосудов приводит к выходу в ткани не только жидкой части крови, но и более крупных белковых молекул, а также форменных элементов. Угнетение окислительных процессов, задержка продуктов тканевого обмена вызывает набухание тканей, в результате сильнее сдав-

ливаются капилляры и вены и затрудняется отток крови.

В эндотелии капилляров определяется повышение активности ЩФ и многочисленные лейкоциты в раневом экссудате с положительной ЩФ-реакцией.

На 3-и сутки отмечается нарастание отека и воспалительной инфильтрации (рис. 2). В инфильтрате определяются лейкоциты и макрофаги, присутствуют лимфоциты. В окружении раны отмечаются выраженные межмышечные пространства – интерстициальный отек, диаметр волокон резко увеличен, имеются зоны просветления, что свидетельствует о внутриклеточном отеке. Это связано с тем, что происходит изменение тканевого обмена и нарушаются соотношения веществ, циркулирующих в межтканевой жидкости. Область воспаления пропитана фибрином. По периферии в инфильтрате встречаются фибробласты.

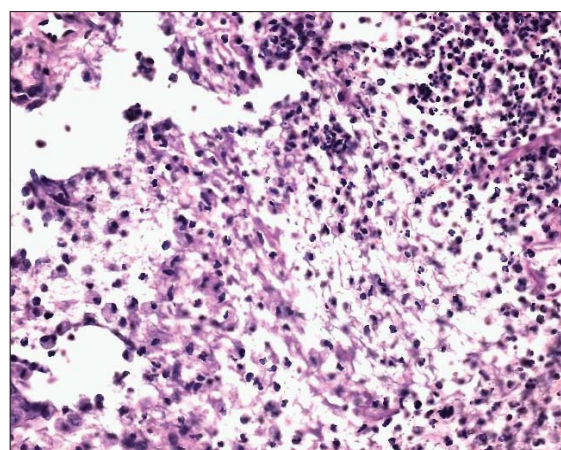


Рис. 2. Нарастание отека и воспалительной инфильтрации (контрольная группа, 3 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 40$).

Активность ЩФ в эндотелии сосудов нарастает, так как в период пролиферации главное значение приобретает эндотелий капилляров.

На 5-е сутки грануляционная ткань определяется в виде отдельных очагов на дне и по краям раны с полнокровными новообразованными капиллярами (рис. 3). В воспалительном инфильтрате большое количество эозинофилов, фибробластов, тканевых базофилов. Определяются коллагеновые волокна, обеспечивающие в последующем рубцевание раны. Этот период характеризуется снижением воспалительной реакции, уменьшением отека, преобладанием регенеративно-восстановительных процессов. В ране, освобожденной от некротических тканей, уменьшается гнойная экссудация, улучшается кровообращение, ликвидируются застойные явления, повышается окислительно-восстановительный потенциал, снижается ацидоз. Данный процесс сопровождается уплотнением стенки капилляров и клеточных мембран. Снижается гидратация тканей за счет постепенного прекращения эксу-

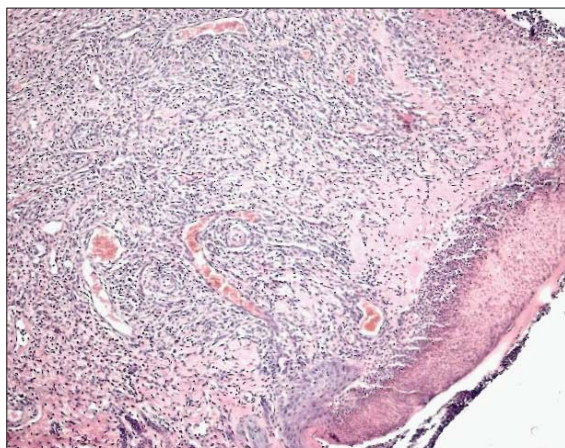


Рис. 3. Грануляционная ткань вокруг некротизированных мышечных волокон (контрольная группа, 5 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

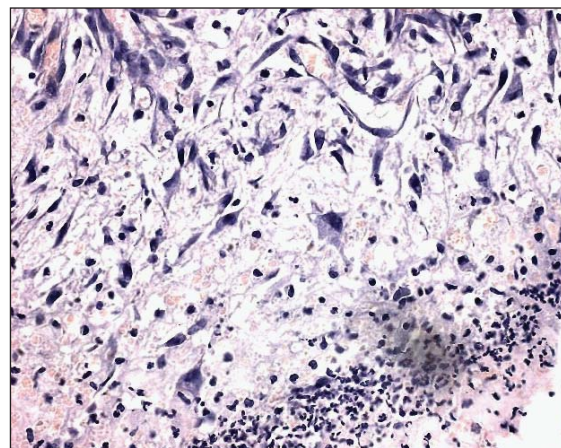


Рис. 5. Грануляционная ткань содержит большое количество капилляров (контрольная группа, 7 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 40$).

дации и рассасывания отеочной жидкости. Сохраняется высокая активность ЩФ в изучаемых структурах.

На 7-е сутки определяется наиболее полное развитие грануляционной ткани, покрывающей рану (рис. 4, 5). Эта ткань содержит большое количество капилляров синусоидного типа с выраженным полнокровием. Отмечается скопление фибробластов, коллагеновых волокон, макрофагов, в некоторых участках раны присутствуют единичные лейкоциты. Некоторые участки полностью эпителизированы. В межмышечных пространствах выявляется формирование мелких капилляров. Наряду с грануляционной тканью сохраняется воспалительная инфильтрация между мышечными волокнами.

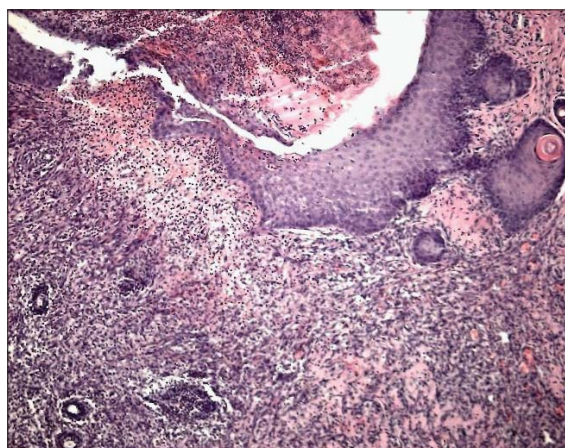


Рис. 4. Воспалительный инфильтрат сохраняется. Демаркационная линия из нейтрофильных лейкоцитов (контрольная группа, 7 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

В зоне формирующегося рубца наблюдаются много ЩФ+ мелких клеток, активность этого фермента по сравнению с предыдущими сроками остается высокой за счет повышенной ферментативной активности фиброцитов, хотя эта зона имеет неоднородную по ЩФ структуру – уменьшается количество сосудов, они за-

пустевают. В зонах мышечной ткани, непосредственно прилегающих к рубцу определяется высокая активность ЩФ. В остальных участках мышц ЩФ+ эндотелий распределен равномерно.

При комплексном морфологическом исследовании тканей из зоны раны у животных 1 опытной группы через сутки выявлено, что дефект эпидермиса сочетается с участками некроза с выраженными кровоизлияниями, преобладает инфильтрация лейкоцитами, отек слабый (рис. 6). В зоне повреждения определяется диффузная реакция по ЩФ с высоким уровнем активности.

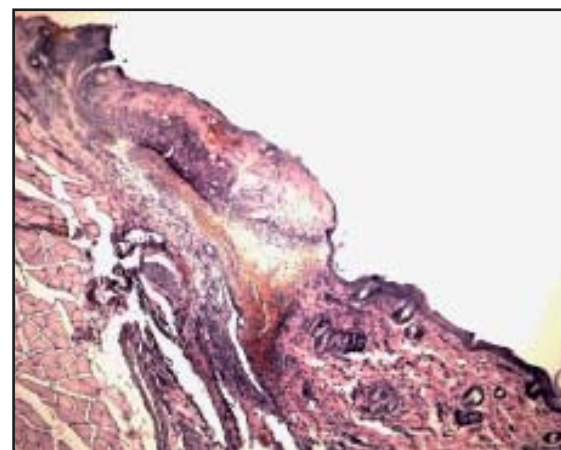


Рис. 6. Дефект эпидермиса, воспалительная инфильтрация и отек на уровне всех слоев раны (1 опытная группа, 1 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

На 3-и сутки отмечается нарастающая инфильтрация из лейкоцитов, макрофагов, эозинофилов, инфильтрат раздвигает мышечные волокна (рис. 7).

В отличие от контрольной группы отмечается только интерстициальный отек, без увеличения диаметра мышечных волокон. В ране сохраняются очаговые кровоизлияния.

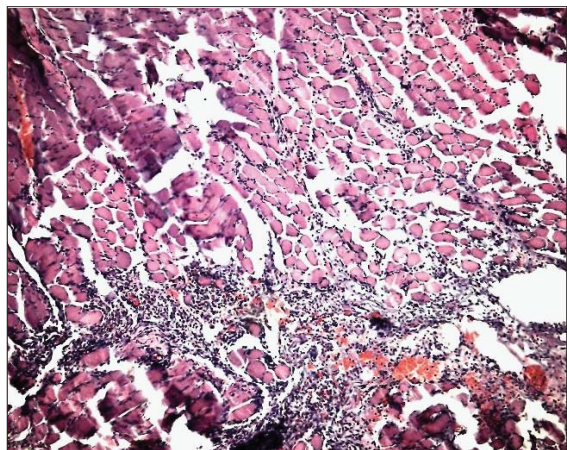


Рис. 7. Выраженный интерстициальный отек, воспалительная инфильтрация (1 опытная группа, 3 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

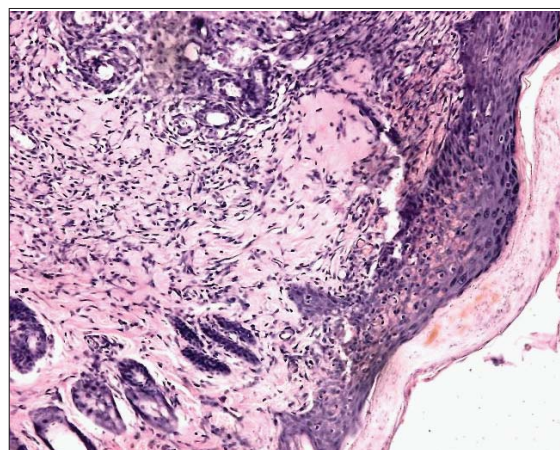


Рис. 9. Эпидермизация раны с подлежащей грануляционной тканью (1 опытная группа, 7 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

Формируется молодая грануляционная ткань, образуются коллагеновые волокна. В краях раны – пролиферация эпителия, по периферии отмечается скопление тканевых базофилов. Отек больше выражен по периферии раны. Определяется высокая гетерогенность реакции по ЩФ, уровень активности остается повышенным.

На 5-е сутки сформировалась грануляционная ткань, имеются участки сформированного эпидермиса (рис. 8). По сравнению с контрольной группой грануляционная ткань представлена более широким слоем. Упорядочивается расположение фибробластов. Положительно реагирующие по ЩФ клетки определяются в мышечных волокнах и в грануляционной ткани.

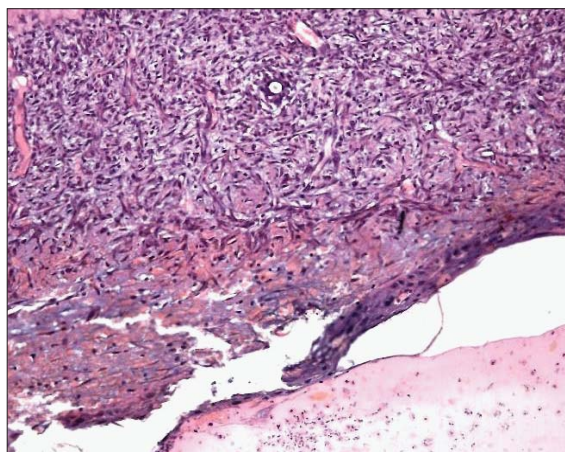


Рис. 8. Формирование грануляционной ткани (1 опытная группа, 5 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

На 7-е сутки – эпидермизированная рана с подлежащей грануляционной тканью, покрытая корочкой, встречаются участки с мышечной регенерацией (рис. 9). Грануляционная ткань зрелая, с большим количеством фибробластов, новообразованных капилляров. В краях раны исчезает отек, происходит сближение краев

раны. Ткань рубца содержит много ЩФ+ клетки. Мышечные волокна на значительном протяжении от рубца инфильтрированы мелкими клетками с высокой активностью ЩФ.

Оценка структурно-функционального состояния раневого процесса во 2-й опытной группе показала, что через сутки после нанесения раны наблюдается выраженный отек с инфильтрацией лейкоцитами, сосуды полнокровны, имеются очаговые кровоизлияния, определяется дистрофия мышечных волокон (рис. 10, 11). Активность ЩФ повышена.

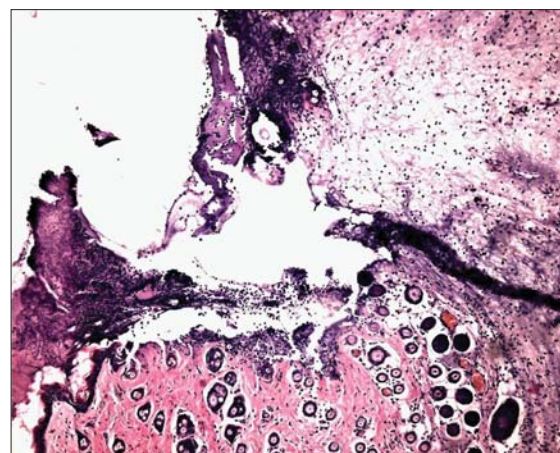


Рис. 10. Выраженный отек с инфильтрацией лейкоцитами, полнокровные сосуды (2 опытная группа, 1 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

На 3-и сутки рана покрыта некротизированными тканями, выраженный отек окружающих тканей, воспалительный инфильтрат с эозинофилами, большим количеством фибробластов. Образуется молодая грануляционная ткань в дне раны, начинается формирование коллагеновых волокон, по краям раны происходит пролиферация эпителия, определяется зона нейтрофильных лейкоцитов (рис. 12).

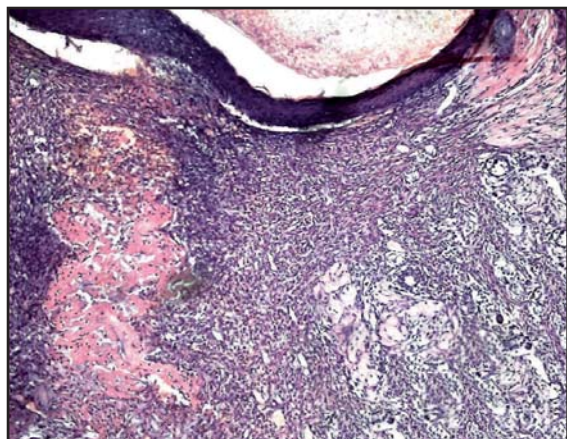


Рис. 11. Участок с пролиферацией мышечных волокон (2 опытная группа, 1 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

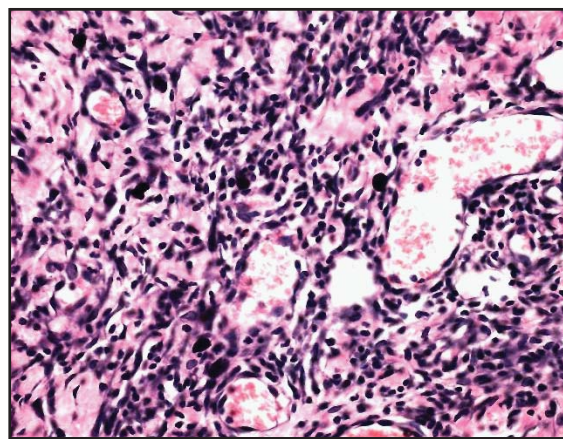


Рис. 13. Тонкостенные новообразованные сосуды среди грануляционной ткани (2 опытная группа, 5 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 40$).

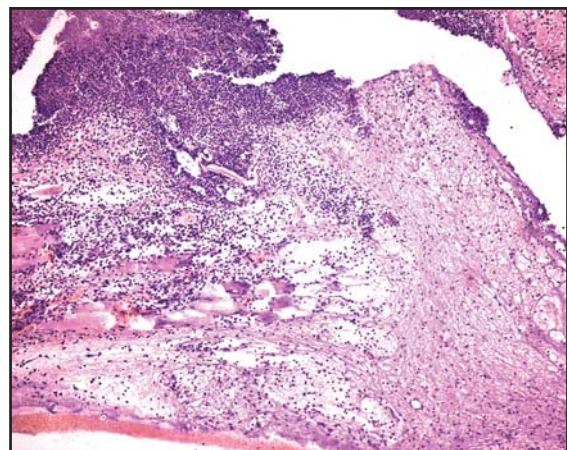


Рис. 12. Воспалительный инфильтрат в стенке раны, в отечной строме преобладают нейтрофильные лейкоциты (2 опытная группа, 3 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 20$).

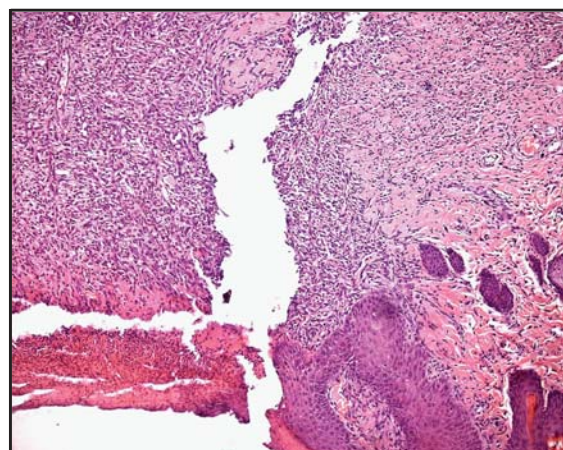


Рис. 14. Зрелая грануляционная ткань, закрывающая раневой дефект (2 опытная группа, 7 сут., ок. $\times 7$, об. $\times 40$).

Высокая активность ЩФ определяется в эндотелии сосудов, в молодой грануляционной ткани.

На 5-е сутки имеется хорошо сформированная грануляционная ткань с большим количеством капилляров, фибробластов, пролиферацией волосных фолликулов и сальных желез. Уменьшается отек, исчезают клетки воспалительного ряда, происходит новообразование сосудов (рис. 13). Начинается сближение краев раны. Сохраняется высокий уровень активности ЩФ.

Полная эпителизация наступает через 7 суток с образованием корочки, в мышечной ткани – пролиферация мышечных волокон (рис. 14). Уровень активности ЩФ снижается, по сравнению с предыдущей опытной группой. Выявляются ЩФ+ клетки в мышечной ткани, активность этого фермента наблюдается в эндотелии сосудов, вокруг потовых и сальных желез.

Анализ структурно-метаболических изменений при использовании светотерапии позволил установить биопозитивные эффекты света «Биоптрон». Формирование молодой грануляционной ткани на 3-и сутки у животных опытной групп показывает наличие стимуля-

ции регенеративных процессов в ране. Более быстрая эпидермизация раны у животных во 2-й опытной группе указывает на ускорение процесса заживания ран. Обращает на себя внимание факт образования очагов молодой грануляционной ткани на 3-и сутки у животных 2-й опытной группы.

Данный метод вызывает стимуляцию метаболизма, о чем свидетельствует морфофункциональная реакция, проявляющаяся снижением отека на 3 сутки, преобладанием регенеративно-восстановительных процессов над некротическими.

В генезе морфологических изменений в ране существенная роль принадлежит состоянию микроциркуляторного русла. Показатель активности ЩФ реагирует на снижение интенсивности местного воспалительного процесса. Активность фермента нарастает от 1 до 7 суток, при этом выраженность этих изменений выше у животных второй опытной группы. Увеличение активности ЩФ совпадает с длительностью фазы воспаления раневого процесса.

Повышение активности ЩФ коррелирует с созреванием грануляционной ткани, поэтому уровень активности фермента, по-видимому, следует считать прогностическим признаком раневого заживления. У животных 1 опытной группы на фоне созревания грануляционной ткани отмечается высокий уровень этого фермента во всех сроках наблюдения. Во 2-й опытной группе на 7-е сутки активность ЩФ сохраняется повышенной по сравнению с контрольным уровнем, но нет достоверных различий с предыдущим сроком этой группы. После созревания грануляционной ткани выявление этого фермента показывает отсутствие увеличения уровня.

Выводы

Проведенное морфологическое исследование показало эффективность применения светотерапии при лечении ран. Биологический эффект светотерапии имел следующие проявления: улучшение микроциркуляции;

стимуляция синтеза ростовых факторов – пролиферация фибробластов, повышение синтеза коллагена; снижение отека; ускорение формирования грануляций и эпителизации раны.

Оценка предложенных режимов светотерапии позволяет сделать вывод о том, что у животных 2-й опытной группы наблюдается преобладание гранулирования и эпителизации при одинаковых сроках, но значимых различий не отмечается, поэтому можно рекомендовать к использованию режим 1-й опытной группы как наиболее удобный в применении.

Данный физико-энергетический метод создает условия для удаления из раны всех веществ, ставших для организма токсичными, рана очищается и беспрепятственно заполняется здоровыми грануляциями. В этой связи светотерапия может быть рекомендована для дальнейшего клинического исследования с целью расширения применения в хирургической практике.

Список литературы

1. Луппа Х. Основы гистохимии. М: Мир 1980; 343.
2. Пирс Э. Гистохимия. М: 1962; 962.
3. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М: Медицина 1990; 384.
4. Берстон М. Гистохимия ферментов. М: Мир 1965; 464.
5. Журавлева Т.Б., Прочуханов Р.А. Введение в количественную гистохимию ферментов. М: Медицина 1978; 245.