

А. Н. Велигоцкий, Р. В. Савицкий, А. В. Леонов
Харьковская медицинская академия последипломного образования
Харьков, Украина

A. N. Veligotskiy, R. V. Savitskiy, A. V. Leonov
Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education
Kharkov, Ukraine

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТКАНЕЙ РАНЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКО ДОЗИРОВАННОГО ВАКУУМА

The changes of proliferative activity in wound tissues at vacuum low dosed influence

Реферат

Проаналізовані результати лікування 36 хворих з гнійними ранами (ГР), у яких в комплексі місцевого лікування був застосований метод вакуум-терапії (ВТ). Для визначення проліферативної активності тканин ран використовувався імуногістохімічний метод визначення кількості Ki 67 позитивних клітин в тканинах рани. Відзначено високий репаративний ефект вакуум-терапії, зумовлений активізацією проліферативних процесів в рані. Це дозволило поліпшити результати лікування пацієнтів з ГР, зменшити частоту ускладнень і повторних оперативних втручань.

Ключові слова: тривало незагоювані гнійні рани, вакуум-терапія, репаративна регенерація, проліферативний індекс.

Abstract

The results of treatment of 36 patients with long-lasting non-healing purulent wounds, who underwent vacuum therapy in a complex of local treatment, were analyzed. To determine the proliferative activity of wound tissues, the method of dynamic wound area determination was used using immunohistochemical method for determining the amount of Ki 67 positive cells in the tissues of the wound. A high reparative effect of vacuum therapy, caused by activation of proliferative processes in the wound, was noted. This allowed to improve the results of treatment of patients with long-lasting non-healing purulent wounds, reduce the incidence of complications and repeated surgical interventions.

Keywords: long-term non-healing purulent wounds, vacuum therapy, reparative regeneration, proliferative index.

ВВЕДЕНИЕ

Огромные финансовые расходы и высокая летальность в лечении гнойных хирургических заболеваний требуют более высокого уровня научно-исследовательских ресурсов, направленных на изучение гнойно-воспалительных процессов [4, 5].

Современные научные достижения позволяют разрабатывать новые медицинские технологии, способствующие уменьшению нагноений и стимуляции заживления ран [1, 2]. Терапия отрицательным давлением занимает особое место среди различных методов лечения ран [3, 6]. Изучению влияния вакуум-терапии на течение раневого процесса посвящены многочисленные исследования отечественных и зарубежных ученых, однако механизмы репаративной регенерации в

ране при воздействии низко дозированного вакуума на сегодняшний день изучены недостаточно.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить механизмы репаративной регенерации тканей раны при воздействии низко дозированного вакуума.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены 72 пациента с гнойными ранами (ГР) различных локализаций. В основную группу вошли пациенты с ГР (36 человек), которым в качестве местного лечения применялся метод низко дозированной вакуум-терапии (ВТ). Для этого у больных осно-

вной группы, после санации гнойного очага, операцию заканчивали установкой вакуумного дренажа: раневая полость выполнялась пластинами открытопористого пенополиуретана с диаметром микропор 400–2000 микрометров. После наложения пористого материала, рана герметизировалась стерильной адгезивной плёнкой. При помощи вакуум-асpirатора, через систему переходников, в ране создавалось отрицательное давление 75–125 мм рт. ст. Замена вакуум-повязок производилась через 48 часов.

Группу сравнения составили больные с ГР (36 человек), получившие комплексное обследование и лечение по традиционной схеме. При этом у пациентов группы сравнения ведение раны осуществлялось с применением медикаментозных повязок с учетом стадии раневого процесса: в стадии воспаления использовали мази с антибиотиками и антисептиками на водорастворимой полиэтиленоксидной основе; в стадии регенерации применяли мазевые повязки на жирорастворимой основе. Перевязки выполнялись через 24 часа.

Причинами развития ГР были острые гнойные хирургические заболевания (ОГХЗ) (абсцессы, карбункулы, флегмоны) и трофические язвы (ТЯ) на фоне хронической артериальной или венозной недостаточности. По причинам развития ГР больные каждой группы были разделены на 2 подгруппы. В основной группе количество больных с ГР после ОГХЗ составило 20 человек, а количество больных с ТЯ 16 человек. В группе сравнения количество больных с ГР после ОГХЗ составило 18 человек, и количество больных с ТЯ также 18 человек.

С целью изучения репаративной регенерации в ране нами использован иммуногистохимический метод исследования, проведенный в 72 случаях. С помощью иммуногистохимического метода исследования мы определяли экспрессию маркера пролиферативной активности, антигена Ki 67, в тканях раневого дефекта. Забор материала для исследования осуществлялся интраоперационно при проведении хирургической обработки гнойного очага: после вскрытия гнойника, эвакуации гнойного содержимого и удаления нежизнеспособных тканей, при помощи скальпеля проводили забор материала, включавшего фрагменты стенок гнойника, на границе со здоровой тканью. У пациентов с ТЯ после удаления налетов фибрина и некротических тканей с поверхности язв, производилось

иссечение фрагментов их краев, включавших кожу и ткани дна ран. Повторный забор материала проводили аналогичным способом через 10–12 дней. Сроки проведения исследования – до начала лечения и на 10–12 сутки после лечения.

Обработка материала и получение гистологических препаратов проводились в соответствии со стандартной методикой. Из полученных парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм, проводили их депарафинизацию по общепринятой методике. Для иммуногистохимического выявления ядерного белка пролиферирующих клеток использовали моноклональные антитела кроликов к Ki 67 (Ki 67 (Clone SP6) Rabbit Monoclonal Antibody). Иммуногистохимическую реакцию проводили согласно инструкции к набору с помощью систем детекции «Quantro» путем инкубации срезов 20 мин. при комнатной температуре. Предварительно проводилась обработка срезов с целью демаскировки антигенов, направленная на восстановление структуры белка, которая изменилась в ходе фиксации и заливки в парафин, с помощью погружения их в цитратный буфер (pH 6,0) на 20 мин. при температуре 96°C. Визуализацию проводили согласно инструкции системы визуализации.

Для дифференцировки структур ткани срезы дополнительно окрашивали гематоксилином в течение 3 мин. Дегидратация и заключение в бальзам проводили по общепринятой методике.

Подсчет результатов осуществляли при помощи окулярной сетки Автандилова в 20 произвольно выбранных полях зрения при увеличении $\times 400$. Степень маркера пролиферации определяли путем подсчета количества окрашенных ядер по отношению к общему числу ядер (%). При этом для Ki 67 учитывали позитивно окрашенные ядра любой степени интенсивности. Также, для подсчета Ki 67 положительных клеток, в препаратах использовался веб-сервис ImageJS (Jonas S. Almeida et al., 2012).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении пролиферативной активности тканей раневого дефекта нами были получены следующие результаты: у больных группы сравнения до лечения количество Ki 67 положительных клеток в препаратах составило: у больных с ОГХЗ $10,76 \pm 0,75\%$, у больных с ТЯ $6,16 \pm 0,48\%$ (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1

Показатели индекса пролиферации тканей ран пациентов основной группы и группы сравнения до и после лечения

Характер заболевания	Основная группа, Ki 67, %		Группа сравнения, Ki 67, %	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
ОГХЗ	$9,80 \pm 0,46$	$28,63 \pm 4,20$	$10,76 \pm 0,75$	$16,98 \pm 2,18$
ТЯ	$6,31 \pm 0,47$	$17,15 \pm 1,57$	$6,16 \pm 0,48$	$9,61 \pm 0,74$
Всего	$7,28 \pm 0,52$	$20,34 \pm 1,99$	$7,44 \pm 0,63$	$11,65 \pm 1,11$

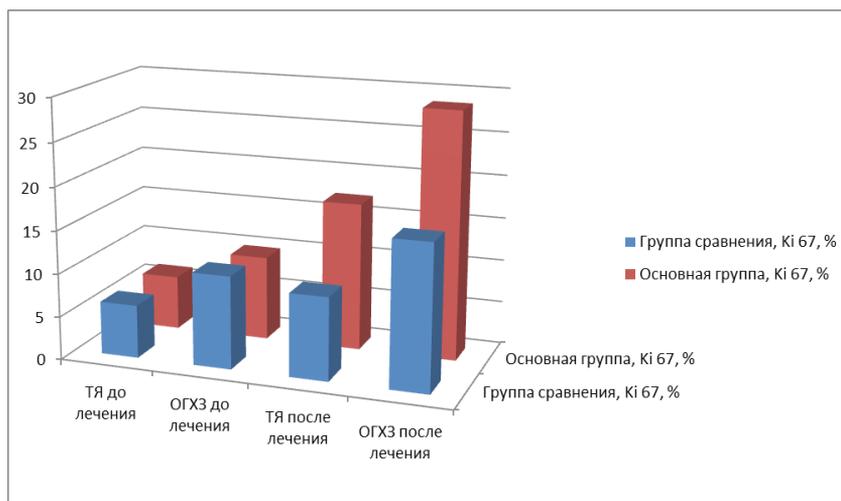


Рис. 1. Изменение пролиферативной активности ран пациентов основной группы и группы сравнения до и после лечения

После лечения количество Ки 67 положительных клеток в препаратах больных группы сравнения с ОГХЗ мягких тканей составило $16,98 \pm 2,18\%$, в препаратах больных с ТЯ $9,61 \pm 0,74\%$.

У больных основной группы с ОГХЗ до лечения количество Ки 67 положительных клеток в препарате составило $9,80 \pm 0,46\%$, а в препаратах больных с ТЯ – $6,31 \pm 0,47\%$.

При этом в препаратах пациентов с ОГХЗ мягких тканей количество Ки 67 положительных клеток составило $28,63 \pm 4,20$, а в препаратах больных с ТЯ – $17,15 \pm 1,57\%$.

Таким образом, из представленных данных видно, что количество Ки 67 положительных клеток до лечения в тканях больных с ОГХЗ был выше, чем у пациентов с ТЯ как в основной группе, так и в группе сравнения.

Результаты полученные после лечения в основной группе и группе сравнения, статистически достоверно различались, как от основной группы и группы сравнения до лечения, так и между собой. То есть процентное соотношение Ки 67 положительных клеток в группе больных, где в качестве местного лечения ран применялся метод ВТ было достоверно выше, чем в той группе больных, где проводилось лечение ран традиционными методами.

Достоверному увеличению пролиферативного индекса тканей ран соответствовали данные гистологического исследования. При котором, в препаратах больных исследованных групп до лечения отмечались признаки воспаления стенок сосудов и периваскулярных некрозов, скопления лимфоидных клеток с очагами расплавления тка-

ней, наблюдали выраженную инфильтрацию, представленную нейтрофильными и эозинофильными гранулоцитами, лимфоцитами, макрофагами.

На 12–14 сутки лечения в препаратах больных группы сравнения отмечали слабо выраженную инфильтрацию, единичные макрофаги и плазматические клетки. Процесс пролиферации отражало наличие тонких слоев вновь образованной соединительной ткани с небольшим количеством фибробластов.

В препаратах больных основной группы на 12–14 сутки лечения отмечали слои новообразованной соединительной ткани с большим количеством фибробластов. Эта соединительная ткань содержала также вновь образованные тонкостенные сосуды разного диаметра.

ВЫВОДЫ

1. Наличие длительного вялотекущего гнойно-раневого процесса сопровождается снижением пролиферативной активности тканей раневого дефекта.

2. Использование вакуум-терапии активизирует регенеративные процессы в ране за счет повышения пролиферативной активности ее клеток на $74,6\%$ по сравнению с традиционными методами лечения ГР.

3. Определение изменения степени пролиферативной активности клеток ГР при использовании в лечении метода вакуум-терапии обеспечивает дифференцированный выбор тактики лечения в зависимости от активности репаративных процессов в ране.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глухов, А. А., Аралова М. В. Патофизиология длительно незаживающих ран и современные методы стимуляции раневого процесса // Новости хирургии. – 2015. – № 6 – С. 673–679.

2. Дронов А. И. и др. Современные подходы к лечению ран в зависимости от фаз раневого процесса // Шпитальна хірургія – 2013. – № 2. – С. 68–69.
3. Шабловская, Т. А., Панченков Д. Н. Современные подходы к комплексному лечению гнойно-некротических заболеваний мягких тканей // Вестник экспериментальной и клинической хирургии – 2013. – № 4 – С. 498–518.
4. Anthony H. Efficiency and cost effectiveness of negative pressure wound therapy // Nurs. Stand. – 2015. – Vol. 30. – Issue 8 – P. 64–70.
5. Larichev A. At the Beginning of Vacuum Therapy: from the Blood-Sucking Cups to the Bier-Klapp Method // Negative Pressure Wound Therapy – 2014. – Vol. 1. – Issue 1 – P. 5–9.
6. Phillips, C. J. et al. Estimating the costs associated with the management of patients with chronic wounds using linked routine data // Int. Wound J. – 2015. – Vol. 13. – № 6. – P. 1193–1197. DOI: 10.1111/iwj.12443.

REFERENCE

1. Glukhov, A. A., Aralova M. V. (2015) Pathophysiology of nonhealing wounds and modern methods of stimulation of the wound process. *Novosti khirurgii*, № 6, pp. 673–679
2. Dronov A. I. et al. (2013) Modern approaches to the treatment of wounds depending on the phases of the wound process. *Shpytalna khirurgiya*, № 2, pp. 68–69.
3. Shablovskaya, T. A., Panchenkov D. N. (2013) Modern approaches to the integrated treatment of purulent-necrotic diseases of soft tissues. *Vestnik eksperimentalnoy i klinicheskoy khirurgii*, № 4, pp. 498–518.
4. Anthony H. (2015) Efficiency and cost effectiveness of negative pressure wound therapy. *Nurs. Stand.*, vol. 30, issue 8, pp. 64–70.
5. Larichev A. (2014) At the Beginning of Vacuum Therapy: from the Blood-Sucking Cups to the Bier-Klapp Method. *Negative Pressure Wound Therapy*, vol 1, issue 1, pp. 5–9.
6. Phillips, C. J. et al. (2015) Estimating the costs associated with the management of patients with chronic wounds using linked routine data. *Int. Wound J.*, vol. 13, № 6, pp. 1193–1197. DOI: 10.1111/iwj.12443.

Стаття надійшла до редакції 26.10.2018