

УДК: 591.472-001.17-089+591.4

© Бойко В.В., Миловидова А.Э., Исаев Ю.И., Логачев В.К., Кравцов А.В., Грязин А.Е., Налча И.И., 2011

ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ТЕРМИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ СУСТАВОВ

**Бойко В.В., Миловидова А.Э., Исаев Ю.И., Логачев В.К., Кравцов А.В.,
Грязин А.Е., Налча И.И.**

ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины», г. Харьков

Бойко В.В., Миловидова А.Э., Исаев Ю.И., Логачев В.К., Кравцов А.В., Грязин А.Е., Налча И.И. Динамика морфологических изменений в тканях экспериментальных животных при хирургическом лечении термических поражений суставов // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 47-50.

В эксперименте была изучена динамика морфологических изменений в тканях крыс при хирургическом лечении термических поражений суставов. В ходе проведенного эксперимента оценивался ход раневого процесса, сроки и распространенность формирования некроза, состояние тканей, которые окружают суставы. Проведено экспериментальное изучение эффективности операций первичной некрэктомии и реваскуляризации в зоне суставов при их глубоком термическом поражении.

Ключевые слова: эксперимент, термическое поражение, морфология.

Бойко В.В., Миловидова Г.Е., Исаев Ю.И., Логачев В.К., Кравцов О.В., Грязин О.Е., Налча И.И. Динамика морфологических изменений в тканях экспериментальных животных при хирургическом лечении термических поражений суставов // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 47-50.

В эксперименте было изучено динамику морфологических изменений в тканях крыс при хирургическом лечении термических поражений суставов. В ходе проведенного эксперимента оценивался ход раневого процесса, сроки и распространенность формирования некроза, состояние тканей, которые окружают суставы. Проведено экспериментальное изучение эффективности операций первичной некрэктомии и реваскуляризации в зоне суставов при их глубоком термическом поражении.

Ключевые слова: эксперимент, термические поражения, морфология.

Boyko V.V., Mylovydova G.E., Isaev Y.I., Logachov V.K., Kravtsov O.V., Griazin O.E., Nalcha I.I. Dynamics of morphological changes in tissues of experimental animals in the surgical treatment of thermal lesions of joints // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 47-50.

The experiment was studied the dynamics of morphological changes in rat tissues in the surgical treatment of thermal lesions of joints. In the course of the experiment assessed the progress of the wound process, timing and distribution of necrosis formation, the condition of tissue surrounding joints. An experimental study of effectiveness of primary operations necrectomy and revascularization in the area of the joints at their deep thermal damage.

Key words: experiment, thermal damage, morphology.

Характерной особенностью ожогового травматизма последних лет является существенное увеличение удельного веса глубоких ожогов при уменьшении общего количества термических поражений, особенно в промышленно развитых регионах [7]. Пострадавшие с ожогами III-IV степени в зоне суставов, особенно крупных, нуждаются в долговременном дорогостоящем лечении [4, 5, 8]. Современные методы активной хирургической тактики (первичная некрэктомия и реваскуляризация зоны пораженного сустава) методами несвободной кожной пластики позволяют существенно улучшить результаты лечения и снизить частоту местных и общих гнойно-септических осложнений [2]. Однако до настоящего времени глубоко не изучен процесс реваскуляризации тканей, формирующих сустав, и механизмы реализации защитного действия данного вида оперативных вмешательств на микроскопическом уровне.

Цель исследования – экспериментальное изучение эффективности операций первичной некрэктомии и реваскуляризации в зоне суставов при их глубоком термическом поражении.

Материал и методы исследования. Эксперименты выполнены на 36 крысах-самцах линии Вистар массой тела 200–220 г. Операции выполнялись под внутримышечным наркозом кеталексом из расчета 12,5 мг на 100 г массы тела крысы. Содержание и уход за животными производились в виварии ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины» в соответствии с положениями Страсбургской конференции. Животные были разбиты на две

группы – основную, в которой 18 животным после моделирования ожога производилась операция реваскуляризации, и контрольную (18 животных), у которых какого-либо лечения ожога не проводилось. После выполнения эксперимента проводилось динамическое наблюдение за общим состоянием животных и оценивали течение раневого процесса. Животных выводили из эксперимента передозированием кеталекса в соответствующий период. Проводился забор материала для гистологических исследований.

Проводилось макроскопическое и микроскопическое исследование биоматериала. Кусочки тканей суставов фиксировали в 10% растворе формалина на фосфатном буфере (рН 7,2 – 7,4) в течение двух дней. Исследовался вид ткани на разрезе, визуально учитывались особенности ее строения. Из каждого биообъекта брали 4 – 5 кусочков, заливали в парафин, изготавливали срезы толщиной 4 – 5 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ван Гизона в сочетании с резорцин-фуксином с использованием стандартных методик [1, 3, 6, 9]. Гистологические срезы изготавливали на микротоме МС-2. Микроскопические препараты исследовались в микроскопе для морфологических исследований “Granum” L3003. Увеличение подбиралось в соответствии с поставленной целью исследования. Полученные микропрепараты использовались для гистологического исследования. Изменения в тканях изучались в динамике. При исследовании микропрепаратов изучалась общая структура тканей, выяв-

лялось наличие патологических и компенсаторно-приспособительных процессов.

Результаты и их обсуждение. При макроскопическом изучении участков суставов крыс интактных животных патологических изменений не выявлено. Кожа в области суставов после эпиляции бледно-розового цвета, упругая, эластичная, мышцы темно-красного цвета, покрытые белесоватыми блестящими фасциями. Суставная капсула серовато-беловатого цвета, блестящая, плотная, упругая. Хрящевые поверхности суставов серовато-беловатого цвета, блестящие, подвижные.

При микроскопическом исследовании участков суставов крыс интактных животных отмечается, что структура кожи сохранена. Участки кожи покрыты истонченным слоем ороговевающего многослойного плоского эпителия, роговой слой местами в состоянии вакуолизации, что свидетельствует о возрастных изменениях крысы. Подкожная клетчатка состоит из рыхлой соединительной и жировой ткани. Непосредственно под эпителием в дерме располагаются волосяные луковицы (шерсть), сальные железы, множественные сосуды. Внутренний мышечный слой состоит из поперечно-полосатых мышечных волокон. Суставные капсулы, суставы и суставные поверхности без признаков патологии.

У животных через 1 час после моделирования термического поражения суставов при макроскопическом исследовании в месте аппликации кожа отсутствовала, по краю раны кожа частично обожженная, темно-коричневого цвета с признаками отека и гиперемии. Мышцы обуглены, темно-коричневого цвета, хрупкие, крошатся при прикосновении. Суставная капсула в виде обугленной крошащейся пленки темно-коричневого цвета. Наблюдается обугливание прилежащей к аппликации части сустава, суставная поверхность шероховатая.

При микроскопическом исследовании участков суставов крыс выявлено, что многослойный плоский эпителий на всем протяжении практически отсутствует, в состоянии полного отторжения, местами мелкие фрагменты некротически измененного эпителия. Подлежащие ткани с выраженными некробиотическими изменениями (рис. 1).

У животных через одни сутки после моделирования термического поражения суставов при макроскопическом исследовании кожа в области центра сустава отсутствует, по краю участки кожи, соприкасавшиеся с аппликатором, некротизированы. Мышечная ткань некротизирована. Суставная поверхность шероховатая, наблюдается расширение суставной щели. Ткани некротизированы, спаяны в сплошной конгломерат.

При микроскопическом исследовании многослойный плоский эпителий отслоен почти на всем протяжении, с выраженными некробиотическими и некротическими изменениями на отдельных участках. В подэпителиальной соединительной ткани резко выражены некротические изменения коллагеновых волокон, обширные кровоизлияния и диффузная лейкоцитарная инфильтрация. Между пучками некротизированных и фрагментированных мышечных волокон рассеянная лейкоцитарная инфильтрация (рис. 2).

При окраске по Ван Гизону в сочетании с резорцин-фуксином определяется некроз и отечное

расслоение коллагеновых волокон соединительной ткани, окрашенных пикринофильно.

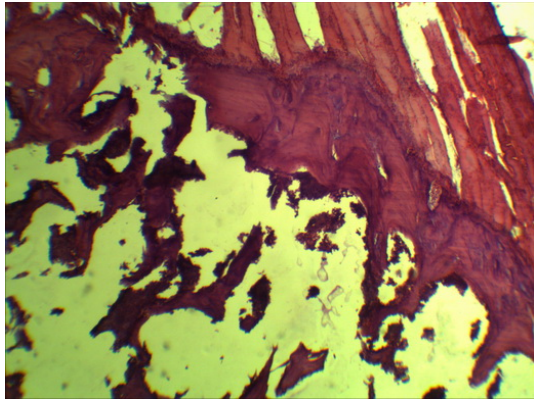


Рис. 1. Микроскопическое строение участка сустава крысы. Некротические изменения подлежащей ткани резко выражены. Массивный отек. Окраска гематоксилином и эозином. x 40.

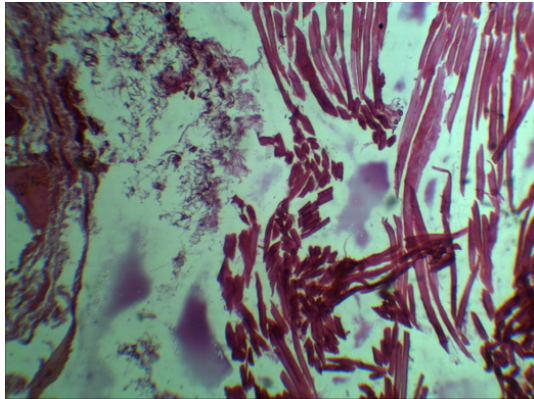


Рис. 2. Микроскопическое строение участка сустава крысы. Между пучками некротизированных и фрагментированных мышечных волокон выраженный отек и рассеянная лейкоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. x 40.

У животных на седьмые сутки после моделирования термического поражения суставов при макроскопическом исследовании ткани с выраженной воспалительной реакцией и началом демаркирования некротизированных тканей.

При микроскопическом исследовании многослойный плоский эпителий определяется в виде мелких фрагментов, придатки кожи не определяются. Выявлены участки некротически измененной соединительной и мышечной ткани отграничены демаркационной зоной реактивного воспаления, в которой имеются многочисленные расширенные, полнокровные кровеносные сосуды, окруженные диффузным лейкоцитарным инфильтратом (рис. 3). Стенки сосудов толстостенные, отечные, с явлениями мукоидного набухания. Местами определяются очаги петрификации и оссификации. При окраске по методу Ван Гизона в сочетании с резорцин-фуксином определяется воспалительная круглоклеточная инфильтрация вокруг толстостенных сосудов. В просветах сосудов определяются тромбы.

У животных на четырнадцатые сутки после моделирования термического поражения суставов при макроскопическом исследовании отмечается значительное очищение раны от некротических тканей,

незначительный гнойный экссудат и воспалительная реакция, отторжение пораженных костно-суставных тканей от прилегающих костных структур, явления патологических переломов.

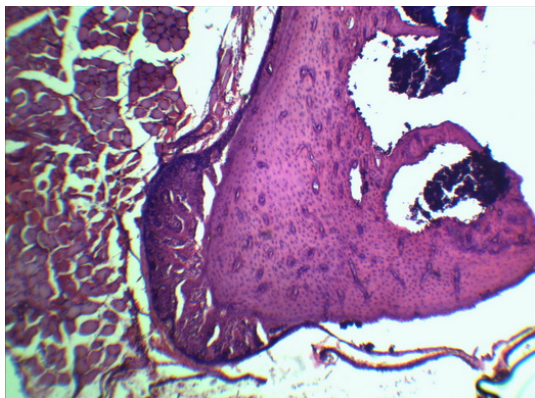


Рис. 3. Микроскопическое строение участка сустава крысы. Фрагмент изъязвленного многослойного плоского эпителия с лейкоцитарными скоплениями в роговом слое. Под эпителием участок демаркационного воспаления. Окраска гематоксилином и эозином. х 40.

При микроскопическом исследовании в тканях сустава, подверженных термическому поражению, наблюдается почти полное отторжение некротизированного или же некробиотически измененного многослойного плоского эпителия с отдельными лейкоцитарными тромбами и очагами вакуольной дистрофии рогового слоя.

В подэпителиальном слое массивные тяжи лейкоцитарной инфильтрации, обилие паретически расширенных полнокровных кровеносных сосудов и очагов кровоизлияний, множество тромбов в их просветах, крупные очаги фрагментации и отека расслоения коллагеновых волокон. Определяется также диффузная деструкция мышечной ткани с очагами лейкоцитарной инфильтрации. Участки хрящевой ткани в состоянии выраженного мукоидного набухания. Очаги жировой ткани с явлениями диффузной вакуольной дистрофии.

При окраске по методу Ван Гизона в сочетании с резорцин-фуксином соединительная ткань с диффузным отеком расслоением коллагеновых волокон, окрашенных пикринофильно.

У животных на двадцать первые сутки после моделирования термического поражения суставов при макроскопическом исследовании рана очистилась от некротических тканей, выполнена грануляциями, в глубине остатки разрушенного сустава, отломки кости выстоят в рану.

При микроскопическом исследовании многослойный плоский эпителий в виде фрагментов с признаками изъязвления, изменения придатков кожи, местами в пластах эпителия определяется размножение клеток камбиального слоя. В исследуемых микропрепаратах незрелая грануляционная ткань с большим количеством толстостенных сосудов, выполненных кровью и лейкоцитарным инфильтратом, местами тромбами (рис. 4). Вокруг сосудов диффузный воспалительный круглоклеточный инфильтрат.

У животных на третьи сутки после операции реваскуляризации при макроскопическом исследовании кожная рана в процессе заживления первичным

натяжением, мышцы более яркие, чем в контрольной группе, сохраняется спаянность тканями суставов.

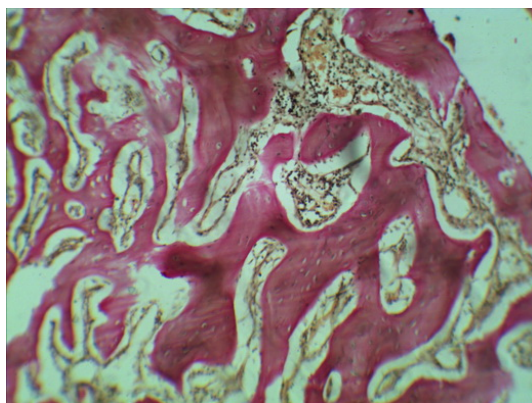


Рис. 4. Микроскопическое строение участка сустава крысы. Фрагмент незрелой грануляционной ткани с большим количеством сосудов, выполненных лейкоцитарными инфильтратами. Окраска по методу Ван Гизона в сочетании с резорцин-фуксином. х 100.

При микроскопическом исследовании участки кожи покрыты некробиотически измененным многослойным плоским эпителием, на отдельных участках эпителий отсутствует. Под эпителием определяются фрагменты некротизированной мышечной ткани. В рыхлой отекающей жировой и соединительной ткани диффузная и очаговая лейкоцитарная инфильтрация, отеком расслоение пучков соединительной ткани, очаги вакуолизации клеток (рис. 5). Внутренний мышечный слой структурно не изменен.

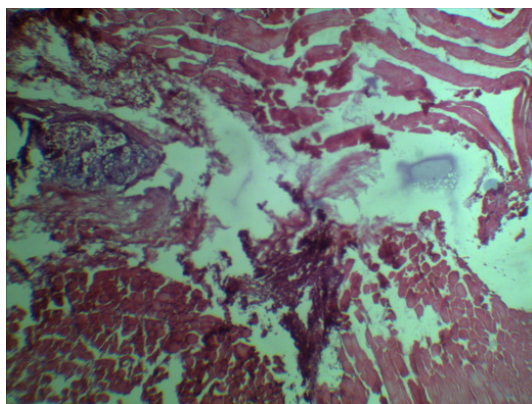


Рис. 5. Микроскопическое строение участка сустава крысы. В рыхлой отекающей мышечной и жировой ткани очаги лейкоцитарной инфильтрации. Окраска гематоксилином и эозином. х 40.

При окраске по Ван Гизону в сочетании с резорцин-фуксином определяется расслоение мышечных и коллагеновых волокон, вакуолизация клеток жировой ткани.

У животных на седьмые сутки после операции реваскуляризации при макроскопическом исследовании продолжается заживление раны первичным натяжением, кожа спаивается с окружающими тканями, в том числе костными и суставными, мышцы ярко-красного цвета, срастаются с тканями сустава.

При микроскопическом исследовании определяются фрагменты соединительной ткани, лишенные эпителиального покрова. Коллагеновые волокна в состоянии умеренно выраженных некротических и дистрофических изменений с обилием мелких и

более крупных паретически расширенных сосудов (рис. 6). В стенках некоторых сосудов видны очаги отечного расслоения в виде вакуолей разного диаметра, очаги кровоизлияний и умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрации, местами лейкоцитарные тромбы. Придатки кожи не определяются. Жировая ткань вакуолизирована, с умеренной диффузной лейкоцитарной инфильтрацией. Мышечная ткань представлена поперечно-полосатыми волокнами, которые находятся в состоянии мукоидного и фибриноидного набухания. Фрагменты костной ткани с множеством полнокровных расширенных сосудов, стенки многих из них отечно расслоены, с очагами вакуольной дистрофии.

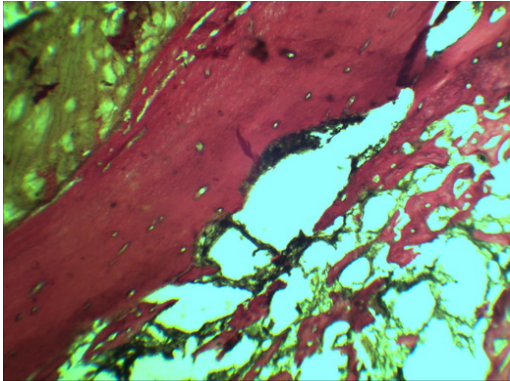


Рис. 6. Микроскопическое строение участка сустава крысы. Некротически измененная коллагеновая соединительная ткань. Крупный паретически расширенный сосуд с пристеночным лейкоцитарным тромбом в просвете. Окраска по методу Ван Гизона в сочетании с резорцин-фуксином. x 40.

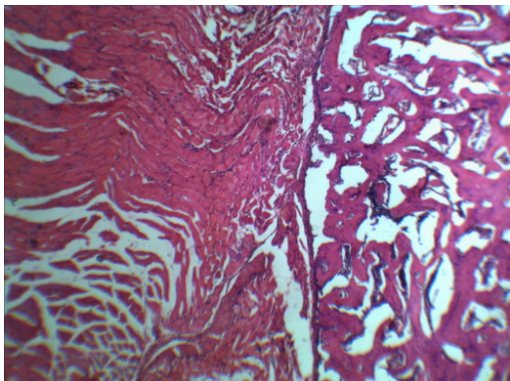


Рис. 7. Микроскопическое строение участка сустава крысы. Незрелая грануляционная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. x 40.

При микроскопическом исследовании вокруг очагов омертвевших тканей определяется разрастание зрелой грануляционной ткани. Сосуды грануляционной ткани тонкостенные, полнокровные их резко выражено, стенки гиалинизированы. Среди этой ткани можно видеть сформировавшиеся довольно значительные очаги разрастания коллагенизированной фиброзной соединительной ткани. Резорбция некротических участков сопровождается гибелью лейкоцитов. Сохраняется еще также участки незрелой грануляционной ткани (рис. 7). Жировая и мышечная ткань в пределах нормального строения.

У животных на двадцать первые сутки после операции реваскуляризации при макроскопическом исследовании перемещенная мышца плотно спаяна с тканями сустава, костно-суставные ткани визуально приближаются к обычным, форма суставов уплощена.

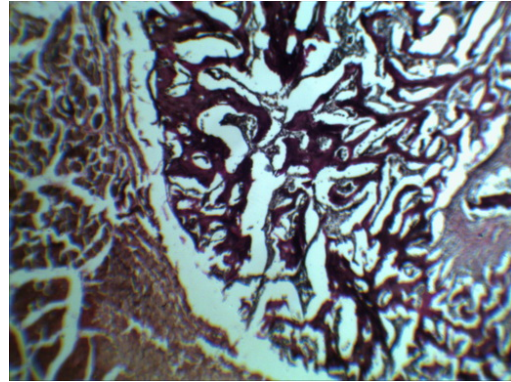


Рис. 8. Микроскопическое строение участка сустава крысы. Соединительная ткань с расширенными полнокровными сосудами. Окраска по методу Ван Гизона в сочетании с резорцин-фуксином. x 40.

При окраске по Ван Гизону в сочетании с резорцин-фуксином фиброзная соединительная ткань с формированием коллагеновых волокон, окрашенных пикринофильно (рис. 8).

Выводы. Таким образом, операции реваскуляризации с использованием мышечной пластинки зоны пораженного сустава обеспечивают не только эффект асептической перестройки и сохранения пораженных тканей, но и замещение остаточной полости после некрэктомии биологическим материалом – мышечной тканью. Сравнительная оценка морфологических процессов в динамике наблюдения свидетельствуют, что процессы репарации в основной группе выражены более значительно и имеют органосохраняющий эффект.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Н. Медицинская морфометрия: Рук-во. – М.: Медицина, 1990. – 348 с.
2. Антисептики и биодеградирующие имплантанты в лечении хронического послеоперационного остеомиелита / Н.А. Кузнецов, В.Г. Никитин, Е.Б. Телешова и др. // Хирургия. – 2009. – № 5. – С. 31–35.
3. Лилан Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Под ред. В.В. Португалова. Пер. с англ. – М.: Мир, 1969. – 624 с.
4. Повстяной Н.Е. Пластика кожно-жировыми лоскутами при ожогах и их последствиях // Клиническая хирургия. – 1991. – № 3. – С. 1–5.
5. Роспопа Я.А. Особенности первичной хирургической обработки обширных субфасциальных ран конечностей // Клиническая хирургия. – 2010. – № 11–12. – С. 48.
6. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника: Рук-во. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
7. Стан надання спеціалізованої медичної допомоги хворим з опіками в Україні / Г.П. Козинець, В.М. Таран, М.П. Комаров, А.П. Вороний // Матер. XXI з'їзду хірургів України. – Запоріжжя, 2005. – Т. 2. – С. 31–33.
8. Фісталь Е.Я. Клініка, діагностика та лікування опіків IV ступеня: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Харків, 1999. – 35 с.
9. Bancroft I.D., Stevens A., Turner D.R. Theory and practice of histological techniques. – Edinburgh : Churchill Livingstone, 1990. – 980 p.

Надійшла 02.09.2011 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін