ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

Смоленской государственной медицинской академии

Том 15, №3

2016



УДК 616-001.17-092.9-018-08

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА В ОЖОГОВОЙ РАНЕ ПРИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТРАВМЕ

© Солошенко В.В.

Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака, ДНР, 2830045, Донецк, Ленинский пр-т, 47

Резюме: цель исследования – определить влияние комбинированной травмы на течение раневого процесса в ожоговой ране на основании изучения морфологических данных экспериментального исследования. Исследование проводилось на экспериментальных животных – 16-ти белых крысах-самцах Вистар. Животным основной группы была нанесена комбинированная травма – контактный ожог III Б степени и закрытый перелом бедра. В контрольной группе животным наносилась только аналогичная термическую травму. Биопсия из ожоговых ран выполнялась на 7, 9, 11 и 14 сут. после нанесения травмы. У животных обеих групп фиксировалось время однотипных морфологических изменений в ожоговых ранах после нанесения травмы для последующего сравнения. В биоптатах животных контрольной группы отторжение некротического струпа и формирование грануляционной ткани наступало в среднем на 7,25±0,37 сут., в то время как в основной группе подобные изменения отмечались только на 11,75±0,25 сут., что выразилось в замедлении темпа разрастания сосудистой сети и развития грануляционной ткани.

Таким образом, комбинированная термо-механическая травма вызывает замедление фазы пролиферации в ожоговой ране 1,62 раза в сравнении с изолированной термической травмой. Исходя из выявленных нарушений раневого процесса, целесообразно ускорить ангиогенез в ране, активизировать функцию фибробластов для построения грануляционной ткани, активизировать эпителизацию из уцелевших дериватов кожи.

Ключевые слова: раневой процесс, комбинированная травма, ожог

EXPERIMENTAL STUDY OF WOUND PROCESS IN THE BURN WOUND AT THE COMBINED INJURY

Soloshenko V.V.

Institute Urgent and Recovery named after Gusak, DPR, 2830045, Donetsk, Leninsky Av., 47

Summary: the purpose of the study was to determine the effect of combined injuries on the course of wound healing in burn wounds on the basis of morphological data of the experimental research. The study was performed on experimental animals – 16 white rats. The animals of the main group had a combined injury in the form of a contact burn of III degree and a closed fracture of the femur. In the control group the animals had the similar thermal injury. Biopsy from burn wounds was taken on the 7, 9, 11 and 14 days after the application of the injury. In both groups the time of similar morphological changes in burn wounds was recorded for further comparison. In the control group rejection of the necrotic eschar AND formation of granulation tissue occurred on an average on the 7.25±0.37 day, while in the main group, such changes were observed only within 11.75±0.25 hours, which resulted in slowing the rate of proliferation of vascular networks and the development of granulation tissue. Thus, the combination of thermal and mechanical injuries results in slowing by 1.62 times of the proliferative phase of burn wound in comparison with isolated thermal trauma. Based on the identified violations of wound healing process, it is advisable to accelerate angiogenesis in the wound, as well as to activate fibroblast function to develop granulation tissue, and epithelialization of the preserved skin derivatives.

Key words: wound process, combined trauma, burn

Введение

При комбинированных поражениях изменяется течение основных типовых патологических процессов. Изменяется тяжесть и длительность травматического и ожогового шок за счет большей продолжительности эректильной и торпидной фазы. Нарушение регенерации в ранах проявляется замедлением пролиферации клеток, темпа экссудации, формирования и отторжения некротических тканей [3]. Это влияет не только на особенности клинического течения и исходы

комбинированных ожоговых поражений, но и на течение всего раневого процесса при термо-механической травме [6, 8].

Приведенные в литературе экспериментальные исследования и клинические наблюдения свидетельствуют, что механические травмы и ранения легкой степени тяжести почти не изменяют течения ожоговой болезни, а средние и тяжелые повреждения оказывают количественное влияние, утяжеляя типичные проявления ожоговой патологии. Синдром взаимного усиления при таких поражениях всегда выражается в утяжелении общей реакции на травму, особенно в раннем ее периоде [2, 7].

Несмотря на значительное количество исследований и печатных работ, синдром взаимного отягощения при комбинированной термической травме до настоящего времени является наиболее сложной и до конца не решенной проблемой клинической медицины. Патофизиологическая картина взрывной шахтной травмы, изменения органов и систем подробно представлены в монографии «Взрывная шахтная травма», представленной в 2002 г. сотрудниками Донецкого национального университета им. М. Горького [4, 5]. Несмотря на это остаются вопросы, касающиеся особенностей течения регенеративного процесса в ожоговой ране при комбинации и сочетании нескольких поражающих факторов. Проведение данного исследования было обусловлено необходимостью поиска звена наиболее замедленного раневого процесса, на который можно бы было воздействовать доступными технологиями лечения ожоговых ран.

Методика

Экспериментальное исследование выполнялось в рамках НИР отдела термических поражений Института неотложной и восстановительной хирургии (ИНВХ) им. В.К. Гусака г. Донецк «Изучение регенераторно-воспалительных раневых процессов у обожженных при использовании новых методов хирургического лечения в сочетании с клеточно-тканевыми технологиями». Проведение экспериментального исследования было согласовано с комиссией по биоэтике ИНВХ им. В.К. Гусака и выполнено в виварии института. Эксперимент на животных выполняли согласно требованиям «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes» (Страсбург, 18.03.1986, CETS №123) и согласно с заключенным документом «Защита животных в исследованиях».

Экспериментальное исследование выполнялось на 16 белых крысах самцах Вистар, массой 250±25 г, полученных из вивария Донецкого Национального медицинского университета им. М. Горького. Животные были разделены на две группы: в основную группу составили животные, у которых ожог сочетался с переломом бедренной кости (8 крыс) – основная группа. В контрольной группе животным наносили только термическую травму (8 крыс). Такое количество животных признано достаточным для выявления особенностей раневого процесса, так как полученные в процессе выполнения экспериментального исследования данные выявили значимые различия в макроскопической картине ожоговых ран, что в дальнейшем подтвердило морфологическое исследование. В данном экспериментальном исследовании не воссоздавались все травмирующие факторы взрывной шахтной травмы (бароторавма, термоингаляционное поражение, отравление угарным газом), так как для изучения особенностей раневого процесса в ожоговой ране в условиях взаимного отягощения было достаточно нанесения механической травмы в виде перелома крупной трубчатой кости конечности.

Все манипуляции и операции выполняли под общей анестезией. Для в/м наркоза использовали препарат «Zoletil 50» производства «Virbac Sante Animale» (Франция). Использовалась рекомендуемая в ветеринарии дозировка: 3 мг/100 г. Данная дозировка позволяла в течение 5 мин. нанести термическую и механическую травму, а также выполнять биопсию из ран на последующих этапах исследования. Данной дозировки было достаточно для выполнения некрэктомии и наложения швов на рану в течение 15 мин. Реверсия наркотического сна наступала через 1 ч. после введения.

В основной группе перелом бедренной кости животного производили непосредственным механическим воздействием – перелом бедренной кости в средней её трети. Перелом во всех случаях был закрытым и не сопровождался значительным смещение отломков, не сопровождался нарушением целостности магистральных сосудов нижней конечности и обширной гематомой. Ожог наносился на бедро в верхней трети в зоне проекции перелома и на заднюю часть туловища раскаленной до 100°С прямоугольной металлической пластиной площадью 20см^2, что составило около 8% общей площади поверхности кожи крысы. Время экспозиции пластины составило 10 с. При указанном режиме достигалось повреждение всех слоев кожи, что по глубине поражения

соответствовали ожогу III Б степени. При этом поражения мышц конечности не наблюдалось ни в одном случае.

В процессе эксперимента изучались отличия в течение раневого процесса на определенных временных этапах лечения в двух группах животных путем клинического наблюдения за раной и морфологического изучения ожоговой раны на разных стадиях раневого процесса. Фиксировалось время наступления (сут.) однотипных изменений морфологической картины в биоптатах из ожоговых ран у животных основной и контрольных группы. Затем по полученным числовым данным производили расчет среднего значения по группе. Так как группы были малыми, проверка гипотезы о равенстве генеральных средних в этих случаях проводилась с помощью U-критерия Манна-Уитни для независимых переменных. В качестве биопсийного материала использовали центр и край ожоговой раны. Биопсию ожоговой раны у крыс с изолированным ожогом и у крыс с комбинированной травмой производили на 7, 9, 11 и 14 сут. после нанесения повреждений под общей анестезией. После иссечения ожоговой раны на 14 сут. после травмы, раневой дефект ушивали узловыми швами, так как строение кожи крыс позволяло проводить выполнение некрэктомии с одновременной пластикой ожоговой раны местными тканями.

Во время проведения эксперимента каждое животное помещалось в отдельную клетку, чтобы избежать инцидентов в результате нападения остальных крыс на животное после наркоза. Каждое животное получало достаточное количество еды, вода не ограничивалась. Закрытый перелом бедра ограничивал двигательную функцию животного в первую неделю с момента нанесения травмы, к концу второй недели животное адаптировалось к передвижению на трех лапах. Все животные после эксперимента оставались живыми, в течение 30 сут. после начала эксперимента крысы находились в отдельных клетках, затем оставлены в виварии для проведения дальнейших исследований.

Препараты фиксировались в 10% растворе формалина с pH 7,6. Биоптаты ожоговых ран заливались парафином по стандартной методике. Из парафиновых блоков изготовлялись серийные гистологические срезы толщиной 5±1 мкм, которые окрашивали гематоксилин эозином. В биоптате были представлены все слои раны. Изучение препаратов проводилось в проходящем свете на исследовательском микроскопе Olympus AX 70 Provis (Япония) с цифровой видеокамерой Olympus DP 50, соединенной с персональным компьютером. Микрофотографирование препаратов было выполнено с использованием лицензионной программы анализа изображения AnalySIS Pro 3.2 (Soft Imaging) (Германия), которая позволяла проводить морфометрическое расчеты в изучаемых препаратах.

Результаты исследования

При гистологическом исследовании биоптатов на 7-е сут. после травмы в обеих группах животных в препаратах из центра раны определялась кожа в состоянии коагуляционного некроза с фрагментацией, вакуолизацией, отслойкой и очагами полного отсутствия эпидермиса, некрозом придатков, отеком, дистрофией и очагами некроза в дерме и массивной инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами (рис. 1.).

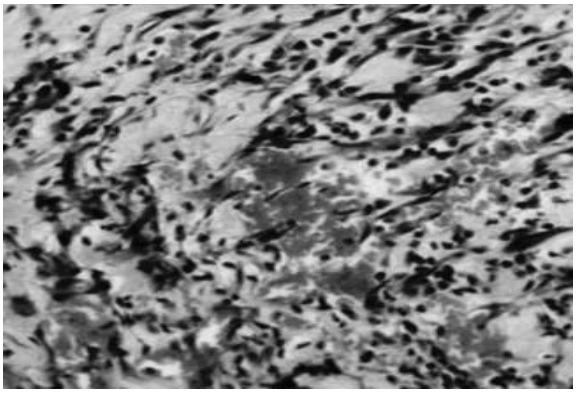


Рис. 1. Гистологическая картина центра ожоговой раны на 7-е сут. после травмы в основной группе. Массивная инфильтрация полиморфно ядерными лейкоцитами, очаги некроза. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×300

Толщина гнойно-некротических наложений на поверхности раны была больше в группе животных с комбинированной травмой, чем у крыс группы контроля. Во всех наблюдениях из контрольной группы животных, материал из центра раны на 7-е сут. уже был представлен незрелой грануляционной тканью с полнокровием капилляров, в то время как в биоптатах основной группы данной картины не наблюдалось. Напротив, отмечались более выраженные очаговые кровоизлияния, с гнойно-некротическими наложениями на поверхности. В подлежащих отделах определялись мышечные волокна, относящиеся к мышце, поднимающей волосяной фолликул, которые характеризовались межмышечным отеком и воспалительной инфильтрацией. В биоптатах из краевой зоны ран на 7 сут. после травмы у животных обеих групп, в препаратах определялось большое количество волосяных фолликулов и сальных желез, многослойный плоский эпителий в состоянии коагуляционного некроза, в дерме – отек, гнойное воспаление, более выраженные в биоптатах у крыс основной группы (рис. 2.).

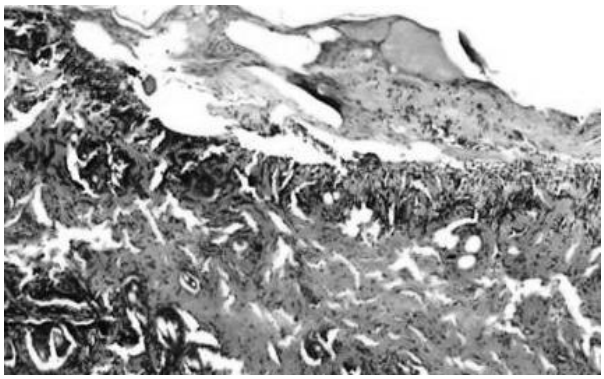


Рис. 2. Гистологическая картина края ожоговой раны на 7-е сут. после травмы в основной группе. Многослойный плоский эпителий в состоянии коагуляционного некроза, в дерме отек, гнойное воспаление. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×150

На 14 сут. после травмы различия в течение раневого процесса между I и II группами животных макроскопически становились более отчетливыми. В контрольной группе крыс с изолированным ожогом струп к этому сроку самостоятельно отторгся, в ране отмечалось скудное серозно-гнойное отделяемое, определялись грануляции. У крыс с комбинированной травмой местами еще оставался некротический струп, по периферии наблюдалось обильное выделение гноя из раны, рана оставалась бледной, рыхлой и отечной, с единичными грануляциями.

Гистологически у животных с комбинированной травмой (основная группа) материал из центра раны был представлен незрелой грануляционной тканью с выраженным склерозом капиллярных петель, очаговыми кровоизлияниями, массивными гнойно-некротическими наложениями на поверхности и диффузной выраженной инфильтрацией элементами гнойного воспаления (рис. 3.).

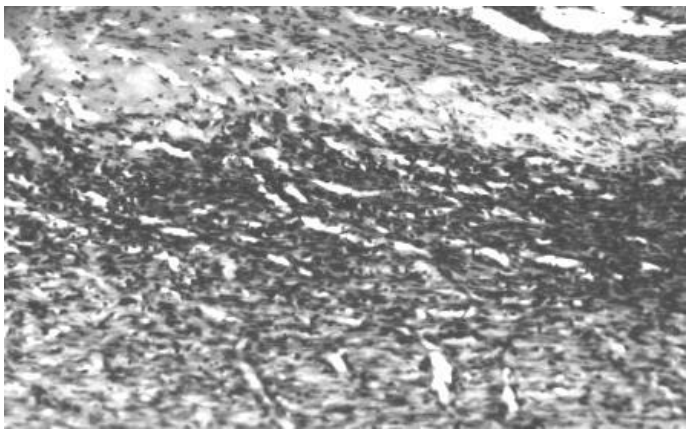


Рис. 3. Гистологическая картина центра ожоговой раны на 14-е сут. в основной группе. Выраженная диффузная инфильтрация элементами гнойного воспаления. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×150

В биоптатах из ран животных с контрольной группы на 14 сут. после травмы определялась незрелая соединительная ткань с единичными мышечными волокнами, с диффузной клеточной инфильтрацией, представленной преимущественно лимфоидными элементами с примесью эозинофилов, плазмоцитов, сегментоядерных лейкоцитов, полнокровием капилляров (рис. 4.).

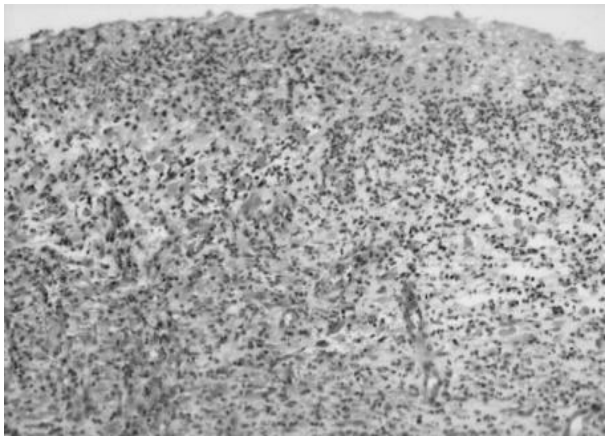


Рис. 4. Гистологическая картина центра ожоговой раны на 14-е сут. после травмы в контрольной группе. Диффузная клеточная инфильтрация, представленная преимущественно лимфоидными элементами с примесью эозинофилов, плазмоцитов, сегментоядерных лейкоцитов Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×30

В краях ран на 14-е сут. после травмы в группе животных контрольной группы (только ожог) отмечено начало эпителизации раневой поверхности, которое происходило за счет краевой пролиферации эпидермиса, так как ожог был глубоким (рис. 5.).

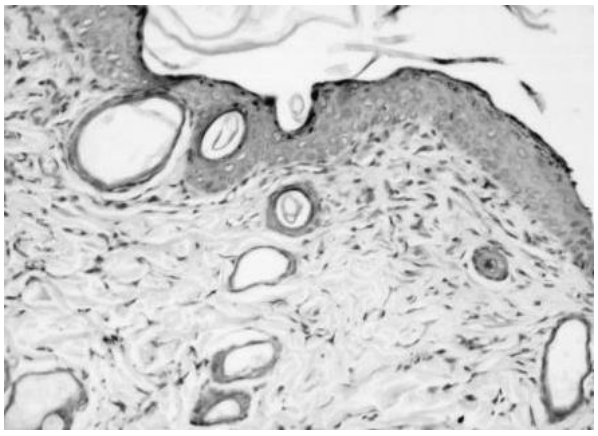


Рис. 5. Край ожоговой раны животного контрольной группы (14 сут. с момента травмы). Пролиферация эпидермиса. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×75

Края ран животных с комбинированной травмой в эти же сроки исследования не претерпевали существенных изменений в сравнении с 7 сут. исследования, что свидетельствовало о замедлении процессов репарации. При сопоставлении морфологических признаков течения раневого процесса в обеих экспериментальных группах и сравнительном исследовании темпов заживления ожоговых ран отмечена более поздняя демаркация некротических тканей в группе животных с комбинированной травмой.

Наибольшие отличия появились между группами при сопоставлении состояния ожоговых ран на 14-е сут. после травмы, что соответствовало фазе пролиферации. При сопоставлении макроскопических данных ежедневных наблюдений за состоянием раны и морфологических

признаков течения раневого процесса в ожоговых ранах выявлено: в контрольной группе животных в ожоговых ранах (край раны) происходило отторжение некротического струпа и формирование грануляционной ткани на 7,25±0,37 сут., в то время как в основной группе животных подобные изменения отмечались только на 11,75±0,25 сут., что выразилось в замедлении темпа разрастания сосудистой сети и развития грануляционной ткани. Различия по данному признаку между группами достоверны, так как p=0,007 (Mann-Whitney U Test).

Обсуждение результатов исследования

Основная цель исследования заключалась в выявлении морфологических признаков замедления течения раневого процесса в экспериментальной ожоговой ране, свидетельствующих о нарушении репаративных процессов в ране в случае развития синдрома взаимного отягощения при комбинации глубокого ожога и перелома крупных костей нижней конечности. Ранее в работах авторов указывалось на развитие синдрома взаимного отягощения при одновременном нанесении глубокого термического ожога на площади 10% поверхности тел и острой кровопотере в объеме 22,83±0,24 мл/кг, что приводит к развитию декомпенсированного шока, сопровождающегося формированием острого ДВС – синдрома [9]. В проведенном экспериментальном исследовании травма не являлась летальной. Все животные обеих групп остались живыми, отслеживались все изменения в ране в течение 14 сут. после нанесения травмы. Макроскопические отличия в замедлении раневого процесса прослеживались уже на 7 сут. после травмы в виде замедления отторжения некротического струпа и формирования грануляционной ткани. Наиболее значимые различия морфологической картины определялись на 14 сут. после травмы, отчетливо прослеживались в биоптатах из края раны, где присутствовали эпителиальные клетки, способные к регенерации и формированию эпителиального пласта.

При сопоставлении данных морфологии в обеих группах однотипные изменения в биоптатах из ран контрольной и основной группы отмечены на 7,25±0,37 и 11,75±0,25 сут. соответственно. Различия между средними в группах статистически достоверны (при $p<0,05$). В морфологическом материале животных основной группы были замедлены процессы пролиферации (формирование грануляционной ткани и капиллярной сети) по сравнению с ожоговыми ранами животных контрольной группы. Подобная динамика морфологической картины объясняется в работах авторов тем, что происходит «замедление» регенерации ожоговых ран под влиянием механического поражения, при чём, изменяется не скорость патологического процесса, а клеточные функции, нарушенные первично в момент двойной травмы. При «ускорении» развития патологических симптомов большое число нарушений при последующей их реализации приводит к новому качеству – возникновению более тяжелого патологического процесса [6]. Учитывая задействованные в фазу пролиферации клеточные элементы, целесообразно ускорить ангиогенез, активизировать функцию фибробластов для построения грануляционной ткани, активизировать эпителизацию из уцелевших дериватов кожи. Всеми выше перечисленными характеристиками обладает «дермальный эквивалент», состоящий из культуры фетальных человеческих аллофибробластов в геле на коллагеновом носителе, который используется в хирургическом лечении ран различной этиологии в комбустиологии, травматологии и хирургии [1].

Вывод

Комбинированная термо-механическая травма вызывает замедление в 1,62 раза фазы пролиферации в ожоговой ране в сравнении с изолированной термической травмой. Исходя из выявленных и перечисленных морфологических изменений в ранах, целесообразно воздействовать на наиболее замедленную фазу пролиферации у пострадавших с комбинированной травмой с помощью клеточных технологий.

Литература

1. Алексеев А.А., Салахиддинов К.З., Гаврилюк Б.К. и др. Комплексное лечение глубоких ожогов на основе применения хирургической некрэктомии и современных биотехнологических методов и современных биотехнологических методов // Анналы хирургии. – 2012. – №2. – С. 41-45.
2. Беляев А.Н. Пути улучшения инфузионной терапии комбинированной (ожог и кровопотеря) травмы: Автореф. дис. … д-ра мед. наук. – Н. Новгород, 1998. – 30 с.
3. Гараев Д.А. Синдром взаимного отягощения повреждений у пострадавших с сочетанной травмой и его влияние на выбор тактики лечения повреждений опорно-двигательного аппарата: Автореф. дис. …канд. мед. наук. – М., 2007. – 30 с.

4. Ельский В.Н., Гусак В.К., Кривобок Г.К. и др. Взрывная шахтная травма (экспериментальный анализ проблемы). – Донецк: Апекс, 2002. – 172 с.
5. Ельский В.Н., Кривобок Г.К., Фисталь Э.Я. и др. Экспериментальная фармакологическая коррекция нарушений микроциркуляции при действии термического компонента взрывной шахтной травмы // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2003. – Т.4, №1. – С. 159-162.
6. Иванцов В.А., Шанин Ю.И., Сидельников В.О. и др. Комбинированные ожоговые поражения. – СПб: Сотис, 2004. – 142 с.
7. Рязанцев Е. В. Водно-электролитические нарушения при комбинированной (ожог и кровопотеря) травме в эксперименте // Вестник Мордовского госуниверситета. – 2006. – №2. – С. 117-124.
8. Шехтер А.Б., Гуллер А.Е. Морфологическая характеристика рубцовых тканей и новая клинико-морфологическая классификация рубцов кожи человека // Архив патологии. – 2008. – №1. – С. 6-13.
9. Якунина Ю.Е. Нарушения гемостаза при ожоге на фоне кровопотери и их коррекция с применением гепарина, аплегина и димефосфона: Автореф. дис. …канд. мед. наук. – Саранск, 2004. – 18 с.

Информация об авторе

Солошенко Виталий Викторович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела термических поражений Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака. E-mail: burncenter.vs@gmail.com