

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОЖОГОВОЙ РАНЫ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ КРИОЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО СУБСТРАТА ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

С.Б. КРАМАР, К.С. ВОЛКОВ

Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского, Украина, г. Тернополь

ТАЖРИБА КУЙИШ ЖАРОҲАТИДАН СЎНГ КРИОЛИОФИЛЛАНГАН КСЕНОДЕРМАЛ СУБСТРАТНИ ҚЎЛЛАШ ШАРОИТИДА КУЙГАН ЖАРОҲАТНИНГ УЛЬТРАСТРУКТУРАЛИ ЎЗГАРИШЛАРИ

С.Б. КРАМАР, К.С. ВОЛКОВ

И.Я. Горбачевский номидаги Тернополь Давлат медицина университети, Украина, Тернополь

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF BURN WOUND AFTER EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA AND APPLICATION OF CRIOLIOFILIZED XENOGRAFT SUBSTRATE

S.B. KRAMAR, K.S. VOLKOV

Ternopil State Medical University, Ukraine, Ternopil

Денгиз чуққаларида оғир куйиш жароҳати тажриба тадқиқоти ўтказилгандан сўнг криолиофилланган ксенодермал субстратни қўллаш шароитида куйган жароҳатнинг ультраструктурали ўзгаришлари ўрганилди. Тажриба эрта даврида бундай восита қўлландан сўнг яллиғланиш реакцияси камайганлиги аниқланди ва жароҳат чегарасида регенерация жараёни фаоллашди. Бу фибробластлар, кератиноцитлар ва гемокapиллярларнинг ниҳоятда жароҳатланишини олдини олади. Тажриба кечки даврида ксенотерининг майдаланган субстратлари қўлланданда жароҳат соҳасида тери дермасининг структурали компонентларини тикланишини фаоллаштиради ва жароҳат эпителизациясини тезлаштиради.

Калит сўзлар: *ультраструктурали ўзгаришлар, куйган жароҳат криолиофилланган ксенодермал субстрат, куйиш жароҳати.*

In experiments on guinea pigs were studied ultrastructural status of burn wound at different times after severe thermal trauma and usage crioliofilized xenograft substrate. It was established that the use of this drug in the early stages of the experiment reduces the inflammatory response and activates regenerative processes in the boundary area of the wound. This prevents significant damage to the ultrastructure of fibroblasts, keratinocytes and capillaries. In the later stages of the experiment the use of crioliofilized xenograft substrate promotes active restoration of the structural components of the dermis of the skin in the affected area and accelerates epithelization of the wound.

Key words: *ultrastructural changes, burn wound, crioliofilized xenograft substrate, thermal trauma.*

Вступление. Ожоговые поражения являются одними из лидирующих в структуре общего травматизма. По данным ВОЗ ежегодно в мире регистрируется более 300 тыс. смертельных случаев, вызванных ожогами [6, 10, 11]. Несмотря на значительные достижения в комбустиологии, лечение данного вида травм является одной из наиболее сложных проблем хирургии [7]. Важной задачей при лечении ожогов кожи есть разработка и усовершенствование временных биологических покрытий, которые способствуют восстановлению целостности кожного покрова, защищают рану от механических повреждений, инфицирования и обладают бактериостатическим эффектом [1, 5]. На сегодня, для местного лечения термической травмы существует значительное количество методов и способов, разработано много эффективных препаратов. В част-

ности, широкое применение получили лиофилизированные ксенодермоимплантаты [5, 6, 9]. Однако эффективность их использования при лечении инфицированных ран со значительными серозно-гнойными выделениями недостаточная. В последние годы проводятся исследования свойств криолиофилизированного ксенодермального субстрата, который может быть использован для разработки новых методических схем местного лечения ожогов. Уже известно, что измельченный субстрат ксенокожи имеет высокие сорбционно-антитоксический, пластический, метаболический и окислительно-восстановительный потенциалы, богатый аминокислотами и микроэлементами [2, 4, 8]. Однако остаются малоизученными морфологические особенности заживления термических ран при его использовании.

Целью этой работы было установление ультраструктурного состояния ожоговой раны после ранней некрэктомии участка поражения и ее покрытия измельченным субстратом лиофилизированной ксенокожи в динамике после экспериментальной термической травмы.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования выполнены на 20 половозрелых морских свинках. При проведении исследований придерживались международных правил и принципов "Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и с другой научной целью" (Страсбург, 1986) и "Общих этических принципов экспериментов на животных" (Киев, 2001).

Ожог III степени на 20 % поверхности тела животных наносили водяным паром при температуре 96–97°C в течение 60 секунд под общим эфирным наркозом. Через 1 сутки после ожога проводили раннюю некрэктомию поврежденных участков кожи животных. Раны, которые образовались покрывали измельченным субстратом криолиофилизированной ксенокожи. Декапитацию животных проводили на 7, 14, и 21 сутки опыта.

Забор материала для электронно-микроскопических исследований проводили согласно общепринятой методики [3]. Отпрепарированные кусочки центрального и периферического участков поврежденной кожи фиксировали в 2,5 % растворе глутаральдегида. Постфиксацию материала осуществляли 1 % раствором четырехоксида осмия на буфере Миллоница в течение 60 минут, после чего проводили его дегидратацию в пропиленоксиде и заливали в смесь эпоксидных смол с аралдитом. Ультратонкие срезы, изготовленные на ультрамикротоме LKB-3 (Швеция), контрастировали 1 % водным раствором уранилацетата и цитратом свинца согласно методу Рейнольдса и изучали в электронном микроскопе ПЭМ-125K.

Результаты исследования и их обсуждение. Субмикроскопические исследования на 7 сутки после термической травмы, проведения ранней некрэктомии и закрытия раны измельченным субстратом ксенокожи показали, что в центральной области поражения наблюдаются признаки активного формирования грануляционной ткани. В ней отмечаются микрососуды с расширенными просветами, заполненные эритроцитами, нейтрофилами, лимфоцитами и тромбоцитами. Клетки лейкоцитарного ряда наблюдаются также вне сосудов в аморфном веществе соединительной ткани. В таких местах заживления имеются также макрофаги, плазмолемма ко-

торых образует псевдоподии, а в цитоплазме много первичных и вторичных лизосом.

В центральном участке раны наблюдаются поврежденные фиброциты и зрелые фибробласты. Фиброциты в основном локализованы в верхнем слое раны. Для них характерны пикнотические, осмиофильные ядра с гетерохроматиновыми участками в кариоплазме. В цитоплазме таких клеток органеллы деструктивно изменены. Расширены, фрагментированы каналцы гранулярной эндоплазматической сети и цистерны комплекса Гольджи. Также отмечаются набухшие, с просветленным матриксом и поврежденными кристами митохондрии (рис. 1).

В нижних слоях раны наблюдаются зрелые фибробласты продолговатой формы с отростками. Их ядра выглядят увеличенными, а ядерная оболочка имеет инвагинации. В кариоплазме наблюдаются глыбки гетерохроматина, которые расположены преимущественно по периферии ядра. В цитоплазме таких клеток хорошо развиты каналцы гранулярной эндоплазматической сети, они умеренно расширены, а на поверхности их мембран много рибосом. Диктиосомы комплекса Гольджи расположены парануклеарно. Часть митохондрий гипертрофированы, имеют локально просветленный матрикс и частично редуцированные кристы. Вокруг этих клеток расположены тонкие новообразованные коллагеновые волокна. Такое ультраструктурное состояние фибробластов характеризует их функциональную активность, что необходимо для обновления компонентов межклеточного вещества.

В межклеточном веществе в местах заживления отмечаются хорошо структурированные нейтрофилы и лимфоциты (рис. 2).

Субмикроскопически в этот срок опыта в краевой области раны наблюдается формирование эпидермального регенерата, ростковую зону которого составляют стволовые и молодые эпидермоциты. Большую площадь стволовых клеток составляют округло-овальные ядра, а их повышенной электронной плотности цитоплазма содержит мало органелл. Небольшие молодые эпидермоциты имеют также округлые ядра с ядрышками в кариоплазме. Цитоплазма таких клеток электронносветлее, чем в стволовых клетках, имеет небольшое количество органелл, в частности митохондрий, отдельных канальцев гранулярной эндоплазматической сети. Эпителиоциты размещены плотно, между ними хорошо выражены структурированные десмосомальные контакты.

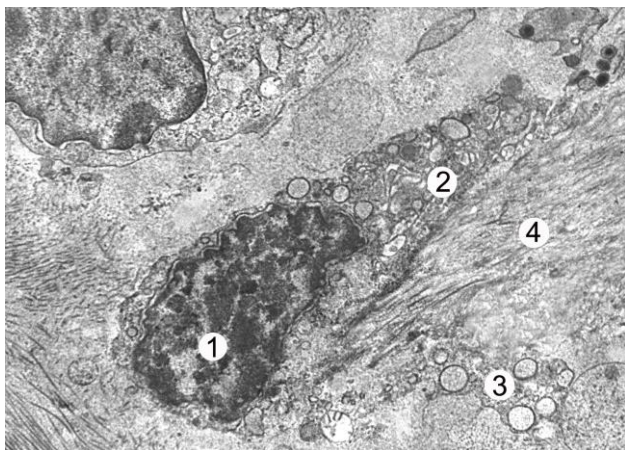


Рис. 1. Субмикроскопическое состояние центрального участка раны на 7 сутки опыта. Ядро (1) и цитоплазма (2) фиброцита, остатки разрушенных клеток (3), межклеточное вещество (4). x 7000

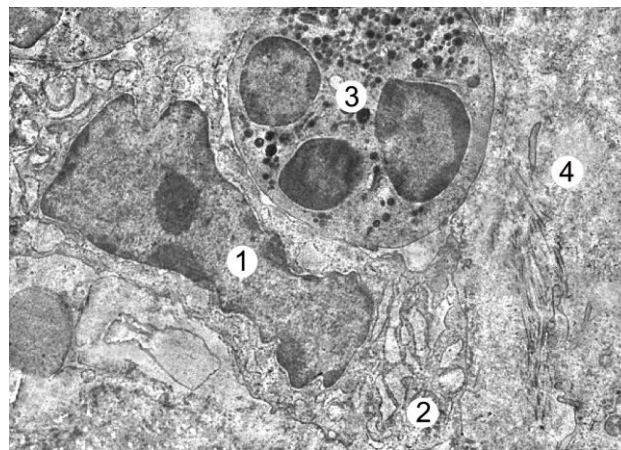


Рис. 2. Ультраструктурная организация участка раны на 7 сутки эксперимента. Ядро (1) и цитоплазма (2) фибробласта, нейтрофил (3), межклеточное вещество (4). x 7000

Такая структура эпителиоцитов в краевой области свидетельствует об активации репаративного процесса, которому способствует применение криолиофилизированного ксенодермального субстрата.

В краевой области раны на 7 сутки эксперимента происходит реорганизация структуры дермы. Субмикроскопически установлено обновление компонентов микроциркуляторного русла. Наблюдаются гемокапилляры с неширокими просветами, стенка которых образована продолговатыми эндотелиоцитами, которые расположены на сформировавшейся базальной мембране. Цитоплазма ядерной зоны этих клеток насыщена рибосомами, имеются небольшие митохондрии, отдельные каналцы гранулярной эндоплазматической сети, а в цитоплазматических участках эндотелиоцитов отмечается много пиноцитозных пузырьков. В межклеточном веществе вокруг таких гемокапилляров наблюдаются активные фибробласты, которые имеют немногочисленные отростки. Их цитоплазма насыщена органеллами, хорошо выражены каналца гранулярной эндоплазматической сети, много рибосом, имеются элементы комплекса Гольджи и митохондрии с хорошо контурированными кристами. Ядра фибробластов имеют продолговатую форму, инвагинации кариолемы, а в кариоплазме ядрышки и небольшие глыбки гетерохроматина.

Электронномикроскопические исследования на 14 сутки эксперимента установили нарастание положительного влияния применения корректирующего фактора на заживление ожоговой раны. В центральном ее участке моло-

дая грануляционная ткань богата на молодые и зрелые фибробласты. Ядра последних удлинённые, с четко контурированной кариолемой, эухроматином в кариоплазме и одним-двумя ядрышками. Цитоплазма таких клеток насыщена функционально активными органеллами. Хорошо развита гранулярная эндоплазматическая сеть, на мембранах ее каналцев много рибосом, а в гиалоплазме – свободных рибосом и полисом. Значительную площадь цитоплазмы занимают диктиосомы комплекса Гольджи, имеются округло-овальные митохондрии с четко выраженными кристами. Такая ультраструктура фибробластов характеризует их высокую функциональную активность, что направлена на обновление межклеточного вещества соединительной ткани. В их плазмолеме наблюдается формирование коллагеновых фибрилл, которые часто располагаются пучками (рис. 3).

В дерме, что обновляется наблюдаются компоненты микроциркуляторного русла, которые формируются. Гемокапилляры преимущественно имеют неширокие просветы, в составе стенки наблюдаются эндотелиоциты, в цитоплазме которых немногочисленные органеллы, много пиноцитозных пузырьков, кавеол. В ядрах кариоплазму составляет эухроматин, имеются инвагинации кариолемы (рис. 4).

В области раны обнаруживаются макрофаги с небольшим количеством псевдоподий, и преобладанием в цитоплазме первичных лизосом. В этот срок пораженный участок покрыт одним-двумя слоями малодифференцированных эпидермоцитов. Их ядра округлой формы, а в цитоплазме много полисом.

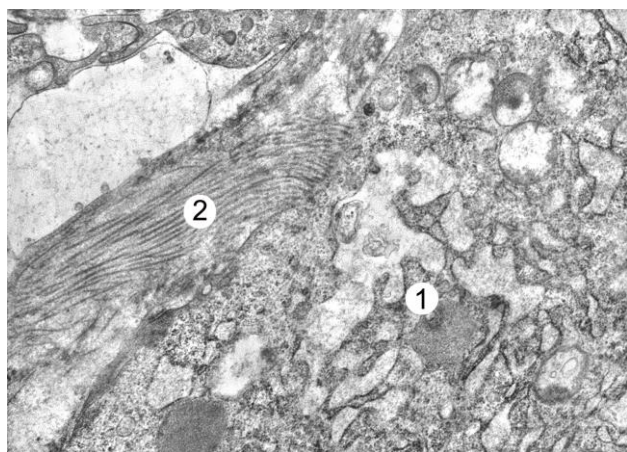


Рис. 3. Центральный участок раны на 14 сутки эксперимента. Субмикроскопическая организация цитоплазмы фибробласта (1), коллагеновые волокна (2), которые формируются в межклеточном веществе. х 35000

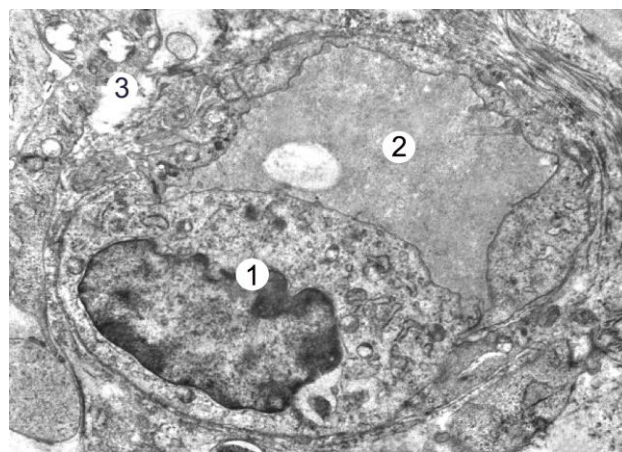


Рис. 4. Субмикроскопическая организация гемокapилляра в дерме на 14 сутки эксперимента. Эндотелиоцит (1), просвет капилляра (2), межклеточное вещество (3). х 12000

Субмикроскопически на 14 сутки опыта в краевой области раны отмечается значительное утолщение эпидермиса. В цитоплазме небольших базальных кератиноцитов между филаментами находятся свободные рибосомы и митохондрии, умеренно развита гранулярная эндоплазматическая сеть. Их ядра округло-овальные, с немногочисленными инвагинациями кариолемы.

Скопление гетерохроматина размещены вблизи внутренней ядерной мембраны. В этот срок опыта отмечается также обновление эпителиоцитов придатков кожи. Молодые камбиальные клетки волосяных фолликулов и желез содержат овальные ядра с четко контурированной кариолемой, скоплениями гетерохроматина в них и одним-двумя ядрышками в кариоплазме. Цитоплазма таких клеток богата на свободные рибосомы, митохондрии и имеет умеренно развитую гранулярную эндоплазматическую сеть.

Электронномикроскопические исследования участка поражения на 21 сутки опыта показали, что применение криолиофилизированного ксенодермального субстрата способствует заживлению раневого дефекта и его полной эпителизации. В эпителиальном регенерате, который покрывает хорошо сформированную соединительную ткань, богатую на коллагеновые и эластичные волокна, наблюдаются признаки формирования слоев эпидермиса, в частности базального, шиповатого и зернистого (рис. 5).

Молодые базальные эпителиоциты имеют хорошо контурированные ядра, в кариоплазме которых имеются большие ядрышки и рибосомальные гранулы, наблюдаются инвагинации кариолемы, умеренно расширенные перинуклеарные пространства. В цитоплазме клеток базаль-

ного и шиповатого слоев тонофиламенты образуют пучки, часть митохондрий гипертрофирована, с просветленным матриксом, много полисом. Встречаются эпидермоциты в фазе митотического деления. Между кератиноцитами хорошо выражены десмосомальные контакты. Под эпидермальным регенератом отмечается формирование базальной мембраны, которая отделяет его от дермы. Наблюдаются признаки формирования сосочков рыхлой соединительной ткани, в которых выявляются новообразованные гемокapилляры.

В этот срок опыта теряется грань между краевыми и центральными участками раны.

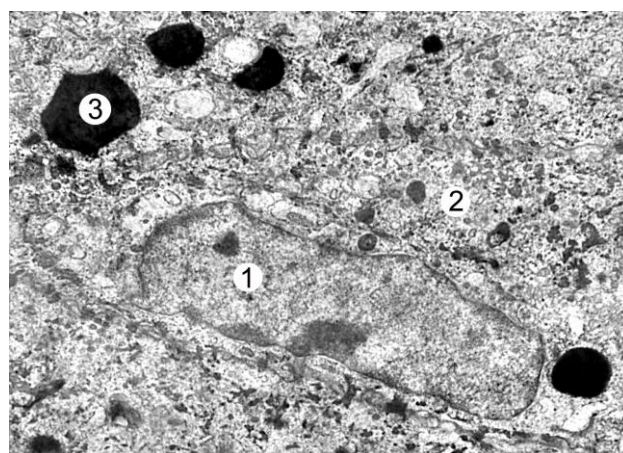


Рис. 5. Ультраструктурное состояние эпидермиса в области заживления раны на 21 сутки опыта. Ядро (1) и цитоплазма (2) кератиноцита зернистого слоя, зерна кератогиалина (3). х 8000

Выводы. Таким образом, субмикроскопически установлено, что наложение измельченного субстрата криолиофилизированной ксенокожи на рану, которая образовалась после некрэкто-

мии термически поврежденных участков, уже в ранние сроки после ожога активизирует регенераторные процессы. Происходит формирование эпителиального регенерата в краевой области раны и грануляционной ткани, насыщенной лейкоцитами, макрофагами, фибробластами. Образуются гемакапилляры в центральной зоне.

В поздние сроки положительное влияние использования криолиофилизированого ксенодермального субстрата электронномикроскопически проявляется заживлением раневого дефекта с образованием соединительной ткани сосочкового и сетчатого слоев дермы и полной эпителизацией поверхности поражения на фоне ангиогенеза, высокой пролиферативной и функциональной активности фибробластов, кератиноцитов росткового слоя эпидермиса и придатков кожи.

Литература:

1. Використання гелю на основі ацетату хітозану для лікування опіків шкіри / М. В. Погорелов, О. В. Калінкевич, Т. В. Івахнюк [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2011. – Т. 11, вип. 4 (36). – С. 141–146.
2. Гістологічний стан внутрішніх органів щурів при тривалому внутрішньошлунковому введенні суспензії ксенодермального субстрату / Ю. С. П'ятницький, К. С. Волков, Т. В. Дацко [та ін.] // Науковий вісник Ужгородського університету, серія "Медицина". – 2014. – Вип. 1, № 49. – С. 20–23.
3. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський – Житомир : Полісся, 2005. – 284 с.
4. Гуда Н. В. Вміст амінокислот та мікроелементів у кріоліофілізованій ксеношкірі як показник їх біологічної активності / Н. В. Гуда, А. В. Цимбалюк // Медична хімія. – 2012. – Т. 14, № 1 (50). – С. 70–72.
5. Ковальчук А. О. Динаміка змін мікробіологічних показників експериментальних опікових ран при проведенні ранньої некретомії з використанням ліофілізованих ксенодермотрансплантатів вторинного зрізу / А. О. Ковальчук, Т. І. Пятковський // Вісник наукових досліджень. – 2010. – № 2. – С. 46–49.
6. Корнієнко В. В. Планіметрія поверхні опікової рани при використанні хітозанових мембран / В. В. Корнієнко // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2013. – Т. 1, № 4. – С. 390–397.
7. Фисталь Э. Я. Современный подход к хирургическому лечению обширных механических ран конечностей с дефектом мягких тканей / Э. Я. Фисталь, Я. А. Роспопа // Хірургія України. – 2013. – № 2. – С. 113–119.
8. Цимбалюк А. В. Антитоксичний феномен кріоліофілізованого ксенодермального субстрату / А. В. Цимбалюк // Медична хімія. – 2012. – Т. 14, № 2. – С. 96–98.
9. Цимбалюк А. В. Використання подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата для місцевого лікування опікових хворих з інфікованими ранами III-IV ступенів / А. В. Цимбалюк, Н. В. Гуда, О. О. Кирик // Шпитальна хірургія. – 2013. – № 1. – С. 81–84.
10. Mazumber A. A study of pattern of burn injury cases / A. Mazumber, A. Patowary // J. Indian Acad. Forensic. Med. – 2013. – Vol. 35, № 21. – P. 44–46.
11. Peck M. D. Epidemiology of burns throughout the world. Part I: distribution and risk factors / M. D. Peck // Burns. – 2011. – № 37. – P. 1087–100.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОЖГОВОЙ РАНЫ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ КРИОЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО СУБСТРАТА ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

С.Б. КРАМАР, К.С. ВОЛКОВ

Тернопольский государственный медицинский
университет имени И. Я. Горбачевского,
Украина, г. Тернополь

В эксперименте на морских свинках исследовано ультраструктурное состояние ожоговой раны в условиях применения криолиофилизированного ксенодермального субстрата после тяжелой термической травмы. Установлено, что уже в ранние сроки опыта использование такого корректирующего средства уменьшает проявления воспалительной реакции и активизирует регенераторные процессы в краевой области раны. Это предупреждает значительные повреждения ультраструктуры фибробластов, кератиноцитов, а также гемакапилляров. В поздние сроки эксперимента применение измельченного субстрата ксенокожи способствует активному восстановлению структурных компонентов дермы кожи в зоне поражения и ускоряет эпителизацию раны.

Ключевые слова: ультраструктурные изменения, ожоговая рана, криолиофилизированный ксенодермальный субстрат, термическая травма.