



А. Н. Хвисяк, Г. А. Олейник

Харьковская медицинская академия последипломного образования

© А. Н. Хвисяк, Г. А. Олейник

ИЗМЕНЕНИЯ КОСТЕЙ И ПАРАОССАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. В работе изучены гистологические изменения в костной ткани экспериментальных животных с локальными холодовыми повреждениями конечностей. Криовоздействие осуществлялось с использованием морозильной камеры с температурой -20°C и путем воздействия на конечности парами жидкого азота до снижения подкожной температуры до -10°C . Местное холодное воздействие на конечности с экспозицией 2 ч над морозильной камерой приводит к формированию отморожений II ст. Обработка конечностей парами жидкого азота способствует формированию отморожений IV ст. Гистологические изменения костной ткани при отморожениях II ст. носят обратимый характер. Отморожения IV ст. вызывают значительные изменения костной ткани в ранние сроки после травмы и носят необратимый характер.

Ключевые слова: *отморожения, гистология кости, экспериментальные животные.*

Вступление

Вопросы инвалидизации больных, перенесших глубокие отморожения конечностей, остаются актуальными. Большое социальное и медицинское значение этой проблемы связано с тем, что от 30 до 60% пострадавших становятся инвалидами из-за вынужденных калечащих операций — ампутаций, некрэктомий, экзартикуляций [1, 4, 9, 11]. Приходится констатировать, что данные виды оперативных вмешательств являются «операциями отчаяния», когда уже четко сформирована линия демаркации или имеют место осложнения местного раневого процесса в виде сухой и особенно влажной гангрены. Несмотря на то, что современные разработки и достижения комбустиологии в большинстве случаев предупреждают развитие глубоких некрозов, остается недостаточно изученной проблема причин некрозообразования мягких тканей и гибели костных структур конечностей [2, 9]. Нарушения микроциркуляции в результате отека и сдавливания мягких тканей в костно-фасциальных футлярах и костного мозга в косо-мозговых каналах в раннем реактивном и реактивном периодах играют весьма существенную роль в патогенезе некрозообразования при глубоких локальных холодовых повреждениях [3].

Вопросам прижизненной диагностики глубины повреждения при локальной холодовой травме посвящено много работ, однако единого метода определения глубины повреждения мягких тканей и костей в дореактивном и раннем реактивном периодах нет. Рентгенологические изменения костной ткани проявляются в довольно поздние сроки — на 25—30-е сутки после травмы [10]. Определенный интерес представляют сообщения В.И. Лиходеда, который кроме диагностических целей при ангиографических исследова-

ниях стремился выявить динамику сосудистых нарушений.

В.Д. Завадовская и В.Г. Бородулин (1981) проводили исследования с использованием радиоизотопного метода; Г.А. Орлов (1982) применял методику инфракрасной термографии; В.А. Жегалов и др. — тепловизионной термографии [2]. Особый интерес вызывает работа С.В. Семенов и др. [9], которые для диагностики глубины повреждения использовали метод гамма-сцинтиграфии костей и мягких тканей. В последние годы находят более широкое применение методы компьютерной томографии, магнитно-резонансной томографии, ультразвуковое исследование [3]. Однако использование перечисленных методов для диагностики глубины повреждения при локальной холодовой травме затруднительно из-за того, что они могут быть проведены только в специализированных лечебных учреждениях, а полученные при этом результаты носят предположительный характер [5, 6].

Цель работы — изучить в эксперименте гистологические изменения в малых трубчатых костях и параоссальных тканях при отморожениях в различные периоды холодного воздействия.

Материалы и методы

Экспериментальная работа выполнена с учетом положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных», которые используются с экспериментальной и другими научными целями [12].

В качестве экспериментальных животных были использованы белые крысы 6-месячного возраста линии Вистар, со средней массой тела 250—300 г. Исследования проводили под внутримышечным кетаминным наркозом. Животные были разделены на три группы.



Первая группа — 2 особи (контрольная).

Вторая группа — 5 животных, которым вызвали отморожения конечностей путем помещения на 2 часа над морозильной камерой при температуре -20°C . Исследования проводили на 1-е и 4-е сутки.

Третья группа — 5 животных, которым вызвали отморожения IV ст. четырех конечностей путем воздействия парами жидкого азота с температурой от -120° до -140°C до снижения подкожной температуры до -10°C . Исследование проводили на 4-е сутки.

Регистрацию температурных параметров осуществляли с помощью четырехканального электронного термометра. Фрагменты конечностей животных фиксировали 10% раствором формалина в соотношении 1:10, декальцинировали в 5% растворе азотной кислоты, проводили по спиртам возрастающей крепости и заключали в целлоидин [8].

Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван Гизону. Микроскопическое исследование проведено при помощи микроскопа MC-50 ANTI-MOULD (Австрия) с фотографической регистрацией.

Результаты исследования и их обсуждение

Наблюдение за животными

Криовоздействие на стопу конечности крысы, проведенное над морозильной камерой при температуре -20°C , вызвало отморожение II ст. После прекращения холодного воздействия через 2 часа животные сворачиваются, подгибая под себя конечности, у них отмечают обильное слюноотделение (гиперсоливатация), судорожные подергивания передней брюшной стенки. Объективно: конечности цианотичны, плотные на ощупь, подвижность в суставах ограничена (дореактивный период). Через сутки после спонтанного согревания (температура в помещении $20-22^{\circ}\text{C}$) животные несколько вялые, у них отмечается повышенная жажда. Конечности резко отечны на уровне лучезапястных и голеностопных суставов, кожа пораженных участков резко отечна, синюшного цвета, блестящая (рис. 1).

Обработка стоп крыс парами жидкого азота до снижения подкожной температуры до -10°C приводила к формированию отморожений IV ст. При этом дистальные отделы нижних конечностей деревянистой плотности, цианотичны, движения в суставах отсутствуют. Животные после снятия фиксации сворачиваются в клубок, подгибают под себя конечности. После выхода из наркоза обильно пьют, у них отмечается повышенное слюноотделение, судорожное подергивания передней брюшной стенки (рис. 2).

Через сутки после холодного воздействия парами жидкого азота животное малоподвижно, верхние и нижние лапки поджаты к животу, конечности цианотичны, холодные на ощупь, не-

сколько уменьшены в объеме. Движение в суставах вызывает болезненность (ранний реактивный период).

Гистологические исследования

Контрольные животные. Исследовали кости стопы крыс и прилежащие мягкие ткани. По структурной организации плюсневая кость крыс имеет строение, характерное для длинных костей, — состоит из метафизарных отделов и диафиза. В области метафизов располагается губчатая костная ткань, формирующая мелкопетлистую сеть из костных трабекул. Плотность остеоцитов на поверхности костных трабекул высокая. Клетки располагаются в узких лакунах, имеют небольшое ядро, окруженное слабобазофильной цитоплазмой. Межтрабекулярные пространства заполнены красным костным мозгом. Зона роста узкая, четкой дифференцировки на зоны не обнаруживается. Суставной конец кости покрыт узкой полоской суставного хряща. На поперечном срезе в диафизе плюсневой кости определяются узкие наружные и внутренние генеральные пластинки. Остеонный слой узкий, неравномерный, в нем выявляются единичные остеонные конструкции.

Надкостница, покрывающая кость, представлена фиброзным слоем, между коллагеновыми



Рис. 1. Участок криопоражения через сутки после повреждения (ранний реактивный период)

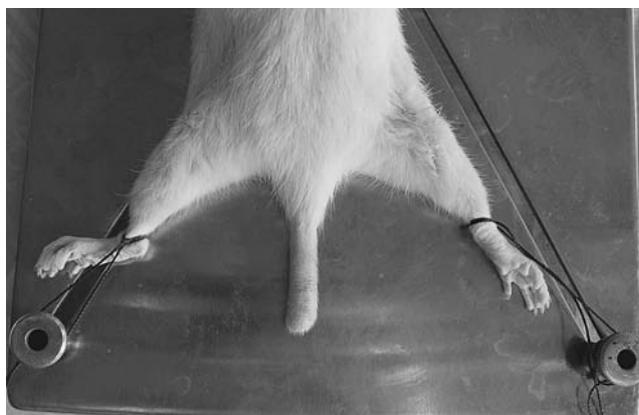


Рис. 2. Конечности после криообработки парами жидкого азота (дореактивный период)

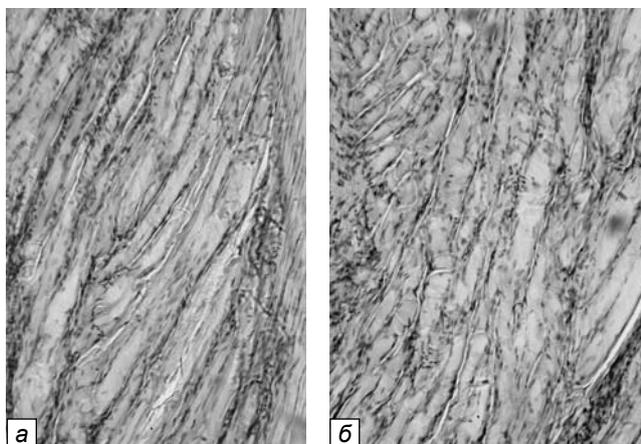


Рис. 3 а, б. Деструкція м'язових волокон. Разриви, нерівномірність товщини м'язових волокон, відсутність поперечної исчерченості, розташування ядер в центрі волокон. Гематоксилин і еозин. $\times 100$.

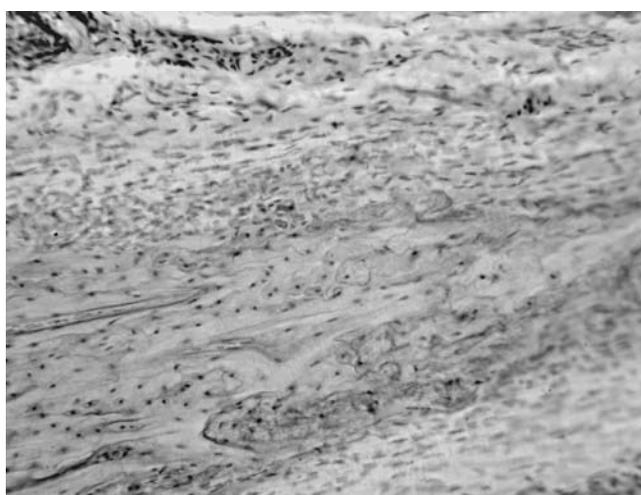


Рис. 4. Участок компактної кістки. Генерації кісткового речовини, обломочні структури остеонів. Нерівномірні базофільні лінії склеювання. Проліферація остеобластів в надкостниці. Гематоксилин і еозин. $\times 100$

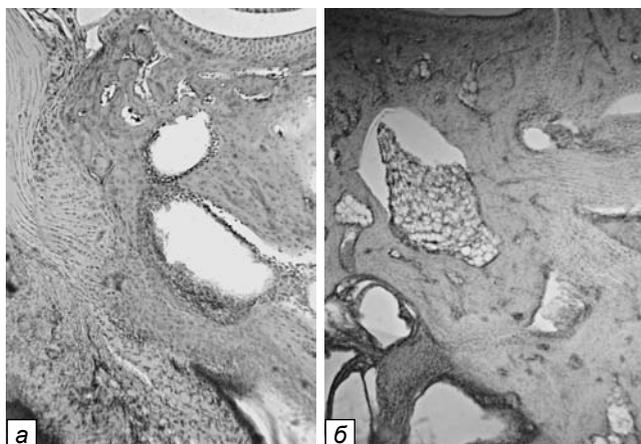


Рис. 5 а, б. Кистоподібні порожнини в кістці. Деструкція кісткового мозку. Гематоксилин і еозин. $\times 100$.

пучками виявляються єдиничні фібробласти. Остеобластический шар відсутній. Лише на невеличких ділянках на поверхні кістки між фіброзним шаром розташовані клітини остеобластического диферона. Кровоносні суди капілярного типу єдиничні. К надкостнице прикріплюються сухожилля м'язів і зв'язки, причому сухожилля пучки прямо переходять в колагенові пучки надкостниці.

Подрібне розглядання гистологічної структури нормальної плюсневої кістки миші необхідно для правильного трактування змін в гистологічних препаратах, отриманих в результаті експериментальних досліджень.

1 серія експеримента

1-е сутки після криовоздействия. При гистологічному дослідженні во другій підгрупі експериментальних тварин (ранній реактивний період) виявлена деструкція параоссальних тканин. Надкостниця розпушена, набута, колагенові волокна з надірвами і контрактурними змінами, фібробласти з лізисом ядер.

В прилеглих м'язах м'язові волокна також з ознаками контрактурних порушень і надірвків нерівномірної товщини. На ділянках відсутня поперечна исчерченість. Ядра розташовані в центральній області м'язових волокон (рис. 3 а, б). Більшість ядер були лізовані або мали ознаки пікнозу і каріорексису. Проникність стінок капілярів порушена, про що свідчать ділянки геморагії. Мав місце стаз.

Зміни в кістковій тканині носять реактивний характер — в крайових відділах кістки виявляються порожні лакуни і остецити з лізисом ядер і деструкцією цитоплазми.

4-е сутки після криовоздействия. В надкостниці немає чіткої диференціації на шари. Пучки колагенових волокон розташовані нерівномірно, розпушені, нерівномірно забарвлені, що свідчить про порушенні тинкторіальних властивостей. Фібробласти в поверхневих ділянках надкостниці з пікнотичними ядрами. Наряду з слабо вираженими деструктивними порушеннями присутні ділянки проліферації фібробластів як відображення репаративного процесу. Остеогенний шар широкий, має місце проліферація остеобластів, розташованих на поверхні кістки в вигляді обширних скоплень.

На ділянці компактної кістки в області зовнішніх генеральних пластинок виявляються напластування кісткової тканини, розділені слабобазофільними лініями цементації. К таким ділянкам належали обломочні структури остеонів. Кісткові судинні канали мають базофільні стінки. Ділянки гомогенізації матрикса кістки представлені невеличкими бесклеточними ділянками (рис. 4).



2 серия эксперимента

4-е сутки после криовоздействия. При изучении микропрепаратов крыс локального криовоздействия парами жидкого азота (реактивный период) выявлены выраженные деструктивные изменения как в параоссальных тканях, так и в области кости (рис. 5 а, б). Кожа имеет выраженную базофильную окраску. Клетки в ней отсутствуют, что свидетельствует о деструкции. Рыхлая соединительная ткань, небольшие поля мышечной ткани с выраженными деструктивными нарушениями клеток и межклеточного вещества. В кости обнаруживаются резорбционные полости с остатками клеточного детрита, костный мозг в них отсутствует или в виде небольших деструктивных очагов обнаруживается в краевых отделах полостей. Остеоциты, прилежащие к таким областям, с пикнозом ядер.

Несмотря на то, что в капсуле сустава, как в синовиальном слое, так и подлежащем фиброзному слою выявлены деструктивные нарушения, однако на основном массиве суставного хряща плотность хондроцитов высокая. Участки с лизированными хондроцитами обнаруживаются только в краевых отделах суставной поверхности, в областях, прилежащих к завороту капсулы.

Таким образом, экспериментально моделированное холодовое воздействие на конечности крыс приводит к формированию деструктивных изменений в кости и мягких тканях, что влечет за собой нарушение общего состояния экспериментальных животных.

Выводы

1. Холодовое воздействие на конечности животных, фиксированных над морозильной камерой при температуре -20°C с экспозицией 2 часа, приводит к формированию реактивных деструктивных нарушений. Гистологические изменения в области параоссальных тканей и костей конечностей в этой группе имеют обратимый характер.

2. Локальное криовоздействие парами жидкого азота на конечности до снижения подкожной температуры до -10°C приводит к формированию выраженных деструктивных нарушений на 4-е сутки после воздействия низкой температуры, что проявляется нарушением организации как костной, так и параоссальных тканей.

Полученные экспериментальные данные в перспективе могут быть использованы в клинике для выбора правильной тактики хирургического лечения больных с глубокими локальными холодовыми повреждениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьева Т.Г. Холодовая травма. 2. Отморожения / Т.Г. Григорьева // Международный медицинский журнал. — 2001. — Т.7, №2. — С. 42—47.
2. Жегалов В.А. Опыт лечения местной холодовой травмы в Российском ожоговом центре / В.А. Жегалов, А.В. Воробьев, С.П. Перетягин // Комбустиология. — 2000. — №3. — С. 1—5.
3. Киреев А.А. Регенерация костной ткани при холодовой травме в условиях лечения изотиорбамином: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.00.22 «Травматология и ортопедия» / А.А. Киреев. — 2006. — 23 с.
4. Коваленко В.Н. Остеоартроз / В.Н. Коваленко, О.П. Борткевич. — Киев: Морион, 2005. — 592 с.
5. Корж Н.А. Остеоартроз / Н.А. Корж, Н.В. Дедух, И.А. Зупанец. — Харьков: Золотые страницы, 2007. — 424 с.
6. Попов С.В. Вопросы этиологии, патогенеза, клиники и лечения местной холодовой травмы / С.В. Попов, В.А. Кузнецов // Комбустиология. — 2004. — №20 — 21. — С. 1—6.
7. Панков Е.Я. Структурные изменения клеток и межклеточного вещества суставного хряща при действии экстремальных низких температур / Е.Я. Панков, С.В. Малышкина, Н.В. Дедух // Ультразвук и криогенный метод в оперативной ортопедии: сб. научн. тр. — Саратов, 1985. — С. 25—33.
8. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника: руководство [для врачей и лаборантов] / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перов. — М.: Медицина, 1996. — 542 с.
9. Гамма-сцинтиграфия в диагностике степени отморожения / С.В. Семенова, В.В. Божедонов, Г.Н. Никулина, Р.З. Алексеев // Тез. докл. 3-й науч. конф. по проблеме «Холодовая травма». — СПб, 18 апреля 2002 г. — СПб, 2002. — С. 65—67.
10. Сатыбалдыев В.М. Ранняя диагностика и прогнозирование степени отморожения конечности / В.М. Сатыбалдыев // Вестник хирургии. — 2003. — №1. — С. 46—48.
11. Холодовая травма / А.П. Чадаев, С.В. Свиридов, А.Д. Климиашвили [и др.] // Российский медицинский журнал. — 2005. — №5. — С. 20—23.
12. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Council of Europe. Strasburg. 18.III.1986. — №123. — 52 p.



ЗМІНИ КІСТОК
І ПАРАОСАЛЬНИХ
ТКАНИН ПРИ ЛОКАЛЬНІЙ
ХОЛОДОВІЙ ТРАВМІ

О. М. Хвисяук, Г. А. Олійник

Резюме. У роботі вивчено гістологічні зміни в кістковій тканині експериментальних тварин із локальними холодовими ушкодженнями. Кріовплив здійснювали, використовуючи морозильну камеру з температурою -20°C і шляхом впливу на кінцівки парами рідкого азоту до зниження підшкірної температури до -10°C . Місцева холодова дія на кінцівки з експозицією 2 год над морозильною камерою призводить до формування відморожень II ст. Обробляння кінцівок парами рідкого азоту призводить до формування відморожень IV ст. Гістологічні зміни кісткової тканини при відмороженнях II ст. мають зворотний характер. Відмороження IV ст. спричиняють значні зміни кісткової тканини в ранні строки після травми і мають незворотний характер.

Ключові слова: *відмороження, гістологія кісток, експериментальні тварини.*

CHANGES IN BONE
AND SURROUNDING TISSUES
IN LOCAL COLD INJURY
IN THE EXPERIMENT

A. N. Khvisyuk, G. A. Oleynik

Summary. In this study there have been defined histological changes in osseous tissue of experimental animals with local cold injuries of extremities. Cryotherapy was done with the freezing chamber at temperature -20°C and the extremities were steamed by liquid nitrogen with reduction of subcutaneous temperature to -10°C . Local cold exposure of extremities for 2 hours above the freezing chamber leads to the frostbites of II degree. Processing of extremities by steaming with liquid nitrogen facilitates the frostbites of IV degree. Histological changes of osseous tissue in the frostbites of II degree are reversible. The frostbites of IV degree cause significant changes of osseous tissue in early period after injury, and they are irreversible.

Key words: *frostbites, histology of bones, experimental animals.*