Ukr_Hels_1_11.qxd 19.04.2011 23:44 Page 93

УДК 616-001.17-092:572.7

ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ОПІКОВІЙ РАНІ

П.С. Кризина, О.В. Письменна (Київ)
Київський медичний університет Української асоціації народної медицини

Резюме. *Дослідження патоморфологічних змін у термічних опікових шкірних ранах III ступеня проведено на 40 білих щурах-самцях з масою тіла 180–220 г. Встановлено, що в I фазі ранового процесу в шкірі розвиваються структурні зміни, які свідчать про: зниження захисних і бар'єрних властивостей; порушення мікроциркуляції; зростання міжепітеліальних проміжків; зменшення щільності десмосомальних контактів; збільшення кількості тучних клітин; наявність стазу еритроцитів у судинах гемомікроциркуляційного русла; зниження об'ємної щільності мікропіноцитозних везикул в ендотеліоцитах кровоносних капілярів. Корекція опікової рани за допомогою «Фероклею» має протекторний вплив на бар'єрні якості шкіри та обмінні процеси між ендотеліоцитами кровоносних, лімфатичних капілярів та інтерстицією протягом усього періоду загоєння опікових ран. Підвищений вміст мікропіноцитозних везикул у цитоплазмі лімфатичних капілярів за різних умов загоєння ран свідчить про збереження лімфатичного дренажу в шкірі в післяопіковий період. Застосування «Ферроклею» для місцевого лікування термічних опікових ран III ступеня сприяє поліпшенню ефективності процесу їх загоєння.*

Ключові слова: *опікова рана, рановий процес, мазь «Офлокаїн-Дарниця», «Фероклей».*

Незважаючи на значні успіхи у вивченні патогенезу опікової травми, застосуванні нових ефективних медичних технологій діагностики і лікування, проблема термічних опіків шкіри є надзвичайно актуальною [8]. Актуальність проблеми підтверджується збільшенням опікових травм, які є невід'ємним компонентом масових комбінованих пошкоджень населення при виникненні природних, техногенних катастроф і військових дій, а також у побуті і на підприємстві.

Серед причин смертності пацієнтів є опіковий шок, ендотоксемія і системна запальна реакція [9;10]. У зв'язку з тим, що токсичні речовини виводяться через початкові відділи лімфатичного регіону [3], в основі терапії опікових хворих, для профілактики ускладнень, мають бути заходи, які передбачали б корекцію системних порушень гомеостазу та оптимізували процеси загоєння опікових ран [2].

Тому при термічних опіках шкіри слід використовувати такі лікарські засоби, які впливали б на ці процеси. До таких лікарських засобів відносяться сорбційні матеріали [5], які прискорюють процеси очищення опікових ран від гнійного і некротичного вмісту, детоксикації та посилюють імунологічну функцію, що сприяє зниженню інтоксикації організму та швидкому загоєнню опікових ран [6].

У медичній практиці приділяють достатньо уваги структурі та функції шкіри в нормі і при патології, однак немає даних про структурно-функціональний стан епідермісу, гіподерми і гемомікроциркуляційного русла (ГМЦР) у післяопіковий період. Тому його вивчення може бути маркером стану, викликаного опіковою травмою шкіри.

Мета роботи – вивчити мікроструктуру шкіри і гемомікроциркуляційного русла в умовах норми, після термічного опіку, при спонтанному загоєнні і при корекції опікової рани.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 40 статевозрілих білих щурах-самцях масою тіла 180–220 г, дотримуючись принципів гуманного ставлення до тварин, викладених у директиві Європейського товариства (86/609/EEC) і Хельсінській декларації. Під ефірним наркозом щурам голили шкіру в міжлопатковій ділянці площею 4 см^2 і наносили опіки III ступеня за допомогою сконструйованого приладу [1]. Тварин поділили на 4 групи (по 10 щурів у кожній). До контрольної групи увійшли інтактні тварини (їм не робили термічний опік). Решту щурів поділили на 3 дослідні групи: перша – після нанесеного термічного опіку тварин не лікували взагалі; друга – тварин не лікували традиційними методами (на опікову поверхню наносили мазь «Офлокаїн-Дарниця»), цим тваринам робили щоденну перев'язку (виконуючи рекомендації місцевого лікування опікових ран); третя – тваринам на опікову поверхню наносили «Фероклей» [2], змінювали його при значному накопи-

Ukr_Hels_1_11.qxd 19.04.2011 23:45 Page 94

ченні ранових виділень або при «відривах». Щурів виводили з експерименту шляхом передозування ефірного наркозу через 3, 7, 14, 21 і 30 діб після нанесення опіку.

Для електронномікроскопічних досліджень шматочки шкіри подрібнювалися до 1 мм^3 та фіксувалися у 2-процентному розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері при pH 7,2–7,4 протягом 18–24 год. [7]. Дофіксація проводилася в 1-процентному розчині тетраокису осмія за Міллонінгом протягом 1 год., після чого дегідратувалася в етанолах з підвищенням концентрації (50–100)^0 за методом [4]. Потім шматочки тканини оброблялися ацетоном у суміші 1:1 з епоном 812 і аралдит протягом 18–24 год. Після цього ці шматочки переносилися в поліетиленові капсули з епоном 812 і аралдитом та полімеризувалися за температури 35; 45; 60°С протягом 12–18 год. (при кожній температурі). Отримані блоки різалися на ультрамікротомі ЛКБ – 8801А. Зрізи товщиною до 200Å фарбувалися толуїдиновим синім і розглядалися під оптичним мікроскопом. У подальшому виготовлялися ультратонкі зрізи товщиною (500–700Å) і переносилися на електролітичні сіточки без підкладок, контрастувалися цитратом свинцю за Рейнольдсом та уранил-ацетатом. Зрізи розглядалися і фотографувалися в електронному мікроскопі ЕМВ 100-АК при прискореній напрузі 75 кВ та збільшенні в діапазоні 7–30 тис. разів.

Для електронногістохімічних досліджень активності АТФ-ази шматочки тканини фіксувалися у 2-процентному розчині глютаральдегіду на 0,1 М какодилатному буфері при pH 7,3–7,4 протягом 1 год. за температури 0–4оС [12], для виявлення активності лужної фосфатази використовувався свинцевий метод [11].

Морфологічні дослідження проводилися відповідно до методів, опублікованих у вітчизняних і закордонних роботах (Автандилов Г.Г., 1990; Шкурупий В.А., Самойлов К.О., Верещагина Г.Н., 2001; Weibel E.R., 1979).

Крім цього, застосовувалися інші методи: клініко-візуальне спостереження за станом тварин і перебігом ранового процесу (поведінка тварин, ступінь набряку та гіперемії шкіри і тканинних структур рани та її оточення, терміни очищення рани від гнійно-некротичного вмісту, терміни початку формування грануляційної тканини, епітелізації та загоєння); гістологічні: фарбування гістологічних зрізів гематоксиліном і еозином, за Ван Гізоном.

Результати дослідження та їх обговорення

Вперше методами світлової, електронної мікроскопії встановлено, що при термічних опіках шкіри III ступеня в мікрорайоні шкіри розвиваються деструктивні зміни, вираження яких відповідає активності ранового процесу. Виявлено, що аплікації «Фероклеєм» на опікову рану, після термічного опіку шкіри, сприяли розвитку структурних ознак запальної дії, яка супроводжувалася збільшенням кількості нейтрофілів, макрофагів і тучних клітин, зменшенням набряку інтерстиції, збільшенням периваскулярних просторів, зменшенням наявності тромбів і стазу еритроцитів у просвітах судин ГМЦР.

Структурна організація шкіри щурів інтактної групи

У структурі шкіри цих щурів спостерігалися колагенові волокна в інтерстиції, помірна кількість мікросудин ГМЦР. Просвіти кровоносних і лімфатичних капілярів були вузькими. Відмічалася незначна кількість фібробластів, тучних клітин і макрофагів. В епідермальному шарі шкіри клітини розташовані щільно. Спостерігалася незначна кількість десмосом, електроннощільні інтерстиціальні простори, вузькі просвіти судин ГМЦР, електроннощільні периваскулярні простори, добре виражені мікропіноцитозні везикули в цитоплазмі ендотеліоцитів лімфатичних капілярів.

Структурна організація шкіри щурів після термічного опіку при спонтанному загоєнні опікової рани

Через три доби після термічного опіку в шкірі тварин розширилися просвіти судин ГМЦР зі стазом еритроцитів в їх просвітах, збільшилася кількість тучних клітин у переваскулярних просторах.

У дерматоцитів «шипуватого» шару шкіри спостерігалися збільшення розмірів міжклітинних просторів. В ендотеліоцитах кровоносних капілярів знизилася об'ємна густина мітохондрій, а в лімфатичних капілярах зменшилася товщина ендотеліального шару, з'явилися міжендотеліальні контакти відкритого типу і набряк переваскулярного простору. В дерматоцитах «шипуватого» шару шкіри розміри міжепітеліальних просторів збільшилися на 7-му і 14-ту доби і збільшилися – на 21-му і 30-ту доби дослідження.

Як зазначалося вище, після термічного опіку на шкірі формувався коагуляційний некроз епідермісу і дерми, в гіподермі спостерігались явища набряку. Структурні ознаки стану опікової рани свідчать про опік III ступеня.

Лімфатичні капіляри в межах опікової рани шкіри формували петлі, їх просвіти значно розширені, спостерігалося порушення структур ендотеліоцитів лімфатичних капілярів, що було морфологічним критерієм порушення відтоку лімфи і формування набряку. Все це свідчить, що при модельованих опікових шкірних ранах формуються ознаки розвитку ендотоксикозу і системної запальної відповіді.

Ukr_Hels_1_11.qxd 19.04.2011 23:45 Page 95

Таким чином, після термічного опіку шкіри в шкірному мікрорайоні розвивалися структурні зміни, які свідчили про зниження її бар'єрної функції і порушення мікроциркуляції, а ознаки стану ендотеліоцитів лімфатичних капілярів – про підвищення їх дренажної функції.

Структурна організація шкіри після термічного опіку в умовах лікування опікової рани маззю «Офлокаїн-Дарниця»

Через три доби після термічного опіку шкіри при аплікації мазі «Офлокаїн-Дарниця» на опікову рану розширилися просвіти мікросудин ГМЦР, збільшився вміст тучних клітин – ініціаторів запальної реакції, збільшилася кількість макрофагів і нейтрофілів в інтерстиції.

Між дерматоцитами «шипуватого» шару шкіри збільшилися міжендотеліальні простори. Десмосомальні контакти знизилися на 3-тю і 7-му доби дослідження.

На 7-му, 14-ту, 30-ту доби зменшилася кількість густини вільних полісомальних рибосом і зросла об'ємна густина мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулума.

При дослідженні динаміки змін структури ендотеліоцитів кровоносних капілярів спостерігалося зниження об'ємної густини мікропіноцитозних везикул усіх типів на 7-му добу. На 14-ту добу знизилися базальні мікропіноцитозні везикули. До 30-ї доби величини об'ємної густини мікропіноцитозних везикул не відрізнялись від відповідних параметрів у тварин контрольної групи.

Застосування мазі «Офлокаїн-Дарниця» для місцевого лікування термічних опікових ран створює умови для розвитку системної запальної відповіді на рівні шкіри шляхом зростання вмісту нейтрофілів, макрофагів і тучних клітин в інтерстиції, формування тромбів у судинах ГМЦР, порушення мікроциркуляції, які були більш явними, ніж при спонтанному загоєнні опікових ран шкіри, і до кінця експерименту структура шкіри повністю не відновлюється. На місці опікової рани формується груба рубцева тканина синьо-фіолетового кольору, яка має нерівну поверхню і випинає над рівнем оточуючої шкіри. Це доводить, що в умовах корекції опікової рани при традиційному місцевому лікуванні структурні зміни у шкіри, в післяопіковому періоді, менші, ніж при спонтанному загоєнні опікової рани.

Структурна організація шкіри після термічного опіку в умовах корекції «Фероклеєм»

При застосуванні для місцевого лікування опікових ран аплікацій «Фероклею» спостерігалися менш виражені структурні зміни в шкірі. В судинах ГМЦР не було стазу еритроцитів і нейтрофілів в інтерстиції, але відмічалася менша кількість тучних клітин. Епідермоцити «шипуватого» шару шкіри були без змін. В ендотеліоцитах лімфатичних капілярів шкіри спостерігалися найбільш виражені зміни на 3-тю добу дослідження, які характеризувалися зниженням об'ємної густини мітохондрій, мембран ГЕР. Зростала об'ємна густина люмінальних мікропіноцитозних везікул. У подальшому, впродовж усього терміну дослідження, знизилася об'ємна густина мітохондрій.

З цього можна зробити висновок, що застосування аплікацій з «Фероклеєм» на опікову рану шкіри обумовило зниження ступеня ендотоксикозу завдяки протекторній дії на бар'єрні властивості шкіри і стимулювальні дії на обмінні процеси між ендотеліоцитами судин ГМЦР та інтерстицією.

Висновки

1. Морфологічними ознаками нормального функціонування шкіри тварини є наявність електронно-густих інтерстиціальних просторів, вузьких просвітів лімфатичних і кровоносних капілярів, електронно-твердих переваскулярних просторів, наявність мікропіноцитозних везикул, які добре виявлялися, в цитоплазмі ендотеліоцитів лімфатичних капілярів.
2. Після термічного опіку III ступеня в першій фазі ранового процесу в шкірі розвиваються структурні зміни, які свідчать про зниження захисних і бар'єрних властивостей, порушення мікроциркуляції: збільшення розмірів міжепітеліальних просторів; зменшення густини десмосомальних контактів; зростання кількості тучних клітин; наявність стазу еритроцитів у судинах ГМЦР; зниження об'ємної густини мікропіноцитозних везикул в ендотеліоцитах кровоносних капілярів.
3. При застосуванні мазі «Офлокаїну-Дарниця» для місцевого лікування опікових шкірних ран у першій фазі загоєння в структурі шкіри виявлено ознаки системної запальної відповіді, пов'язаної зі збільшенням вмісту нейтрофілів, макрофагів, тучних клітин в інтерстиції, наявності тромбів у просвіті кровоносних мікросудин. У структурі епітелію шкіри збільшилися міжепітеліальні простори, а в ендотеліоцитах кровоносних капілярів знизилася об'ємна густина мікропіноцитозних везикул.
4. Корекція опікової рани шкіри за допомогою «Фероклею» виконує протекторну дію на бар'єрні властивості шкіри і стимулювальні – на обмінні процеси між ендотеліоцитами кровоносних, лимфатичних капілярів та інтерстицією впродовж усіх періодів загоєння опікової рани. За цих самих умов структурні зміни компонентів мікрорайону шкіри в післяопіковий період розвиваються менше, ніж

Ukr_Hels_1_11.qxd 19.04.2011 23:45 Page 96

при спонтанному загоєнні опікової рани і при застосуванні мазі «Офлокаїн-Дарниця».

5. Підвищений вміст мікропіноцитозних везикул у цитоплазмі лімфатичних капілярів шкіри за різних умов загоєння опікових шкірних експериментальних ран свідчить про збереження лімфатичного дренажу в шкірі в післяопіковому періоді.

Перспективи наукових досліджень

Доцільно у подальшому дослідити вплив аплікацій нових ранових ксенопротекторів на перебіг ранового процесу в опікових шкірних ранах III ступеня з метою обґрунтування їх застосування при місцевому лікуванні цієї патології.

Список літератури

1. *АС* 1491483 СССР. Устройство для моделирования дозированной ожоговой травмы / Н. И. Симорот, П. С. Кризина, Б. М. Кравчук. – Опубл. 08.04.87.
2. *Деклараційний* патент на корисну модель. Україна (UA), А 61 К 33/30, 33/34. Засіб «Фероклей» для місцевого лікування інфікованих ран шкірних покривів / М. І. Симорот, П. С. Кризина, Н. Ф. Кущевська. – № 6012; заявл. 21.06.04; опубл. 14.04.05, Бюл. № 4.
3. *Исследование* роли лимфатического дренажа в формировании процес сов воспаления и регенерации при ожоге кожи / Ю. И. Бородин, Н. П. Бгатова, Ю. М. Викторова [и др.] // Морфологические ведомости. – 2004. – № 1–2. – С. 15.
4. *Карупу В. Я.* Электронная микроскопия / В. Я. Карупу. – К.: Вища школа, 1984. – 210 с.
5. *Кризина П. С.* Аналіз впливу «Фероклею» на перебіг ранового процесу в експерименті / П. С. Кризина // Клін. анатомія та оперативна хірургія. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 58–62.
6. *Кризина П. С.* Морфофункціональна оцінка впливу «Фероклею-С» на перебіг ранового процесу при лікуванні опікових ран / П. С. Кризина // Клін. анатомія та оперативна хірургія. – 2007. – № 2 (22). – С. 65–67.
7. *Морфологическое* исследование различных органов в условиях термического ожога кожи / Н. П. Бгатова, А. В. Викторов, Ж. А. Кирина [и др.] // Актуальные проблемы морфологии: [сб. науч. трудов]. – Красноярск, 2004. – С. 36–38.
8. *Назаренко Г. И.* Раны. Повязка. Больной: [рук-во для врачей и медсестер] / Г. И. Назаренко, И. Ю. Сугурова, С. П. Глянцев. – М.: Медицина, 2002. – 469 с.
9. *Подходы* к регуляции лимфатического дренажа в условиях патологии / Ю. И. Бородин, Н. П. Бгатова, О. Ю. Павленко [и др.] // Методы общеклинической лимфологии и эндоэкологической реабилитации: материалы I научн.-практ. конф. с международным участием. – Кишинев, 2006. – Т. 2. – С. 32–34.
10. *Структурная* организация тканевых микрорайонов различных органов в условиях термического ожога кожи / О. И. Долгова, А. В. Викторов, Ж. А. Кирина [и др.] // Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса: материалы научной конференции с международным участием. – Новосибирск, 2004. – Ч. 1. – С. 153–155.
11. *The new* lead citrate method for the ultracitochemikal dtmonstration of activity of nonspecific alkaline phosphatase (orthophosphoric monoester phosphohydrolase) / H. Mayahara, H. Hirano, T. Saito, K. Ogawa // Histochemie. – 1967. – Vol. 11. – P. 88–96.
12. *Schulce W.* Elektronenmicroskopischer Nachweis von mitochondrialer Adenosintriphosphatase aktivitat in tierischen Zellen / W. Schulce, A. Wollenberger // Histochemie. – 1965. – Vol. 5. – P. 417–429.

Ukr_Hels_1_11.qxd 19.04.2011 23:45 Page 97

Патоморфологические изменения в ожоговой ране

П.С. Кризина, Е.В. Письменная (Киев)

Исследование патоморфологических изменений в термических ожоговых кожных ранах III степени проведено на 40 белых крысах-самцах с массой тела 180–220 г. Установлено, что в I фазе раневого процесса в коже развиваются структурные изменения, которые свидетельствуют о: снижении защитных и барьерных свойств; нарушении микроциркуляции; увеличении размеров межэпителиальных пространств; уменьшении плотности десмосомальных контактов; росте количества тучных клеток; наличии стаза эритроцитов в сосудах гемомикроциркуляторного русла; снижении объемной плотности микропиноцитозных везикул в эндотелиоцитах кровеносных капилляров. Коррекция ожоговой раны с помощью «Ферроклея» имеет протекторное действие на барьерные свойства кожи и обменные процессы между эндотелиоцитами кровеносных, лимфатических капилляров и интерстицией на протяжении всего периода заживления ожоговых ран. Повышенное содержание микропиноцитозных везикул в цитоплазме лимфатических капилляров при разных условиях заживления ран свидетельствует о сбережении лимфатического дренажа в коже в послеожоговом периоде. Применение «Ферроклея» для местного лечения термических ожоговых ран III степени способствует улучшению эффективности процесса их заживления.

Ключевые слова: ожоговая рана, раневой процесс, мазь «Офлокаин-Дарница», «Ферроклей».

Pathomorphology changes in a burn wound

P.S. Kryzyna, O.V. Pysmenna (Kyiv)

Research of pathomorphology changes in thermal burn dermal wounds III degrees has been made on 40 white rats-males with mass of a body of 180–220 gram. Positioned that in the first phase wound healing process in skin structural changes which testify about educe: decrease in protective and barrier properties; microcirculation infringement; augmentation of the dimensions of interepithelial spaces; density reduction of desmosomal contacts; growth of the maintenance of corpulent cages; presence of a stasis of erythrocytes in pots GMTSR; bulk density decrease micropinocytosis vesicles in endotheliocytis circulatory capillars. Correction of a burn wound by means of «Ferrokley» has protector action on barrier properties of skin and exchange processes between endotheliocytis circulatory, lymphatic capillars and intersticium throughout all season of healing of burn wounds. The raised maintenance micropinocytosis vesicles in cytoplasm of lymphatic capillars under different conditions of healing of wounds testifies to savings of a lymphatic drainage in a skin in postburn season. Application of «Ferrokley» for aboriginal treatment of thermal burn wounds III to degree promotes enriching of efficacy of process of their healing.

Key words: burn wound, wound healing process, ointment «Oflokain-Darnitsa», «Ferrokley».

Рецензент: д-р мед. наук, проф. Ю.Т. Ахтемійчук.