

УДК 615.361.018.54.014.41:616.5-001.4

*Ковалев Г.А., Ищенко И.О., Наумова О.В., Репин Н.В., Марченко Л.Н.,
Говоруха Т.П., Сандомирский Б.П.*

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕРМЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАН КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ СЫВОРОТКОЙ КОРДОВОЙ КРОВИ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков
Харьковский национальный медицинский университет

Статья посвящена исследованию возможности применения криоконсервированной сыворотки кордовой крови (КСКК) в лечении ран. Целью работы является изучение микро- и ультраструктуры холодовых ран в эксперименте. Проведено изучение морфологических признаков, характеризующих протекание раневого процесса при лечении животных с ранами КСКК и экстрактом плаценты (ЭП). Продемонстрировано, что ЭП и КСКК оказывают позитивное влияние на заживление холодовых ран. При этом, несмотря на сходное влияние ЭП и КСКК на морфогенез ран, КСКК обладает более выраженным терапевтическим эффектом. Лечение животных КСКК не сопровождается гнойно-деструктивными осложнениями, что обеспечивает более раннее возникновение и созревание молодой соединительной ткани, которое проявляется в нарастании объема волокнистых структур, снижении количества клеточных элементов и сосудов, преобладании зрелых фибробластов с типичной ультраструктурой.

Ключевые слова: раны, криоконсервированная сыворотка кордовой крови, морфологическая характеристика, дерма.

Данная работа выполнена в рамках НИР «Влияние низких температур и экстрактов сердца и селезенки на процессы некролиза и регенерации миокарда, сосудов, кожи и хряща». № государственной регистрации 0112UG03133.

Повреждения кожи и глубже лежащих тканей вследствие действия отрицательных температур возникают как при возникновении несчастных случаев, так и при медицинском применении холода. Разрушение патологических образований кожи при помощи низких температур давно известный и хорошо зарекомендовавший себя способ хирургического лечения [5,9,11]. После локального замораживания тканей наступает их отторжение, другими словами, неизбежно возникает рана, скорость заживления которой, во многом, определяет срок нетрудоспособности пациента [4,9].

Таким образом, холодовые раны являются актуальной проблемой медицины, что требует поиска путей улучшения результатов их лечения. Перспективным направлением в таком поиске может стать включение в схемы лечения холодовых ран биологически активных веществ (БАВ) естественного происхождения. В качестве перспективных источников таких веществ можно рассматривать криоконсервированную сыворотку кордовой крови (КСКК). В предыдущих исследованиях мы показали, что ее применение приводит к уменьшению микробной обсемененности и сужению спектра видового состава микроорганизмов холодовых ран, ускорению их эпителизации [1]. Однако, характер морфологических изменений, возникающих в холодовых ранах при лечении КСКК остается не изученным. Принимая во внимание то, что эпителизация раневого дефекта тесно связана с состоянием грануляционной ткани [2], морфологическое изучение дермы при моделировании холодовых ран представляется актуальным.

Цель работы – изучение микро- и ультраструктуры холодовых ран в эксперименте.

Объект и методы исследования

Работу выполняли на крысах «Сфинкс» в соответствии с требованиями комитета по биэтике ИПКиК НАН Украины, согласованными с директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 [10]. Раны моделировали на латеральной поверхности бедра, для чего использовали криоинструмент с активно охлаждаемым аппликатором ($t = -195^{\circ}\text{C}$, диаметр – 8 мм). Длительность криовоздействия составляла 60 с. Были сформированы 3 группы животных по 10 особей. В контрольной группе (КГ) крысам вводили физиологический раствор, в группе сравнения (ГС) – экстракт плаценты (ЭП) в экспериментальной группе (ЭГ) – КСКК. Схема введения соответствовала инструкции для применения медицинского иммунобиологического препарата «Криоцелл-криокорд» (ДП «Межведомственный научный центр криобиологии и криомедицины НАН, АМН и МОЗ Украины», Украина), содержащего сыворотку кордовой крови. Инъекции начинали на 3-и сутки после криодеструкции через день по 0,1 мл/кг массы тела внутримышечно (в здоровую лапу) на протяжении 9 дней. Дозировку рассчитывали, как описано в работе Ю.Р. Рыболовлева и соавт. [7]. Медицинский препарат «Экстракт плаценты» («Биофарма», Украина) приобретали в аптечной сети, КСКК (человека) была предоставлена низкотемпературным банком ИПКиК НАН Украины.

Изучение микро- и ультраструктуры ран проводили на 21-е сутки после криодеструкции. Для световой микроскопии материал фиксировали в 10%-ом растворе нейтрального формалина, подвергали спиртовой проводке и парафиновой

заливке, готовили срезы толщиной 5-6 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, дезоксирибонуклеопротейды (ДНП) выявляли реакцией по Фельгену-Россенбеку, рибонуклеопротейды (РНП) – реакцией по Браше, нейтральные гликозаминогликаны (ГАГ) – с помощью ШИК-реакции [3]. Использовали микроскоп Olympus BX-41 (Япония).

Для электронно-микроскопического исследования образцы ткани фиксировали в 3 %-м растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере Миллонига (рН 7,3–7,4) и 1 %-м растворе четырехоксида осмия [8]. После обезвоживания этанолом возрастающей концентрации и окислительным фрагменты ткани заключали в эпон-аралдит. Полутолстые срезы (0,5 мкм) окрашивали метиленовым синим и основным фуксином, исследовали под микроскопом ЛЮМАМ МП-4 (ЛОМО, Россия). Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца [8] и исследовали в электронном микроскопе ПЭМ-125К (АО «SELMi», Украина) при ускоряющем напряжении 75 кВ. Для фотографирования и анализа изображения использовали систему САИ-01А (АО «SELMi», Украина), снабженную ССD камерой DX-2 и пакетом программ фирмы «KAPPA» (Германия).

Результаты исследований и их обсуждение

В ходе микроскопического изучения холодových ран у животных, не получавших лечение, выявлено, что под струпом и новообразованным эпителием располагается непрерывный широкий пласт созревающей соединительной ткани. В глубоких отделах пласта при окраске по ван Гизон соединительная ткань представлена лежащими параллельно поверхности кожи компактными пучками фуксинофильных волокон, немногочисленными фибробластами и фиброцитами веретенообразной формы (рис. 1). Реакция на РНП в цитоплазме фибробластов умеренно, а в цитоплазме фиброцитов – слабо выражена. Реакция на ДНП в ядрах слабо выраженная или негативная.

Встречаются сосуды со склерозированной стенкой, группы мышечных волокон, нервные стволы с дистрофическими и некробиотическими изменениями окружены избыточно развитой соединительной тканью. Мышечные волокна лишены поперечной исчерченности, содержат пикнотичные ядра. Нервные стволы с утолщенной фуксинофильной капсулой. Нервные клетки с набухшей цитоплазмой, центральным, иногда тотальным, хроматолизисом или пикнозом ядер.

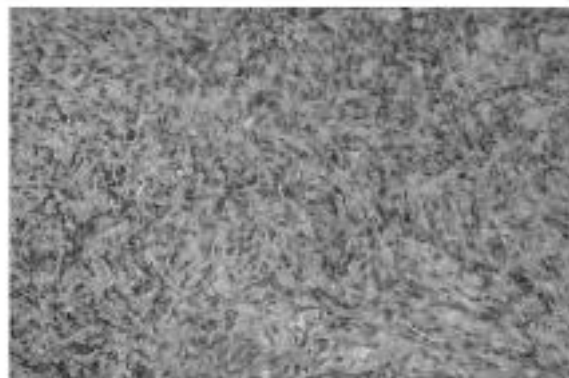


Рис. 1. Глубокий (внизу) и средний отделы зоны регенерата, КГ. Окраска по ван Гизон, $\times 200$.

В среднем отделе зоны регенерата коллагеновые волокна вытянуты нежными, умеренно фуксинофильными, образуют тонкие пучки, формируют мелкоячеистую сеть с многочисленными фибробластами, в которых отмечается выраженная реакция на РНП в цитоплазме. Встречаются немногочисленные макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты, тучные клетки. Сосуды имеют различный диаметр, расположены неравномерно. Стенка сосудов представлена ШИК-позитивной базальной мембраной, выступающей эндотелиоцитами, выступающими в просвет. Реакция на ДНП в ядрах эндотелия слабо выражена, на РНП в цитоплазме – интенсивно.

Верхний отдел зоны регенерации представлен широким пластом компактно расположенных фибробластов, врастающих в виде тяжей между сохранившимися очагами некротизированных коллагеновых волокон дермы. Здесь же визуализируются ориентированные перпендикулярно поверхности кожи тонкостенные сосуды, выстланные сочным эндотелием.

В дерме, прилежащей к пласту молодой соединительной ткани, определяются локусы пролиферации фибробластов, огрубение коллагеновых волокон (в сосочковом слое), очаги грануляционной ткани. Сетчатый слой содержит утолщенные пучки фуксинофильных коллагеновых волокон, тесно прилежащих друг к другу.

В 50% наблюдений отмечается развитие гнойно-деструктивных осложнений репаративного процесса – гнойное расплавление некротического детрита как в зоне криовоздействия, так и в очагах вторичных стромальных некрозов в прилегающих тканях (рис. 2).

Данные электронной микроскопии свидетельствуют, что в ткани дермы образцов ран КГ, взятых из зоны, граничащей с областью криоповреждения кожи, обнаруживаются макрофаги и фибробласты в различных функциональных состояниях.

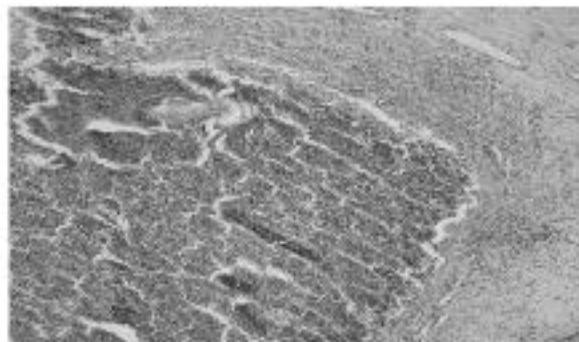


Рис. 2. Хронічний абсцес в зоні криозадакції. МГ. Окраска азематоксилином і еозином, $\times 300$

Некоторые фибробласты имеют электронноплотную цитоплазму, в которой располагаются митохондрии и ЭПР обычной структуры. Вокруг них располагаются пучки новообразованных коллагеновых фибрилл, имеющие поперечную исчерченность с характерной периодичностью. В других клетках определяются набухшие митохондрии с редуцированными кристами, ЭПР в виде сильно расширенных цистерн. Макрофаги содержат много лизосом и везикул разных размеров и электронной плотности (рис.3).

По данным световой микроскопии в препаратах кожи ГС имеет место очищение зоны криоповреждения от гнойно-некротических масс. Под эпидермальным пластом визуализируется зона регенерата. Его верхний отдел представлен широким компактным слабо фуксинофильным пластом фрагментированных коллагеновых волокон, обрывками эластических волокон.

Между волокнами определяются тяжи фибробластов и вертикально расположенные тонкостенные полнокровные сосуды, выстланные сочным эндотелием. Под эпидермисом встречаются очаговые скопления фибробластов, островки созревающей грануляционной ткани, состоящей из тонких коллагеновых волокон, заступающих сосудов, фибробластов и фиброцитов.

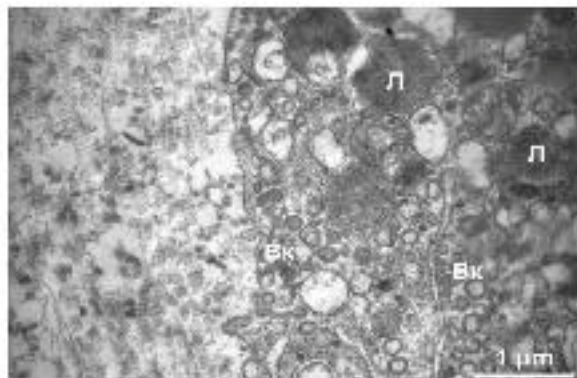


Рис. 3. Ультраструктура фрагмента макрофага (Б) в пограничной зоне дермы. МГ. Л – лизосомы; Вк – везикулы.

В среднем отделе зоны регенерата сформирована мелкая чешуйчатая сеть из умеренно фукси-

нофильных тонких пучков коллагеновых волокон, между которыми определяются компактно расположенные фибробласты с умеренно или слабо выраженной реакцией на РНП в цитоплазме (рис. 4). Встречаются немногочисленные гистиоциты, нейтрофилы, лимфоциты, тучные клетки. Сосуды имеют различный диаметр, ориентированы перпендикулярно поверхности кожи и врастают в верхний слой зоны регенерата. Стенка сосудов представлена ШИК-позитивной базальной мембраной с лежащими на ней выступающими в просвет эндотелиоцитами. Реакция на ДНП в ядрах эндотелия слабо выражена, на РНП в цитоплазме – интенсивно (рис. 4).



Рис. 4. Умеренно или слабо выраженная реакция на РНП в цитоплазме фибробластов и эндотелиоцитов в среднем отделе зоны регенерата, ГС. Окраска по Брейше, $\times 400$.

Нижний отдел зоны регенерата представлен плотными фуксинофильными пучками коллагеновых волокон, ориентированных параллельно поверхности кожи. Между ними визуализируются обрывки эластических волокон, зрелые фибробласты и фиброциты, изредка встречаются заступающие тонкостенные сосуды. Реакция на РНП в цитоплазме фибробластов умеренная или слабая, в цитоплазме фиброцитов слабо выраженная. Интенсивность реакции на ДНП в ядрах обоих типов клеток слабая. По сравнению со средним слоем плотность расположения клеток меньше.

В 30% наблюдений в глубоких отделах зоны регенерата обнаруживается очагово-диффузная лейкоцитарная инфильтрация, местами с тенденцией к формированию микроабсцессов (рис. 5).

В пограничных с зоной регенерата отделах кожи в сосочковом слое дермы наблюдается огрубление коллагеновых волокон с очаговой пролиферацией фибробластов. В сетчатом слое пучки фуксинофильных коллагеновых волокон расположены компактно, утолщены. Вокруг сосудов, мышечных волокон и нервных стволиков избыточно развита соединительная ткань. Стенки сосудов утолщены, склерозированы. Мышечные и нервные волокна с дистрофическими изменениями.



Рис. 5. Очаговая лейкоцитарная инфильтрация грануляционной ткани в глубоких отделах зоны регенерата, ГС. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

Электронно-микроскопические исследования показали, что пограничный слой дермы содержит плотную соединительную ткань, в которой большую часть составляют пучки коллагеновых и тонких эластических волокон. Часто встречаются пучки новообразованных коллагеновых фибрилл (рис. 6), среди которых располагаются горизонтально ориентированные фибробласты.

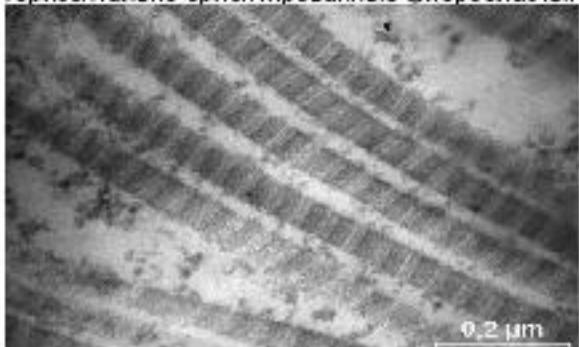


Рис. 6. Ультраструктура коллагеновых фибрилл в соединительной ткани пограничной зоны дермы, ГС.

В некоторых участках имеет место их хаотичное распределение. Для таких клеток характерна маргинальная локализация гетерохроматина в ядре, митохондрии имеют короткие кристы, цистерны ЭПР расширены и заполнены белковым содержимым средней электронной плотности.

Изучение гистологических препаратов ЭГ на свето-оптическом уровне позволило выявить сформировавшуюся непрерывную зону регенерата, с широким, компактным верхним отделом. Как и в других группах, в указанной зоне визуализируются фрагментированные коллагеновые волокна и умеренно фуксинофильные новообразованные пучки волокон, обрывки эластических волокон, между которыми определяются вертикально ориентированные сосуды, фибробласты. Однако, по сравнению с КГ и ГС, плотность фибробластов и количество сосудов уменьшается за счет нарастания содержания волокнистых структур. Под эпидермисом визуализируется созревающая грануляционная ткань с наличием заступающих сосудов, фибробла-

стов и фиброцитов, тонких пучков коллагеновых волокон.

В среднем отделе зоны регенерата умеренно фуксинофильные тонкие пучки коллагеновых волокон формируют мелкоячеистую сеть, в которой находятся вертикально ориентированные сосуды различного диаметра, продолжающиеся в вышележащие отделы регенерата (рис. 7).



Рис. 7. Средний отдел зоны регенерата. Мелкоячеистая сеть из тонких пучков коллагеновых волокон, вертикально ориентированные сосуды, продолжающиеся в вышележащие отделы регенерата, ЭГ. Окраска по ван Гизон, $\times 400$.

Сосудистая стенка с тонкой ШИК-положительной базальной мембраной, на которой располагаются эндотелиоциты со слабо выраженной реакцией на ДНП в ядре и интенсивной реакцией на РНП в цитоплазме. Клеточные элементы представлены немногочисленными мононуклеарами, компактно лежащими фибробластами с умеренно или слабо выраженной реакцией на РНП в цитоплазме и слабо выраженной реакцией на ДНП в ядре.

В нижнем отделе зоны регенерата сформирована волокнистая соединительная ткань из горизонтально ориентированных плотных фуксинофильных пучков коллагеновых волокон, между которыми встречаются обрывки эластических волокон, зрелые фибробласты и фиброциты, немногочисленные заступающие сосуды. Реакция Браше в цитоплазме фибробластов выражена умеренно или слабо, в цитоплазме фиброцитов – слабо. В ядрах обоих типов клеток интенсивность реакции Фельгена-Россенбека слабая. В сравнении со средним слоем плотность расположения клеток снижается.

В пограничных с зоной регенерата отделах под эпидермисом наблюдается огрубение коллагеновых волокон сосочкового слоя, утолщение и фуксинофилия стенки сосудов, очаговая пролиферация фибробластов. Пучки коллагеновых волокон сетчатого слоя плотные, фуксинофильные, тесно прилегают друг к другу. Сосуды с утолщенной склерозированной стенкой. Мышечные и нервные волокна с дистрофическими изменениями. Периваскулярно и периневрально вокруг групп мышечных волокон отмечаются признаки фибротизации.

Ультраструктурное исследование ран пока-

зало, что в зоне регенерата преобладали волокнистые структуры, представленные пучками коллагеновых волокон и тонкими эластическими волокнами. Среди клеточных элементов соединительной ткани преобладали зрелые фибробласты. Ядра этих клеток содержали 1-2 ядрышка глобулярно-фибриллярной природы, локализованные как правило в периферической зоне ядра, гетерохроматин распределялся вдоль кариолеммы мелкими глыбками. В цитоплазме обнаруживались типичные для этих клеток органоиды: расширенные цистерны гранулярного ЭПР, стопки цистерн и пузырьки комплекса Гольджи вблизи ядра, мелкие митохондрии с просветленным матриксом и малочисленными короткими кристами (рис. 8).

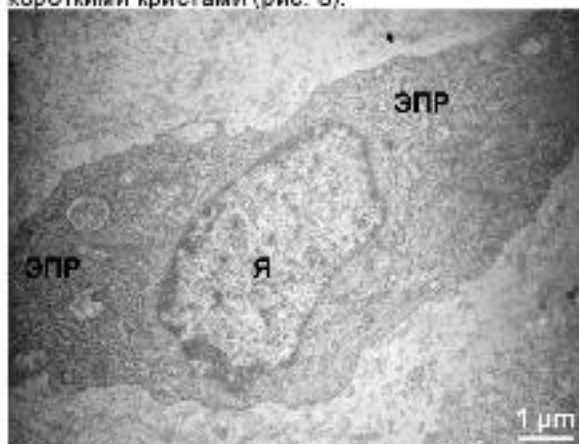


Рис. 8. Ультраструктурные элементы фибробласта пограничной зоны раны.
ЭПР – ядро; ЭПР – эндоплазматический ретикулум.

Раневой процесс условно разделяют на отдельные фазы, при этом восстановительные процессы хотя и имеют строгую последовательность, могут протекать одновременно и обычно накладываются по времени один на другой [2]. На основании полученных результатов можно заключить, что раневой процесс у животных всех групп находится в третьей фазе (эпителизации и ремоделирования рубца). Вместе с тем, в препаратах животных КГ и, в меньшей степени, – ГС одновременно с морфологическими проявлениями третьей фазы отмечаются ярко выраженные признаки первой (воспаления) и второй (пролиферации) фаз, что свидетельствует о более медленной репарации ран в этих группах.

Без лечения в 50% наблюдений репаративный процесс протекает с гнойно-деструктивными осложнениями как в зоне предшествующего криовоздействия, так и в очагах вторичных стромальных некрозов в прилегающих тканях. Тем не менее, раны очищаются от некротических масс, идет созревание грануляционной ткани (уменьшается количество сосудов и нарастает содержание волокнистых структур). Другими словами, самопроизвольное заживление холодových ран характеризуется не-

полной репаративной регенерации с формированием рубцовой ткани.

В ранах животных ГС в зоне предшествовавшей криотравмы сформирован пласт созревающей молодой соединительной ткани с признаками активной коллагенизации и запустеванием сосудов. Вместе с тем, в 30% наблюдений отмечается торможение регенераторного процесса, обусловленное развитием вторичных мелких очагов нагноения в грануляционной ткани глубоких отделов зоны регенерата.

В препаратах ЭГ преобладают признаки перестройки новообразованной соединительной ткани (нарастание содержания волокнистых структур, снижение количества клеточных элементов и сосудов). В прилежащих к зоне регенерата тканях отмечаются нерезко выраженные признаки фибротизации дермы, в отличие от предыдущих групп отсутствуют осложнения гнойно-воспалительного характера.

Таким образом, можно констатировать, что несмотря на сходное влияние ЭП и КСКК на морфологические проявления раневого процесса, КСКК обладает более выраженным терапевтическим эффектом. Лечение животных КСКК не сопровождается гнойно-деструктивными осложнениями, что обеспечивает более раннее возникновение и созревание молодой соединительной ткани. Полученные результаты косвенно подтверждают данные о более выраженном, по сравнению с ЭП стимулирующем влиянии КСКК на эпителизацию холодových ран [1].

Известно, что холодových раны заживают медленнее чем аналогичные резанные. Более длительные сроки их заживления обусловлены тем, что ткани, погибшие в результате криовоздействия, не элиминируются, следовательно, для очищения раны от некротических масс требуется больше времени. Повидимому лечение животных ЭП или КСКК приводило к более быстрой элиминации некротических тканей в ранах, сокращая таким образом время необходимое для их заживления. Такой эффект может быть связан со стимулирующим влиянием комплекса БАВ, содержащихся в ЭП и КСКК на клеточные элементы обладающие функциями макрофагов. В пользу такого предположения косвенно свидетельствуют данные, представленные в монографии Грищенко В.И. и соавторов, где описана стимуляция тканевых макрофагов (клеток Купфера и клеток микроглии головного мозга) клетками фетального мозга при алкоголь-индуцированном поражении печени и головного мозга у крыс с хроническим отравлением алкоголем [6]. Указанный эффект от введения клеток авторы связывают с их способностью синтезировать комплекс БАВ (цитокинов, ростовых факторов), которые и обладают терапевтической активностью.

Механизм, посредством которого может реализовываться влияние БАВ на фагоциты, обеспечивающие очищение раны от некротических

тканей, не ясен. Можна предположить, что системное введение, ЭП или КСКК способно оказывать как прямое влияние на процессы, протекающие в ране, так и опосредованное – реализуемое через воздействие на регуляторные системы организма. Большая терапевтическая эффективность КСКК, повидимому, объясняется более широким спектром БАВ, которые находятся в ее составе.

Выводы

Изучение микро- и ультраструктуры дермы продемонстрировало позитивное влияние ЭП и КСКК на заживление холодовых ран в эксперименте. При этом, несмотря на сходное влияние ЭП и КСКК на морфологические проявления раневого процесса, КСКК обладает более выраженным терапевтическим эффектом. Лечение животных КСКК не сопровождается гнойно-деструктивными осложнениями, что обеспечивает более раннее возникновение и созревание молодой соединительной ткани, которое проявляется в нарастании объема волокнистых структур, снижении количества клеточных элементов и сосудов, преобладании зрелых фибробластов с типичной ультраструктурой.

Перспективы дальнейших исследований

Полученные результаты могут послужить основой для проведения исследований по изучению влияния БАВ естественного происхождения на раневую процесс.

Литература

1. Ковалев Г.А. Влияние криоконсервированной сыворотки кордовой крови и экстракта плаценты на заживление холодовых ран / Г.А. Ковалев, И.П. Високинец, И.О. Ищенко [и др.] // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2015. – Т. 25, № 1. – С. 67–68.
2. Клиническая хирургия: национальное руководство: в 3 т. – Т. 1. / Под ред. В.С. Савельева, А.И. Кривенко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 864 с.
3. Козhevский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Козhevский, А.В. Гиларов. – СПб.: СпецЛит, 2010. – 95 с.
4. Шаfranov В.В. Механизм разрушения биологических тканей при локальной криодеструкции / В.В. Шаfranov, Е.Н. Борханова, М.А. Костылев [и др.] // Вестник Российской академии естественных наук. – 2012. – № 1. – С. 68–76.

5. Pomerancev O.N. Krioplennyi metod lechenia dobrokachestvennykh obrazovaniy v dermatovenerologii / O.N. Pomerancev // Vestnik poslediplomnogo medicinskogo obrazovaniya. – 2011. – № 4. – С. 70–73.
6. Regenerativno-plasticheskaia terapiia alkoholnykh vscerodati / V. I. Grishchenko, G. A. Kovalov, A. Ju. Petrenko [i dr.] – K.: Naukova dumka, 2010. – 151 s.
7. Rybalovlev Ju.R. Dozrovanie veshestv dlia mikrookhaluzhnykh so konstante biologicheskoj aktivnosti / Ju.R. Rybalovlev, R.S. Rybalovlev // Zhurnal dokladov AN SSSR. – 1979. – T. 247, № 8. – С. 1513–1518.
8. Uklil B.C. Elektronnaja mikroskopija dlia nachnajušinyh / B.C. Uklil. – M.: Mir, 1975. – 324 s.
9. Andrews M.D. Cryosurgery for common skin conditions / M.D. Andrews // Am. Fam. Physician. – 2004. – Vol. 69, № 10. – P. 2385–2372.
10. Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. – 2010. – L 276. – P. 33–78.
11. Zimmerman E. Cutaneous cryosurgery / E. Zimmerman, P. Crawford // Am. Fam. Physician. – 2012. – Vol. 86, № 12. – P. 1118–1124.

References

1. Kovalov G.A. Vlianiie kriokonservirovannoi siverotki korodovoi krovi i ekstrakta placenty na zazhivlenie holodovoh ran / G.A. Kovalov, I.P. Visekancev, I.O. Ishchenko [i dr.] // Problemy kriobiologii i kriomeditsiny. – 2015. – T. 25, № 1. – S. 67–68.
2. Klinicheskaia khirurgia: natsionalnoe rukovodstvo: v 3 t. – T. 1. / Pod red. V.S. Savel'eva, A.I. Krivenko. – M.: GEOTAR-Media, 2008. – 864 s.
3. Kozhevskii D.E. Osnovy gistologicheskoi tekhniki / D.E. Kozhevskii, A.V. Giljarov. – SPb.: SpetsLit, 2010. – 95 s.
4. Shafranov V.V. Mekanizm razrusheniia biologicheskikh tkanej pri lokal'noi kriodestrukcii / V.V. Shafranov, E.N. Borhanova, M.A. Kostylev [i dr.] // Vestnik Rossijskoi akademii estestvennykh nauk. – 2012. – № 1. – S. 68–76.
5. Pomerancev O.N. Krioplennyi metod lechenia dobrokachestvennykh obrazovaniy v dermatovenerologii / O.N. Pomerancev // Vestnik poslediplomnogo medicinskogo obrazovaniia. – 2011. – № 4. – S. 70–73.
6. Regenerativno-plasticheskaia terapiia alkoholnykh vscerodati / V. I. Grishchenko, G. A. Kovalov, A. Ju. Petrenko [i dr.] – K.: Naukova dumka, 2010. – 151 s.
7. Rybalovlev Ju.R. Dozrovanie veshestv dlia mikrookhaluzhnykh so konstante biologicheskoj aktivnosti / Ju.R. Rybalovlev, R.S. Rybalovlev // Zhurnal dokladov AN SSSR. – 1979. – T. 247, № 8. – S. 1513–1518.
8. Uklil B.C. Elektronnaja mikroskopija dlia nachnajušinyh / B.C. Uklil. – M.: Mir, 1975. – 324 s.
9. Andrews M.D. Cryosurgery for common skin conditions / M.D. Andrews // Am. Fam. Physician. – 2004. – Vol. 69, № 10. – P. 2385–2372.
10. Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. – 2010. – L 276. – P. 33–78.
11. Zimmerman E. Cutaneous cryosurgery / E. Zimmerman, P. Crawford // Am. Fam. Physician. – 2012. – Vol. 86, № 12. – P. 1118–1124.

Реферат

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕРМИ ПРИ ЛІКУВАННІ РАН КРІОКОНСЕРВОВАНОЮ СИРОВАТКОЮ КОРДОВОЇ КРОВІ

Ковальов Г.О., Іщенко І.О., Наумова О.В., Релін М.В., Марченко Л.М., Говоруха Т.Л., Сандомирський Б.П.

Ключові слова: рани, криоконсервована сироватка кордової крові, морфологічна характеристика, дерма.

Стаття присвячена дослідженню можливості застосування криоконсервованої сироватки кордової крові (КСКК) в лікуванні ран. Метою роботи є вивчення мікро- і ультраструктури холодових ран в експерименті. Проведено вивчення морфологічних ознак, що характеризують протікання раневого процесу при лікуванні тварин з ранами КСКК і екстрактом плаценти (ЕП). Продемонстровано, що ЕП і КСКК мають позитивний вплив на загоєння холодових ран. При цьому, не дивлячись на схожий вплив ЕП і КСКК на морфогенез ран, КСКК має більш виражений терапевтичний ефект. Лікування тварин КСКК не супроводжується гнійно-деструктивними ускладненнями, що забезпечує більш ранню появу і виарівання молоді сполучної тканини, яке проявляється в наростанні об'єму волокнистих структур, зменшенні кількості клітинних елементів і судин, переважанні зрілих фібробластів з типовою ультраструктурою.

Summary

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF DERMIS IN TREATING WOUNDS WITH CRYOPRESERVED CORD BLOOD SERUM

Kovalov G.A., Ishchenko I.O., Naumova O.V., Repin N.V., Marchenko I.N., Govorukha T.P., Sandomirsky B.P.

Key words: wound, cryopreserved cord blood serum, morphological characteristics, dermis.

The paper describes the potential in using cryopreserved cord blood serum (CCBS) to treat the wounds. The research aim was to study micro- and ultrastructure of modelled cold wounds. We studied the morphological features characterizing the course of wound healing in animals with CCBS and placenta extract (PE). It has been demonstrated that PE and CCBS positively affect the healing of cold wounds. At the same time, in spite of the similar influence of PE and CCBS on morphogenesis of wounds the CCBS has more pronounced therapeutic effect. The treatment of animals with CCBS is not accompanied by purulent destructive complications that enhance earlier formation and maturation of young connective tissue and results in the growth of fibrous structures, reduction in the number of cell elements and vessels, the predominance of mature fibroblasts of typical ultrastructure.

УДК 616.133 – 091.51.8

Кузик Ю.І., Максимчук Є.Ю.

ПОСМЕРТНА ДІАГНОСТИКА ПАТОЛОГІЇ СОННИХ АРТЕРІЙ: МЕТОД ВИГОТОВЛЕННЯ КОРОЗІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Сучасні методи морфологічних досліджень судин ший значною мірою опираються на класичні методи: ін'єкція судинного русла різноманітними сумішами та метод корозії. Мета роботи – вдосконалити спосіб виготовлення корозійних препаратів шляхом корекції складових наливочної маси для виготовлення препаратів екстракраніальної частини сонних артерій, що точно б відображували їх та розміри судини, мали б стійкість до умов зовнішнього середовища та могли використовуватися із науковою метою. У виділену із трупа сонну артерію проводили наливку застигаючої маси, що містила полімер Протакрил-М, мономер АКР-7, червоний баренік Шарлах-Р та дибутилфталат, потім проводити руйнування тканин (корозія) препарату із наступною зануренням у содовий розчин для нейтралізації соляної кислоти. Для підтвердження ефективності запропонованого способу було виготовлено 20 корозійних препаратів сонних артерій, результати яких підтвердили доцільність використання запропонованої наливочної маси, що повністю відтворює параметри судини. Пропонований спосіб посмертної діагностики дає змогу виявити аномалії розмірів та положення судин, наявність додаткових гілок та колатералей. Це допомагає визначити наявність патологічних змін ступінь атеросклеротичного стенозу.

Ключові слова: корозійні препарати, сонні артерії, наливочна маса

Вступ

Дослідження сонних артерій є важливим питанням судинної патології. Доведено, що біля 70% порушень мозкового кровообігу пов'язане із хворобами сонних артерій. Серед екстракраніальної патології найчастішими захворюваннями є атеросклероз, патологічні деформації, фібром'язова дисплазія та їх поєднання. Прижиттєва діагностика вище перелічених хвороб здійснюється шляхом проведення соннографії, ангіографії, комп'ютерної томографії та інших методів візуалізації, що дозволяють доволі точно діагностувати патологію та ступінь судинного ураження [2,4,17]. Посмертна діагностика захворювань сонних артерій проводиться під час розтину та в процесі подальшого патоморфологічного дослідження. Сучасні методи морфологічних досліджень судин ший значною мірою опираються на класичні методики: ін'єкція судинного русла різноманітними сумішами та метод корозії. Метод виготовлення корозійних препаратів полягає в тому, що після наливки застигаючими масами

судини, тканина судинної стінки розрихлюється і руйнується (корозується), а потім вимивається протічною водою. Після такої обробки препарату залишається зліпок внутрішнього просвіту судин чи порожнин [6,8,10]. Метод вперше був застосований Сваамердамом в 1672 р., Ф. Рюйшом в 1701р. та Н.Либеркюном в 1758 р. І.В. Буяльський довгий час займався питанням виготовлення і вивчення корозійних препаратів, в подальшому їх вдосконалювали П.Ф.Лесгафт, А.А. Краснокутская [1,5,6]. Даний метод широко використовується при виготовленні корозійних препаратів судин головного мозку, серця, нирок, легень, жовчних та сечовивідних шляхів. Відомий достатньо великий список ін'єкційних речовин, але до цього часу немає «золотого стандарту» наповнювача як за якістю так, і за доступністю отриманого муляжу порожнистих та трубчастих органів [8,9,12,16].

В «Способе получения анатомических препаратов полых и трубчатых структур» автори пропонують порожнисті та трубчасті структури заливати холодною твердючою масою, що скла-