

БИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.001.4-002.3: 57.089.6

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГНОЙНЫХ РАН МЯГКИХ ТКАНЕЙ

А. А. Кабанова^{1}, Ф. В. Плотников¹, Ю. В. Ходос², В. В. Голубцов¹, Э. И. Веремей²*

¹Витебский государственный медицинский университет,

²Витебская государственная академия ветеринарной медицины, г. Витебск, Республика Беларусь

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF EXPERIMENTAL SOFT TISSUE SEPTIC WOUNDS

A. A. Kabanova^{1}, F. V. Plotnikov¹, Yu. V. Khodos², V. V. Golubtsov¹, E. I. Veremei²*

¹Vitebsk State Medical University,

²Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus

Цель. Изучить морфологические характеристики гнойных ран мягких тканей, полученные с помощью разработанных моделей в эксперименте с участием животных.

Материалы и методы. В эксперимент были включены 10 кроликов породы шиншилла массой 3000–3500 г обоего пола. Нами предложен вариант моделирования флегмоны мягких тканей подчелюстной области и инфицированной кожно-мышечной раны для проведения экспериментальных исследований.

Результаты. Изученная морфологическая картина гнойной раны характеризовалась положительной динамикой в процессе местного консервативного лечения, к 14-м суткам после операции практически отсутствуют морфологические признаки воспаления.

Выводы. Полученные данные могут быть использованы в качестве контрольных при экспериментальном изучении новых методов лечения гнойно-воспалительных процессов мягких тканей.

Ключевые слова. Модель, эксперимент, гнойная рана, морфология.

Aim. To study the morphological characteristics of the soft tissue septic wounds obtained by means of the developed models in animal experiment.

Materials and methods. Ten Chinchilla rabbits of both sexes with the mass of 3000–3500 g were included in the experiment. During the study, a variant of modeling the submaxillary soft tissue phlegmona and infected musclicutaneous wound was offered by us to carry out experimental studies.

© Кабанова А. А., Плотников Ф. В., Веремей Э. И., Ходас Ю. В., Голубцов В. В., 2015

e-mail: arinakabanova@mail.ru

тел. 8 029 295 33 54

[Кабанова А. А. (*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры стоматологии детского возраста и челюстно-лицевой хирургии; Плотников Ф. В. – ассистент кафедры госпитальной хирургии с курсами урологии и детской хирургии; Веремей Э. И. – кандидат ветеринарных наук, профессор кафедры общей, частной и оперативной хирургии; Ходас Ю. В. – аспирант кафедры общей, частной и оперативной хирургии; Голубцов В. В. – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии].

Results. The studied morphological picture of septic wound was characterized by positive dynamics while local conservative treatment; by the day 14 after the operation there were practically no morphological signs of inflammation.

Conclusions. The obtained data can be used as control during experimental study of new methods for treatment of septic-inflammatory processes of soft tissues.

Key words. Model, experiment, septic wound, morphology.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема лечения ран и раневой инфекции остается актуальной на протяжении всей истории хирургии [10]. Высокий уровень травматизма, увеличение числа иммунодефицитных состояний, формирование антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, сохранение значительного количества раневых осложнений способствуют прогрессивному росту гнойно-воспалительных заболеваний, что обуславливает социальную и медицинскую значимость данной проблемы [1, 2].

Раневой процесс представляет собой сложный комплекс реакций, развивающихся в организме в ответ на повреждение тканей. В данном процессе имеют место деструктивные и конструктивные изменения тканей, образующих рану и прилежающих к ней – соединительной, эпителиальной, нервной, мышечной [5]. С точки зрения общей патологии заживление любой раны есть воспаление, которое последовательно проходит стадии альтерации, экссудации и пролиферации.

На течение раневого процесса влияют различные общие и местные факторы. Ухудшают течение раневого процесса наличие полирезистентной ассоциативной микрофлоры, высокая степень микробной контаминации, наличие инородных тел, нарушение оттока раневого отделяемого. Замедляют течение раневого процесса ухудшение регионарного артериального и венозного кровообращения, анемия, недостаточное питание и снижение иммунитета, наличие таких сопутствующих заболеваний, как сахарный диа-

бет и коллагенозы, а также прием глюкокортикоидов и цитостатиков.

Несмотря на значительное разнообразие микрофлоры, в возникновении и развитии гнойно-воспалительных заболеваний и осложнений человека участвуют около 100 видов условно-патогенных микроорганизмов, которые контаминируют на поверхности кожи и слизистых оболочек, в естественных полостях организма, а также во внешней среде [6, 13–15]. Инфекция, вызванная бактериями, является результатом необратимого прикрепления микроорганизмов к клеткам тканей макроорганизма. В последующем происходит колонизация и формируется первичный микробный очаг [7].

В течение последних десятилетий методы лечения гнойных ран подвергались существенному пересмотру, что обусловлено ростом числа гнойно-воспалительных заболеваний и послеоперационных гнойных осложнений, а также ухудшением общих результатов лечения при гнойной хирургической инфекции [3, 11]. В настоящее время все более актуальным становится решение задач прогнозирования течения процессов, лежащих в основе структурно-функционального восстановления организма.

Оценка структурных и функциональных изменений, протекающих в тканях при заживлении ран, представляет значительный интерес, так как морфологическое обоснование результатов использования различных методов лечения имеет большое значение в хирургической практике.

Для оптимизации лечения гнойных ран создаются их модели. На сегодняшний день существуют различные варианты моделиро-

вания гнойной раны у лабораторных животных, отличающиеся друг от друга, прежде всего, локализацией раны, размерами раневого дефекта, характером, видом и количеством патогенной микрофлоры [9]. При этом в литературе встречаются лишь единичные работы, посвященные моделированию гнойной раны в области головы и шеи.

Цель исследования – изучить морфологические изменения гнойных ран мягких тканей с помощью разработанных моделей в эксперименте на животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперимент были включены 10 кроликов породы шиншилла массой 3000–3500 г обоего пола. Все животные получали стандартный рацион питания в виварии УО «Витебский государственный медицинский университет». Перед началом проведения эксперимента животные выдерживались в выделенном боксе в течение одной недели для адаптации к новым условиям и с целью прохождения карантина. Перед проведением исследований все животные взвешивались, тщательно осматривались на наличие видимой патологии и признаков болезни. Особи с выявленной патологией выбраковывались и в исследование не включались. Все экспериментальные исследования проводили в полном соответствии с современными принципами биоэтики (GLP – надлежащая лабораторная практика), в том числе Европейской конвенцией по защите прав позвоночных животных (принята в г. Страсбурге 18 марта 1986 г.) и Всемирной декларацией прав животных (Universal declaration of animal rights), принята Международной лигой прав животных 23 сентября 1977 г. в Лондоне) [12].

Создание экспериментальной модели флегмоны поднижнечелюстной области осуществляли под общим обезболиванием (в краевую вену уха кролика медленно вводили

7–10 мл 1%-ного раствора тиопентала-натрия из расчета 25–50 мг/кг массы тела). В поднижнечелюстной области экспериментального животного выбривали шерсть. С соблюдением всех правил асептики и антисептики из краевой вены уха экспериментального животного в стерильный одноразовый шприц забирали 2 мл крови, которую в стерильной пробирке смешивали с заранее приготовленными 2 мл гнойного экссудата, полученного в процессе хирургической обработки острого гнойного одонтогенного периостита человека. Интервал времени заготовки гнойного экссудата для создания экспериментальной модели разлитого гнойно-воспалительного процесса мягких тканей поднижнечелюстной области не превышал 4 ч до момента оперативного вмешательства, выполняемого с целью моделирования указанного патологического процесса. Полученную смесь в количестве 4 мл забирали в стерильный одноразовый шприц. Проводили антисептическую обработку операционного поля. Инъекционную иглу вводили в поднижнечелюстную область и направляли вверх и кзади по направлению к сагиттальной оси нижней челюсти животного. При погружении иглы на 2–2,5 см вводили смесь крови и гнойного экссудата. После операции кроликов помещали в отдельные клетки, где они находились под наблюдением.

В течение первых суток после операции животные поедали привычную пищу, что указывало на незначительность действия травмирующего агента по отношению к их общему состоянию. Флегмона в поднижнечелюстной области экспериментального животного формировалась в течение 7 суток. О развившемся разлитом гнойно-воспалительном процессе (флегмоне поднижнечелюстной области) судили по наличию классических признаков воспаления: местной гипертермии в зоне формирования гнойно-воспалительного очага, значительному локальному повышению температуры, животное остро реагировало на пальпацию поднижнечелюстной области.

К 7-м суткам появлялись симптомы интоксикации (имело место значительное повышение температуры тела, учащенное дыхание и сердцебиение, животное отказывалось от приема пищи). В поднижнечелюстной области определялся разлитой инфильтрат, в центре которого имелся очаг флюктуации. Всем животным на 7-й день после начала моделирования острого гнойно-воспалительного процесса в поднижнечелюстной области под общим обезболиванием проводилась первичная хирургическая обработка гнойного очага [8].

Моделирование инфицированной кожно-мышечной раны у экспериментальных животных выполнялось следующим образом. После общей анестезии кролика ксилазином (ветеринарный препарат «Хула») внутримышечно в дозе 5,0 мг на 1 кг массы тела животного проводили местную анестезию предполагаемой области разреза с инстилляцией 1 мл раствора ультракаина (препарат «Ультракаин Д-С форте»). Затем при помощи трафарета животным наносили кожно-мышечные раны в области бедра размером 5 см в длину и 2 см в глубину. Далее экспериментальную рану инфицировали путем инстилляции бактериальной суспензии *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) в объеме 2 мл. После этого экспериментальная рана закрывалась лейкопластырем и дополнительно фиксировалась бинтовой клеевой повязкой для исключения возможности обсеменения посторонней патогенной микрофлорой. Повязка снималась через 3–5 суток после развития гнойного воспаления.

Забор материала для гистологического исследования осуществляли с краев раны с подлежащими мягкими тканями на 1, 3-е и 14-е сутки лечения. Взятый для патоморфологического исследования материал подвергался фиксации в 10%-ном растворе формалина. После фиксации материал промывали в проточной воде, проводили через спирты возрастающей концентрации, после чего заливали парафином. С помощью микротомы из парафиновых блоков получали срезы

по 5–10 мкм толщиной, которые затем окрашивались раствором гематоксилина и эозина [4]. Полученные таким образом микропрепараты изучали при помощи световой микроскопии при увеличении $\times 200$, $\times 400$. При патоморфологическом исследовании учитывали характер воспалительного инфильтрата и степень его выраженности, динамику регенерации раневого дефекта, наличие или отсутствие эпителизации в области краев раны.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе изучения морфологической картины гнойной раны подчелюстной области и инфицированной кожно-мышечной раны бедра получены следующие результаты. В материале, полученном во время проведения хирургической обработки гнойного очага, определяются фрагменты кожи с отеком дермы, с наличием раневого канала, стенки которого представлены грануляционной тканью, в просвете большое количество гноевидного содержимого. В дерме и подлежащей мышечной ткани имеются очаги некроза и гнойного воспаления с преобладанием в составе воспалительного инфильтрата сегментоядерных лейкоцитов (рис. 1).

На третьи сутки после операции морфологическая картина практически аналогична описанной выше, также в составе воспалительного инфильтрата появляются в небольшом количестве плазматические клетки и лимфоциты.

На 14-е сутки лечения раневой канал сохраняется и выстлан грануляционной тканью без признаков эпителизации, в просвете скудное количество гноевидного содержимого. В прилегающих к нему отделах кожи выявлена атрофия в эпидермисе, в дерме склероз и почти полное отсутствие придатков кожи, очаговая слабовыраженная полиморфно-клеточная воспалительная инфильтрация с преобладанием лимфоцитов и плазматических клеток (рис. 2).



Рис. 1. Морфологическая картина стенки раневого канала в начале лечения, $\times 200$:
1 – участок гнойного воспаления;
2 – грануляционная ткань

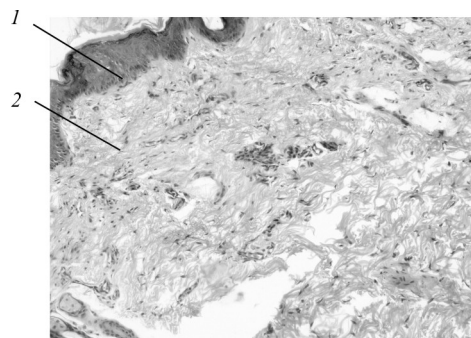


Рис. 2. Морфологическая картина краев раны, окончание лечения, $\times 400$: 1 – истончение и атрофия эпидермиса; 2 – склероз дермы, отсутствие придатков кожи и воспаления

Выводы

В ходе проведенного исследования нами предложен вариант моделирования флегмоны мягких тканей подчелюстной области и инфицированной кожно-мышечной раны для проведения экспериментальных исследований. Изученная морфологическая картина гнойной раны характеризовалась положительной динамикой в процессе местного консервативного лечения, к 14-м суткам после операции практически отсутствовали морфологические признаки воспаления. Полученные данные могут быть использованы в качестве контрольных при экспериментальном изучении новых методов лечения гнойно-воспалительных процессов мягких тканей.

Библиографический список

1. Булыгин В. И., Глухов А. А., Мошуров И. П. Лечение ран. Воронеж: Воронежский государственный ун-т, 1998; 248.
2. Земсков М. А., Хорошилов А. А., Ильина Е. М., Домнич О. А. Гнойно-воспалительные заболевания – актуальные проблемы хирургии. Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2011; 24 (3): 468–472.
3. Измайлов С. Г. Новые технологии в хирургии ран. Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2004; 340.
4. Коржевский Д. Э. Применение гематоксилина в гистологической технике. Морфология 2007; 132 (6): 77–81.
5. Кузин М. И., Костюченко Б. М. Раны и раневая инфекция. М.: Медицина 1990; 592.
6. Медицинская микробиология: учебное пособие; под ред. Д. К. Новикова. Витебск 2002; 325.
7. Навашин С. М. Макро- и микроорганизм – взаимодействие в инфекционном процессе при антибактериальной терапии. Антибиотики и химиотерапия 1998; 43 (11): 3–5.
8. Походенько-Чудакова И. О., Казакова Ю. М., Кабанова А. А. Способ создания экспериментальной модели флегмоны подчелюстной области: патент (51) МПК А 61В 17/00 (2006.01) (21) а 20111565 (22) 2011.11.23 (71) Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет» (ВУ) (72) – № 18275. Заявл. 23.11.2011. Афіцыйны бюлетэнь. Вынаходства, карысныя мадэлі, прамысловыя ўзоры 2014; 3 (98): 130.
9. Сендрякова В. Н., Кокаева И. К., Трохов К. А., Букатин М. В. Проблемы моделирования гнойной раны у крыс. Успехи современного естествознания 2013; 8: 38.

10. Стручков В. И., Григорян А. В., Гостищев В. К. Гнойная рана. М.: Медицина 1975; 311.
11. Федоров В. Д., Светухин А. М., Глянцев С. П. Учение о ране: от А. В. Вишневского до наших дней. Хирургия 2004; 8: 56–61.
12. Этические вопросы использования животных в учебной работе и научных исследованиях: материалы Белорусско-Британского симпозиума; под ред. С. Д. Денисова. Минск 1998; 26.
13. Яковлев С. В. Клиническая химиотерапия бактериальных инфекций. М. 1997; 148.
14. Perez-Lopez C., Villarejo-Ortega F. J., Carceller-Benito F., Goldman L. Spinal epidural abscess caused by *Acinetobacter baumannii* mimicking a herniated lumbar disc. Rev. Neurol 2005; 40 (2): 98–101.
15. Sekowska A., Janicka G., Wroblewska J., Krużynska E. Prevalence of *Proteus mirabilis* strains in clinical specimens and evaluation of their resistance to selected antibiotics. Pol. Merkuriusz Lek 2004; 17 (101): 538–540.

Материал поступил в редакцию 09.10.2014