

УДК: 616-089-001.4-089.165+615.355:615.03+575.76:611-018.2 (575.2) (04)

СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ АНГИОСТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАТОРНОГО ПРОЦЕССА

А.В. Войтенко – мл. науч. сотрудник

The possibilities of applying angiostimulating technologies for accelerating regeneration process in large aseptic surgical wounds in age aspect are considered in this work.

Рыхлая соединительная ткань в организме млекопитающих является наиболее распространенной разновидностью соединительных тканей, она в большем или меньшем количестве сопровождает все кровеносные и лимфатические сосуды. Пересадки васкуляризованных комплексов тканей на сосудистой ножке или с микроанастомозами сосудов значительно расширили возможности пластической и реконструктивной хирургии [1].

Как бы ни протекала регенерация тканей, она всегда сопряжена с физиологическими факторами местного и общего значения, регулируемыми этот процесс [2] и в числе этих факторов наибольшее значение имеет состояние кровообращения и лимфообращения. В последнее время сформировалось новое научное направление “терапевтический ангиогенез”, в котором используются клонированные гены факторов роста кровеносных сосудов. Известно, что именно интерстициальное пространство является основной ареной транспортных потоков, обеспечивающих эндоэкологию региона [3]. Однако возрастной аспект этой проблемы пока остается без внимания исследователей.

Цель настоящего исследования – экспериментальное изучение возможности применения ангиостимулирующих технологий для ускорения регенераторного процесса в обширных асептических хирургических ранах в возрастном аспекте.

Материал и методы. В работе использовали 180 лабораторных крыс обоего пола. Все

манипуляции на животных проводили под эфирным наркозом.

Животных содержали в клетках при температуре 18–22°C и 24-х часовом световом режиме (12 часов – свет, 12 часов – темнота). Крысы получали *ad libitum*, сбалансированный по белкам и углеводам витаминизированный стандартный кормовой рацион. Доступ к воде и пище был свободным.

Материалом для исследования послужили мягкие ткани в норме и после создания модели обширной асептической раны межфасциального пространства в области спины путем туннельного отсепаровывания кожи с подкожной жировой клетчаткой и поверхностной фасции от прилежащих мягких тканей площадью до 12 см². В последующем рану ушивали только по краю разреза кожи, моделируя тем самым вариант аутопластики. В первой группе опытов (контроль), состоящей из трех возрастных подгрупп, происходило спонтанное приживление вдоль отсепарованного межфасциального пространства. Во второй группе (основная), также состоящей из трех возрастных подгрупп, перед ушиванием обширной хирургической раны межфасциальное пространство обрабатывали фармагеном (рекомбинантный ангиогенин человека).

Оценку состояния процессов заживления раны и эффективности лечения проводили до 45 суток.

Для оценки репаративного процесса и для объективного контроля за процессами заживления ран, мягкие ткани области обширной хирургической раны (модель аутопластики) исследовали общепринятыми макро-микроскопическими, гистологическими и морфометрическими методами.

Морфометрию тканевых структур проводили при помощи окуляр-микрометра МОВ-1-15х на светооптических микроскопах "Люмам-1-2", МБИ-15 и МБС-10 в соответствии с общепринятыми требованиями [4, 5].

Характеристика морфофункционального состояния прилежащих мягких тканей складывалась из суммарной оценки признаков, наблюдаемых при визуальном изучении гистологических препаратов и количественных методов исследования.

Результаты исследований. При инъекции кровеносного русла отмечено, что в процессе спонтанного заживления в зоне механического повреждения межмышечного фасциального пространства на 7-й день функционирующие сосуды еще отсутствуют, тогда как после применения фармагена у молодых животных они начинают появляться уже через 24 часа (см. таблицу), а к третьему дню хорошо видна формирующаяся сосудистая сеть.

При применении фармагена уже на первые сутки наблюдения в межмышечном межфасциальном пространстве выявлялось большое количество тучных клеток.

Морфометрический анализ показал, что у молодых животных при спонтанном заживлении и применении фармагена сравнительная морфологическая характеристика регенераторного процесса межмышечных клетчаточных пространств однонаправленная, но с существенным клеточным различием.

Как показали результаты проведенного исследования, применение биостимулирующего геля фармагена способствует раннему стиханию воспаления, более раннему развитию грануляционной ткани и полному заживлению ран в 1,5 раза быстрее, чем при спонтанном их заживлении.

Это проявляется в увеличении пролиферативной активности фибробластов, ускоряется посттравматическое развитие лейкоцитарной и

макрофагической реакции, а также формирование грануляционной ткани. Начиная с 3-х суток, объем коллагеновых волокон в опыте превышает таковой в контроле. На 7-е сутки наблюдения отмечается лучший гистоархитектурный порядок, лучшая васкуляризация и отсутствие клеток воспаления на уровне прилежащих мышц. Это приводит к ускорению новообразования грануляционной ткани и, в первую очередь, микрососудов, а также образованию регенерата, по морфологии приближающегося к нормальной картине межфасциального футляра.

При изучении цитологической картины во второй и третьей фазах раневого процесса в группах половозрелых животных, которых лечили фармагеном, отмечено более раннее появление коллагеновых волокон, начиная с 7-х суток.

В центре раны просматривалась продольная ориентация коллагеновых пучков, чем регенерат напоминал рубец. Воспалительная инфильтрация несколько снизилась по сравнению с аналогичной возрастной группой без применения фармагена (см. таблицу).

К 14-м суткам у половозрелых крыс отмечалась выраженная пролиферация фибробластов и формирование сосудистой сети. После применения фармагена значительно быстрее, чем при спонтанном заживлении, формируется и рубцовая ткань.

Как показали результаты проведенного исследования, применение фармагена у половозрелых животных, также как и у молодых, способствует раннему стиханию воспаления, более раннему развитию грануляционной ткани и полному заживлению ран в 1,5 раза быстрее, чем при спонтанном их заживлении, что проявляется максимальным эффектом его биостимулирующих свойств, направленных на стимуляцию раннего ангиогенеза в регенерирующих поврежденных тканях.

У пожилых животных через 24 часа после применения фармагена гистологическая картина обширной хирургической раны представляла собой клеточный детрит и лейкоцитарную инфильтрацию, по интенсивности приближающуюся к группе без лечения. Проведенные нами экспериментальные исследования показали, что на первые сутки после моделирования асептической хирургической раны отмечалась при-

мерно однотипная морфологическая реакция как при спонтанном заживлении, так и с использованием фармагена. Однако, при применении фармагена уже на первые сутки наблюдения в межмышечном фасциальном пространстве выявлялось большое количество тучных клеток. При этом применение биостимулирующего геля рекомбинантного ангиогенина человека (фармагена) у пожилых животных не способствует раннему стиханию воспаления, а заживление

раны в динамике происходит только в 1,1 раза быстрее, чем без лечения.

При инъекции кровеносного русла отмечено, что в процессе спонтанного заживления в зоне механического повреждения межмышечного фасциального пространства на 7-й день функционирующие сосуды еще отсутствуют, тогда как после применения фармагена они начинают появляться на 3-и, 7-е сутки. При этом даже по истечении 3-х недель выявлялись внесосудистые эритроциты.

Динамика структуры соединительной ткани

Показатель		Сроки наблюдения в сутках				
		1	3	7	14	21
Площадь интерстиция в $\text{мкм}^2 \times 10^3$	А	409±22*	293±15*+	284±11*+	251±10*+	227±8+
	Б	313±19*	220±14*+	192±11+	181±11+	174±10+
	В	189±15*	201±16*	55±5*	97±10*	151±14*
Емкость кровеносного русла в $\text{мкм}^3 \times 10^6$	А	0,08±0,01*+	0,4±0,03*+	0,97±0,05*+	2,43±0,1*+	2,32±0,2
	Б	–*	0,37*+	0,77±0,03*+	1,76±0,1+	1,95±0,1+
	В	–*	0,08±0,01*	0,37±0,01*	0,69±0,03*	1,42±0,06*
Общая клеточность	А	892±53*+	1006±85*	990±67*	800±52*	500±31
	Б	1064±41*+	1070±80*+	1010±80*+	840±72*+	540±54+
	В	849±51*	1368±94*	1374±123*	1046±132*	725±79*
Фибробласты	А	281±18*+	412±27*+	407±25*+	257±19*+	187±14+
	Б	197±12*+	394±23*	450±31*	390±28*+	200±22*+
	В	162±10	301±20*	581±32*	572±32*	369±29*
Макрофаги	А	50±4*+	82±10*+	81±9*+	55±6*+	24±3+
	Б	45±3*+	57±6*+	58±5*+	49±5*+	37±3*+
	В	16±2	102±9*	131±10*	108±8*	72±5*
Тучные клетки	А	54±2*+	68±5*+	72±5*+	47±6*+	19±4*+
	Б	33±2*+	46±5*+	50±4*+	27±2*+	17±2*+
	В	8±1	18±2*	30±2*	36±3*	14±1*
Внесосудистые эритроциты	А	138±13*	129±8*	50±2*	8±1*+	0*+
	Б	180±10*	107±8*	48±4*+	25±2*+	6±2*+
	В	118±10*	287±30*	390±35*	187±20*	44±5*
Лимфоциты	А	43±3*	69±6*	81±8*	72±8*	53±5*
	Б	41±2*+	74±7*	74±7*	63±6*+	24±2*+
	В	24±2*	52±5*	114±10*	111±10*	74±7*
Полиморфно-ядерные лейкоциты	А	139±14*+	140±14*+	82±7*+	16±1*+	8±1+
	Б	189±13*+	133±10*+	93±8*+	60±2*+	42±1*+
	В	226±3*	238±4*	141±4*	29±3*	15±2*

А – молодые; Б – половозрелые; В – пожилые крысы после моделирования обширной хирургической раны и применения фармагена (M±m) (абс. число в станд. поле зрения).

Примечание: * – достоверное отличие от соответствующей возрастной нормы; + – достоверное отличие от соответствующей возрастной группы без лечения.

Применение фармагена стимулировало плазмоцитарную, тучноклеточную и фибробластическую реакции, но в значительно меньшей степени, чем у молодых и половозрелых животных (см. таблицу).

Морфометрический анализ цитогамм у пожилых животных показал, что при спонтанном заживлении и применении фармагена сравнительная морфологическая характеристика регенераторного процесса межмышечных клетчаточных пространств однонаправленная, но с количественным клеточным различием, которое выражается в том, что в ранние сроки наблюдения, при спонтанном заживлении в зоне раны увеличивалось только количество нейтрофилов и макрофагов. Однако регенерация значительно не ускорялась.

Таким образом, применение ангиостимулирующих технологий только у молодых сокращает период рубцевания ран почти на неделю и способствует раннему стиханию воспаления.

Следовательно, внедрение интраоперационного применения ангиостимуляторов в клиническую практику поможет оптимизировать результаты лечения больных в пластической хирургии и косметологии только в том случае, если будет учитываться возраст пациента.

Следует также отметить, что наши данные по применению ангиогенина вполне согласуются с результатами [6] при закрытии оста-

точных полостей в хирургии печени и [7] при пластике паховых грыж.

Литература

1. Домиников А.В. Микролимфогеоциркуляция васкуляризованных комплексов тканей в разные сроки после их трансплантации: Дисс.... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2000. – 192 с.
2. Давыдовский И.В. Общая патология человека. – М.: Медицина, 1969. – 611 с.
3. Бородин Ю.И. Регионарный лимфатический дренаж и лимфодетоксикация // Морфология. – 2005. – Т. 128. – №4. – С. 25–28.
4. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии: Учебное пособие для слушателей последипломного образования / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 238 с.
5. Катинас Г.С., Полонский Ю.З. К методике анализа количественных показателей в цитологии // Цитология. – 1970. – Т. 12. – №3. – С. 399–403.
6. Акрамов Э.Х., Кулбачаев Б.К. Возможности применения ангиогенина для закрытия остаточных полостей в хирургии печени // Хирургия, морфология, лимфология. – 2004. – Т. 1. – №2. – С. 24–27.
7. Камчибеков Ш.Т. Возможности применения ангиогенина при пластике паховых грыж: Автореф. дисс.... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2005. – 21 с.