

Морфологическое изучение заживления экспериментальных ран при местном лечении биологически активными покрытиями с серебром

Цель исследования

Определить влияние биологически активных покрытий с серебром на посттравматическую регенерацию.

Методы исследования

Основой работы явилось комплексное исследование образцов грануляционной ткани, которое включало в себя свето-микроскопическое, электронно-микроскопическое исследования и сравнительный количественный анализ.

Проведено свето-микроскопическое исследование 90 полутонких срезов. На 1, 2 и 5 сутки лечения ран. 1 и 2 сутки лечения ран соответствовали фазе воспаления, 5 сутки – фазе образования и созревания грануляционной ткани. На всех сроках исследования подсчитывали количество полиморфно-ядерных лейкоцитов, макрофагов, фибробластов и сосудов. Подсчет проводили в 30 произвольно выбранных полях зрения площадью 100 мм² каждое при увеличении $\times 1000$ (иммерсия) с вычислением среднего арифметического.

После анализа светооптических препаратов прицельно выбирали участки для ультратомии. Ультратонкие срезы толщиной 100-120 нм окрашивали уранил-ацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе Philips CM 10.

Результаты исследования

Лечение асептических ран трехслойным покрытием с серебром

На 1 сутки лечения на поверхности ран определяли фрагменты серебряного покрытия, которые представляли короткие нитчатые структуры, вокруг которых отмечали скопления полиморфноядерных лейкоцитов и единичных макрофагов. Микробы на поверхности ран обнаружены не были.

Структура ткани была разрежена. Преобладающими клеточными элементами в ране были лейкоциты. Клеточного и микробного детрита в ране практически нет. Отмечали выраженную дилатацию полнокровных сосудов (рис.1). Морфологическая картина соответствует умеренно выраженному процессу воспаления.

Рана на 1 сутки лечения трехслойным покрытием с серебром

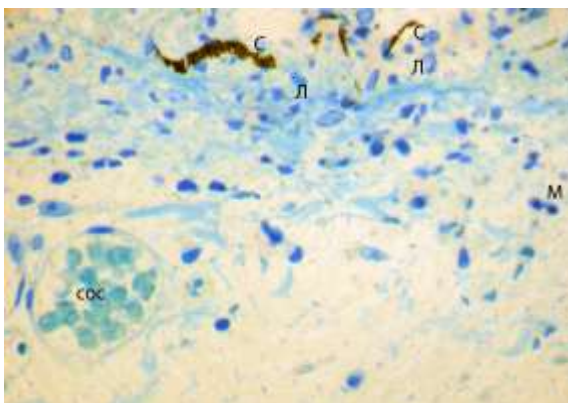


Рис. 1

С – фрагменты покрытия с серебром, Л – лейкоцит, М – макрофаг, Сос – сосуд
Ув. 400

При электронно-микроскопическом исследовании на поверхности раны среди фрагментов фибрина находили наночастицы серебра организованные в нити (рис.2).

Поверхность раны на 1 сутки лечения покрытием с серебром

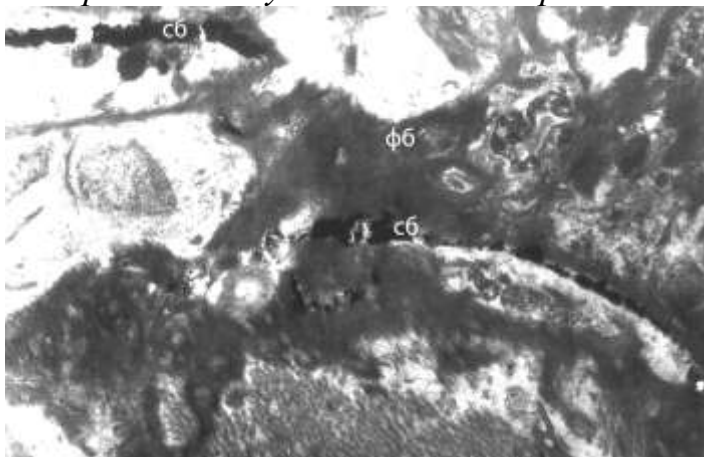


Рис.2

Фб – фрагменты фибрина, Сб – частицы серебра

Ув. 20000

Большинство лейкоцитов в ране находилось в неактивном состоянии – единичные гранулы в цитоплазме, незначительные выросты цитоплазмы, отсутствие фагосом в цитоплазме, что, по-видимому, связано с отсутствием микробного загрязнения ран и отсутствием необходимости очищения раны от микробного детрита. Находили единичные эозинофильные лейкоциты с характерными гранулами с кристаллоидной серединой разной электронной плотности (рис. 3). Функция нейтрофилов разнообразна – антимикробная, фагоцитарная (менее выражены, чем у нейтрофилов). На этом сроке исследования идет очищение ран от клеточного детрита. Макрофаги функционально активны, на усиление процессов внутриклеточного пищеварения указывают крупные фагосомы с клеточным детритом. Клетки с крупными ядрами с изрезанными контурами, большим количеством везикул, единичными профилями гранулярной цитоплазматической сети, большим количеством цитоплазматических отростков (рис. 4).

Проведенный количественный анализ показал большое количество лейкоцитов в ране (в среднем 8,8 в поле зрения), единичные макрофаги (в среднем 2,2 в поле зрения) и фибробласты (в среднем 1,4 в поле зрения) (Рис. 10-13).

Лейкоциты на 1 сутки лечения ран трехслойным покрытием с серебром

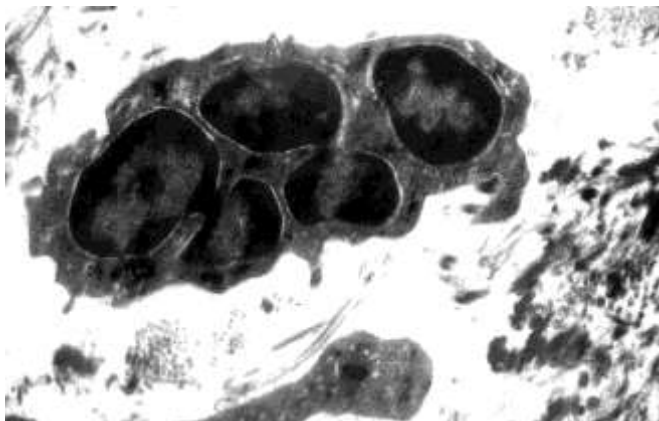


Рис. 3

Полиморфноядерный лейкоцит Ув. 8000 Эозинофильный лейкоцит Ув. 13000

Функционально активный макрофаг на 1 сутки лечения ран трехслойным покрытием с серебром

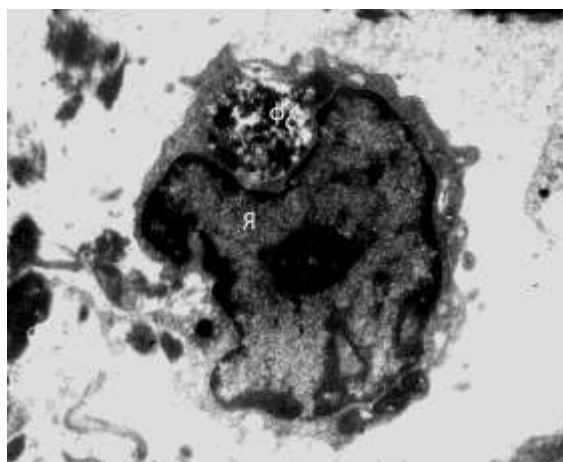


Рис. 4

Ф – крупная фагосома, Я – крупное ядро

Ув. 13000

На 2 сутки лечения трехслойным покрытием с серебром ткань раны несколько разрежена, меняется соотношение клеточных элементов: увеличивается количество макрофагов (в среднем 3,9 в поле зрения) и фибробластов (в среднем 3,1 в поле зрения), уменьшается количество лейкоцитов (в среднем 4,2 в поле зрения) по сравнению с 1 сутками лечения ран (Рис. 10-13). Таким образом, в ране происходит стихание воспалительных процессов, и процесс заживления переходит в фазу регенерации (рис. 5).

Рана на 2 сутки лечения трехслойным покрытием с серебром

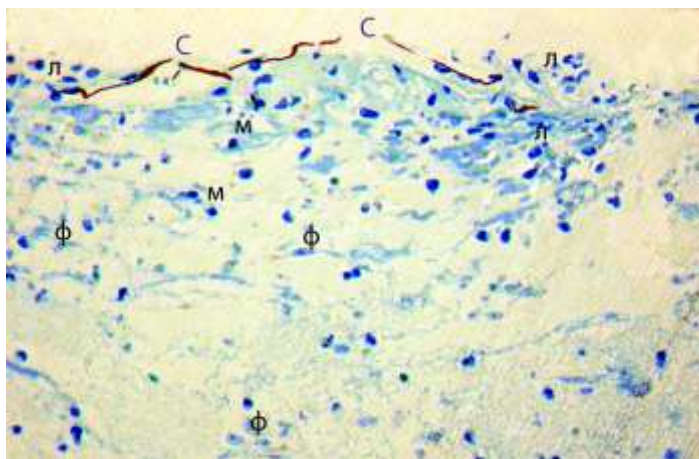


Рис. 5

С – фрагменты покрытия с серебром, Л – лейкоцит, М – макрофаг, Ф – фибробласт
Ув. 200

При электронно-микроскопическом исследовании макрофаги функционально активны – с большими фагосомами с клеточным детритом, лизосомами, миелиноподобными тельцами, цитоплазматическими выростами (рис. 6).

Функционально активный макрофаг на 2 сутки лечения ран трехслойным покрытием с серебром

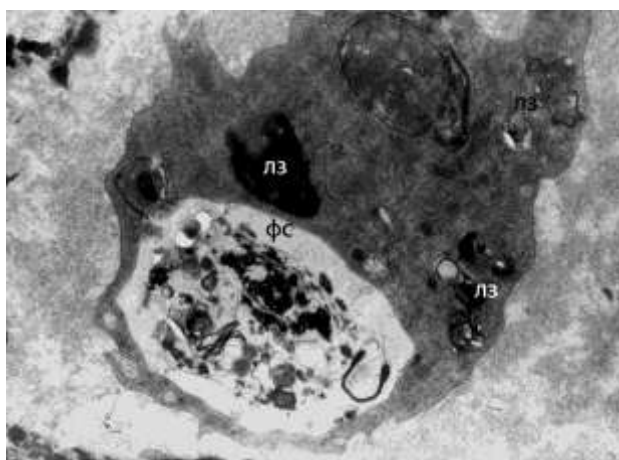


Рис. 6

Фс – фагосома, Лз – лизосома

Ув. 11000

На этом сроке увеличивается количество фибробластов. Отмечали молодые фибробласты округлой формы с крупными ядрами, короткими профилями гранулярной цитоплазматической сети, единичными митохондриями. Увеличивается пролиферативная активность фибробластов – встречались клетки в состоянии митоза (рис. 7).

Фрагмент грануляционной ткани на 2 сутки лечения ран трехслойным покрытием с серебром



Рис.7

Фибробласт в стадии митоза

Ув. 7800

Наряду с пролиферирующими фибробластами отмечали и зрелые функционально активные клетки. В одних фибробластах практически вся цитоплазма была заполнена узкими канальцами гранулярной цитоплазматической сети, митохондрии крупные с нарушенной ориентацией крист и просветленным матриксом. Такая ультраструктура фибробластов указывает на превалирование в клетках синтетической функции белков, в том числе и коллагена (рис. 8).

Функционально активный фибробласт на 2 сутки лечения ран трехслойным покрытием с серебром

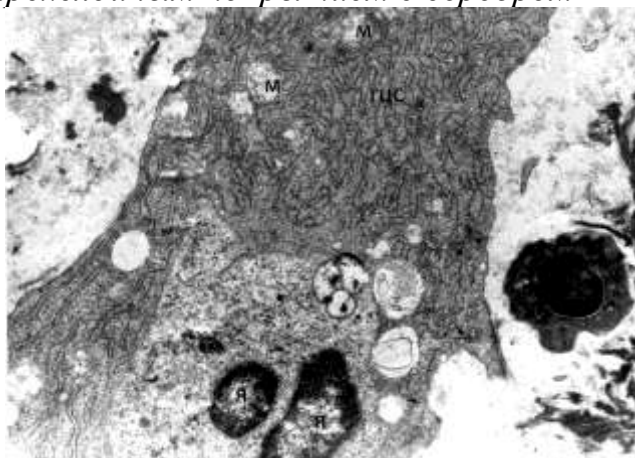


Рис. 8

Гцс – канальцы гранулярной цитоплазматической сети, м – митохондрии, я – ядро

Ув.10500

В ранах встречались фибробласты с крупными ядрами и резко расширенными канальцами гранулярной цитоплазматической сети, образующими крупные лакуны с хлопьевидным содержимым. В таких клетках происходит накопление синтезированного белка и секреция его во внеклеточное пространство. Экстрацеллюлярное пространство заполнено хлопьевидным материалом (подобным содержимым лакун), коллагеновыми фибриллами и мелкими пучками коллагена (рис. 9). Таким образом, ультраструктура клеток указывает на превалирование в них секреторной функции над синтетической.

*Функционально активный фибробласт на 2 сутки лечения ран
трехслойным покрытием с серебром*

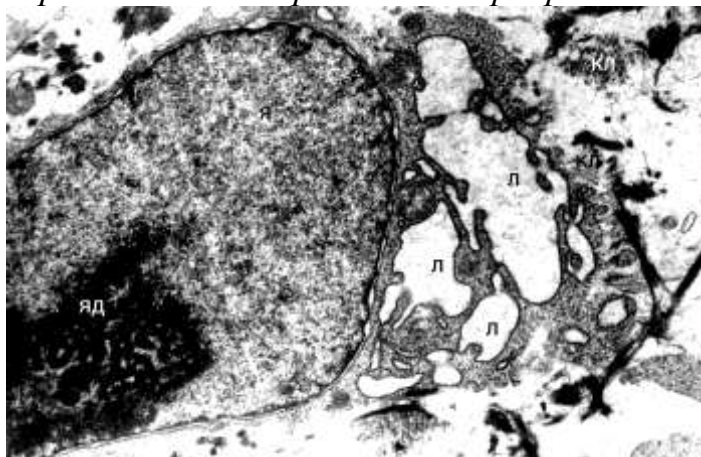
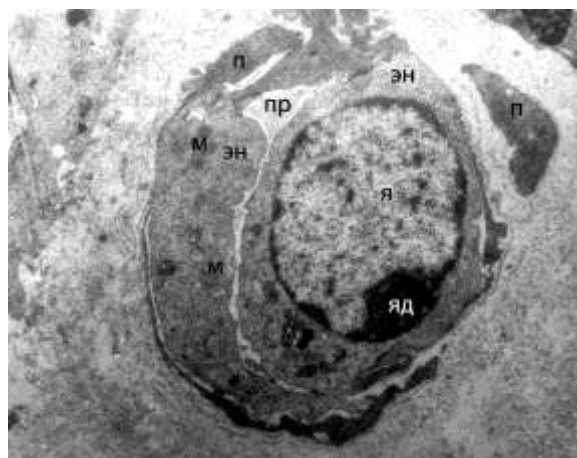


Рис. 9

Я – ядро, ЯД – ядрышко, л – лакуны гранулярной цитоплазматической сети, кл – синтезированный коллаген Ув. 13000

Необходимо отметить, что при подсчете клеток и сосудов на светооптических препаратах, новообразованных сосудов обнаружено не было. Однако при электронно-микроскопическом исследовании



На 5 сутки лечения трехслойным покрытием с серебром раневой дефект заполнен зрелой грануляционной тканью. Отмечали большое количество тонкостенных новообразованных сосудов, в просвете которых находились эритроциты, что указывало на восстановление кровообращения в ране (Рис.3). Фибробласты были основными клеточными элементами в ране и имели структуру характерную для функционально активных клеток – крупные, отростчатые клетки, в цитоплазме которых отмечали хорошо развитую гранулярную эндоплазматическую сеть. Характерна локализация фибробластов около фрагментов покрытия (рис.4). Горизонтальная ориентация фибробластов характерна для зрелой грануляционной ткани.

Проведенный количественный анализ показал резкое увеличение количества фибробластов почти в 4 раза, появление сосудов (на предыдущем сроке исследования новообразованных сосудов отмечено не было), уменьшение количества макрофагов и лейкоцитов.

Рана на 5 сутки лечения трехслойным покрытием с серебром

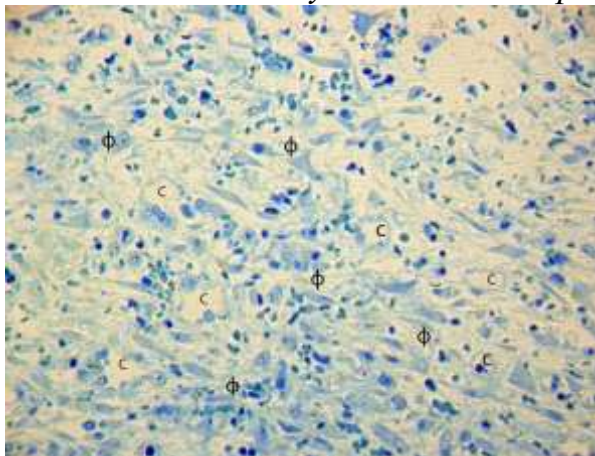


Рис.3

Грануляционная ткань
С – новообразованный сосуд,
Ф – фибробласт Ув. 200

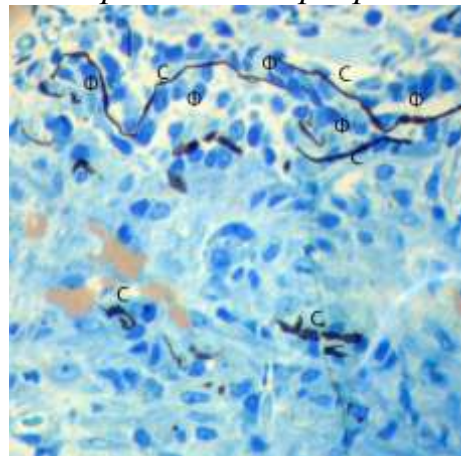


Рис.4

Поверхность раны
С – фрагмент покрытия с серебром,
ф – фибробласт Ув. 400

Лечение инфицированных ран ватно-марлевой повязкой (контроль)

На 2 сутки лечения ран ватно-марлевой повязкой отмечали выраженную воспалительную реакцию – большое количество лейкоцитов в активном состоянии, на что указывала ультраструктура клеток. Лейкоциты были основными клеточными элементами, заполняющими раневой дефект. Макрофаги единичны (0,9 в поле зрения), фибробластов и новообразованных сосудов отмечено не было (Рис. 10-13). Просветы сосудов расширены, нередко заполнены эритроцитами. Около сосудов находили большое количество тучных клеток в различном функциональном состоянии (с сохраненными гранулами и в состоянии дегрануляции) (Рис.8).

Рана на 2 сутки лечения ватно-марлевой повязкой

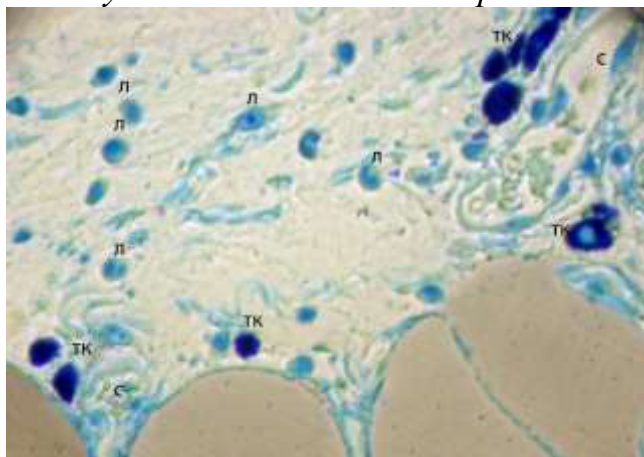


Рис. 8

С – сосуд, тк – тучная клетка, л – лейкоцит.

Ув. 400

На 5 сутки лечения ран ватно-марлевой повязкой на поверхности раны отмечали большое количество эритроцитов и фибрина. В верхних слоях грануляционной ткани большое количество лейкоцитов и такое же количество макрофагов (5,9 в поле зрения). Количество фибробластов довольно высокое (11,1 в поле зрения), появились и новообразованные сосуды (2,1 в поле зрения) (Рис. 10-13). Фибробласты встречались как молодые, так и зрелые – функционально активные, что указывает на заполнение раневого дефекта развивающейся грануляционной тканью (Рис.9).

Рана на 5 сутки лечения ватно-марлевой повязкой

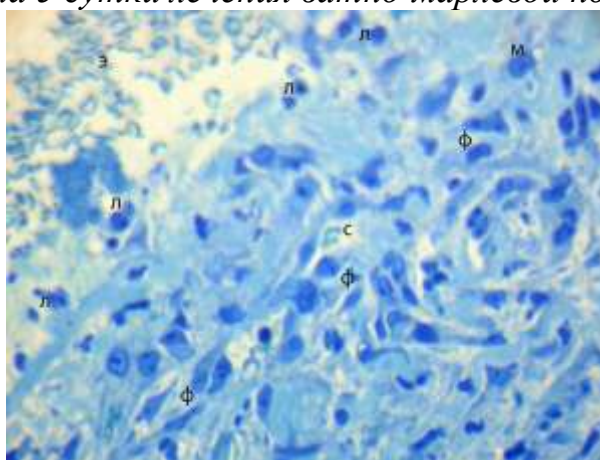


Рис.9

Л – лейкоцит, ф – фибробласт, с – сосуд, м – макрофаг, э – эритроцит Ув. 400

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На 2 сутки лечения ран покрытиями с серебром происходит переход I фазы раневого процесса (воспаления) в следующую – фазу регенерации, на что указывает преобладание в ране макрофагов над лейкоцитами и появление фибробластов и новообразованных сосудов. В контрольной группе, где инфицированные раны лечили ватно-марлевыми повязками, на 2 сутки воспалительная реакция была хорошо выражена (большое количество лейкоцитов в ране, единичные макрофаги и отсутствие фибробластов и новообразованных сосудов) (рис.10-13). При лечении инфицированных ран сетчатым покрытием с серебром состояние ран мало отличалось от неинфицированных ран леченных покрытием с серебром.

На 5 сутки лечения ран покрытиями с серебром раневые дефекты заполнены зрелой грануляционной тканью. При лечении неинфицированных ран покрытием с серебром степень зрелости грануляционной ткани была несколько выше, чем в инфицированных ранах леченных сетчатым покрытием. Необходимо отметить способность покрытий с серебром

привлекать фибробласты в зону раневого дефекта, что стимулирует процесс репаративной регенерации в ранах.

В контрольной группе, где раны лечили ватно-марлевыми повязками, степень зрелости грануляционной ткани была ниже, чем при лечении ран покрытиями с серебром.

Таким образом, комплексное морфологическое исследование с проведенным количественным анализом показало эффективность применения раневых покрытий с серебром при лечении ран, в том числе инфицированных.

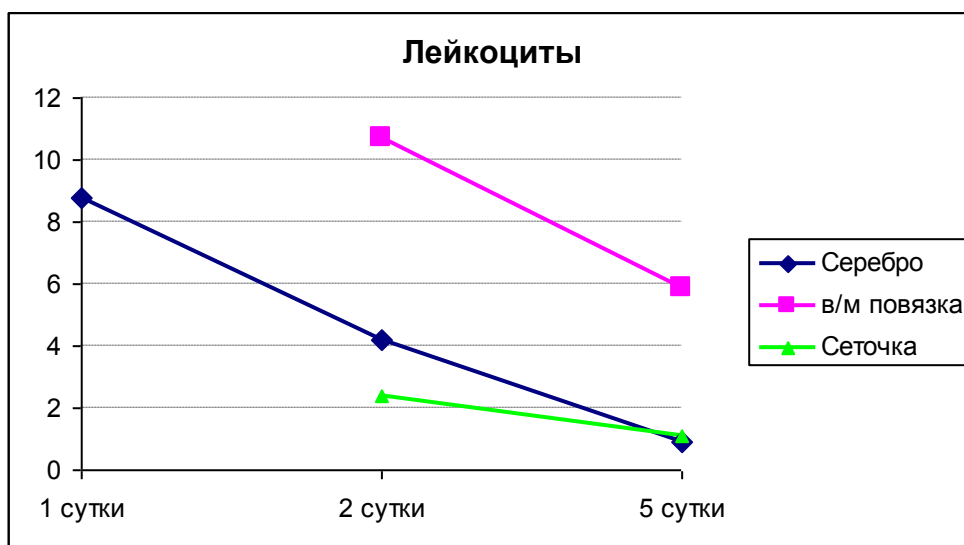


Рис.10

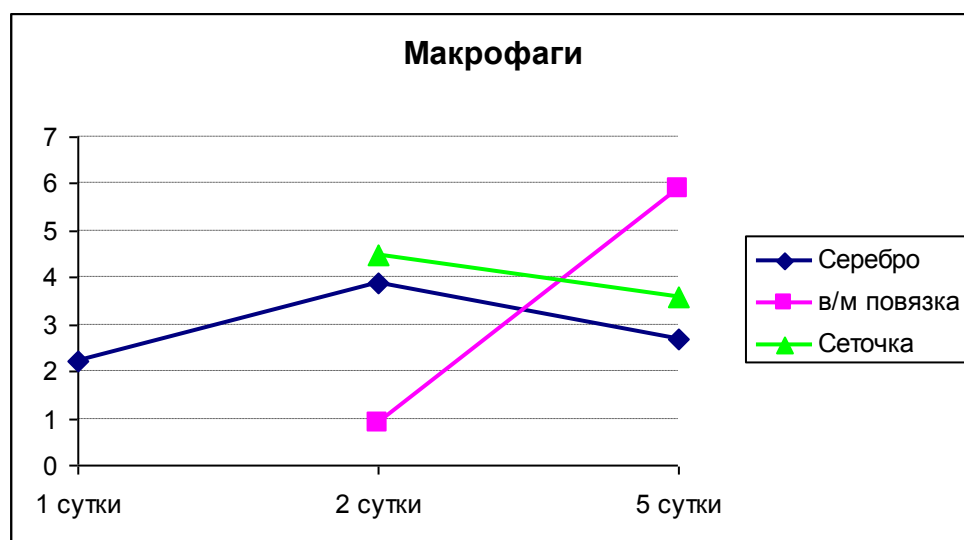


Рис.11

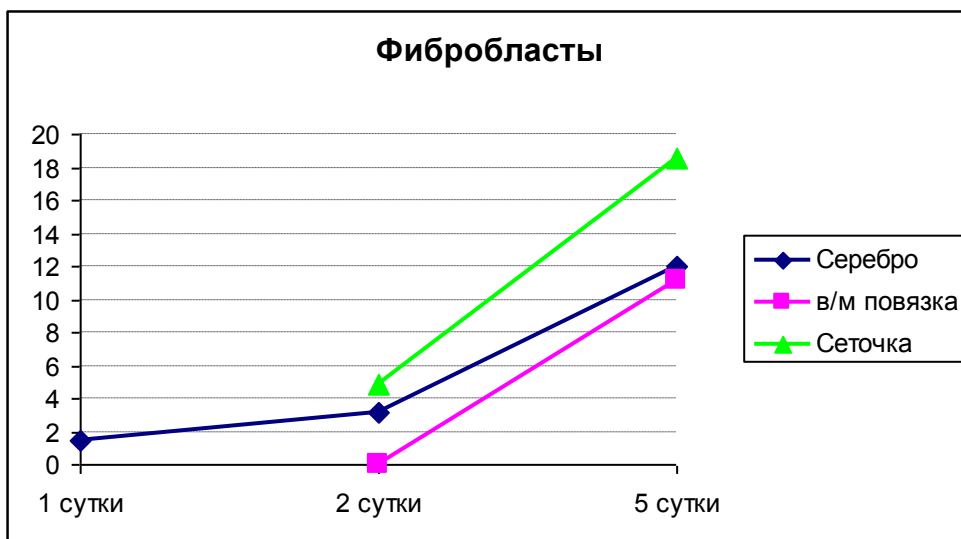


Рис.12

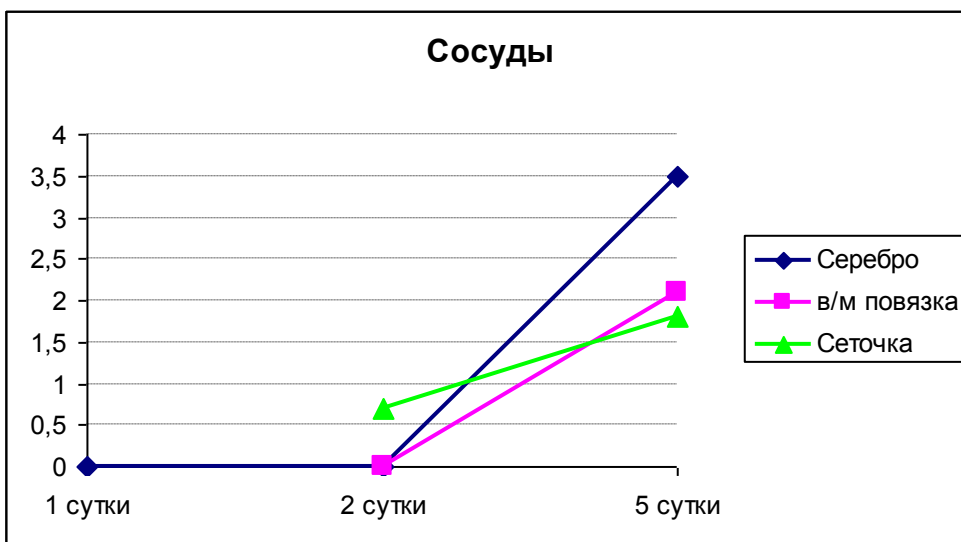


Рис.13

Вед.научн.сотр. отдела патологической анатомии
лаборатории электронной микроскопии
ФГУ «Института хирургии им. А.В. Вишневского
Росмедтехнологий»
док.биол.наук

И.А. Чекмарева