

**Барков В.Н., Кочкина Н.Н., Северинова С.Б.,
Гречихина С.В., Петренко В.Л., Матчин А.А.**
Оренбургская государственная медицинская академия
E-mail: orgma@esoo.ru

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ИНФИЦИРОВАНИЯ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ РАНЕВЫХ ДЕФЕКТОВ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Представлено экспериментально гистологическое исследование инфицирования на заживление раневых дефектов челюстно-лицевой области, выполненное на 40 белых беспородных половозрелых крысах с созданием модели полнослойной сквозной раны челюстно-лицевой области (щеки). Обнаруженные нами изменения в тканях в зоне раневого дефекта, значительно усугублялись при экзогенном инфицировании. Данные изменения приводят к фиброзу, вторичному некрозу, отсутствию полноценной грануляционной ткани, сопровождающемуся отсутствием как гисто – так и органотипической дифференцировки элементов, хронизации процесса. Данные явления обосновывают необходимость коррекции микробного воздействия на ткани челюстно-лицевой области при сквозных ранениях.

Ключевые слова: раны челюстно-лицевой области, репаративный гистогенез, раневая инфекция.

Одной из актуальных проблем современной челюстно-лицевой хирургии является лечение и реабилитация больных с ранениями и постраневыми дефектами челюстно-лицевой области, что имеет существенное медицинское, социальное и экономическое значение.

Повреждение челюстей и окружающих их мягких тканей, включающих важные в функциональном отношении органы – мышцы, слюнные железы, нервы, сосуды, ведут, прежде всего, к глубоким функциональным расстройствам жевательного и мимического аппарата. При этом, могут возникнуть опасные для жизни состояния, как-то: кровотечения, удушье от западения языка, аспирационные пневмонии, шок, острые инфекции (Титова А. Т., 1986, Трунин Д. А., 2001).

Одним из осложняющих факторов послеоперационного течения ран челюстно-лицевой области является микробная инвазия. Гнойно-воспалительные процессы в ране часто ведут к частичному или полному некрозу тканей, аррозивным кровотечениям, вторичным рубцовым деформациям челюстно-лицевой области и шеи, требующим повторных восстановительных и реконструктивных операций.

Такие факторы, как раневая инфекция, применение глюкокортикоидов, химиотерапевтических препаратов, ишемия, радиационное воздействие часто препятствует заживлению ран (Стадников А.А. 1999, Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н. 2004; Беляев А.Н. с соавт. 2007; Артамонов О.Г. с соавт. 2009).

В структуре причин смертности населения травмы занимают 3-е место, а у лиц трудоспособного возраста – 1-е. (Лимберг Ал.А., 2000).

Материалы и методы

Исследование выполнено на 40 белых беспородных половозрелых крысах – самцах массой 220-250 г с созданием модели полнослойной сквозной раны челюстно-лицевой области (щеки). В экспериментальных условиях изучены тканевые реакции в области раны, в том числе при местном введении нейропептидов и (или) антибиотика.

Под наркозом (эфирным рауш-наркозом) у животных формировали модель полнослойной сквозной раны челюстно-лицевой области в области щеки с формированием дефекта 2Ч2 мм путем травматических повреждения. В области щеки наносилась сквозная ранение, проникающее в полость рта 2Ч2 мм, с помощью троакара. На раны швы не накладывались.

Для решения поставленных задач диссертационного исследования проведены 2 серии опытов, каждая на 20 животных.

В I серии создана экспериментальная модель полнослойной сквозной раны (ЭСР).

Во II серии опытов при создании ЭСР в область раны вводилась капельно взвесь *Staphylococcus aureus* (штамм 209Р) в дозе 3×10^9 микробных тел в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия с помощью шпигца с тупой иглой (Левенец А.А., Шувалов С.М., Поляков А.В., 1989).

Во всех сериях опытов область ЭСР и окружающие ее ткани иссекались на 3, 5, 10, 30 сутки (по 3 животных на каждую серию) и они подвергались однотипной гистологической обработке с использованием с использованием методов световой и электронной микроскопии, иммуноцитохимии и морфометрии с последующим статистическим анализом количественных данных. Все животные выводились из эксперимента путем их эвтаназии передозировкой эфирного наркоза.

Полученные количественные результаты исследования статистически оценивали по t-критерию Стьюдента, используя коммерческую программу Microsoft Excel 5.0a. Данные представлены в виде среднего арифметического по результатам каждого раздела работы, \pm стандартные отклонения. Достоверными считались отличия при $p < 0,05$ (95%).

Результаты и обсуждения

У исследованных опытных животных некротические явления и выраженность экссудативных реакций были более значительными по сравнению с контрольной группой (без инфицирования). Повышение проницаемости стенки сосудов сопровождалось усиленным диapedезом форменных элементов крови (не только лейкоцитов, но и эритроцитов). Наблюдалась выраженная функциональная активация клеток эндотелия: скопления цитоплазматических везикул и гранул различной электронной плотности, набухание митохондрий, расширение полостей эндоплазматического ретикулума, возрастание количества пиноцитозных пузырьков. Данные явления происходили на фоне ультраструктурных повреждений компартментов эндотелиоцитов и дисконкомпексация их цитомембран. При этом в цитоплазме данных клеток появляются крупные липосомы и ламеллярные тельца.

Нейтрофильные лейкоциты фагоцитировали микробов, а также некротизированные массы. В отличие от контрольной серии опытов установлено, что при инфицировании раны, в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов обнаруживаются крупные фагосомы с тканевым детритом. При этом обнаружено значительное количество клеток с признаками дегенерации.

Формирование макрофагов сопровождается гиперплазией эндоплазматического ретику-

лума моноцитов, их митохондрий, гиперплазией пластинчатого комплекса Гольджи, лизосом. В макрофагах, находящихся в состоянии активного фагоцитоза отмечается увеличение числа цитоплазматических выпячиваний.

Установлено отсутствие четкого лейкоцитарного вала, что не обеспечивает отграничения жизнеспособных тканей щеки от омертвевших гистологических структур. При этом скопления полиморфноядерных лейкоцитов всегда тесно связано с зоной расположения микробов в слизистой оболочке, подслизистой основе, в интермизии, дерме, гиподерме.

Развитие малодифференцированной (грануляционной) соединительной ткани в раневом канале носит очаговый характер. Она умеренно инфильтрирована лейкоцитами. Существенным моментом является быстрое созревание фибробластов, ускоренное формирование коллагеновых волокон, что наблюдается уже к 10 суткам эксперимента. В результате, грануляционная ткань становится все более плотной, трансформируется в рубцовую, что лимитирует регенерационные потенции эпителиальных и мышечных структур щеки. То есть в данном случае речь идет о заживлении раны через нагноение и гранулирование (Давыдовский И. В., 1952; Кузин М. И., Костюченко Б. М. 1990).

Таким образом, по результатам цитологического анализа раневого процесса в условиях инфицирования мы сделали заключение о его дегенеративно-воспалительном характере. Это обосновывается тем, что в раневой области (по срокам наблюдений 3, 5, 10 суток) содержится большое количество нейтрофилов и макрофагов в состоянии дегенерации и деструкции в виде кариопикноза и кариорексиса, цитолиза. У сохраненных же нейтрофилов, при внутриклеточном расположении микробов, фагоцитоз носит преимущественно незавершенный характер.

Склерозирующие процессы негативно сказываются не только для посттравматического восстановления структур слизистой оболочки щеки, структур кожи но и особенно для репаративного гистогенеза миосимпластов. Последнее обстоятельство на наш взгляд является особенно усугубляющим фактором для репарации и функционального состояния сократительного (жевательного) аппарата ЧЛО.

Безусловно, одним из факторов предопределяющим переход регенераторного про-

цесса в дисрегенераторный является нарушение межклеточных и межтканевых корреляций, наблюдаемых в условиях инфицирования раны.

В фибробластах часто отмечаются ультраструктурные повреждения мембранных компартментов. Вследствие весьма незначительного числа миофибробластов тормозится контракция раневого дефекта. Регенерация эпителиев слизистой оболочки и кожи, мышечных структур щеки замедлена из-за выраженной воспалительной инфильтрации, некротических изменений грануляционной ткани, нарушения стромально-паренхиматозных взаимоотношений.

Резкое набухание, деструкция и десквамация эндотелия капилляров, утолщение и расслоение базальных мембран ведут к существенным нарушениям транскапиллярного обмена. С другой стороны плазматическое пропитывание и нейтрофильная инфильтрация стенок кровеносных сосудов и периваскулярных пространств создают условия для развития эндо-, пери- и панваскулита, часто заканчивающегося облитерацией их просвета. В просветах сохранившихся сосудов наблюдаются агрегация и агглютинация эритроцитов (сладж-феномен) образованием гиалиновых, фибриновых, лейкоцитарных или смешанных тромбов.

Мы особенно подчеркиваем то обстоятельство, что в условиях инфицирования данный характер воспаления пролонгирован за счет неравномерного

При этом гистологические исследования показали (через 10 суток опыта и позднее до 30 суток) выраженный очаговый некроз эпидермиса, дермы и тканевых элементов слизистой оболочки. Отмечены сильный отек гиподермы, дисконфлексация коллагеновых волокон, наличие воспалительной инфильтрации, стаз эритроцитов в гемокапиллярах. Подобные изменения наблюдались не только в структурах кожи и слизистой оболочки щеки, но и в мышечных волокнах (нарушения структуры миосимпластов, ультраструктурной организации миофибрилл, митохондрий, саркоплазматического ретикулума). При инфицировании в эндотелиоцитах наблюдаются набухание митохондрий, разрушение их крист, а также уменьшение количества мик-

ропиноцитозных пузырьков. Перикапиллярные пространства были в состоянии сильного отека, что свидетельствовало о резком возрастании проницаемости сосудистой стенки и накоплении межтканевой жидкости.

Структура функционально активных фибробластов (через 10 и даже 15 суток) после травматического воздействия отличалась расширенными цистернами гранулярного эндоплазматического ретикулума, но с уменьшением количества прикрепленных рибосом, что сочеталось с уменьшением числа свободных рибосом. Все наблюдаемые структурные изменения макрофагов и фибробластов косвенно свидетельствуют о снижении их функциональной активности. Одновременно имеет место ускоренная цитодифференцировка клеток фибробластического ряда.

При инфицировании значительное лимитированное развитие грануляционной (малодифференцированной) соединительной ткани в раневой области приводило к задержке эпителизации как гистоструктур кожи, так и слизистой оболочки щек (что было подтверждено нашими иммуноцитохимическими исследованиями по оценке антиапоптотического гена *bcl 2*).

Как известно белок *bcl 2* способен контролировать процессы регенерации, ограничивает вступление клеток в апоптоз, обеспечивая межклеточные коммуникации и энергетические метаболические процессы (Selinfreund R.H., 2001; Корепанова О. А., 2007).

Таким образом, обнаруженные нами в контрольной серии изменения в тканях в зоне раневого дефекта, значительно усугублялись при экзогенном инфицировании. Это приводило к фиброзу, вторичному некрозу, отсутствию полноценной грануляционной ткани, сопровождающемуся отсутствием как гисто – так и органотипической дифференцировки элементов, хронизации процесса. Данные явления обосновывают необходимость коррекции микробного воздействия на ткани челюстно-лицевой области при сквозных ранениях.

Выводы

1. Условия инфицирования сквозных раневых дефектов тканей челюстно-лицевой области существенно лимитируют процессы репаративных гистогенезов (в том числе по по-

казателям экспрессии проапоптотических генов).

2. Местное применение окситоцина оптимизирует процессы репарации эпителиальных мышечных и соединительнотканых структур, в том числе в условиях инфицирования

3. Совокупность полученных данных обосновывает целесообразность дальнейших научных исследований в аспекте нейроэндокринной регуляции взаимодействий про- и эукариот (микроорганизмов с различными персистентными свойствами и организма-хозяина).

7.09.2011

Список литературы:

1. Артамонов О.Г., Богоутдинов З.А., Намоконов Е.В. Антиоксидантная стимуляция репаративных процессов в ране // Морфологические ведомости. – М., 2009. – №3. – С. 163-164.
2. Беляев А.Н., Рыгин А.Н., Захватов А.Н. Системная и региональная антиоксидантная терапия при осложненных формах диабетической стопы // Хирургия. – 2007. – №11. – С. 46-50.
3. Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н. Системное воспаление как типовой патологический процесс // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.3, №3. – С. 48-53.
4. Давыдовский И. В. Огнестрельная рана человека. – М.: Изд-во АМН СССР, 1952. – т.1. – 468 с.
5. Корепанова, О. А. Эффект введения бактериального липополисахарида на синтетическую активность таницитарной глии третьего желудочка мозга крыс. – М.: РАЕН, 2007. – 146 с.
6. Кузин М.И., Костюченко М.И. Раны и раневая инфекция: руководство для врачей. – М.: Медицина, 1990. – 592 с.
7. Лимберг Ал. А. Актуальные проблемы организации медицинской помощи пострадавшим с сочетанной черепно-мозговой травмой. / Передовые технологии на стыке веков. – М, 2000. – 50 с.
8. Стадников А. А. Гипоталамические факторы регулирования процессов роста, пролиферации и цитодифференцировки эпителия аденогипофиза. – Екатеринбург: УрО РАН. – 1999. – 137 с.
9. Титова А. Т. Пути улучшения организации специализированной помощи при повреждениях лица у пострадавших с сочетанной и множественной травмой // Лечение повреждений лица у пострадавших с множественной и сочетанной травмой. – Л.: – 1986. – С. 4-7.
10. Трунин Д. А. Травма средней зоны лица. – Москва: ОАО Стоматология. – СамГМУ: – 2001. – с. 18
11. Selinfreund R.H. Insulin-like growth factor-I induces a rapid increase in calcium currents and spontaneous membrane activity in clonal pituitary cells. – American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2001. – Issue 6. – P. 1215-1220.

Сведения об авторах: **Кочкина Н.Н.**, доцент кафедры стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Оренбургской государственной медицинской академии, кандидат медицинских наук
e-mail: natcochkina@yandex.ru

Барков В.Н., доцент кафедры стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Оренбургской государственной медицинской академии, кандидат медицинских наук, e-mail – mirumir_2004@mail.ru

UDC 616-003.93

Barkov V.N., Kochkina N.N., Severinova S.B., Grechikhina S.V., Petrenko V.L., Matchin A.A.

Orenburg state medical academy, e-mail: orgma@esoo.ru

MORPHOFUNCTIONAL ASPECTS OF STUDY OF THE IMPACT OF INFECTION ON WOUND HEALING OF MAXILLOFACIAL REGION IN THE EXPERIMENT

The authors conducted experimental pathology experiment of infection on healing of wounds of maxillofacial region performed on 40 white adult rats creating a model of fully-layered punctured wound of maxillofacial area (cheeks). Detected changes in the tissue in the zone of wound defect significantly compounded by the exogenous infection. THESE CHANGES LEAD TO FIBROSIS, SECONDARY NECROSIS, A LACK OF MEANINGFUL granulation tissue resulting in lack both histo-and organic typical, elements differentiation, process of chronic diseases. These results justify the need for correction of microbial effects on tissue of maxillofacial area with cross-cutting injuries.

Key words: wound of maxillofacial area, reparative histogenesis, wound infection.

Bibliography

1. Artamonov O.G., Bogoutdinov Z.A., Namokonov E.V. Antioxidant stimulation of reparative processes in a wound // Morphologicheskie vedomosti. – М., 2009. – No.3. – P. 163-164.
2. Belyaev A.N., Rigin A.N., Zakhvatov A.N. Systemic and regional antioxidant therapy at complicated forms of diabetic foot. // Surgery. – 2007. – No.11. – P. 46-50.
3. Gusev E.Yu., Yurchenko L.N. Systemic inflammation as typical pathological process // Cytokines and inflammation. – 2004. – T.3, No.3. – P. 48-53.
4. Davydovskiy I.V. Firearm wound of a man. – М.: AMN SSSR, 1952. – T.1. – 468 p.
5. Korepanova O.A. Effect of bacterial lipopolysaccharide introduction on the activity of taniocytal glia of the third ventricle of rat cerebrum. – М.: RAEN, 2007. – 146 p.
6. Kuzin M.I., Kostyuchenok M.I. Wounds and wound infection: guidance for doctors. – М.: Meditsina, 1990. – 592 p.
7. Limberg Al.A. Actual problems of organization of medical aid to patients with concomitant craniocerebral injury / Progressive technologies at the turn of the century. – М, 2000. – 50 p.
8. Stadnikov A.A. Стадников А. А. Hypothalamic factors of growth processes regulation, proliferation and cytodifferentiation of adenohypophysis epithelium. – Ekaterinburg: UroRAN. – 1999. – 137 p.
9. Titova A.T. Improvement ways of specialized help organization at face injuries in patients with concomitant and multiple trauma// Treatment of face injuries in patients with multiple and concomitant trauma. – Л.: – 1986. – P. 4-7.
10. Trunin D.A. Trauma of face medium zone. – Moscow: ОАО Stomatology. – SamGMU: – 2001. – P. 18
11. Selinfreund R.H. Insulin-like growth factor-I induces a rapid increase in calcium currents and spontaneous membrane activity in clonal pituitary cells. – American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2001. – Issue 6. – P. 1215-1220.