



ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616-008.9-001.2:616-003.93:576.7:579

МОРФОЛОГІЧНІ І МІКРОБІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗАГОЄННЯ ПОКРИВНИХ ТКАНИН ПІСЛЯ МІСЦЕВОГО ПРОМЕНЕВОГО ПОШКОДЖЕННЯ

**Н. В. Красносельський, Л. І. Симонова—Пушкар, І. А. Криворучко,
С. А. Т. Гоні, С. А. Андреєщев**

Інститут медичної радіології імені С. П. Григор'єва НАМН України, м. Харків,
Харківський національний медичний університет

MORPHOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL PECULIARITIES OF HEALING OF THE COVERING TISSUES AFTER LOCAL RADIATION AFFECTATION

**N. V. Krasnoselsky, L. I. Simonova—Pushkar, I. A. Kryvoruchko,
S. A. T. Goni, S. A. Andreyeshchev**

Grygoryev Institute of Medical Radiology, Kharkiv,
Kharkiv National Medical University

Реферат

Узагальнені результати комплексного експериментально—морфологічного дослідження особливостей загоєння променевої виразки шкіри (ПВШ), інфікованої *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), у порівнянні з неінфікованою ПВШ. Інфікована ПВШ характеризувалася багатшаровою будовою, що залежало від тривалості експерименту. Процеси загоєння інфікованої ПВШ у порівнянні з неінфікованою значно уповільнені.

Ключові слова: променева виразка шкіри; морфологія; інфікована виразка, експеримент.

Abstract

Results of complex experimental—morphological investigations on peculiarities of the radiation cutaneous ulcer healing, infected by *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), comparing with noninfected radiation cutaneous ulcer, were summarized. The infected radiation cutaneous ulcer was characterized by multilayered structure, depending on the experiment duration.

The healing processes of the infected radiation cutaneous ulcer, comparing with noninfected one, are slowed—down.

Keywords: radiation cutaneous ulcer; morphology; infected ulcer; experiment.

Проблема лікування променевого пошкодження покривних тканин як наслідку терапії злоякісних новоутворень актуальна. В Європі з 10 млн. пацієнтів з приводу онкологічних захворювань променева терапія застосована у 60—70% [1]. За поглиненої дози 15—50 Гр променеві реакції різної тяжкості спостерігають практично в усіх хворих, яким проводять променеву терапію [2].

Під час проведення променевої терапії з приводу злоякісних новоутворень найбільшого впливу зазнають шкіра і глибше розташовані тканини [3—5]. ПВШ є частими ускладненнями такої терапії, лікування яких тривале й тяжке [3, 5—7]. У хворих при злоякісних новоутвореннях відзначають часте інфікування ПВШ, що погіршує процеси загоєння пошкоджених тканин [8]. Все це свідчить про необхідність проведення комплексних досліджень, спрямованих на вивчення морфофункціональних особливостей ПВШ, що дозволить розробити нові методи лікування й реабілітації таких хворих.

Мета дослідження: вивчити в експерименті морфологічні особливості загоєння ПВШ, інфікованої *P. aeruginosa*, у порівнянні з неінфікованими ПВШ.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведений експеримент на щурах лінії Вістар з дотриманням вимог Європейської конвенції (Страсбург, 1986) з утримання, годування, догляду за тваринами, а також виведенню їх з експерименту. Однорічні щури чоловічої статі порівну розподілені на дві групи: контрольну (I) та основну (II). У щурів моделювали ПВШ шляхом локального рентгеновського опромінення ділянки шкіри стегна в дозі 85,5 Гр за допомогою рентген—терапевтичного апарату TUR—60 (потужність дози 3,5 Гр за 1 хв). Тваринам групи II на поверхню ПВШ наносили 0,2 мл суспензії *P. aeruginosa* (вихідне навантаження на поверхні ПВШ становило 0,5 млн. мікробних клітин в 1 см²). Тварини виводили з експерименту на 14, 21, 30, 37—му та 52—гу добу після опромінення.

Досліджували пошкоджену шкіру з глибше розташованими м'якими тканинами з ділянки ПВШ. Мікропрепарати, забарвлені гематоксилином та еозином, пікрофуксином за ван—Гізон, вивчали за допомогою мікроскопа Olympus BX—41 з подальшим оброблянням за програмою "Olympus DP—soft version 3.1", проводили морфометричне дослід-

ження, під час якого визначали питомий об'єм (ПО) лейкоцитарно—некротичного шару (ЛНШ), зони демаркаційного лейкоцитарного валу (ЗДЛВ), грануляційної тканини (ГТ), сполучної тканини (СТ). Аналіз цифрових даних проводили з використанням програми "Statistic Soft 6.0". Середні значення показників порівнювали з використанням непараметричного U—критерію Манна—Уїтні. Відмінності вважали статистично значущими за $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У тварин груп I і II, виведених з експерименту на 14—ту добу, при дослідженні мікропрепаратів виявлений великий і глибокий рановий дефект — ПВШ, що поширювалася на глибокі шари дерми, а місцями — і гіподерми. В обох групах виразка була такої будови: поверхневий шар — ЛНШ представлений некротизованими фрагментами епідермісу і дерми з великою кількістю загиблих лейкоцитів; ЗДЛВ, що відокремлював некротизовані тканини від неуражених. За даними морфометрії, в групі II, в порівнянні з групою I, виявлена тенденція до зменшення ПО ЛНШ і збільшення ПО ЗДЛВ.

В обох групах навколо ПВШ виявлені структурні зміни, максимально виражені в групі II. Прилеглий до виразки багатопшаровий плоский зроговілий епітелій стоншений, сплющений, нормальна складчастість відсутня. В епітеліальному пласті місцями відзначали дистрофічні, місцями — некротичні зміни. Базальна мембрана, на якій розташовані епідерміс, нерівномірно виражена.

Волокна СТ дерми і гіподерми набрякли, фрагментовані, гомогенізовані. У дермі придатки шкіри в деяких полях зору атрофічні, в деяких — не визначалися або виявляли їх контури. У деяких нервових волокнах помірно виражені дистрофічні зміни. Також в цих тканинах спостерігали ознаки порушення кровообігу, зокрема, розширення судин, формування в просвіті деяких судин мікротромбів. Подекуди виявлені дрібновогнищеві діapedезні крововиливи. У деяких судинах мікроциркуляторного русла (МЦР) дерми і гіподерми відзначене потовщення, гомогенізація стінки внаслідок просочування плазми, що спричиняло звуження просвіту судин, порушення трофіки тканин. У деяких судинах МЦР відзначене набухання ендотелію, запальна інфільтрація стінки судин лейкоцитами, поодинокими лімфоцитами, макрофагами. Зміни судин, на думку вчених, відіграють основну роль в механізмі пізнього променевого ушкодження шкіри [9].

У м'язовій тканині, прилеглий до гіподерми, відзначали ішемічні й некротичні зміни. Світлі щілиноподібні простори між м'язовими волокнами представлені волокнами СТ і судинами МЦР з ознаками порушення кровообігу, що поширювалися по ендомізю.

У тканинах навколо ПВШ виявлена поліморфноклітинна інфільтрація лейкоцитами, лімфоцитами, макрофагами, поодинокими клітинами фібробластичного ряду.

На 21—шу добу мікроскопічно в групі II ПВШ представлена ЛНШ з глибше розташованою ЗДЛВ; в групі I, крім зазначених двох шарів, нижче зони демаркації виявлені окремі зони формування ГТ, що характеризувалася наявністю значної кількості лейкоцитів, лімфоцитів, макрофагів, клітин фібробластичного диферону, нечисленних дрібних судин, стінки яких були з ознаками плазматичного просочування, та хаотично розташованих тонких волокон СТ червоного забарвлення за ван—Гізон. За даними морфометричного дослідження в групі II, в порівнянні з групою I, ПО ЛНШ був значно меншим, ПО ЗДЛВ — значно більшим. У порівнянні з 14—ю добою, на 21—шу добу в групі I відзначено тенденцію до зменшення ПО ЛНШ, ПО ЗДЛВ; в групі II —

до зменшення ПО ЛНШ і збільшення ПО ЗДЛВ. В обох групах навколо ПВШ, у порівнянні з 14—ю добою на 21—шу добу відзначали збільшення вираженості дистрофічно—некротичних та набрякових змін, порушення кровообігу, максимально у групі II. Також в цих тканинах виявляли поліморфну інфільтрацію лейкоцитами, лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного ряду. У порівнянні з 14—ю добою, на 21—шу добу встановлена тенденція до збільшення кількості клітин фібробластичного ряду, більш виражена в групі I.

На 30—ту добу в обох групах ПВШ характеризувалася багатопшаровою будовою, ширина ЛНШ в групі I в крайових відділах виразки зменшувалася, виявляли ЗДЛВ і тонкий шар молоді, незрілої ГТ, що характеризувалася вираженим клітинним, помірно вираженим судинним і невеликим волокнистим компонентами. В групі I, у порівнянні з 21—ю добою, в ГТ виявлені зміни якісного складу: виражене збільшення клітинного і судинного компонентів, помірне збільшення волокнистого компоненту. За даними морфометричного дослідження в групі II, в порівнянні з групою I, ПО ЛНШ і ПО ГТ значно менші, а ПО ЗДЛВ — значно більший. У порівнянні з 21—ю добою, на 30—ту добу в групах I і II ПО ЛНШ та ПО ЗДЛВ значно зменшувалися, в групі I ПО ГТ значно збільшувалася.

У тварин обох груп навколо ПВШ виявлені зміни, аналогічні таким на 21—шу добу, проте, їх вираженість зменшувалася. У тканинах навколо виразки, у ГТ, розташованій у дні виразки, відзначали поліморфноклітинну інфільтрацію лейкоцитами, лімфоцитами, макрофагами та клітинами фібробластичного диферону. У порівнянні з 21—ю добою, виявлене збільшення кількості клітин фібробластичного ряду, більш виражене в групі I.

На 37—му добу в групі I поверхня ПВШ представлена ЛНШ, товщина якого в крайових ділянках зменшувалася, ЗДЛВ, шаром зрілої ГТ, що характеризувалася збільшенням (у порівнянні з таким на 30—ту добу) волокнистого компоненту та зменшенням клітинного й судинного компонентів, тонким шаром хаотично розташованих потовщених волокон СТ; в групі II у виразці відзначали аналогічні шари, виявлені на 30—ту добу, при цьому на 37—му добу ГТ характеризувалася наявністю вираженого клітинного і судинного компонентів, а також слабо вираженого волокнистого компоненту. За даними морфометричного дослідження ПО ЛНШ достовірно не різнився в групах I і II, ПО ЗДЛВ був значно більшим в групі II, ПО ГТ — в групі I. У порівнянні з 30—ю добою, в групі I ПО ЛНШ значно зменшився, відзначено тенденцію до зменшення ПО ЗДЛВ, ПО ГТ значно збільшився; в групі II відзначали тенденцію до зменшення ПО ЛНШ, значне зменшення ПО ЗДЛВ, значне збільшення ПО ГТ.

У групі I навколо ПВШ товщина епідермісу збільшувалася внаслідок гіперпластичних процесів; у деяких спостереженнях збільшення епітеліального шару в напрямку дефекту практично не було, а в деяких — відзначали тенденцію до проникнення епітеліального шару під ЗДЛВ, що зумовлювало відторгнення ЛНШ з зони демаркації. Також в групах I і II у навколишніх тканинах відзначали зменшення (в порівнянні з таким на 30—ту добу) набряку, порушення кровообігу, прогресування склеротичних змін. У деяких судинах МЦР дерми, гіподерми і м'язової тканини зберігалися ознаки васкуліту. У деяких полях зору стінки судин МЦР потовщені внаслідок склеротичних змін, що зумовлювало звуження просвіту судин та порушення трофіки тканини.

В ГТ, що заповнювала ранову порожнину, а також тканинах навколо ПВШ виявляли інфільтрацію лейкоцитами, лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного

ряду. Причому, кількість клітин фібробластичного ряду, у порівнянні з такою у попередні строки спостереження, збільшувалася в обох групах.

На 52—гу добу в обох групах у периферійних відділах ПВШ відзначали відторгнення ЛНШ, місцями з ЗДЛВ, в центральних відділах виразки відторгнення цих шарів не спостерігали. Шар зрілої ГТ характеризувався вираженими ознаками утворення волокон, за якою в групі I відзначали шар СТ. За даними морфометричного дослідження ПО ЛНШ і ПО ЗДЛВ були значно більшими в групі II, ПО ГТ значно не різнився. У порівнянні з 37—ю добою, на 52—гу добу в обох групах ПО ЛНШ і ПО ЗДЛВ значно зменшувався, ПО ГТ і ПО СТ — значно збільшувався.

У групі I, у порівнянні з 37—ю добою, спостерігали більш активну епітелізацію поверхні дефекту. У периферійних відділах виразки, де виявляли відторгнення ЛНШ з прилеглою ЗДЛВ, відзначали потовщений багат шаровий епітеліальний пласт, місцями міцно, місцями неміцно зрощений з ГТ.

Навколо ПВШ в групі I набряку і порушення кровообігу не було, в групі II виявлене помірно виражене порушення кровообігу. В обох групах спостерігали склеротичні зміни, судини МЦР з ознаками васкуліту.

Поліморфну клітинну інфільтрацію лімфоцитами, макрофагами, лейкоцитами і клітинами фібробластичного ряду відзначали як у тканинах навколо виразки, так і в ГТ самої виразки. У порівнянні з 37—ю добою, виявлене збільшення кількості клітин фібробластичного ряду.

Аналіз результатів комплексного морфологічного дослідження свідчив, що у щурів обох груп під впливом опромінення у шкірі та глибше розташованих тканинах утворювався великий і глибокий рановий дефект — ПВШ, будова і процеси загоєння якої залежали від умов і тривалості експерименту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Овчинников ВА, Угляница КН, Волков ВН. Современные методы лучевого лечения онкологических больных. Журнал ГрГМУ. 2010;1:93—7.
2. Москалев ЮИ. Отдаленные последствия ионизирующего излучения. Москва: Медицина, 1991. 463 с.
3. Кулаев МТ, Мельцаев ГГ, Щукин СА. Новый способ в лечении лучевых язв у больных со злокачественными новообразованиями видимых локализаций. Практ медицина. 2009;4(36):86—9.
4. Семикоз НГ, Селезнев КГ, Дубровина ИВ. Оценка эффективности применения геля, содержащего биологически активные вещества медицинской пиявки, для профилактики и лечения лучевых эпителиитов у больных раком вульвы. Онкология. 2001;3(2—3):163—5.
5. Warnock C, Nicola L. Skin reactions from radiotherapy. Cancer nursing practice. 2014;13(9):16—22.
6. Иванов ЕВ. Лучевые повреждения кожи и их дифференциальная диагностика с венозными трофическими язвами. Медицинская наука и образование Урала. 2006;(1):25.

На підставі виявлених мікроскопічних особливостей, аналізу основних структурних компонентів ранової порожнини у різні строки експерименту (з 14—ї до 52—ї доби) встановлено, що процеси загоєння ПВШ уповільнені, що підтверджують дані літератури. Так, автори виявляли порушення репараційних процесів і виражене хронічне запалення, яке ми також спостерігали, як основну причину тривалої відсутності загоєння ПВШ. Друга фаза загоєння ПВШ, що включала формування ГТ з епітелізацією дефекту, не виражена і може тривати роками [10].

На процеси регенерації рани можуть впливати різні чинники, що перешкоджають загоєнню: характер шкідливого чинника, супутні захворювання, пригнічення імунної реактивності, приєднання вторинної інфекції тощо [4]. У проведеному дослідженні встановлено, що процеси загоєння ПВШ ще більше уповільнені при інфікуванні її *P. aeruginosa*, що є частою причиною виникнення інфекційних ускладнень в онкологічній практиці. Ризик виникнення інфекцій в онкологічних хворих істотно підвищений у зв'язку з наявністю пухлинної інтоксикації, виснаження, анемії, тривалістю та обсягом оперативного втручання, що передують хіміо— або променевої терапії [11].

ВИСНОВКИ

1. ПВШ, інфікована *P. aeruginosa*, характеризувалася багат шаровою будовою, що залежало від тривалості експерименту (у ранні строки виразка представлена ЛНШ і ЗДЛВ, у пізні строки з'являвся ще й шар зрілої ГТ).

2. Процеси загоєння ПВШ, інфікованої *P. aeruginosa*, у порівнянні з неінфікованою виразкою, значно уповільнені, що проявлялося повільним відторгненням ЛНШ, збереженням більш вираженої ЗДЛВ, менш вираженою та пізньою появою ГТ, відсутністю у пізні строки СТ, відсутністю гіперпластичних процесів в епітеліальному шарі ранового дефекту.

7. Полевикова НЯ, Краснопеєва СВ, Жданова ЕВ, Головач ТВ, Бредюк СВ. Микробиологическая характеристика возбудителей в гнойных ранах. Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2009;3(38):77—9.
8. Бардычев МС. Лечение местных лучевых повреждений. Лечащий врач. 2003;(5):78—9.
9. Пилипенко МІ. Місцеві променеві ушкодження. Укр радіол журн. 2014;(22):34—45.
10. Пасов ВВ, Терехов ОВ, Бойко ИН. Консервативное лечение глубоких поздних лучевых повреждений мягких тканей с применением препарата на основе эпидермального человеческого фактора роста. Наукові праці. 2012;187(175):90—3.
11. Дмитриева НВ, Петухова ИН, Смолянская АЗ. Инфекционные осложнения в онкологической клинике. Практ онкология. 2001;1(5):18—20.

