

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ С ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ПОРАЖЕНИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

А.В.Прошин

Московский государственный медико-стоматологический университет, net_proshin@mail.ru

Проанализирована морфология раневого процесса у больных с гнойно-некротическими поражениями нижних конечностей и проведено его исследование в сравнении с больными на фоне сахарного диабета. За основу взяты гистологическое исследование биопсийного материала, результаты цитологического и иммуноцитохимического исследования.

Ключевые слова: *раневого процесс, сахарный диабет*

The morphology of the wound process at the patients with pyonecrotic lesions of lower extremities is analyzed and compared; investigation of the process was performed on the back ground on diabetes mellitus. Histology studying of biopsy material, cytology and immunocytochemical finding were used as the basis of the investigation performed.

Keywords: *wound process, diabetes mellitus*

Изучение особенностей течения раневого процесса является одним из основных направлений в решении проблемы гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы и тактике хирургического лечения. В последние годы отмечается рост заболеваемости сахарным диабетом. В ряде стран его удельный вес в структуре заболеваний составляет 6%. Каждый второй больной сахарным диабетом подвергается хирургическому вмешательству, значительную часть которых составляют гнойно-некротические изменения на стопах, встречающиеся у 28,6-65% больных сахарным диабетом [1-3].

В настоящее время высказывается мнение, что сахарный диабет негативно влияет на течение раневого процесса [3,4], замедляет заживление ран, которые приобретают длительный, рецидивирующий характер. Особенности раневого процесса обусловлены нарушением тканевого кровообращения в участках поражения, нарушениями всех видов обмена в организме, ведущих к развитию ацидоза, гипоксии и метаболической интоксикации [5,6], присутствием анаэробно-аэробной микрофлоры в очагах гнойного воспаления [7]. Раневой процесс — совокупность клинических, патофизиологических, биохимических, бактериологических и морфологических изменений, характеризующих динамику заживления раны. Заживление ран — сложный, протекающий на различных уровнях (молекулярном, субклеточном, клеточном, тканевом и органном) процесс, конечной целью которого является ликвидация повреждения с максимальным восстановлением анатомической структуры при условии минимальных функциональных потерь [8].

Целью данной работы является сравнительное морфологическое исследование раневого процесса у больных с гнойно-некротическими поражениями нижних конечностей на фоне течения сахарного диабета.

Материал и методы исследования

Клинические данные основаны на материале, полученном при обследовании больных, имеющих

гнойные раны на стопе. Основную (первую) группу составили 89 пациентов, не страдающих сахарным диабетом; контрольную (вторую) группу — 93 больных с гнойно-некротическим процессом на стопе, протекающим на фоне сахарного диабета (СД). Средний возраст, пол, характер гнойно-некротического процесса на стопе и другие параметры были сопоставимы в выделенных клинических группах. Морфологические исследования проводились с использованием биопсийного материала для гисто-, цито- и иммуноцитохимического анализа. Морфологическое исследование включало в себя следующие методы: гистологический (48 биоптатов) и иммуноморфологический (25 биоптатов).

Гистологический метод. Биоптаты фиксировали в 10% нейтральном формалине и, по общепринятой методике, заливали в парафиновые блоки. Изготовленные из парафиновых блоков гистологические срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты изучали и фотографировали с использованием системы «микроскоп DM LB (Leica, Germany) — видеокамера JVC (USA) — компьютер Pentium IV».

Иммуноморфологический метод. Иммунопереоксидазным методом с использованием четырех моноклональных антител исследовали особенности грануляционной ткани в двух группах наблюдений. Изучали те же биоптаты (25 из 48), которые исследовали гистологическим методом. В качестве первичных специфических антител использовали моноклональные антитела производства фирм NOVOCASTRA, DAKO и Lab Vision к маркеру эндотелия сосудов, антигену CD31 (позволяет визуализировать сосуды в тканях) и к коллагену I типа (для оценки качества коллагенообразования), к Т-лимфоцитам-хелперам (CD4) и Т-лимфоцитам-супрессорам и киллерам (CD8).

С целью визуализации результата реакции связывания антигена с антителом использовали систему детекции «UltraVision LP Value HRP Polymer» (козьи антитела к кролику и мыши), Lab Vision США. Ре-

зультат реакции с антителами к коллагену оценивали по общепринятой системе полуколичественным методом в баллах от 0 до 3-х (отсутствие реакции, слабая, умеренная и выраженная реакция), с антителами к Т-лимфоцитам-хелперам, супрессорам/киллерам — по количеству в грануляционной ткани таких клеток в поле зрения при увеличении микроскопа $\times 400$.

Визуализацию раневого процесса осуществляли, ориентируясь на следующие критерии: степень выраженности и продолжительности воспалительных проявлений в области раны (отек, гиперемия, раневой экссудат), состояния дна раны, а также фиксировали сроки появления грануляций, начала эпителизации и заживления раневых дефектов. Анализ раневого процесса проводили комплексно, согласно стадиям его развития.

При морфологическом исследовании образцов ткани до начала лечения отмечено, что у больных обеих групп ткани в области раны подвержены некротическим изменениям, отмечалась лейкоцитарная инфильтрация и многочисленные колонии кокковых бактерий (рис.1).

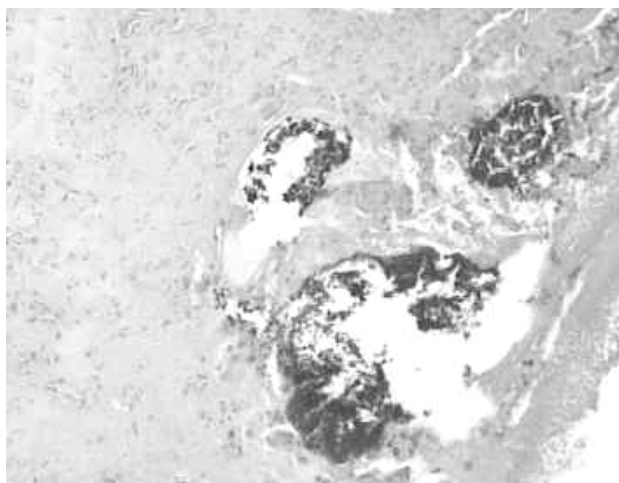


Рис.1. Крупные колонии бактерий среди некротических масс. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Дерма, а также элементы рыхлой соединительной ткани были в состоянии деструкции с образованием многочисленных микроабсцессов. Помимо этого, в тканях раны отмечали выраженные микроциркуляторные расстройства: дилатацию сосудов, явления стаза в них, наличие микротромбов, разрушение стенки сосудов. Деструктивные процессы с разволокнением миофибрилл распространялись и на мышечную ткань.

Лечение больных I и II групп традиционной терапией (больным II группы дополнительно проводили коррекцию углеводного обмена) в сочетании с местной приводило к купированию отека и гиперемии кожи вокруг раны. У больных I группы это происходило на $5,8 \pm 0,7$ суток, в то время как у 30% больных II группы это наблюдалось на $12,5 \pm 0,3$ суток, а у 70% — на $14,9 \pm 1,2$ суток. Очистка ран от гнойно-некротических масс у больных I группы проходила в среднем на $7,4 \pm 0,2$ суток. У пациентов II группы эти сроки сдвигались у 20% до $16,9 \pm 1,2$ су-

тки, у 58% — до $19,6 \pm 1,2$ суток и у 22 % — до $19,9 \pm 0,9$ суток.

Анализ морфологических исследований свидетельствует о торможении раневого процесса в группе больных с СД. Удлиняются сроки резорбции и отторжения некротических тканей в ране, длительное время наблюдается отек, что согласуется с данными других исследователей [9].

Цитологическое исследование раневого экссудата больных I и II группы дополняло морфологическую картину. В цитограммах отмечалось преобладание нейтрофильных лейкоцитов до 69 ± 2 в поле зрения пациентов I группы и до $75 \pm 3,1$ — в поле зрения у пациентов II группы. Число разрушенных нейтрофилов при этом составляло в I группе $8,8 \pm 0,5\%$; с признаками дегенеративных изменений — $79,6 \pm 2,8\%$; величина нейтрофилов с сохраненной структурой составляла $11,6 \pm 1,7\%$. Цитологическая картина пациентов II группы носила несколько иной характер: преобладали дегенеративные и разрушенные формы нейтрофилов ($82,2 \pm 2,4\%$ и $11,6 \pm 0,5\%$ соответственно), тогда как количество сохраненных форм составляло $6,2 \pm 0,5\%$. В цитограммах II группы больных в значительном количестве присутствовали микроорганизмы кокковой флоры. Отмечалось отсутствие макрофагов и полибластов. Незавершенный фагоцитоз в полинуклеарах составлял $78 \pm 2,1\%$. Тип цитограмм больных обеих групп соответствовал дегенеративно-воспалительному, хотя у пациентов II группы число разрушенных нейтрофилов явно преобладало. Переход ко второй фазе раневого процесса сопровождался уменьшением инфильтрации мягких тканей. У пациентов I группы уже на 7—10 суток поверхность ран покрывали грануляции. В грануляционной ткани преобладали пучки коллагеновых волокон, среди которых располагались веретенообразные фибробласты и фиброциты. Основной функцией этих клеток является, очевидно, регуляция метаболизма и механической стабильности матрикса. В грануляционной ткани отмечаются явления ангиогенеза. Процесс регенерации распространяется и на мышечную ткань, в которой имеет место формирование мышечных трубочек (рис.2).

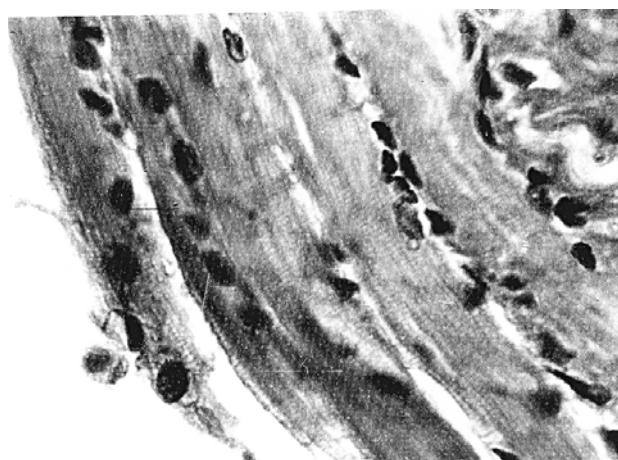


Рис.2. Формирование мышечных трубочек поперечно-полосатой мышечной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

У пациентов II группы значительно, практически в 1,5 раза, замедляется процесс перехода во 2-ю фазу. Замедляется, по сравнению с I группой, процесс дифференцировки фибробластов и образование коллагеновых волокон (рис.3). У пациентов II группы увеличивается по времени процесс перехода во 2-ю фазу. Замедляется, по сравнению с I группой, процесс дифференцировки фибробластов и образование коллагеновых волокон. Наблюдается умеренное количество вновь сформированных сосудов.

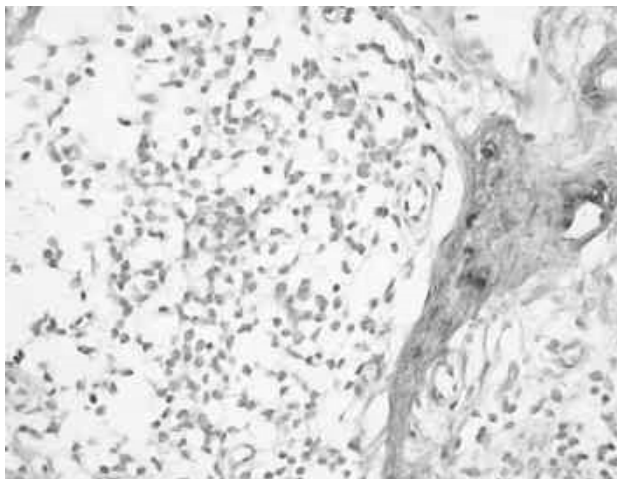


Рис.3. Практически полное отсутствие (0-1 балл) коллагена I типа в созревающей грануляционной ткани больных II группы (он хорошо выявляется по периферии в участках сохранившейся зрелой соединительной ткани — 3 балла). Иммунопероксидазный метод с антителами к коллагену I типа, $\times 400$

В гистологических препаратах больных сахарным диабетом на 14 сутки отмечается меньшее содержание макрофагов в гнойной ране (на 41% меньше по сравнению с первой группой). Недостаточное содержание макрофагов, стимулирующих пролиферацию фибробластов и синтез коллагена, вероятно, объясняет торможение процессов формирования грануляции. Анализ гистограмм пациентов второй группы позволяет отметить, что раневой процесс сопровождается явлениями диабетической микроангиопатии, выражены изменения дермы, имеет место гиалиноз соединительной ткани.

Наряду с образованием грануляционной ткани, после быстрого ее очищения от некротических масс (II группа) вновь могут формироваться участки с зонами некроза и колониями бактерий. Характерной особенностью таких событий является недостаточность клеточной реакции со слабой или невыраженной лейкоцитарной инфильтрацией.

Наличие множественных микробных ассоциаций в патологическом очаге, высокая степень обсемененности микробами тканей замедляют сроки очищения и заживления ран у больных с осложненными формами диабетической стопы. Такому течению раневого процесса нередко способствуют изменения в системе клеточного и гуморального иммунитета: снижение активности Т- и В-лимфоцитов (CD4, CD8) (рис.4,5).

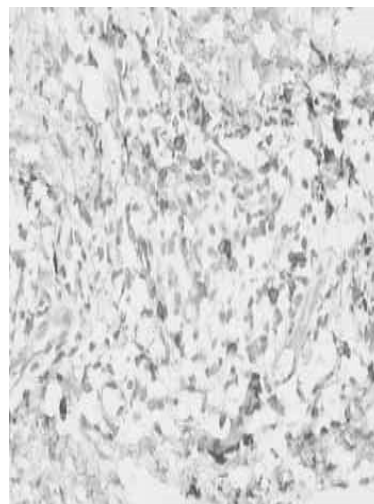


Рис.4. Небольшое количество Т-лимфоцитов-хелперов (CD4+) в грануляционной ткани даже во 2-ю фазу раневого процесса (56-67 клеток в поле зрения при увеличении микроскопа $\times 400$). Иммунопероксидазный метод с антителами к CD4, $\times 400$

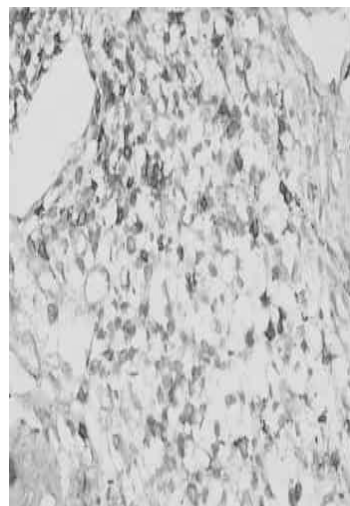


Рис.5. Умеренное количество Т-лимфоцитов-супрессоров и киллеров (CD8+) в грануляционной ткани во 2-ю фазу раневого процесса (67-112 клеток в поле зрения при увеличении микроскопа $\times 400$). Иммунопероксидазный метод с антителами к CD8, $\times 400$

На 18 сутки течения раневого процесса количество нейтрофилов в цитограмме у больных I группы составляло $27,3 \pm 1,7$, на 25 сутки — они практически не выявлялись. Тип цитограммы соответствовал регенераторно-воспалительному. Однако у больных II группы на 25 сутки в цитограмме все еще могли определяться измененные формы нейтрофилов, содержание которых приближалось к $30,7 \pm 1,7$. Воспалительная фаза раневого процесса переходит у больных I группы на $10,4 \pm 0,2$ сутки в репаративную фазу, в то время как у пациентов II группы она отодвигается на 20-27 сутки. Размеры ран сокращаются за счет эпителизации и контракции рубцовой ткани. Наряду с регенерацией соединительной ткани дермы кожи и ее производных — волосных фолликулов, происходит восстановление эпителиального пласта.

Выводы

При гнойных ранах различного генеза их биологическая сущность и последовательность разворачиваемых событий остается единой. Раневой процесс у больных с СД сопровождается рядом особенностей:

- 1) снижением численной плотности сосудов грануляционной ткани;
- 2) значительным замедлением и нарушением созревания грануляционной ткани, дистрофическими нарушениями пучков коллагена;
- 3) появлением очагов нагноения грануляционной и зрелой соединительной ткани.

Морфологическая картина диабетических ангиопатий и нейропатий с микроциркуляторной дисфункцией способствуют гипоксии тканей раны и при сочетанном снижении клеточного и гуморального иммунитета нарушают течение раневого процесса, удлиняя сроки и фазы заживления ран. Все вышеизложенное демонстрирует позитивную комплексную морфологическую оценку течения раневого процесса. Описанный подход позволит адекватно оценить его степень и глубину с целью разработки и применения оправданного алгоритма антибактериального, противовоспалитель-

ного и стимулирующего репаративные процессы лечения гнойных ран мягких тканей, что, несомненно, позволит улучшить качество жизни пациента без увеличения или минимальной операционной активности.

1. Greenhalgh D.G. // J. Clin. Plast.Surg. 2003. V.30. №1. P.37-45.
2. Гостищев В.К., Афанасьев А.Н. // Сб. ст. конф. «Стандарты диагностики и лечения в гнойной хирургии». М., 2001. С.107-112.
3. Брискин Б.С., Дибиров М.Д., Хамитов Ф.Ф., Прошин А.В., Якобишвили Я.И. // Хирургия. 2007. №1. С.49-55.
4. Светухин А.М., Земляной А.Б. // Современные аспекты диагностики, лечения, профилактики поражений нижних конечностей у больных сахарным диабетом: Тр. науч.-практ. конф. М., 1996. С.177-183.
5. Дедов И.И., Анцифоров М.Б., Галстян Г.Р., Токмакова А.Ю. Синдром диабетической стопы. Клиника, диагностика, лечение и профилактика. М., 1998. 150 с.
6. Мясник Б.Н., Абидов М.М., Каримов З.З. // Хирургия. 2002. №6. С.48-51.
7. Кошелев П.И., Карпукhin Г.Н., Губин А.М. // Ангиология и сосудистая хирургия. 1997. №2. С.107.
8. Серов В.В., Пауков В.С. Воспаление. М.: Медицина, 1995. 640 с.
9. Шулуто А.М., Антропова Н.В., Крюгер Ю.А. // Хирургия. 2004. №12. С.43-46.