

Арий Елена Григорьевна

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ КОЖНЫХ РУБЦОВ И ВЛИЯНИЕ НА НИХ
ЭКСТРАКТА ИЛОВОЙ
СУЛЬФИДНОЙ ГРЯЗИ
(экспериментальное исследование)**

03.00.25– гистология, цитология, клеточная биология

14.00. 27 – хирургия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Томск – 2003

Работа выполнена в Сибирском государственном медицинском университете,
г. Томск

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Логвинов Сергей Валентинович

доктор медицинских наук, профессор

Байтингер Владимир Федорович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Суходоло Ирина Владимировна

доктор медицинских наук, профессор

Баширов Рафаэль Сергеевич

Ведущая организация – ГУ Научный центр клинической и экспериментальной
медицины СО РАМН, г. Новосибирск

Защита состоится «_____» _____ 2003 г. в _____ часов
на заседании диссертационного совета Д208.096.03 при Сибирском
государственном медицинском университете МЗ РФ (634050, г. Томск,
пр. Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке
Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск,
пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан «_____» _____ 2003 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

А.В. Герасимов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Изучение основных структурных закономерностей кожной регенерации в норме и при патологии в заключительной фазе заживления ран – фазе рубцевания, а также в процессе ремоделирования рубцовой ткани является одной из актуальных проблем современной гистологии. В литературе вопросы морфогенеза патологических рубцов освещены недостаточно полно. Известно лишь небольшое число тщательно выполненных морфологических исследований кожных рубцов. Существующие представления о патоморфологии грубых рубцов кожи весьма противоречивы [Романенко В.Н. и др., 1984; Сизов В.М., 1990; Jiang D. et al., 1998; Prathiba V. et al., 1998].

Частота только келоидов, по материалам ряда авторов, колеблется от 4,2 до 21,5% всех больных с рубцами, в том числе в среднем 8,2% келоидов послеоперационной этиологии, в то время как грубые гипертрофические рубцы на коже, возникающие после оперативных вмешательств различной локализации, встречаются гораздо чаще [Дельвиг А.А., 1995; Levis W.H., 1996; Wan K.C., Martin P., 1997; Малыхина Т.В., 2000].

В пластической и косметической хирургии знания о морфогенезе грубых послеоперационных рубцов на коже, методах их профилактики, а при необходимости и адекватного лечения имеют особое значение, так как подчас исход даже самой искусной пластической операции может быть сведен на «нет» неконтролируемым рубцовым процессом кожи [Dockery G.L., 1995; Парамонов Б.А. с соавт., 2000; Borgognoni L., 2002; Казарезов М.В. и др., 2002; Озерская О.С., 2002]. Рассматривая традиционные методы лечения грубых рубцов различной локализации, следует отметить, что диапазон действительно эффективных способов лечения невелик ввиду того, что патологические рубцы плохо поддаются терапии (особенно, келоиды) и склонны к рецидивированию [Гарюк Г.И. и др., 1991; Брейман Р. и др., 1998; Резникова А.Е., 1999; Королева А.М., 2002]. В связи с этим необходима разработка новых патогенетически обоснованных методов коррекции рубцового процесса кожи.

Все чаще наряду с традиционными методами терапии грубых рубцов кожи применяются разнообразные физиотерапевтические подходы, особенно их комбинация с природными факторами [Короткий Н.Г. и др., 1998; Willital G.H., 1998; Gavroy J.-P. et al., 1999; Герасименко М.Ю. и др., 2002; Пономаренко Г.Н., 2002]. Это обусловлено большим процентом рецидивов после иссечения патологических рубцов, необходимостью ограничения медикаментозной нагрузки на организм пациента, а также особенностями лечебного действия биологически активных веществ природного происхождения [Царфис П.Г. с соавт., 1990; Шустов Л.П., 1996; Казьмин В.Д., 2001].

В Томском институте химии нефти СО РАН разработан экстракт высокополярных липидов из иловых сульфидных грязей (“Эплир”), содержащий каротины, ксантофиллы, хлорофилл и его производные, стерины, миксоксантофиллы, высокомолекулярные кислоты, фосфолипиды (регистрационное удостоверение на биологическую активную добавку Мин-здрава РФ от 7. 08. 2000 г. № 001633.Р.643.08.2000).

По результатам экспериментальных исследований А.С. Саратикова и А.И. Венгеровского (1988, 1991), экстракт липидов иловых сульфидных грязей является ингибитором свободнорадикальных реакций, обладает антиоксидантным действием, препятствует деструкции клеток. В качестве биологически активных веществ выступают фосфолипиды и каратиноиды. Проведенные в Томском НИИ курортологии и физиотерапии экспериментальные и клинические исследования показали, что экстракт оказывает выраженные анальгезирующие и противовоспалительные свойства, не вызывает аллергических реакций, а воздействие ультразвука в обычных терапевтических дозировках не разрушает химической структуры этого препарата [Шустов Л. П., 1996].

Экстракт широко применяется при заболеваниях, в патогенезе которых имеют место воспаление, дегенеративные и дистрофические процессы [Зарипова Т.Н., 1994; Петрова М.С., 1999; Тихоновская О.А., Логвинов С.В., 2000].

В литературе освещены механизмы проникновения компонентов пелоидов в кожу и организм, однако, вопросы морфофункционального состояния кожи под влиянием пелоидов изучены недостаточно. Имеются лишь единичные сообщения, касающиеся применения грязевых препаратов (в частности, отгона лиманской грязи-пелоидодистиллата) в дерматологии [Поповкина Т.Е., 1991; Пурышев В.В. с соавт., 1991]. Дефицит информации о состоянии клеточного и внеклеточного субстрата, микроциркуляции и нервного аппарата в патологических послеоперационных рубцах, их ультраструктурной организации под действием природных и преформированных факторов, а также отсутствие сообщений, касающихся воздействия экстракта высокополярных липидов иловых сульфидных грязей на послеоперационные кожные рубцы, в том числе и патологические, позволяют считать исследования такого рода актуальными и необходимыми для патогенетического обоснования целесообразности проведения бальнеофизиотерапии при рубцевании.

Цель исследования. Установить характер влияния экстракта иловой сульфидной грязи на морфофункциональное состояние патологических послеоперационных рубцов для патогенетического обоснования нового способа их лечения.

Задачи исследования:

1. Создать и обосновать экспериментальную модель патологического рубца на коже крыс, изучить морфологические изменения в процессе ремоделирования кожного рубца в динамике.
2. Изучить характер влияния фонофореза экстракта иловой сульфидной грязи на состояние эпителия, придатков кожи, сосудистого и нервного аппарата, популяций фибробластов и тканевых базофилов в патологических рубцах и

окружающей их коже, а также на ремоделирование рубцовой соединительной ткани.

3. Провести сравнительный анализ влияния фонофореза экстракта иловой сульфидной грязи и фонофореза гидрогеля «Контрактубекс» на морфофункциональное состояние послеоперационных кожных рубцов.
4. Изучить характер влияния ультразвука на химическую природу «Контрактубекса» и экстракта иловой сульфидной грязи.
5. Экспериментально обосновать возможность использования ультрафонофореза экстракта высокополярных липидов иловой сульфидной грязи для коррекции патологических кожных рубцов.

Научная новизна. Впервые использована модель патологического рубца крыс, полученная путем иссечения полнослойного кожного лоскута заданной площади в сочетании с подшиванием краев кожного дефекта ко дну раны непрерывным кетгутовым швом. Изучены морфофункциональные изменения послеоперационных кожных рубцов, а также количественные показатели основных структурных элементов рубцовой ткани (тканевых базофилов, зрелых фибробластов, сосудов) под влиянием фонофореза экстракта иловой сульфидной грязи в сравнении с таковыми после фонофореза препарата «Контрактубекс». Выявлены регулирующие действие пелоидофореза на популяцию тканевых базофилов в рубцах и окружающей коже, уменьшение выраженности реактивных и деструктивных изменений нервного аппарата под его влиянием. Получены новые данные о динамике ремоделирования послеоперационного кожного рубца, интенсивности репаративных процессов соединительной ткани под действием фонофореза экстракта иловой сульфидной грязи. Впервые показаны антисклеротические, антигипоксические и биостимулирующие свойства фонофореза экстракта грязи на патологические кожные рубцы, способствующие уменьшению объема волокнистого компонента соединительной ткани и преобразованию рубцов в регенераты кожного типа. Новыми являются сведения об активизирующем влиянии ультразвука на химическую структуру высокополярных липидов иловой сульфидной грязи и гидрогеля «Контрактубекс».

Практическая ценность работы. Полученные результаты расширяют фундаментальные представления о тканевых механизмах действия пелоидофизофакторов на патологические послеоперационные рубцы и окружающую их кожу, закономерности кожной регенерации и ремоделирования рубцовой ткани. Материалы диссертации используются в учебном процессе при чтении лекций на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии СГМУ по разделу «Кожа».

Результаты диссертации легли в основу способа экспериментального моделирования патологических кожных рубцов (заявка на изобретение № 2002124664, приоритет от 16. 09. 2002), а также экспериментального обоснования нового способа лечения гипертрофических и келоидных рубцов с использованием ультрафонофореза экстракта полярных липидов иловой сульфидной грязи (заявка на изобретение № 2002124663, приоритет от 16. 09. 2002).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Иссечение полнослойного кожного лоскута обширной площади (20 см²) на спине беспородных крыс-самцов в сочетании с шовным ограничением контракции приводит к формированию кожного рубца, имеющего морфологические признаки патологического (гипертрофического) рубца.
2. Ультрафонофорез экстракта иловой сульфидной грязи на патологические кожные рубцы модифицирует динамику и характер тканевых процессов, ускоряя ремоделирование рубцов.
3. Ультрафонофорез экстракта иловой сульфидной грязи стимулирует новообразование сосудов, придатков кожи (волос, сальных и потовых желез), эластических волокон, снижает реактивные и деструктивные изменения нервного аппарата.
4. Проведение пелоидофонофореза патологических кожных рубцов уменьшает и предупреждает фиброзно-склеротические изменения соединительной ткани.

Апробация. Материалы диссертации были доложены на VI Конгрессе Международной ассоциации морфологов (Нижний Новгород, 2002); III и IV международных конгрессах молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2002, 2003); Российской научной конференции с участием стран СНГ «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической морфологии», посвященной 150-летию со дня рождения члена-корреспондента Российской Академии наук, профессора А. С. Догеля (Томск, 2002).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 189 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы, включающего 252 источника, из которых 157 на русском и 95 на иностранном языках. Диссертация иллюстрирована 7 таблицами и 76 рисунками (41 микрофотографий, 14 электроннограмм, 5 схем, 15 графиков, 9 диаграмм). Все материалы, представленные в диссертации, получены, обработаны и проанализированы лично автором.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на 147 беспородных белых крысах-самцах массой 180–210 г, полученных из вивария СибГМУ. В качестве контроля использовали 40 интактных животных, у которых исследовали кожу в центре спины с учетом возможных возрастных физиологических процессов, происходящих за 95 сут эксперимента (группа 1). У крыс 2-й группы (n=20) изучали процесс рубцевания полнослойной кожной раны спины площадью 5x4 см², края которой не фиксировали к подлежащим тканям.

Остальным животным моделировали патологический кожный рубец по разработанной методике. Предварительно волосы на спине крыс тщательно выстригали ножницами. Животных фиксировали в станке в положении на

животе, производили иссечение полнослойного лоскута кожи 5×4 см² в центре спины в продольном направлении. Края сформированного кожного дефекта подшивали непрерывным обвивным швом к подлежащим мышцам без стягивания краев нитью полированного нехромированного кетгута 4/0 с сохранением площади первоначально нанесенной раны. При выполнении данной методики летальные исходы у экспериментальных животных отсутствовали. У крыс 3-й группы (n=20) изучали процесс рубцевания патологических кожных рубцов без лечения. У животных 4-й группы (n=20) исследовали влияние ультразвуковой терапии на патологические кожные рубцы. Влияние ультрафонофореза контрактубекса на морфофункциональное состояние патологических кожных рубцов изучали у крыс 5-й группы (n=22). У животных шестой группы (n=25) исследовали ремоделирование патологической рубцовой ткани под воздействием ультрафонофореза экстракта высокополярных липидов иловых сульфидных грязей.

Все операции проводились под ингаляционным масочным наркозом парами эфира. Послеоперационные раны заживали в естественных условиях, на 55-е сут опыта формировались обширные послеоперационные рубцы. Животных содержали в стационарных условиях вивария на обычном брикетном питании с добавлением овощей, творога; при дозированном освещении (12:12, свет с 8 ч). Ежедневно всех крыс осматривали, оценивали их общее состояние, внешний вид, пищевую возбудимость, двигательную активность, характер и фазу течения раневого процесса. Массу тела измеряли на медицинских весах, размеры раневого дефекта и сформированного рубца линейкой.

Физиолечение животным в 4, 5 и 6-й сериях опытов начинали с 55-х сут эксперимента с момента формирования рубца и завершения эпителизации. Ультразвуковое воздействие проводили по общепринятой методике аппаратом УЗТ-1.01Ф Московского завода электромедицинской аппаратуры «ЭМА» с учетом видовых особенностей экспериментальных животных. Рубцы и окружающую их кожу озвучивали излучателем ИУТ 0,88–1,03 Ф с эффективной площадью 1 см² при частоте $50 \pm 0,5$ Гц в импульсном режиме (4 м/с) с интенсивностью 0,05 Вт/см². Методика лабильная, экспозиция – первые 5 сеансов по 5 мин, затем – по 7 мин, процедуры выполняли ежедневно в утренние часы, на курс 10 процедур. Непосредственно перед проведением ультразвука зону воздействия смазывали вазелиновым маслом. При проведении ультрафонофореза с экстрактом на область воздействия шпатель наносили 1% масляный раствор экстракта высокополярных липидов иловых сульфидных грязей в количестве 0,5 мл на одну процедуру. При проведении ультрафонофореза с контрактубексом на одну процедуру использовали количество геля величиной с горошину, которое при распределении формировало на кожном регенерате слой препарата толщиной 1 мм. Через 0,5–1 мин после частичного впитывания геля поверх слоя контрактубекса наносили вазелиновое масло и область рубца озвучивали.

Животных декапитировали под эфирным наркозом на 55, 65, 80 и 95-е сут эксперимента. Перед взятием материала рубцы исследовали макроскопически, определяли цвет, форму, размеры рубца, степень его оволосения, пальпаторно оценивалась консистенция и смещаемость по отношению к подлежащим тканям. Рубцы с окружающей их кожей фиксировали в жидкости Карнуа и 12% растворе нейтрального формалина. Депарафинированные срезы толщиной 7–10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, толуидиновым синим для выявления тканевых базофилов, ШИК-реакцией по Мак-Манусу на гликоген и нейтральные гликопротеиды, альциановым синим по Сидмену (рН=1,0; 2,5) на гликозаминогликаны, орсеином по Унна-Тенцеру на эластические волокна, окраской метиленовым зеленым и пиронином по Браше на нуклеиновые кислоты. Для выявления нервных элементов использовали материал, зафиксированный в 12% растворе нейтрального формалина. Приготовленные на криостате срезы толщиной 15–20 мкм импрегнировали азотнокислым серебром по Бильшовскому-Грос в модификации А.И. Рыжова (1960), а также окрашивали суданом черным на миелин.

Для электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5% глутаральдегиде, забуференном на 0,2 М какодилатном буфере (рН=7,2) по D.D. Sabatini, K. Bensch, R.J. Barnett (1963) при температуре 4° С. Затем постфиксировали в 1% растворе четырехокси осмия в течение 4 ч, дегидратировали и заливали в аралдит. Срезы получали на ультратоме LKB–III (Швеция). Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим, ультратонкие контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Изучали в электронном микроскопе JEM–7A (Япония).

Проведен морфоколичественный анализ структурной перестройки рубцовой ткани. Подсчитано количество тканевых базофилов в рубце и окружающей коже с учетом распределения в сосочковом и сетчатом слоях рубца; сосудов и зрелых фибробластов в рубце на 1 мм² среза ткани. Подсчет осуществляли на серийных срезах через каждые 150–200 мкм рубцовой ткани при увеличении $\times 400$ в поле зрения площадью 0,0962 мм², после чего вычисляли численную плотность структур. Для морфофункциональной оценки состояния нервного аппарата в рубцах определяли процентное содержание реактивно, деструктивно измененных, а также неизмененных нервных волокон. Анализ функционального состояния популяции тканевых базофилов проводили по методу Д.П. Линдлера, Э.М. Когана (1976). Выявляли процентное соотношение 4-х типов тканевых базофилов, находящихся на разных стадиях развития и функционирования. Материалы морфоколичественных исследований обрабатывали по правилам параметрической статистики с определением t – критерия Стьюдента.

В работе использован 1% масляный экстракт высокомолекулярных липидов иловых сульфидных грязей («Биолит», Россия), а также препарат «Контрактубекс» («Merz+Co», Германия), 100 г которого содержат экстракт Серае – 10,0 г, гепарина натриевой соли – 5000 МЕ, аллантоина – 1,0 г, 150 мг метил-4-гидроксibenзоата в водорастворимом безжировом гидрогеле.

Изучение влияния ультразвука на химическую природу лекарственных веществ (экстракта полярных липидов иловых сульфидных грязей и контрактубекса), вводимых в организм методом фонофореза, проводилось на базе Института химии нефти СО РАН. Снимали разностные электронные спектры поглощения и их вторые производные масляного и спиртового растворов липидов иловой сульфидной грязи и глицеринового раствора контрактубекса сразу после ультразвукового воздействия в различных режимах на спектрофотометре Uvikon 934 (Швеция) в области (λ) 200–800 нм. В качестве эталонов сравнения применяли растворители, а также исходные растворы препаратов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Морфогенез рубцевания обширных полнослойных кожных ран на спине у крыс с шовным ограничением контракции и без нее

Экспериментальное моделирование патологического кожного рубца является сложной и нерешенной проблемой [Болховитинова Л.А., Павлова М.Н., 1977; Дельвиг А.А., 1995]. Это объясняется трудностью получения адекватной морфологической картины ввиду полиэтиологической природы заболевания, а также некоторых отличий в рубцевании кожи человека и млекопитающих. По данным М.Л. Бирюкова (1980), процесс рубцевания кожи у крыс имеет общие сходные черты с таковым у человека, что делает их предпочтительным объектом исследования. Так как у грызунов смещаемость кожи на спине выражена хорошо, она обеспечивает контракцию краев раны и способствует формированию нежного кожного рубчика. Для формирования более грубого рубца нами использовано сочетание иссечения лоскута кожи обширной площади с одновременным подшиванием краев раны нитью кетгута без уменьшения площади кожного дефекта.

Ввиду шовного ограничения контракции раны у животных 3-й группы имело место «заживление ран от эпителизации» по Н.И. Краузе (1949), при котором раневая поверхность уменьшается не за счет стягивания окружающей кожи, а вследствие прогрессирующего накопления грануляционной ткани с ее последующей перестройкой в рубцовую и постоянной эпителизацией грануляционной поверхности. Заживление при такой форме происходило медленнее (к 55-м сут эксперимента, против 30-х сут в опытах без подшивания) и заканчивалось формированием обширного, спаянного с подлежащими тканями рубца с плотной неподвижной центральной частью.

Длина рубца у животных с подшиванием раневых краев на момент его формирования составляла 49 ± 3 мм, ширина 15 ± 2 мм, площадь рубца – 32–35% площади удаленного лоскута. Дальнейшее измерение размеров рубцов показало, что они являлись стационарными в сроки вплоть до 95-х сут эксперимента. В то время как у крыс без подшивания краев раны на 30-е сут опыта данные показатели составили 48 ± 3 мм, 9 ± 1 мм и 21–25% соответственно, а на 70-е сут площадь рубцов сократилась примерно на 10% ($p < 0,05$).

В экспериментах с подшиванием краев раны нитью кетгута на 40–45-е сут после операции эпителизация не завершена. Значительная часть поверхности раны лишена эпителия. По краям дефекта наблюдалось клиновидное напользание эпителиального пласта, а в различных участках обнаруживались фокусы эпителизации за счет сохранившихся камбиальных клеток придатков кожи. В этих участках эпителиоциты располагались хаотично, не упорядоченно и не формировали послойную организацию, характерную для нормального эпителия. Часть эпителиальных клеток характеризовалась кариопикнозом. Среди эпителиоцитов выявлялись немногочисленные лейкоциты. Местами определялись участки истонченного эпидермиса, в которых наметилось послойное расположение клеток, однако типичные слои эпидермиса не дифференцировались. Напротив, у животных без подшивания краев уже к 30-м сут рубец был эпителизирован. Сама рубцовая ткань представлена преимущественно коллагеновыми фуксинофильными волокнами, но более толстыми и грубыми, чем у животных 2-й группы, часть из которых находилась в состоянии мукоидного набухания. Объем рубцовой ткани в экспериментах с подшиванием краев существенно превосходил таковой в опытах без подшивания краев раны. В ряде случаев в толще рубца и окружающей его коже выявлялись сегментоядерные лейкоциты и лимфоциты.

На 55-е сут после операции у животных 3-й группы встречались участки истонченного эпителия, характеризующиеся нарушениями архитектоники слоев, однако чаще имела место гипертрофия эпителия. Сосочковый слой невыражен. В дерме определялось большое количество клеток, преимущественно фибробластов. При попадании в проекцию среза лигатур кетгута выявлялись небольшой величины лимфоцитарные инфильтраты и гигантские клетки инородных тел.

В экспериментах с подшиванием краев раны на 65–80-е сут с момента операции формировалась рубцовая ткань, представленная многочисленными утолщенными фуксинофильными волокнами, уложенными в различных направлениях, часто заворачивающимися в виде петель. Это, так называемые, кольцевидные и петлеобразные структуры – *whorl-like arrangements of collagen fibers*, обнаруженные в патологических кожных рубцах и описанные Н.А. Linares, D.L. Larson (1972). Между волокнами располагались клетки фибробластического ряда различной степени зрелости и функциональной активности.

Оценка состояния рубцов у животных 3-й группы на 95-е сут эксперимента показала отсутствие значительной динамики, что может быть связано с замедленным процессом ремоделирования рубцовой ткани. На всем протяжении эксперимента в рубцах отсутствовали эластические волокна и придатки кожи (волосы и сальные железы), при окраске препаратов альциановым синим наблюдалось преобладание в аморфном веществе несультатированных гликозаминогликанов (рН=2,5). Отмечалось высокое содержание РНК в клетках фибробластического ряда при окраске по Браше. По данным электронной микроскопии, в рубцах, сформированных путем подшивания

раневых краев, фибробласты содержат хорошо выраженные гранулярную эндоплазматическую сеть и пластинчатый комплекс, что свидетельствует о высокой биосинтетической активности клеток. На всех этапах эксперимента численная плотность зрелых фибробластов, в рубцах с подшиванием раневых краев была значимо больше, чем без подшивания ($p < 0,05$). Так, на 30-е сут эксперимента она составила $692,62 \pm 56,62$ против $560,33 \pm 48,84$ в 1 мм^2 , а через 40 сут после образования рубца – $502,63 \pm 41,75$ против $410,19 \pm 34,27$ в 1 мм^2 соответственно. В опытах без подшивания раневых краев на 70-е сут с момента операции наблюдалось частичное восстановление придатков кожи, выявлялись единичные эластические волокна, окраска по Сиддмену показала преобладание сульфатированных гликозаминогликанов ($pH=1,0$), интенсивность окрашивания рубцовой ткани на гликопротеины постановкой ШИК-реакции слабее, чем у животных 3-й группы.

Удельное количество сосудов в рубцах у крыс 3-й группы на 40-е сут после окончания эпителизации было на 33,76% меньше, чем у животных 2-й группы, что свидетельствовало о замедленных процессах ангиогенеза в опыте с подшиванием краев ран. Снижение количества сосудов в патологических рубцах обеспечивало потенцирование внутритканевой гипоксии и коллагенообразования.

По литературным данным, популяция тканевых базофилов регулирует кровоснабжение и проницаемость ткани, влияет на миграцию и размножение, а также функциональную активность других клеток микрорайона, посредством выработки протеаз активизирует коллагенолиз и стимулирует захват макрофагами продуктов расщепления коллагена [Серов В.В., Шехтер Ф.А., 1981]. У животных с подшиванием раневых краев выявлена замедленная и неадекватная реакция тканевых базофилов в процессе рубцевания. Наблюдалось значимое снижение количества тканевых базофилов на ранних этапах рубцевания в коже, окружающей рубец, и в рубце, а также уменьшение процентного содержания III функционального типа клеток в окружающей рубец дерме.

На 30-е сут опыта к моменту завершения эпителизации численная плотность тканевых базофилов в дерме, окружающей рубец, у крыс 2-й группы составила $134,22 \pm 13,92$ в 1 мм^2 , этот показатель незначительно варьировал вплоть до 55-х сут эксперимента ($143,48 \pm 13,51$) и имел тенденцию к снижению на поздних сроках опыта (70-е сут) – $117,92 \pm 9,63$ в 1 мм^2 . У крыс с патологическими послеоперационными рубцами (группа 3) на этапе завершения эпителизации (55-е сут) количество тканевых базофилов в дерме, окружающей рубец, составило $60,70 \pm 4,49$ в 1 мм^2 , что достоверно ниже по сравнению с таковым у животных 1-й и 2-й групп ($p < 0,05$); в сроки с 55-х по 95-е сут эксперимента наблюдалось значимое увеличение численности тканевых базофилов до $105,27 \pm 9,40$ в 1 мм^2 .

В рубцах у крыс 2-й группы пик численной плотности тканевых базофилов приходился на 25-е сут от момента эпителизации и составлял $203,56 \pm 11,96$ против $62,92 \pm 4,72$ в 1 мм^2 , регистрируемом в опыте с подшиванием

раневых краев ($p < 0,05$). На 95-е сут эксперимента у животных 2-й группы изучаемый показатель составил $123,25 \pm 7,89$, что достоверно выше, чем в 3-й группе – $95,66 \pm 8,64$ ($p < 0,05$).

Длительная нейтрофильная инфильтрация в рубцах, выявленная в опытах с подшиванием раневых краев, объясняет склеротические изменения и усиленный синтез коллагена за счет высвобождения факторов роста. Применение для подшивания раневых краев кетгутовых нитей, обладающих высокой фитильностью и сенсibiliзирующим действием на местные ткани [Скрипников Н.С. с соавт., 1998; Тепликов А.В. с соавт., 1998], на наш взгляд, повышало реактивность окружающих тканей, способствовало поддержанию воспалительного процесса и избыточному коллагенообразованию.

Определенную роль в нарушении трофических и биосинтетических процессов в патологических рубцах играет нервный аппарат, характеризующийся более выраженными реактивными и деструктивными изменениями, чем в опытах без подшивания раневых краев. На 80–95-е сутки опыта реактивные изменения характеризовались чередованием участков аргирофобии с зонами повышенной аргирофилии осевых цилиндров, тотальной гиперимпрегнацией нервного волокна, натеканиями нейроплазмы, которые часто гипохромны. Варикозные утолщения были представлены удлинненно-цилиндрической, веретеновидной, округлой или неправильной формы вздутиями, интенсивно импрегнированными серебром, некоторые из них достаточно крупные. У части нервных проводников выявлялись деструктивные изменения в виде фрагментации и глыбчатого распада осевых цилиндров. В них хорошо визуализировались чередования утолщенных, огрубевших, интенсивно окрашенных участков с истонченными вплоть до полного нарушения непрерывности. При окраске суданом черным визуализировались неровности контуров миелиновых оболочек, чередование сегментов очаговых утолщений миелиновой оболочки с истончениями, а местами демиелинизацией осевого цилиндра. На 95-е сут эксперимента доля реактивно измененных нервных волокон в рубцах с подшиванием раневых краев составила $84,36 \pm 4,21\%$, деструктивно измененных – $5,26 \pm 3,24\%$.

Таким образом, ограничение контракции краев раны за счет их шовной фиксации к подлежащим мышцам существенно изменяло механизмы заживления полнослойных кожных ран большой площади и привело к формированию грубых (гипертрофических) рубцов, важными особенностями которых являлись:

- 1) длительное нарушение процесса эпителизации раны с неполным восстановлением архитектоники эпидермиса и явлениями карнопикноза в эпителиоцитах;
- 2) наличие в толще рубца толстых и грубых пучков коллагеновых фуксинофильных волокон с явлениями мукоидного набухания;
- 3) формирование кольцевидных и/или петлеобразных коллагеновых структур;
- 4) многообразие клеток фибробластического ряда различной степени зрелости, которое обеспечивает длительное поддержание популяции в активном состоянии и препятствует процессам ремоделирования рубца;

- 5) снижение численности сосудов в рубцах, приводящее к потенцированию внутритканевой гипоксии и коллагенообразования;
- 6) замедленная и неадекватная реакция популяции тканевых базофилов на поздних этапах заживления ран в фазе рубцевания;
- 7) длительное преобладание гиалуроновой кислоты и сиало-муцинов в межклеточном веществе;
- 8) наличие выраженных морфологических изменений нервного аппарата.

2. Влияние ультразвука на химическую природу лекарственных веществ (контрактубекса и экстракта полярных липидов иловых сульфидных грязей), вводимых в организм методом фонофореза

На полученных разностных электронных спектрах масляного раствора липидов (эталон сравнения – растительное масло), обработанного ультразвуком в разных режимах, изменения наблюдались в УФ- и видимой частях спектра в области 200–700 нм. Характер электронных спектров масляных растворов зависел от режима воздействия ультразвука.

Поглощение, соответствующее переходу π -электронов кратных связей ($\pi \rightarrow \pi^*$), находилось в области 180-200 нм и отличалось высокой интенсивностью. Накопление в органической молекуле сопряженных кратных связей, поляризация ее полярными растворителями и замена одного из C-атомов -C=C-связи на гетероатомы вызывали существенное смещение полосы поглощения, обусловленной $\pi \rightarrow \pi^*$ переходами, в более длинноволновую область, связанную с $n \rightarrow \pi^*$ переходами. Сдвиг соответствующей полосы поглощения в видимую область тем больше, чем сильнее поляризовано электронное облако гетероатома. Адсорбционные максимумы образцов масляных растворов липидов отмечены в длинноволновой части спектров в области 333–337, 409–412, 600, 662–666 нм, что соответствовало $n \rightarrow \pi^*$ переходам в каротиноидных пигментах и кислотах. Режимы обработки препаратов ультразвуком не вызывали смещения адсорбционных максимумов полос поглощения, а сказывались на их интенсивности. Воздействие ультразвука на спиртовые растворы липидов оказалось более эффективным по сравнению с обработкой масляных растворов. Общим для всех спектров спиртовых растворов липидов являлось наличие максимального адсорбционного максимума в области 205 нм, где обычно проявляются $\pi \rightarrow \pi^*$ электронные переходы, свойственные -C=C-связям.

Разные режимы обработки контрактубекса ультразвуком показали изменения в УФ-области спектра 200-270 нм. Адсорбционный максимум соответствовал $\pi \rightarrow \pi^*$ электронными переходами при 225 нм. Интенсивность указанных переходов под воздействием ультразвука для компонентов, составляющих контрактубекс, ниже, чем для молекул липидов.

Анализ полученных данных электронной спектроскопии указывает на то, что ультразвук обладает активирующим воздействием на молекулы химических веществ, в частности экстракта высокополярных липидов иловых сульфидных грязей и контрактубекса, вводимые ультрафонофорезом. Отмеченные

изменения электронного состояния молекул препаратов способствуют повышению реакционной способности лекарственного средства. Так как воздействие ультразвука на экстракт липидов более выражен, можно предположить, что применение ультрафонофореза экстракта позволит значительно усилить терапевтические эффекты последнего.

3. Морфогенез патологических кожных рубцов после различных видов физиотерапии

3.1. Макроскопическая характеристика патологических кожных рубцов в зависимости от проводимого лечения.

Воздействие ультразвука, фонофореза контрактубекса и экстракта иловой сульфидной грязи существенно изменял макро- и микроскопическое строение патологических послеоперационных рубцов.

На 95-е сут эксперимента (через 30 сут после окончания курса физиотерапии) выраженность отличий рубцов, подвергшихся лечению, от патологических рубцов без лечения (3-я группа) была наиболее значительной, что свидетельствует о разной скорости процессов ремоделирования рубцовой ткани в указанных группах. Так, у нелеченных кожных рубцов, смоделированных путем подшивания раневых краев, сохранялась ярко-розовая окраска, мелкопластинчатое шелушение эпидермиса, незначительная степень оволосения ободка вставочного роста при отсутствии волос в проекции рубца, отмечалась выраженная плотность рубца и хруст при его разрезе. При заборе материала имели место технические трудности, связанные с интимным сращением рубцового кожного регенерата с подлежащими тканями, более выраженным в центре рубца.

После ультразвуковой терапии и фонофореза контрактубекса на 95-е сут эксперимента рубцы розово-коричневого цвета с мелкопластинчатым шелушением и незначительным оволосением, частично смещаемы в основном в проекции зоны вставочного роста и ограничено смещаемы в центре рубца. Сохранялась тугоэластическая консистенция рубцов.

После пелоидофонофореза на 95-е сут эксперимента рубцы по цвету и характеру оволосения неотличимы от окружающей кожи, хорошо смещаемы по отношению к подлежащим тканям. Плотность рубцов была незначительно повышена в сравнении с окружающей кожей. Описанная внешняя картина рубцов свидетельствует об их хорошем эстетическом состоянии через 30 суток после фонофореза экстракта грязи.

Анализ размеров рубцов на 95-е сутки эксперимента выявил, что длина рубцов оставалась относительно одинаковой вне зависимости от оказываемого воздействия, что связано с особенностями заживления прямоугольных полнослойных кожных ран и преобладанием поперечных сил контракции над краинно-каудальными. Ширина рубцов и процентное соотношение площади рубцов по отношению к площади удаленного лоскута после пелоидофонофореза достоверно меньше по сравнению с таковыми в остальных экспериментальных группах и составляли 8 ± 2 мм и $18 \pm 20\%$ соответственно ($p < 0,05$).

Таким образом, в сроки до 30-х сут после пелоидофонофореза внешний вид и размеры кожных рубцов существенно отличались от таковых у животных остальных экспериментальных групп, что свидетельствует о более интенсивных процессах ремоделирования рубцовой ткани и хороших эстетических результатах данного воздействия.

3. 2. Гистологическая характеристика патологических кожных рубцов в зависимости от проводимого лечения.

Проведенные морфоколичественные исследования состояния кожных рубцов после ультразвукового воздействия свидетельствовали о том, что в ранние сроки эксперимента (по окончании курса лечения) наблюдались резко выраженные гемодинамические расстройства, значимо выше абсолютное количество тканевых базофилов и процентное содержание клеток III функционального типа в рубце и окружающей коже по сравнению с таковыми в нелеченных патологических рубцах ($p < 0,05$). На 65-е сут эксперимента обнаруживалось достоверное увеличение количества сосудов в рубце – $25,05 \pm 1,43$ в 1 мм^2 по сравнению с наблюдаемым в нелеченных рубцах ($18,09 \pm 1,06$) ($p < 0,05$). Не выявлены значимые изменения численности зрелых фибробластов в рубце после озвучивания на 65–95-е сутки опыта по сравнению с 2-й и 3-й группами. На 95-е сут опыта некоторые морфоколичественные отличия (численная плотность сосудов, процент деструктивных нервных волокон) в рубцах после ультразвукового воздействия по сравнению с нелечеными рубцами сглаживаются.

В литературе имеются данные о благоприятном влиянии ультразвука на соединительную ткань, проявляющимся омолаживанием ее клеточного состава и волокнистых структур [Боголюбов В.М., Сперанский А.П., 1985, 1998; Улащик В.С., 1994]. Однако в настоящем исследовании не удалось показать, что воздействие данного физического фактора препятствовало развитию фиброзных изменений рубцовой ткани и существенно ускорило ее ремоделирование в отдаленные сроки.

С целью сравнения эффективности пелоидоультрафонофореза для коррекции патологических кожных рубцов изучались их морфологические изменения после курса фонофореза гидрогеля «Контрактубекс». Сравнительная характеристика регенератов, полученных после фонофореза гидрогеля и экстракта грязи, представлена в табл. 1.

В отличие от патологических рубцов без лечения и после воздействия ультразвука, регенераты, полученные после фонофореза контрактубекса, можно классифицировать как регенераты дермального типа [Ефимов ЕА., 1975, 2000]: коллагеновые волокна образовывали вязь, формировались единичные эластические волокна, эпидермис был гипертрофирован и давал короткие впячивания в подлежащую соединительную ткань, на поздних сроках эксперимента обнаруживалось равновесие между содержанием сульфатированных и несulfатированных гликозаминогликанов.

На ранних сроках опыта с контрактубексом (65-е сутки) встречались единичные лейкоцитарные инфильтраты в рубцах, а также обнаруживались

Таблица 1

Сравнительная характеристика патологических кожных рубцов после ультрафонофореза гидрогеля «Контрактубекс» и экстракта иловой сульфидной грязи на 95-е сут эксперимента

№	Критерии сравнения	Рубец после воздействия фонофореза «Контрактубекса»	Рубец после пелоидофонофореза
1	2	3	4
1.	Тип регенерата после трансформации рубца (Е.А. Ефимов, 1975, 1991)	Регенерат дермального типа	Регенерат кожного типа
2.	Площадь регенерата по отношению к площади удаленного лоскута, %	29±1	19±1
3.	Дистопия коллагеновых волокон в виде петлеобразных и кольцеобразных структур	Выявляется на 65-80-е сут опыта, отсутствует на 95-е сут	Отсутствует
4.	Содержание гликозаминогликанов в регенерате	Равновесие между сульфатированными и несulfатированными	Преобладание сульфатированных гликозаминогликанов
5.	Степень восстановления придатков кожи	Единичные волосы и сальные железы	Равномерное распределение придатков кожи типичного строения
6.	Наличие эластических волокон в регенератах	Единичные, располагаются вблизи новообразованных придатков кожи	Эластические волокна равномерно распределены в регенератах
7.	Содержание реактивно измененных нервных волокон в регенератах, %	54,65±3,24	44,92±1,71
8.	Содержание деструктивно измененных нервных волокон в регенератах, %	3,76±0,15	1,90±0,08
9.	Численная плотность сосудов в регенератах по отношению к таковой в интактной коже, %	95,17	138,24
10	Численная плотность тканевых базофилов по отношению к таковой в интактной коже, %: 1) в регенерате; 2) в дерме, окружающей регенерат	1) 54,18 2) 38,08	1) 75,33 2) 64,45

Продолжение табл. 1.

1	2	3	4
11	Процентное содержание тканевых базофилов III типа по отношению к таковому в интактной коже, %: 1) в регенерате; 2) в дерме, окружающей регенерат.	1) 61,88 2) 90,71	1) 84,59 2) 110,08
12	Численная плотность зрелых фибробластов в рубце по отношению к таковой в интактной коже, %	118,12	101,51

типичные петлеобразные коллагеновые структуры, что нехарактерно для рубцов, подвергнутых пелоидоультрафонофорезу. Численная плотность кровеносных сосудов в рубцах после фонофореза контрактубекса начиная с 65-х сут эксперимента была достоверно выше по сравнению с зарегистрированной в 3-й и 4-й группах ($p < 0,05$).

На 95-е сут опыта численная плотность сосудов в рубцах 5-й группы была на 25% выше таковой в рубцах без лечения. Процентное содержание патологически измененных нервных волокон в рубцах после фонофореза контрактубекса оставалось достаточно высоким, однако оно значимо ниже по сравнению с нелечеными рубцами и после ультразвукового воздействия и составляло $54,65 \pm 3,24\%$ против $84,36 \pm 4,21\%$ и $72,53 \pm 3,10\%$ соответственно ($p < 0,05$). Уровень общего количества тканевых базофилов и процентного содержания клеток III типа в рубцах и окружающей коже после фонофореза контрактубекса было достоверно ниже, чем у животных после курса бальнеофизиотерапии ($p \leq 0,05$), что можно связать с воздействием входящего в состав гидрогеля гепарина.

Назначение курса пелоидофонофореза модифицирует динамику и характер тканевых процессов при патологическом рубцевании. По окончании курса пелоидоультрафонофореза на 65-е сут эксперимента наблюдалось новообразование дериватов кожи (волос и сальных желез) из полипотентных клеток глубоких слоев эпидермиса и малодифференцированных клеток дермы эктодермального происхождения. При этом базальный слой эпидермиса формировал причудливые, неправильной формы вrostания в сосочковый слой дермы. При новообразовании сальных желез вrostания имели эллипсоидную форму, а при новообразовании волосяной луковицы – складкообразную или тяжистую. По ходу распавшихся осевых цилиндров и реактивно измененных нервных проводников наблюдались пролиферация и гипертрофия шванновской глии. Встречались типичные колбы роста по направлению к рубцу.

Через 30 сут после грязелечения рубцы трансформировались в регенераты кожного типа. Эпидермис обычной структуры, архитектура слоев эпителия регенерата неотличима от окружающей кожи. На границе кожного регенерата данных за гипертрофическую трансформацию не было. Поверхностные слои дермы были представлены рыхлой соединительной тканью, эластические волокна распределены равномерно. Выявлялось большое

количество придатков кожи обычного строения, равномерно располагающихся на протяжении всего регенерата. К волосам подходили типичной структуры мышцы, поднимающие волос. Обнаруживались сальные и потовые железы, внешний вид которых не отличался от таковых в интактной коже.

Восстановление придатков кожи, эластических волокон, архитектоники эпидермиса, нервного аппарата в регенератах после пелофонофореза свидетельствует о его биостимулирующем влиянии. В состав экстракта грязи входят аминокислоты и такие экзогенные фосфолипиды, как фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин, которые являются основными источниками для построения белок-липидных комплексов, встраивающихся затем в поврежденные мембраны и обеспечивающих внутриклеточную репарацию [Буркова В.Н., Венгеровский А.И., Опалинская А.М., 1988]. По данным Л.М. Брагинцевой, С.П. Щербиной и Н.Н. Цыба (1998), наряду с обогащением и восстановлением фосфолипидного спектра клеточных мембран, природные фосфолипиды участвуют в реализации передачи сигнала от рецептора к эффекторной части клеток через последовательность вторичных мессенджеров: арахидоновая кислота → простагландины → цАМФ → протеинкиназы → Ca^{2+} и другие ионы → синтез белка.

На 95-е сут эксперимента количество неизмененных нервных волокон после пелоидофонофореза составило $53,18 \pm 4,12\%$, что в 5,1 раз больше по сравнению с данным показателем в нелеченных патологических рубцах, в 1,9 и 1,3 раз больше, чем после курса ультразвука и фонофореза контрактубекса соответственно. Локальным эффектом ультрафонофореза экстракта грязи, вероятно, является влияние на глио-нейрональные взаимоотношения в поврежденном нервном аппарате, которое способствует быстрее регенерации. Состояние нервного аппарата в рубце является важным прогностическим критерием исхода рубцевания, так как с изменениями нервных волокон связывают такие клинические проявления как зуд, чувство жжения, боль в проекции рубца [Романенко В.Н., Проценко Т.В., 1984; Шафранов В.В. и др., 1997]. Уменьшение количества патологически измененных нервных проводников на 95-е сут эксперимента примерно в 2 раза по сравнению с зарегистрированным в нелеченных рубцах свидетельствует о позитивном влиянии пелоидотерапии на восстановление нервных элементов.

Одним из ценных лечебных свойств пелоидов является антисклеротическое действие. Основная роль в регуляции синтеза и резорбции коллагена принадлежит кооперации клеток «полиморфноядерные нейтрофильные лейкоциты → тканевые базофилы → макрофаги → лимфоциты → фибробласты». Многие аспекты функционирования этой системы и в настоящее время остаются дискуссионными [Сизов В.М., 1990; Cavallo M.G. et al., 1994; Dmitrascu D., 1996; Kossi J. et al., 2001]. Один из них – пути и принципы воздействия на баланс синтеза и разрушения коллагена – считается наиболее важным для лечения и профилактики гипертрофических и келоидных рубцов. Прямое воздействие на функционирование данной системы глюкокортикоидами, рентгеновским облучением, ферментотерапией не всегда

оказывает желаемый лечебный эффект [Малыхина Т.В., 2000; Казарезов М.В. и др., 2002; Королева А.М., 2002; Байтингер В.Ф., 2003]. Альтернативным подходом к коррекции патологических кожных рубцов является опосредованное воздействие на корпоративные межклеточные взаимоотношения и их саморегуляцию, в том числе препаратами, обладающими антиоксидантным действием.

По данным Е.Г. Новоселовой, В.Ф. Макара, Н.В. Семилетовой (1998), Т-лимфоциты и макрофаги отличаются высокой чувствительностью к изменению уровня активных форм кислорода. В условиях оксидантного стресса в зоне рубцевания увеличивается концентрация факторов роста, усиливающих пролиферацию фибробластов, а также прямых индукторов синтеза коллагена, среди которых макрофагальный фактор некроза опухоли α и интерлейкин-1. В ряде случаев происходит гибель Т-лимфоцитов по апоптозному типу. По данным В.М. Сизова (1990), немаловажное значение в регуляции обмена коллагена в патологических рубцах оказывают продуцируемые тканевыми базофилами простагландины Е и F, взаимодействуя с внутриклеточными регуляторами обмена веществ (ц-АМФ и ц-ГМФ), они активно участвуют в регуляторных процессах. Кроме того, биологическое действие простагландинов тесно связано с действием пептидов (гормонов), и это определяет сбалансированность реакций организма на повреждение. На наш взгляд, антиоксидантное мембраностабилизирующее влияние грязевых препаратов способствует переходу лимфоцитов и макрофагов на иной уровень функционирования с преобладанием секреции ингибиторов синтеза коллагена фибробластами и инициирования усиления коллагенолиза.

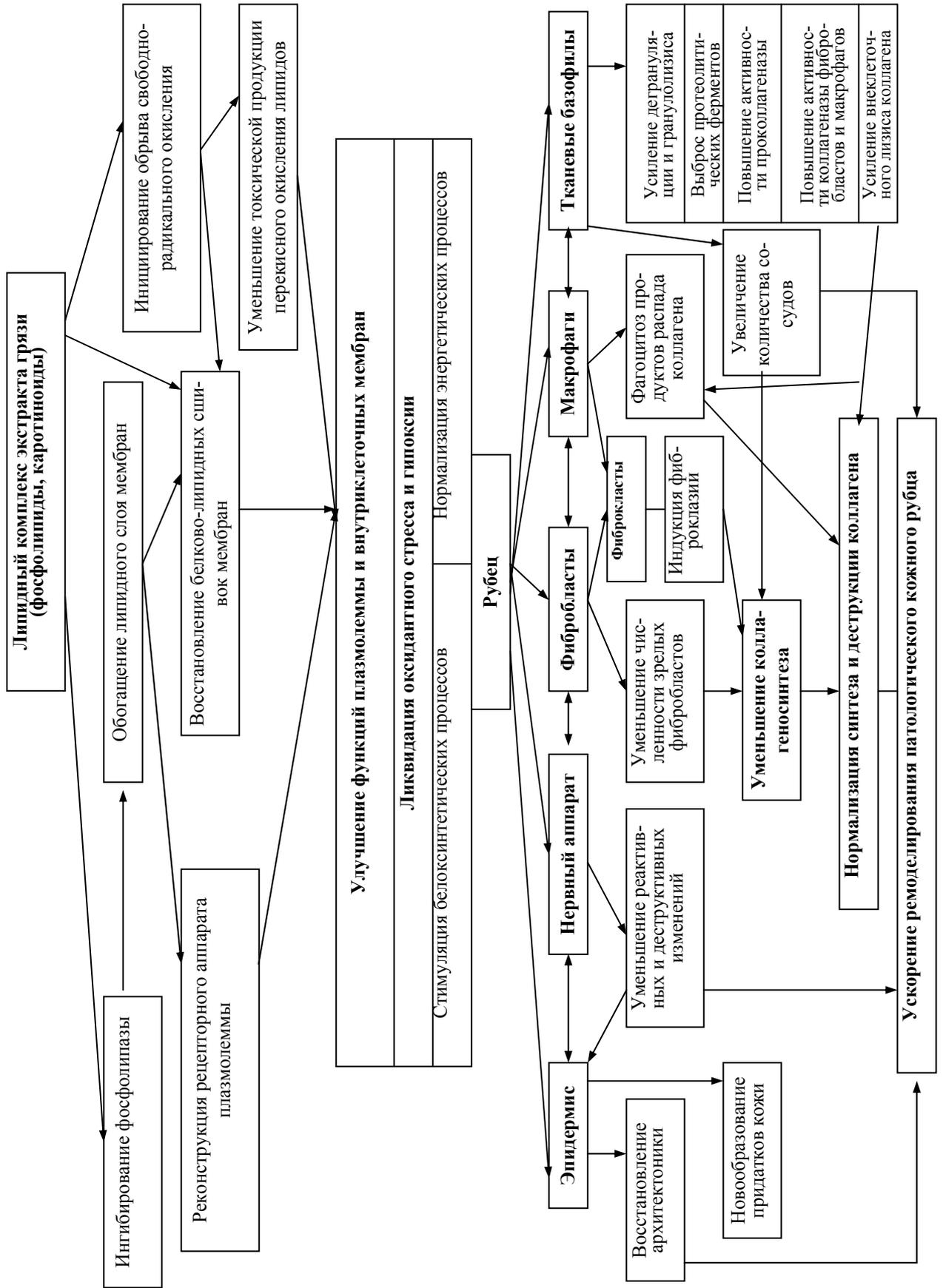
Оказываемое влияние пелоидофонофореза на фибробластическую популяцию подтверждается значимым снижением численной плотности зрелых фибробластов на 65–95-е сут эксперимента по сравнению с наблюдаемым в патологических рубцах без лечения и после воздействий ультразвука и фонофореза контрактубекса. На 95-е сут опыта количество зрелых фибробластов в регенератах крыс 6-й группы соответствует таковому в интактной коже ($408,49 \pm 34,27$) и составляет $414,66 \pm 31,18$ в 1 мм^2 . Снижение численности фибробластов, относящихся к биосинтетически активным клеткам, способствует ограничению процессов коллагенообразования и ускоряет ремоделирование рубцовой ткани. Количественным отражением антигипоксического действия экстракта грязи являлось увеличение удельного числа сосудистых элементов в рубце на 95-е сут опыта до $54,05 \pm 3,71$ в 1 мм^2 против $27,86 \pm 1,53$ в патологических рубцах без лечения; $26,40 \pm 1,31$ после воздействия ультразвука и $37,21 \pm 2,68$ в рубцах после фонофореза контрактубекса ($p < 0,05$). В то время как у интактных животных численная плотность сосудов дермы равнялась $39,05 \pm 2,36$ в 1 мм^2 . Общеизвестно, что увеличение количества сосудов способствует устранению тканевой гипоксии, стимулирующей деятельность фибробластов при патологическом рубцевании, а значит, препятствует избыточному коллагенообразованию.

Нормальное функционирование тканевых базофилов необходимо для адекватного завершения репаративного процесса кожи. Ввиду присутствия в гранулах тканевых базофилов десятков различных биологически активных веществ как провоспалительного, так и противовоспалительного характера, и их регулируемого высвобождения во внешнюю среду, тканевые базофилы рассматриваются некоторыми исследователями как «одноклеточные железы» [Серов В.В., Шехтер Ф.А., 1981; Клименко Н.А., 1992; Красноженов Е.П., 1996]. Функциональная двойственность «одноклеточных желез» позволяет рассматривать тканевые базофилы как регуляторы тканевого гомеостаза малого радиуса [Линдлер Д.П., Коган Э.М., 1996].

Количество тканевых базофилов в рубце и окружающей коже после грязелечения превосходило таковое в патологических рубцах без лечения и после воздействия ультразвука и фонофореза контрактубекса. По окончании курса фонофореза с экстрактом грязи численная плотность тканевых базофилов была максимальной и в рубце ($115,24 \pm 10,60$ в 1 мм^2) и, в большей степени, в окружающей коже ($210,75 \pm 11,40$ в 1 мм^2). На 95-е сут эксперимента с пелоидотерапией количество тканевых базофилов в рубце приближалось к зарегистрированному у интактных животных ($139,44 \pm 8,88$) и составляло $103,93 \pm 8,83$ в 1 мм^2 . В то время как у крыс после курса ультразвука данный показатель соответствовал $40,86 \pm 1,72$, а после фонофореза «Контрактубекса» – $74,74 \pm 3,93$ в 1 мм^2 , что достоверно ниже по сравнению с таковым у животных основной группы ($p < 0,05$). Доля дегранулирующих тканевых базофилов (III функциональный тип) у животных после пелоидофореза превосходила таковую у остальных групп животных и была максимальной на 80-е сут опыта – $30,3 \pm 2,24\%$ ($p < 0,05$), в то время как у крыс без лечения данный показатель составил $12,46 \pm 1,06\%$, после ультразвукового воздействия – $21,16 \pm 1,83\%$, после курса фонофореза контрактубекса – $19,15 \pm 1,31\%$.

После проведения курса ультрафонофореза с экстрактом грязи изучение патологических кожных рубцов свидетельствовало об изменениях ультраструктуры рубцовой ткани. Так, на 80–95-е сут опыта с грязелечением возрастало содержание фиброкластов, фиброцитов, зрелых форм тканевых базофилов с полиморфными гранулами, часто в состоянии дегрануляции и активно функционирующих макрофагов с выраженным лизосомально-вакуольным аппаратом.

Вероятно, возникающие сложные интрапопуляционные взаимодействия вышеуказанных клеточных форм приводят к выбросу протеолитических ферментов: химазы, щелочной и кислой фосфатаз, АТФ-азы, эстеразы, миелопероксидазы, липазы и других, которые способствуют активации проколлагеназы фибробластов и макрофагов и усилению внеклеточного лизиса коллагена. Доказательством тому служит обнаружение коллагеновых фибрилл более рыхлого расположения с признаками деструкции от выявляемой неравномерной интенсивности периодичности и участков локального истончения до фрагментации и присутствия гомогенных продуктов деструкции коллагена. Помимо этого, в фаголизосомах цитоплазмы макрофагов и фиброкластов обнаруживались нерасщепленные фрагменты коллагеновых



фибрилл, что свидетельствует об активизации внутриклеточного коллагенолиза.

Таким образом, суммируя собственные экспериментальные данные и основываясь на литературных источниках, мы посчитали возможным представить на рис. 1 гипотетическую схему лечебного действия экстракта высокополярных липидов иловой сульфидной грязи на патологические кожные рубцы. Экспериментальные исследования свидетельствуют, что пелоидоультрафонофорез патологических кожных рубцов оказывает противовоспалительный, антигипоксический, антисклеротический и биостимулирующий эффекты. Использование фонофореза 1% масляного раствора экстракта грязи в лечении патологических послеоперационных кожных рубцов ускоряет ремоделирование рубцовой ткани, стимулирует регенераторные процессы и способствует трансформации рубцов в регенераты кожного типа. Полученные данные о влиянии пелоидотерапии на морфогенез патологических послеоперационных кожных рубцов могут служить экспериментальным обоснованием нового метода коррекции рубцовых изменений кожи в клинике.

ВЫВОДЫ

1. Иссечение полнослойного кожного лоскута обширной площади (20 см²) на спине беспородных крыс-самцов в сочетании с шовным (кетгут) ограничением контракции приводит к формированию патологического (гипертрофического) кожного рубца избыточного объема.
2. Ультрафонофорез экстракта иловой сульфидной грязи на патологические кожные рубцы, оказывая противовоспалительное действие, модифицирует динамику и характер тканевых процессов, ускоряет ремоделирование рубцов.
3. Ультрафонофорез экстракта иловой сульфидной грязи обладает антисклеротическим действием, вызывая активизацию фиброкластов и макрофагов, регулирующих соотношение продукции и резорбции коллагена, а также уменьшая численность зрелых фибробластов.
4. Ультрафонофорез экстракта иловой сульфидной грязи стимулирует регенераторные процессы в патологических рубцах, что приводит к новообразованию придатков кожи (волос, сальных и потовых желез), эластических волокон, снижает реактивные и деструктивные изменения нервного аппарата и активирует его репарацию.
5. Ультрафонофорез экстракта иловой сульфидной грязи обладает антигипоксическим действием, способствуя активации популяции тканевых базофилов и стимуляции ангиогенеза.
6. Ультрафонофорез экстракта иловой сульфидной грязи на патологические кожные рубцы приводит к формированию регенератов кожного типа.
7. Ультрафонофорез гидрогеля «Контрактубекс» на патологические кожные рубцы приводит к формированию регенератов дермального типа.
8. Ультразвуковое воздействие на экстракт высокополярных липидов иловой сульфидной грязи оказывает активирующее действие на молекулы химических веществ, изменяя их электронное состояние, и способствует повышению их реакционной способности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Структурная характеристика обширных кожных рубцов // Морфология, 2002. Т. 121. № 2–3. С. 12. Соавт.: Логвинов С.В.
2. Морфологическая характеристика кожных регенератов на спине у крыс // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической морфологии. Томск, 2002. Вып. 2. С. 83–85. Соавт.: Логвинов С.В.
3. Экспериментальное моделирование патологических послеоперационных кожных рубцов // Науки о человеке. III Международный конгресс молодых ученых. Томск, 2002. С. 156–157.
4. Способ экспериментального моделирования избыточного патологического кожного рубца // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. Томск, 2002. № 3 (4). С. 36–40. Соавт.: Логвинов С.В.
5. Морфофункциональная характеристика кожных рубцов крыс после пелоидофонотерапии // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология, 2003. Соавт.: Логвинов С.В. (принята в печать).
6. Состояние популяции тканевых базофилов послеоперационных рубцов на спине у белых крыс // Актуальные проблемы медицины и биологии. Томск, 2003. Вып. 2. С. 101. Соавт.: Логвинов С.В., Байтингер В.Ф., Шустов Л.П.
7. Влияние ультразвука на химическую природу лекарственных веществ, вводимых в организм методом фонофореза // Актуальные проблемы медицины и биологии. Томск, 2003. Вып. 2. С. 268. Соавт.: Юдина Н.В., Логвинов С.В., Шустов Л.П.
8. Морфология патологических кожных рубцов крыс после фонофореза экстракта иловой сульфидной грязи // Науки о человеке. IV Международный конгресс молодых ученых и специалистов. Томск, 2003. С. 142.
9. Экспериментальное обоснование лечения гипертрофических и келоидных послеоперационных рубцов с использованием пелоидоультрафонофореза // Вопр. курортологии, физиотерапии и лечебной физ. культуры. М., 2003. №4. С. 39 – 42. Соавт.: Логвинов С.В., Шустов Л.П.

Список сокращений

АТФ-аза – аденозинтрифосфатаза

РНК – рибонуклеиновая кислота

ц-АМФ – циклический аденозинмонофосфат

ц-ГМФ – циклический гуанозинмонофосфат