

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАДИОВОЛНОВОГО МЕТОДА ИССЕЧЕНИЯ ТКАНЕЙ

УДК 616.31—018.73—085:615.849

Поступила 8.07.2009 г.



Е.А. Дурново, д.м.н., профессор, зав. кафедрой хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии¹;

Н.А. Янова, ассистент кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии¹;

Н.Ю. Орлинская, к.м.н., зам. главного врача по научной работе²;

А.С. Ключков, аспирант кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии¹

¹ Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород;

² Нижегородский областной клинический диагностический центр, Н. Новгород

Цель исследования — установление закономерностей (особенностей) заживления ран на слизистой оболочке полости рта в зависимости от характера физического воздействия на изучаемые ткани в эксперименте.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 80 крысах-самцах линии Wistar одного возраста, массой 350—420 г. Под местной анестезией (0,4 мл 2% раствора новокаина) у экспериментальных животных производилось иссечение участка слизистой оболочки щечной области размером 0,5×0,7 см.

В эксперименте участвовали 2 группы животных: в 1-й группе рана наносилась с помощью обычного скальпеля; во 2-й группе — с помощью радиоволнового прибора (Surgitron Dentosurg, ф. Ellman), режим №2 (разрез и коагуляция), мощность — 4—4,5 ед. Выведение из эксперимента животных обеих групп осуществлялось под действием эфира, с забором исследуемой среды через 1, 3, 7, 24, 48 и 72 ч после моделирования раны.

Срезы тканей окрашивали гематоксилин-эозином по Ван-Гизону. Период наблюдения составил 3 сут, что обусловлено малой травматичностью смоделированных ран и быстрым заживлением (до 3—4 сут).

Для анализа цитологических и гистологических препаратов использовали систему компьютерной количественной морфометрии.

Результаты. При использовании радиохирургического метода в тканях у крыс синтез фибробластов, образование и созревание грануляционной ткани отмечаются на более ранних сроках, а площадь некроза ткани, т.е. повреждающее действие при проводимом исследовании, практически отсутствует.

При применении традиционно используемых режущих инструментов отмечается замедленная регенерация с сохранением явлений отека тканей и расстройств кровообращения в постоперационном периоде.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности применения метода радиоволновой хирургии при выполнении хирургических вмешательств на слизистой оболочке полости рта.

Ключевые слова: радиоволновой скальпель, регенерация, компьютерная количественная морфометрия, гистологические препараты.

English

Morphological characteristic of the mouth cavity mucous membrane regeneration processes in experiment at a radiowave method of tissue dissection use

E.A. Durnovo, MD, professor, head of a surgical stomatology and maxillofacial surgery chair¹;

N.A. Yanova, graduate student of a surgical stomatology and maxillofacial surgery chair¹;

N.Yu. Orinskaya, c.m.s., deputy head physician on a scientific work²;

A.S. Klochkov, graduate student of a surgical stomatology and maxillofacial surgery chair¹

¹ Nizhny Novgorod state medical academy, N. Novgorod;

² Nizhny Novgorod regional clinical diagnostic center, N. Novgorod

Для информации: Янова Нина Александровна, тел. раб. 8(831)419-83-62, тел. моб. +7 906-368-09-10; e-mail: nina-yanova@yandex.ru

Aim of investigation is establishment of regularities (peculiarities) of the wound at a mouth cavity mucous membrane healing depending on a character of physical effect on the studied tissues in experiment.

Materials and methods. Experimental investigation is made on 80 rat-males of Wistar line of the same age, with a mass of 350—420 g. A dissection of a buccal area mucous membrane portion, with a 0.5x0.7 cm size, was made in experimental animals under a local anesthesia (0.4 ml of a novocain solution 2%).

Two groups of animals participated in experiment: in the 1st group a wound was applied with a common scalpel; in the 2nd group — with a radiowave device («Surgitron Dentosurg», Ellman firm), mode №2 (dissection and coagulation); a power — 4—4.5 units. The both group animal withdrawal from experiment was made under an ether effect, with investigating medium collection in 1, 3, 7, 24, 48 and 72^h after wound simulation.

The tissue sections were stained with hematoxylin-eosin according to Van-Hison. A period of observation was 3 days, which is stipulated by a low traumatism of the simulated wounds and a rapid healing (up to 3—4 days).

A system of computer quantitative morphometry was used for analysis of cytological and histological preparations.

Results. A synthesis of fibroblasts, a granular tissue forming and maturation are observed at the earlier dates, at a radiosurgical method in rat tissues, and an area of tissue necrosis, i.e. a damaging effect at investigation, is practically absent.

A delayed regeneration with the tissue edema phenomenon conservation and the circulation disorders in postoperative period are observed at a traditional use of the cutting tools.

Conclusion. The received results testify to expediency of a radiowave surgery method use at the surgical interventions in a mouth cavity mucous membrane.

Key words: radiowave scalpel, regeneration, computer quantitative morphometry, histological preparations.

Любое хирургическое лечение характеризуется развитием раневого процесса, течение и исход которого зависят от многих факторов: локализации раны, состояния общего и местного иммунитета, степени микробной обсемененности, вирулентности присутствующей микрофлоры, лечебных мероприятий, а также характера и тяжести нанесенной травмы [1—4]. Стандартный метод хирургического лечения с использованием традиционных инструментов достаточно травматичен, нередко осложняется развитием кровотечений и воспалительного процесса, в связи с чем в настоящее время ведется поиск новых методов хирургического лечения, предполагающих более щадящее воздействие на ткани в зоне оперативного вмешательства. Одним из таких методов является радиоволновая хирургия [5—7].

Предпосылками использования радиохирургии являются особенности воздействия радиоволны на биологические ткани: в клетках, воспринимающих радиоволну частотой 3,8 МГц, происходит резкое увеличение молекулярной энергии, которое приводит к резкому повышению температуры, вскипанию и выпариванию внутриклеточной жидкости. Результатом таких изменений служит денатурация белков, разрушение белково-липидных комплексов мембран клетки, параллельно с этим происходят деструкция клеточных элементов и образование микроскопических пузырьков пара, что приводит к резкому возрастанию объема клетки и разрушению клеточной оболочки. Микровзрыв, который сопровождает вышеуказанные процессы, смещает соседние клетки, а освобожденные газы, рассеивая теплоту и образуя зону минимального термического воздействия, предохраняют тем самым окружающие ткани от перегревания [8—10].

В настоящее время эффективность применения радиохирургии показана и обоснована при ряде различных патологических состояний хирургического профиля [7, 11—13].

Однако данных о характере влияния радиоволн на состояние тканей слизистой оболочки полости рта и особенности течения местного раневого процесса нет, что не позволяет научно обоснованно рекомендовать внедрение радиохирургического метода лечения в практическую стоматологию.

Цель исследования — установить закономерности (особенности) заживления ран на слизистой оболочке полости рта в зависимости от характера физического воздействия на изучаемые ткани в эксперименте.

Материалы и методы. Экспериментальная часть исследования по изучению морфологических изменений в тканях при использовании простого скальпеля и радиоволнового скальпеля была выполнена на 80 крысах-самцах линии Wistar одного возраста, массой 350—420 г в условиях экспериментальной операционной ЦНИЛ НижГМА. Условия питания и содержания всех животных были одинаковыми, соответствующими условиям вивария.

Была создана модель послеоперационной раны, аналогичная таковой при оперативных вмешательствах по поводу доброкачественных новообразований на слизистой оболочке полости рта. Моделирование осуществлялось с помощью обычного скальпеля и радиоволнового скальпеля (Surgitron Dentosurg, ф. Ellman). Для этого под местной анестезией (0,4 мл 2% раствора новокаина) со стороны полости рта экспериментальных животных в области жевательной группы зубов с обеих сторон нижней челюсти производилось иссечение участка слизистой оболочки щечной области. Объем оперативного вмешательства составлял 0,5x0,7 см.

Животные были разделены на 2 группы: 1-я группа (контрольная) — рана наносилась с помощью обычного скальпеля со стороны полости рта в области жевательной группы зубов на слизистой оболочке щечной области; 2-я группа — рана наносилась с помощью радиоволнового прибора (Surgitron Dentosurg, ф. Ellman)

со стороны полости рта в области жевательной группы зубов на слизистой оболочке щечной области, режим №2 (разрез и коагуляция), мощность — 4—4,5 ед.

Выведение из эксперимента животных обеих групп осуществлялось под действием эфира. Всех животных помещали в емкость с парами эфира до 3-й фазы наркотизации и производили забор исследуемой среды через 1, 3, 7, 24, 48 и 72 ч после моделирования раны. Животные каждой группы были разделены на 6 серий соответственно намеченным срокам окончания эксперимента.

В динамике эксперимента изучались скорость, степень, полнота заживления раны. Срезы тканей окрашивали гематоксилин-эозином для обзорных исследований, по Ван-Гизону — для выяснения степени развития коллагеновых волокон. Морфологические изменения, наблюдавшиеся в обеих группах, описывались по срокам от момента моделирования послеоперационной раны: 1, 3, 7, 24, 48 и 72 ч. Период наблюдения — 3 сут — обусловлен малой травматичностью смоделированных ран и быстрым их заживлением (до 3—4 сут).

Для компьютерного анализа цитологических и гистологических препаратов использовали систему анализа изображений, состоящую из микроскопа проходящего света ECLIPS (Nikon, Germany), компьютера Pentium IV, цветной цифровой видеокамеры DS и блока управления DS-U1 (Nikon, Germany), программы ФСТ-2U [14—17].

Основным акцентом морфологического исследования явился впервые использованный метод компьютерной количественной морфометрии [18—21]. Для этого с помощью системы анализа изображений была создана графическая база данных из адекватных для изучения гистологических препаратов, проведена количественная морфометрия структурных компонентов в области заживления раны.

С помощью объект-микрометра и программы блока управления DS-U1 была проведена калибровка системы анализа изображений, при которой найдено соответствие микрометров пикселям на экране монитора

по горизонтальной и вертикальной шкалам для определения площадей и периметров ядер в абсолютных единицах — микрометрах (мкм). Соотношение количества нейтрофильных и круглоклеточных элементов подсчитывалось на 100 исследуемых клеток и на площадь участков соединительной ткани в различные сроки после хирургического воздействия с последующей статистической обработкой полученных данных. Удельная площадь некроза в фокусе воспаления определялась методом точечного счета.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что во время оперативного вмешательства радиоволновой разрез не требовал приложения усилий, был точен, формировал точные края и сопровождался одномоментной коагуляцией сосудов в раневой поверхности, что создавало «сухое» операционное поле. Разрез обычным скальпелем сопровождался обильным кровотечением, которое несколько затрудняло обзор раневой поверхности.

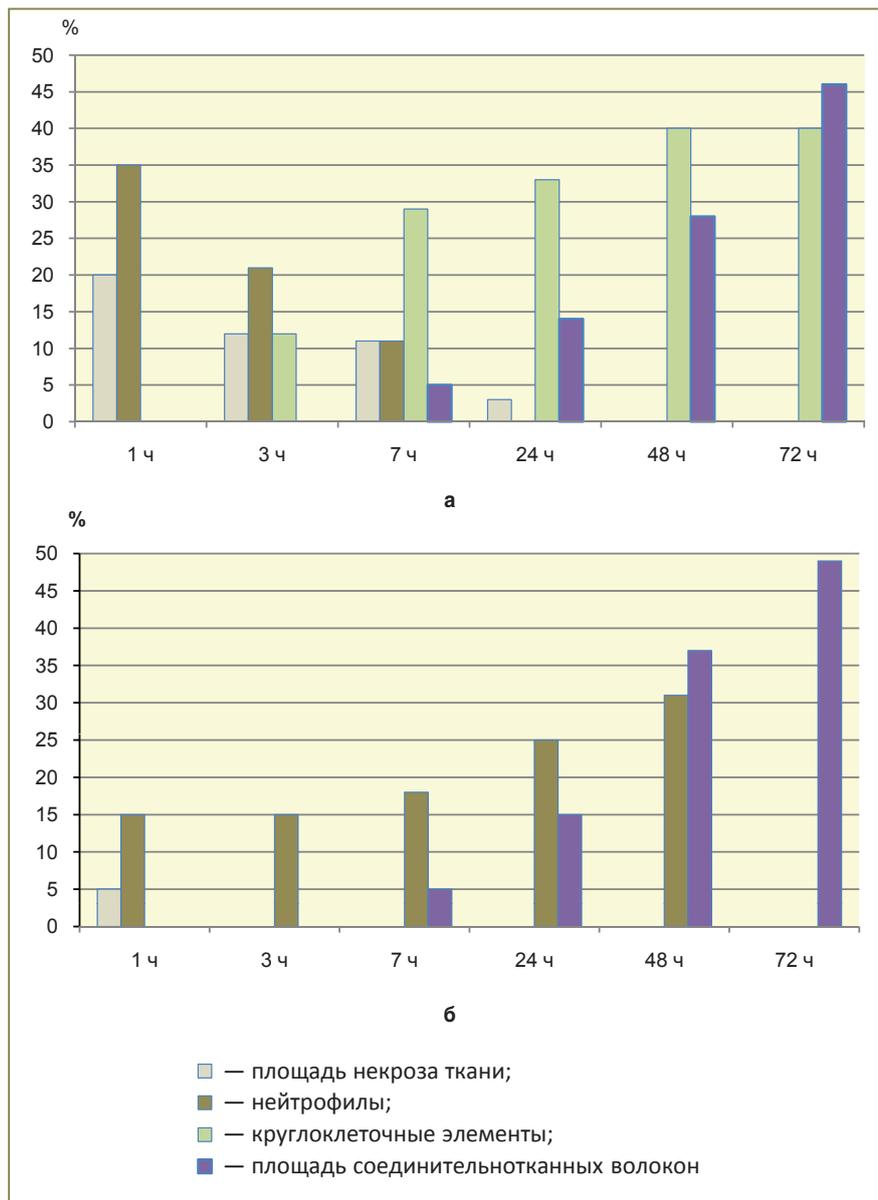
Морфологические изменения в течение 1-го часа (см. таблицу) от начала эксперимента: в контрольной группе животных (обычный скальпель) в области раны определенно преобладали острые воспалительные реакции: наблюдалась обширная зона некротизированных тканей (площадь некроза ткани составила $20,0 \pm 1,2\%$), выраженные расстройства гемодинамики (отек и полнокровие сосудов), выраженная нейтрофильная инфильтрация, синтез фибробластов не отмечалось. В основной группе (радиоволновое воздействие) отмечена меньшая степень альтерации ткани с образованием некротических масс (площадь некроза составила $5,0 \pm 1,4\%$), что в 4 раза меньше по сравнению с контрольной группой (см. рисунок), незначительная нейтрофильная инфильтрация, причем преобладали инфильтраты очагового характера.

При морфометрическом исследовании материала от животных 2-й группы количество сегментоядерных нейтрофилов, фиксированных в 10 полях зрения, в 6 исследуемых случаях в среднем составило 15,0%. Синтез фибробластов не отмечалось, участки некротизированной ткани составляли до 5% исследуемой

Изменения морфологических параметров в зависимости от характера хирургического воздействия (M±m)

	Время от момента хирургического воздействия					
	1 ч	3 ч	7 ч	1 сут	2 сут	3 сут
Площадь некроза ткани, %	$\frac{20,0 \pm 1,2}{5,0 \pm 1,4}$	$12,0 \pm 2,3$	$11,0 \pm 3,4$	$3,0 \pm 1,4$	—	—
Нейтрофилы, %	$\frac{35,0 \pm 1,6}{15,0 \pm 2,5}$	$21,0 \pm 2,3$	$11,0 \pm 2,5$	—	—	—
Круглоклеточные элементы, %	—	$\frac{12,0 \pm 2,1}{15,0 \pm 2,1}$	$\frac{29,0 \pm 1,2}{18,0 \pm 1,2}$	$\frac{33,0 \pm 2,4}{25,0 \pm 2,4}$	$\frac{40,0 \pm 3,4}{31,0 \pm 1,7}$	$40 \pm 2,1$
Площадь соединительно-тканых волокон, %	—	—	$\frac{5,0 \pm 1,3}{5,0 \pm 1,3}$	$\frac{14,0 \pm 2,3}{15,0 \pm 2,3}$	$\frac{28,0 \pm 2,5}{37,0 \pm 2,5}$	$\frac{46,0 \pm 2,6}{49,0 \pm 2,6}$

Примечание. В числителе указаны данные для 1-й группы (контроль), в знаменателе — для животных 2-й группы, которым рана наносилась радиоволновым скальпелем.



Динамика изменения морфологических параметров в зависимости от характера хирургического воздействия: а — обычный скальпель; б — радиоволновой скальпель

площади, что значительно меньше, чем в 1-й экспериментальной группе.

Через 3 ч экспериментального исследования в 1-й группе отмечена общая тенденция к снижению показателей остроты воспалительной реакции: сокращение в исследуемых участках площади некротизированной ткани до $12,0 \pm 2,3\%$ и степени нейтрофильной инфильтрации (количества сегментоядерных нейтрофилов) на 38—40% по сравнению с 1-м этапом исследования, появление круглоклеточных элементов в зоне воздействия. Во 2-й группе выявлено полное отсутствие сегментоядерных нейтрофилов и компонентов некротизированной ткани в исследуемых участках. Синтеза фибробластов также не отмечалось. Наблюдалось появление круглоклеточных элементов — первых признаков начавшихся процессов пролиферации.

На следующем этапе — 7 ч от начала эксперимента — во 2-й (основной) группе прослеживалась положительная тенденция течения пролиферативных процессов: достоверное увеличение числа круглоклеточных элементов — на 50% по сравнению с предыдущим этапом — и образование соединительнотканых волокон в пределах $5,0 \pm 1,3\%$ — признаки гранулирования раневой поверхности. В группе сравнения отмечалось медленное стихание воспалительной реакции и появление первых признаков пролиферации: площадь некроза ткани снизилась на 10,9% по сравнению с предыдущим этапом исследования, увеличилось количество круглоклеточных элементов и соединительнотканых волокон.

Через 1 сут от начала эксперимента: в основной группе наблюдалось благоприятное течение пролиферативных процессов: площадь соединительнотканых волокон увеличилась приблизительно в 3 раза, количество круглоклеточных элементов — на 40% по сравнению с предыдущим этапом. В контрольной группе отмечены снижение площади некроза ткани, положительная динамика пролиферативных процессов — увеличение в 2,8 раза площади соединительнотканых волокон и на 13,79% по сравнению с предыдущим этапом — круглоклеточных элементов.

На 2-е сутки в 1-й группе было отмечено усиление кровотока в мелких венах и артериолах, контуры сосудов имели извитой характер. Происходило интенсивное образование грануляционной ткани с выраженным синтезом фибробластов, продолжало увеличиваться количество круглоклеточных элементов и расширялась площадь соединительнотканых волокон. Во 2-й группе отмечалась интенсификация образования соединительной ткани по сравнению с 1-й серией: наряду с увеличением общей площади просветов сосудов за счет роста сосудов соединительной ткани увеличивалось число круглоклеточных элементов и площадь соединительнотканых волокон.

Таким образом, на 2-е сутки эксперимента положительная динамика пролиферативных процессов была более выражена в основной группе и, кроме того, впервые отмечалось отсутствие некротизированной ткани в исследуемых препаратах.

На 3-и сутки морфологическая картина характеризовалась полным восстановлением дефектов в обеих группах, но степень дифференцировки клеточных элементов была различна: более зрелая соединительная ткань образовалась в основной группе. Площадь соединительнотканых волокон различалась незначительно (см. таблицу).

Заключение. Морфологическое исследование выявило следующие закономерности в динамике заживления раны, нанесенной традиционно используемыми хирургическими инструментами и радиоволновым скальпелем, подтверждающие видимые преимущества последнего: 1) снижение степени альтерации тканей с образованием некротических масс и распространенности воспалительной клеточной реакции, при которой преобладали инфильтраты очагового характера; 2) наиболее ярко выраженная активность макрофагов, направленная на очищение раневой поверхности, быстрая демаркация и отторжение некротических масс с ускоренной эпителизацией раневого дефекта; 3) более длительное сохранение иммунокомпетентных и соединительнотканых клеток, сопровождающих процессы репарации; 4) полная регенерация с минимальным развитием волокнистых структур; 5) заживление ран без образования грубых рубцовых изменений и осложнений.

Результаты экспериментального морфологического исследования процессов регенерации слизистой оболочки полости рта показали, что при использовании радиохирургического метода в тканях у крыс синтез фибробластов, образование и созревание грануляционной ткани отмечаются на более ранних сроках, а площадь некроза ткани, т.е. повреждающее действие при проводимом исследовании — практически отсутствует. Эти результаты свидетельствуют о целесообразности применения метода радиоволновой хирургии при выполнении хирургических вмешательств на слизистой оболочке полости рта.

Литература

1. Боровский Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. М: Медицина; 1991; 304 с.
2. Воложин А.И. Патофизиология клетки: Учебное пособие для студентов. М; 1992; 96 с.
3. Кузин М.И., Шимкевич Л.Л. Патогенез раневого процесса. В кн.: Раны и раневая инфекция. М; 1981; с. 114—160.
4. Царев В.Н., Ушаков Р.В. Антимикробная профилактика воспалительных осложнений в хирургической стоматологии. Российский стоматологический журнал 2003; 4: 21—25.
5. Богатов В.В. Оптические квантовые регенераторы в хирургии лица и челюстей. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М; 1987.
6. Грудянов А.И., Безрукова А.П., Ерохин А.И. Применение радиохирургического метода при хирургическом лечении воспалительных заболеваний пародонта. Стоматология 1996; Спец. вып; с. 51.
7. Pollack S.V. Electrosurgery of the skin. New York; 1991.
8. Дрabbкин Р.Л. Аналитическое исследование температуры в ткани при моноактивной электрокоагуляции. М: Медтехника; 1973.
9. Лазутиков О.В., Сердюков Ю.П., Пруссакова Ю.Н., Кудинов Ю.А. Опыт применения радиоволнового скальпеля Surgitron DS на амбулаторном хирургическом приеме в стоматологии. В кн.: Материалы междунар. конгресса «Радиоволновая хирургия на современном этапе». М; 2004; с. 257—258.
10. Майстренко Н.А., Юшкин А.С., Калашников С.А., Кольц А.В. Использование радиохирургического прибора для рассечения и коагуляции тканей в эксперименте. В кн.: Сб. тез. докладов научной конференции, посвященной 150-летию клинического отдела Военно-медицинской академии. 1997; с. 447—448.
11. Brown J.S. Minor surgery. New York; 1997.
12. Hensman C., Baty D., Willis R.G., Cuschieri A. Chemical composition of smoke produced by high-frequency electrosurgery in a closed gaseous environmental in vitro study. Surg Endosc 1998; 12(8): 1017—1019.
13. Mannes W.L., Roeber F.W., Clarc R.E. et al. Histologic evaluation of electrosurgery with varying frequency and waveform. J Prothet Dent 1978; 40: 304—308.
14. Автандилов Г.Г. Медицинская морфология. М: Медицина; 1990; 382 с.
15. Аничков И.Н., Волкова К.Г., Гаршин В.Г. Морфология заживления ран. М: Изд-во АМН СССР; 1951; 127 с.
16. Аппельт Г. Введение в методы микроскопического исследования: Пер. с нем. М: Медгиз; 1959; 427 с.
17. Белянин В.Л. Морфологическая диагностика воспалительных процессов в биопсийном, операционном и аутопсийном материале: Учебное пособие для врачей-слушателей. 1989; 20 с.
18. Okon K., Tomaszewska R., Nowak K., Strachura J. Anal Cell pathol 2001; 23: 129—136.
19. Tomaszewska R., Okon K., Nowak K. et al. HER-2/new expression as a progression marker in pancreatic intraepithelial neoplasia. Pol J Pathol 1998; 49: 83—92.
20. Williams D.W., Ports A.J., Wilson M.J., Matthews J.B., Lewis M.A. Characterisation of the inflammatory cell infiltrate in chronic hyperplastic of the oral mucosa. J Oral Pathol Med 1997; 26(2): 83—89.
21. Zarbo R.J. Monitoring anatomic pathology practice through quality assurance measures. Clin Lab Med 1999; 19: 713—742.