

УДК 619:616.596-001.4.:636.2

ДИНАМИКА ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕЙРОТРОФИКИ КОЖИ ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ РАНЫ КОНЕЧНОСТИ ЖИВОТНОГО КРИОГЕНОМ

*М. СПЫНУ, Е. ЧУМАСОВ, В. СОКОЛОВ,
К. СВЕТИКОВА, А. СТЕКОЛЬНИКОВ*

Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

Abstract. The skin's injury of the hoof's intermanual partition in cattle is followed very often by the appearance of persistent wounds which require a long treatment.

During this research, the wound of the intermanual partition skin of an experienced animal was reproduced and then cleansed with liquid nitrogen. The regeneration of nervous fibers was studied using neurohistological methods. In five days one can observe the growth of the axons and the migration of peripheral glial cells on remained perineural covers from the nervous bundles of the derma to the granulations tissue and to recycling epidermis.

In ten days the reparative histogenesis continues to increase. In the nervous trunks of the derma and in the nervous bundles of a superficial plexus on the border with epidermis, we can observe the appearance of thin myelinated fibers and the axons with flasks and bulbs rising on the ends.

In fifteen days the bundles unmyelinated fibers, departing from the core nervous plexus, together with the blood vessels are penetrating in the high papillae cutis.

On the twentieth day there is the wound healing: structural integrity of epidermis layers and the derma skin are restored.

Processes of growth and myelination of the axons come to the end, mature myelination and non myelination nervous fibers are formed. The presence of mature nervous fibers and nervous terminations in papillae cutis testify that to the given date neurotrophic functions of the skin tissues of the foot were restored.

Key words: Cleansing the injury with liquid nitrogen; Regeneration of nerve; Restoration of neurotrophic functions of the tissues.

ВВЕДЕНИЕ

Повреждения кожи межпальцевой перегородки копытца у крупного рогатого скота часто приводят к появлению длительно незаживающих эрозий, ран, что требует продолжительного лечения. Хотя существует достаточно большое количество разнообразных подходов хирургического лечения ран, они не всегда дают ожидаемые положительные результаты. Поиск и внедрение в ветеринарную практику наиболее простых, доступных, экономически оправданных средств и способов лечения представляют актуальную задачу. Наиболее перспективным, является лечение ран кожи с помощью криогенной техники (М. Спыну, А. Стекольников, 2006). Ранее было показано (М. Спыну, Е. Чумасов и др. 2008), что обработка ран жидким азотом благоприятно влияет на процессы пролиферации и миграции клеточных и волокнистых компонентов эпидермиса, дермы, а также сосудов микроциркуляторного русла. Однако для оценки полноты и качества заживления раны этого не достаточно. Необходимо иметь ввиду и такие важные критерии, как восстановление нервных аппаратов и нейротрофики в процессе регенерации тканей кожи (А. Ноздрачев, Е. Чумасов, 1999).

Целью настоящей работы было изучить динамику регенерации нервных аппаратов при заживлении раны и установить сроки реиннервации кожи у крупного рогатого скота.

Для лечения использовался способ криоорошения поврежденного участка кожи жидким азотом, разработанный и апробированный на кафедре общей и частной хирургии («Автономное криогенное устройство для лечения хирургических заболеваний животных»; патент №52335 от 11.01.2005 г. Авторы: Спыну М. Д., Стекольников А. А.).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проводились в СПК «Шушары» Ленинградской области на 5 коровах (2-х лет- $n=3$ и 3-х лет- $n=3$), получивших экспериментальную травму в данной области ноги. После асептической обработки раны в течение 20-30 сек. производили местное криоорошение ее жидким азотом через сопло специального криоприбора на расстоянии 1,5-2 см от поверхности (регистрируемая температура составляла -120°C); через 3-4 мин процедуру повторяли. Через 5, 10, 15 и 20 суток брали кусочки кожи (0,5 X 0,5 см), фиксировали их в 12% нейтральном формалине и на замораживающем микротоме делали срезы толщиной от 20 до 40 мкм. Для нейростологического исследования использовали метод Бильшовского-Грос, избирательно выявляющий аксоны регенерирующих нервных волокон и Судан-черный-гистохимический метод на фосфолипиды для оценки миелинизации растущих аксонов. Для общегистологического анализа применяли гематоксилин Майера и окраску толуидиновым синим.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что через 5 суток после криогенной обработки некротические массы из центра раневого канала исчезают, общий отек окружающих тканей спадает, грануляционная ткань слабо выражена. В перинекротической зоне в слоях дермы и эпидермиса имеют место отчетливые признаки репаративной регенерации. На фоне сохранившейся после гибели эпителиоцитов трехмерной кератиновой сети наблюдается пролиферация и диффузная миграция

эпителиальных клеток из пограничной с перинекротической зоной интактной ткани эпидермиса к центру раневого канала. Из ткани дермы, окружающей раневой канал, в запустевшие сосочки эпидермиса начинают вращать кровеносные сосуды в сопровождении фибробластов. В этот срок с помощью нейрогистологических методов выявляются существенные изменения со стороны нервного аппарата кожи. На границе интактной и перинекротической зон, а также вблизи с грануляционной тканью, встречаются нервные пучки с признаками уоллеровской дегенерации - с остатками продуктов распада аксонов и миелиновых оболочек в виде зерен, шаров и овоидов. Имеет место отек периневральных футляров. Признаков, сохранившихся аксонов в сосочковой соединительной ткани, ни в центре, ни по краям раны не выявляется. Отсутствие их объясняется отчасти механической травмой и повреждением нервных волокон, развитием воспаления, а также частичной дегенерацией их в результате воздействия низкой температуры при обработке раны жидким азотом. Следует заметить, что периневральные футляры вокруг дегенерирующих нервных пучков, расположенных по периферии раны, сохраняют свою анатомическую связь с периневрием пучков глубокого нервного сплетения дермы, в которых нейрогистологическими методами выявляются многочисленные неповрежденные миелинизированные аксоны.

Через 10 суток на месте раны обнаруживается пласт уплощенных эпителиоцитов, мигрирующих из перинекротической зоны, а под ним клеточные и волокнистые элементы соединительнотканного происхождения. По мере удаления от раневого канала к перинекротической и пограничной интактной зонам количество слоев эпителиальных клеток возрастает. Митотическая клеточная активность наблюдается в этот срок как в поверхностных слоях шиповатого слоя эпителия, так и со стороны базальных эпителиоцитов выстилающих сосочки по всей их длине. В просветах новообразованных сосочков, расположенных на месте раневого канала, выявляются капилляры, клеточные и волокнистые элементы рыхлой соединительной ткани. Облитерирующие ранее просветы венозных сосудов микроциркуляторного русла дермы заполняются кровью, появляются посткапилляры. Воспалительные периваскулярные инфильтраты исчезают. В нервных стволиках, на границе с эпидермисом, продукты распада нервных волокон к этому времени убираются макрофагами, отек периневрального эпителия резко спадает и внутри пучков увеличивается количество клеточных элементов за счет пролиферации нейролеммоцитов и эндоневральных фибробластов. Регенерация аксонов и их рост из нервного сплетения дермы кожи в сосочковый слой слабо выражены. Встречаются немногочисленные безмякотные тончайшие регенерирующие аксоны в тонких пучках на границе дермы и эпидермиса.

Через 15 суток процессы регенерации в коже исследуемой области становятся еще более выраженными. Меняется заметно окраска поверхностного пласта эпидермиса - он становится розоватого цвета и приобретает гладкую ровную поверхность. В нем обнаруживается несколько слоев кератиноцитов, составляющих шиповатый слой. Под ним находится сформированный базальный слой камбиальных клеток, выстланный на границе с соединительной тканью тонкой базальной мембраной. В соседней перинекротической зоне восстанавливается сосочковый слой из рыхлой соединительной ткани. Однако качественно и количественно сосочки отличаются от интактных. Во-первых, они редко располагаются и, во-вторых, имеют признаки «низких», а не «высоких» сосочков, характерных для данного типа эпидермиса кожи в норме. Кератиноциты в шиповатом слое располагаются рыхло и между ними имеются еще широкие межклеточные пространства. В дерме продолжает наблюдаться пролиферация клеток фибробластического ряда, уплотнение пучков грубой волокнистой ткани, выявляется повышенное количество сосудов микроциркуляторного русла и особенно капилляров. Вокруг части сосудов изредка встречаются лейкоцитарные клетки (моноциты, единичные нейтрофилы и тучные клетки).

Нейрогистологически установлено, что параллельно с регенерацией эпителиальной и соединительной тканей кожи интенсивно идут восстановительные процессы и со стороны поврежденных периферических нервов. На границе эпидермиса и дермы, исследуемой области, в периферических нервных стволиках и пучках обнаружены многочисленные тонкие (1-1,5 мкм) безмиелиновые аксоны, следующие в сопровождении тяжелей нейролеммоцитов. В таких пучках, как правило, уже отсутствует субпериневральный отек. Регенерирующие аксоны выявляются

не только в пучках нервного сплетения, но и во многих сосочках эпидермиса. У некоторых из них на концах имелись колбы роста.

На 20-е сутки после лечения в эпидермисе на месте раны выявляются дифференцированные клеточные слои: базальный, шиповатый, гранулярный, блестящий и роговой. Однако общая толщина эпителиального пласта отличается от нормы и составляет 300-375 мкм. Некоторые слои (шиповатый, гранулярный) и особенно роговой еще не достигли своих первоначальных размеров. Восстанавливается также сетчатый слой из рыхлой соединительной ткани сосочков. Плотная грубоволокнистая соединительная ткань дермы приобретает характерные для нормы черты, микроциркуляторное русло представлено широкопетлистым сплетением из артериальных, венозных сосудов и капилляров. На нейростологических препаратах в этот срок хорошо выявляется глубокое и поверхностное нервные сплетения, состоящие из различного калибра нервных стволиков и пучков, заполненных многочисленными аксонами. При гистохимической окраске срезов на фосфолипиды видно, что большая часть аксонов окружена миелиновыми оболочками и диаметр волокон составляет от 2,5 до 5 мкм. Интересно отметить, что на некотором расстоянии от эпидермиса мягкотные волокна, выходящие из нервных пучков, утрачивают свою миелиновую оболочку, их безмякотные аксоны посылают тонкие отростки в сосочки. Там они прослеживаются на значительном расстоянии, дихотомически делятся и заканчиваются в поверхностных слоях под эпителием расширениями в виде пластинок или колбочек, которые представляют собой чувствительные холинергические нервные окончания.

ВЫВОДЫ

1. При обработке раны конечности животного жидким азотом происходит быстрое восстановление нарушенной иннервации тканей кожи межпальцевой перегородки.
2. Процессу регенерации нервных волокон предшествует сначала уоллеровская дегенерация, сопровождающаяся распадом аксонов и миелиновых оболочек.
3. Через 5 суток наблюдается рост аксонов и миграция клеток периферической глии по сохранившимся периневральным футлярам из нервных пучков дермы к грануляционной ткани и регенерирующему эпидермису.
4. Через 15 суток тяжи безмякотных аксонов, отходящие от основного нервного сплетения, вместе с кровеносными сосудами проникают в сосочки рыхлой соединительной ткани эпидермиса.
5. На 20 сутки происходит заживление раны: восстанавливается структурная целостность слоев эпидермиса и дермы кожи. Заканчиваются процессы роста и миелинизации аксонов, формируются зрелые безмякотные и мягкотные нервные волокна, что свидетельствует о том, что к данному сроку восстановилась не только структурная, но и нейротрофическая функции тканей этой области кожи.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Спыну, М. Д., Стекольников, А. А. *Применение криогенных материалов при лечении поражения кожи пальцев у коров*. Материалы международной научно-практической конф., посвященной 80-летию факультета ветеринарной медицины ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени К.Д. Глинки». Воронеж, 2006, с. 33.
2. Спыну, М. Д., Чумасов, Е. И., Соколов, В. И. *Регенерация кожи после воздействия криогенном*. «Морфология», т. 134, №3, 2008, с. 118-119.
3. Ноздрачев, А. Д., Чумасов, Е. И. *Периферическая нервная система*. Структура, развитие, трансплантация и регенерация, С-Петербург, «Наука», 1999, с. 281.

Data prezentării articolului - 20.05.2009