

О.Є. Лоскутов
О.М. Горегляд
О.О. Бондаренко
Н.С. Бондаренко

ДЗ «Дніпропетровська
медична академія МОЗ
України»

Надійшла: 24.01.2018
Прийнята: 04.03.2018

УДК 616.-717.5/9-001.4-039.73-089

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕПАРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ У РАНАХ БОЙОВОГО ХАРАКТЕРУ ПІД ВПЛИВОМ ВАКУУМ-АСИСТОВАНОЇ ТЕРАПІЇ

Morphologia. – 2018. – Т. 12, № 1. – С. 20-28.

© О.Є. Лоскутов, О.М. Горегляд, О.О. Бондаренко, Н.С. Бондаренко, 2018

✉ olex.o.bondarenko@gmail.com

Loskutov O.Y., Goreglyad O.M., Bondarenko O.O., Bondarenko N.S. Morphological features of combat wound healing under vacuum assistance wound therapy.

ABSTRACT. Background. Complex severe wounds require enormous efforts in their treatment. Negative pressure wound therapy, or vacuum assistance wound closure (VAC), is a promising method of accelerated wound healing. However, its efficacy needs to be approved and explained. **Objective.** Histological, immunohistochemical and electron microscopy assessment of wound healing under negative pressure comparing with conventional wound cure. **Methods.** Histological, immunohistochemical, electron microscopy and morphometric evaluation of specimens from wound bed at admission of patients, 3 and 7 days of treatment. The morphometric analysis was performed using the ImageJ image analysis software. **Results.** Morphological evaluation demonstrated reduction of inflammatory infiltration, advance in wound re-epithelisation and support of negative pressure wound therapy in collagen matrix remodeling due to early proliferation of fibroblasts, elevated collagen production and myofibroblasts differentiation. Immunohistochemical labeling of vascular endothelial marker CD34 revealed significantly enhanced angiogenesis in the wound that occurs as formation of more developed and functioning microvessels on day 3 of negative pressure wound therapy comparing to control group and its reduction on 7 day of treatment. **Conclusion.** Vacuum assistance wound closure is a more effective method of severe combat wounds healing, than application of gauze bandages. Negative pressure wound therapy benefits a wound repair by enhancing angiogenesis, diminishing inflammation, and contributing to early connective tissue development.

Key words: combat wound, VAC, wound healing, myofibroblast, CD34.

Citation:

Loskutov OY, Goreglyad OM, Bondarenko OO, Bondarenko NS. [Morphological features of combat wound healing under vacuum assistance wound therapy]. Morphologia. 2018;12(1):20-8. Ukrainian.

Вступ

Кількість пацієнтів із розповсюдженими ушкодженнями м'яких тканин постійно збільшувалася завдяки стійкому річному зростанню кількості дорожньо-транспортних пригод, травм, отриманих при використанні високоенергетичних вибухових речовин, важких опіків, травм, пов'язаних з роботою, та травм, викликаних резекцією пухлин [1,2]. Як правило, такі рани супроводжуються повільним загоєнням, важкою інфекцією та поганим кровопостачанням. При традиційному веденні рани із застосування марлевих пов'язок час загоєння є доволі довгим. Окрім того, існує велика вірогідність підвищення частоти таких ускладнень, як ранова інфекція [3]. Відомо, що з веденням важких поліструктурних ран доволі складно впоратися, і, як наслідок, вони можуть бути причиною інвалідності і навіть смерті, як у мирний, так і у воєнний час [4]. Тому залишається актуальним та набуває нового зна-

чення розвиток сучасних ефективних лікувальних процедур. Техніка застосування негативного тиску для ранової терапії (VAC – «vacuum assisted closure») була широко застосована до багатьох типів ушкоджень і виявилася ефективною для герметизації відкритих ран, блокування їх контамінації та, як наслідок, підтримки гігієни ран [5]. VAC-терапія може також покращити локальний кровообіг у рані, таким чином зменшуючи набряки тканин та мікробне навантаження, сприяє зростанню грануляційної тканини та покращує загоєння ран. До останнього часу накопичена велика кількість доказів успішного використання VAC при лікуванні ран м'яких тканин [6].

Як добре відомо, загоєння будь-якої рани ділиться на три фази: запалення, проліферації та дозрівання. Ці фази перетинаються одна з одною і їх розділення є дещо умовним, проте вони допомагають зрозуміти послідовність подій, що

відбуваються при загоєнні шкірних ран [7]. У рамках даного дослідження оцінка якості проведеного лікування рани у короткостроковій перспективі має враховувати як актуальні, так і потенційні групи параметрів, для того щоб відповісти на питання: наскільки застосований метод дійсно прискорює загоєння рани на ранньому етапі, а також наскільки ефективно застосований метод може забезпечити загоєння рани на наступних етапах.

Мета – порівняти ефективність методу VAC та традиційної терапії з використанням гістологічного, імуногістохімічного та електронно-мікроскопічного методів дослідження.

Матеріали та методи

Пацієнти. У роботі застосовувався матеріал 48 хворих, госпіталізованих у Дніпропетровську обласну клінічну лікарню ім. І.І. Мечникова в ургентному порядку з відкритими ушкодженнями м'яких тканин ускладненими компартмент-синдромом; великими некротичними ранами; відкритими переломами Gustilo-Anderson II, IIIA, IIIB. Дослідження проводили до початку лікування і на 3 та 7 добу післяопераційного періоду. Тривалість існування ран після моменту виникнення у 26 пацієнтів (54,1%) не перевищувала 12 годин; у 14 хворих (36,5%) вона становила 12-24 години; 8 пацієнтів (9,4%) надійшли до лікарні в період 24-48 годин після поранення.

Для виконання поставлених завдань дослідження нами було сформовано 2 групи: у досліджуваній групі (32 пацієнта) застосовувався метод VAC-асистованого закриття ран після травматичних поранень, первинно і вдруге відкритих переломах, кульових і осколкових поранень кінцівок, а також після виконаної фасціотомії. Контрольна група складала 16 хворих, яким застосовувався класичний «пов'язковий» метод лікування відкритих поліструктурних ушкоджень кінцівок з використанням щоденних перев'язок з асептичними та гіпертонічними розчинами.

За етіологічним фактором пацієнти розподілялися таким чином: вогнепальні рани – 8 спостережень (16,7%), осколкові – 38 (79,17%), змішаного характеру – 2 (4,17%). Усі 48 (100%) пацієнтів були чоловічої статі. 18 пацієнтів були (37,5%) з пораненнями верхньої кінцівки, 30 (62,5%) – нижньої кінцівки. 36 (75%) пацієнтів мали місце відкриті переломи кісток кінцівок, 12 (25%) пошкодження м'яких тканин без перелому кістки.

Морфологічні методи. Для проведення гістологічного дослідження та імуногістохімічних реакцій використовували парафінові блоки біопсійного матеріалу від досліджуваних пацієнтів – по 3 біоптати від кожного після первинної хірургічної обробки рани, на 3 та 7 добу після початку ведення рани. Зрізи товщиною 3-5 мкм наносили на предметні скельця, попередньо оброблені адгезивною рідиною (poly-L-lysine), слі-

дом за чим депарафінізували відповідно до прийнятих стандартів.

Фарбування зрізів проводили трихромом Масона у модифікації Голднера. Імуногістохімічні реакції проводили у відповідності до загальноновизнаних методик. Як первинні моноклональні антитіла використовували такі до CD34, α SMA (Dako, США).

Для електронно-мікроскопічного дослідження зразки розміром 1 мм³ отримували на 3 та 7 добу ведення рани та фіксували за допомогою 2,5%-вого розчину глутаральдегіда. Постфіксацію матеріалу здійснювали в 1%-вому забуференому розчині тетраокису осмія. Зневоднення тканини проводили за загальноприйнятими правилами після чого матеріал заключали в Епон-812 («SPI-Pon™ 812 Epoxy Embedding Kit», США). Тонкі зрізи товщиною 60-80 нм контрастували 2%-вим водним розчином уранілацетата з подальшою імпрегнацією розчином цитрата свинцю за методом Рейнольдса. Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЭМ-100-01 («SELMi», Україна) при напрузі прискорення 75-85 кВ і первинних збільшеннях від 2500 до 30000.

У кількісному гістологічному дослідженні вимірювали щільність мікросудин грануляційної тканини: середню площину капілярів на поле зору (ПЗ) при збільшенні $\times 400$, клітинність запального інфільтрату: середню кількість лейкоцитів на поле зору (ПЗ) при збільшенні $\times 400$, відносну площу екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ).

Морфометричний аналіз проводили з використанням програми для аналізу цифрових зображень ImageJ (Bethesda, Maryland, USA).

Статистичні методи. Статистичний аналіз проводився за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel. Результати були виражені як середнє значення $M \pm m$. Аналіз вірогідності розходжень між вибірками здійснювали з урахуванням парного t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Перше гістологічне дослідження відбувалося на етапі первинної обробки рани. Незалежно від приналежності пацієнтів до тієї чи іншої групи, початкове пошкодження тканин спричиняло адгезію та агрегацію тромбоцитів та утворення згустку в поверхні рани, що призводило до гострого місцевого запалення, яке складалося з інфільтрації поліморфоядерними лейкоцитами, причому найбільша їх концентрація спостерігалася у поверхневому шарі ранового ложа. Інтенсивність інфільтрації гранулоцитами залежала від типу та розповсюдженості ушкодження, тобто від ступеню розповсюдженості некротичних змін. Так, серед тих, що мали незначні некротичні зміни, пацієнти з осколковими пораненнями мали лейкоцитарну інфільтрацію в середньому в 1,2 рази інтенсивнішу ніж у ран від кульових

поранень (234 ± 12 та 195 ± 14 клітин на 1 км^2 , відповідно; $p < 0,01$). Аналогічно, у пацієнтів із відкритим пошкодженням кісток лейкоцитарна інфільтрація була майже в 1,5 рази інтенсивніша ніж у пацієнтів лише з ушкодженням м'яких тканин. Вочевидь, незалежно від типу рани, помірний та високий рівень некротичних змін призводив до надзвичайно інтенсивної лейкоцитарної інфільтрації, яка була в середньому в 11,3 рази вищою, ніж у ран будь-якого типу та розповсюдженості без значних осередків некрозу (рис. 1А).

На 3 добу спостереження після проведення першого етапу санації рани відбувалися трансформації у складі запального інфільтрату: до поліморфноядерних лейкоцитів приєднувалися макрофаги, лімфоцити та плазматичні клітини. Інтенсивність запального інфільтрату на даному етапі більшою мірою була пов'язана із типом

лікування рани (табл. 1). Так, у ранах після вакуум-терапії відзначалося зменшення клітинності запалення на 31,9% ($p < 0,05$) у порівнянні з початком ведення рани. При цьому з'ясувалось, що у кількісному відношенні інтенсивність запалення статистично вагомо не відрізнялося при співставленні досліджуваної та контрольної групи. Проте аналіз якісного складу продемонстрував більшу відносну кількість мононуклеарних лейкоцитів (макрофагів та лімфоцитів) у запальному інфільтраті пацієнтів, до яких була застосована вакуум-терапія (рис. 1Б). Аналіз якісного та кількісного складу інфільтрату у різних частинах рани також виявив певні особливості: проксимальні відділи рани містили більшу відносну кількість мононуклеарних лейкоцитів (макрофагів, лімфоцитів та плазматичних клітин) в обох групах вивчення.

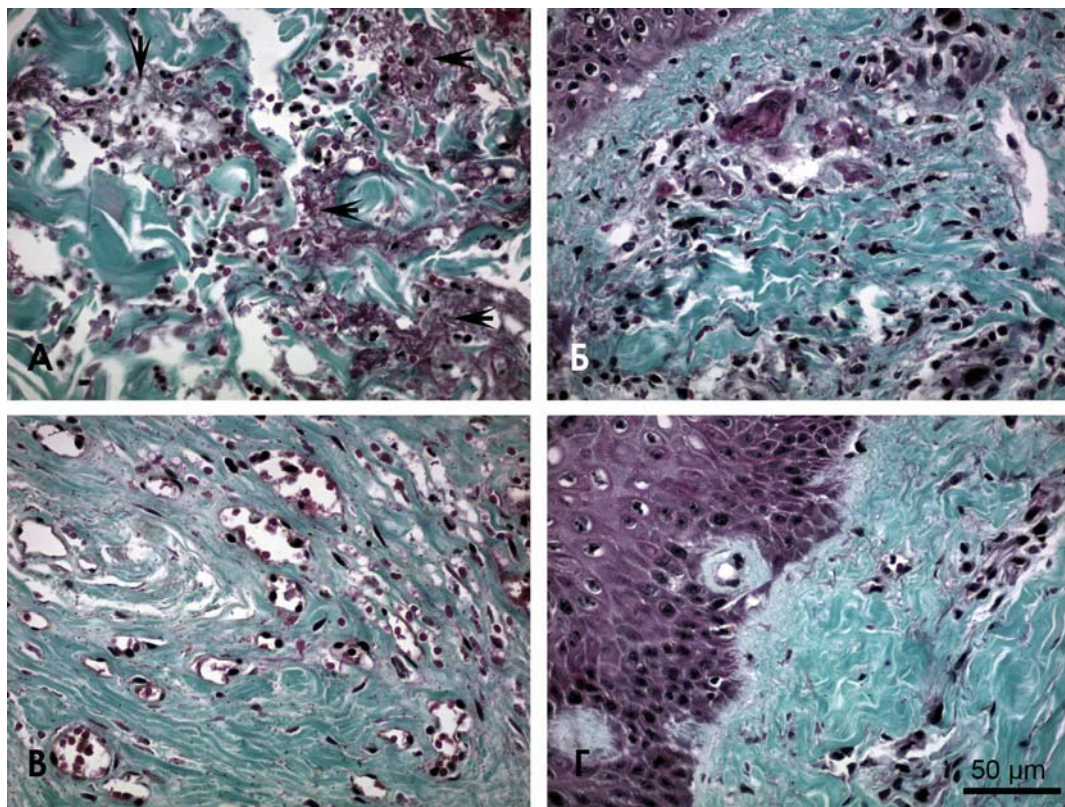


Рис. 1. Динаміка гістологічних змін у ранах. А – осколкове поранення при надходженні: виразні осередки некротичних змін (стрілки) поряд зі значною поліморфноядерною інфільтрацією; Б – ранове ложе після 3 днів VAC-лікування, поява макрофагів; В – ранове ложе після 7 днів лікування у контрольній групі, грануляційна тканина; Г – ранове ложе після 7 днів лікування негативним тиском. $\times 400$. Забарвлення трихромом Масона-Голднера.

Після 72 годин від початку лікування у ранах після вакуум-терапії відзначалося статистично вагоме зростання відносної площі екстрацелюлярного матриксу при порівнянні з початком ведення рани (на 66,2%; $p < 0,05$). Натомість рівень показника контрольної групи не мав достовірно вагомого приросту. Подібну різницю мож-

на було пояснити більш ранньою проліферацією ендотеліальних клітин, фібробластів у складі грануляційної тканини пацієнтів досліджуваної групи та продукцію ними компонентів ЕЦМ. Колагенові волокна формували пучки, мали регулярну будову, також значною залишалася частка аморфного матриксу (рис. 2).

Таблиця 1

Динаміка змін морфометричних показників ранового ложа у хворих із застосуванням VAC-терапії та пацієнтів контрольної групи (M±m)

| Групи | Час після початку лікування | | |
|-------------|--|--------------|--------------|
| | 0 | 3-4 доби | 7 діб |
| | Запальний інфільтрат (клітин/ПЗ) | | |
| VAC-терапія | 72±4 | 49±6* | 34±7 |
| Контрольна | 69±5 | 57±6 | 48±4 |
| | Відносна площа ЕЦМ (мкм ² /мкм ²) | | |
| VAC-терапія | 0,074±0,019 | 0,123±0,015* | 0,134±0,014 |
| Контрольна | 0,072±0,009 | 0,091±0,012 | 0,130±0,016* |
| | Щільність мікросудин (мм ² /ПЗ) | | |
| VAC-терапія | 4,28±0,53 | 7,53±0,82*‡ | 4,89±0,57*‡ |
| Контрольна | 4,09±0,51 | 5,31±0,66 | 6,92±0,74 |

Примітки: «*» вказує на достовірну різницю у порівнянні з відповідним значенням на попередньому етапі ведення рани (p<0,05); «‡» вказує на достовірну різницю у порівнянні з відповідними значеннями контрольної групи (p<0,05).

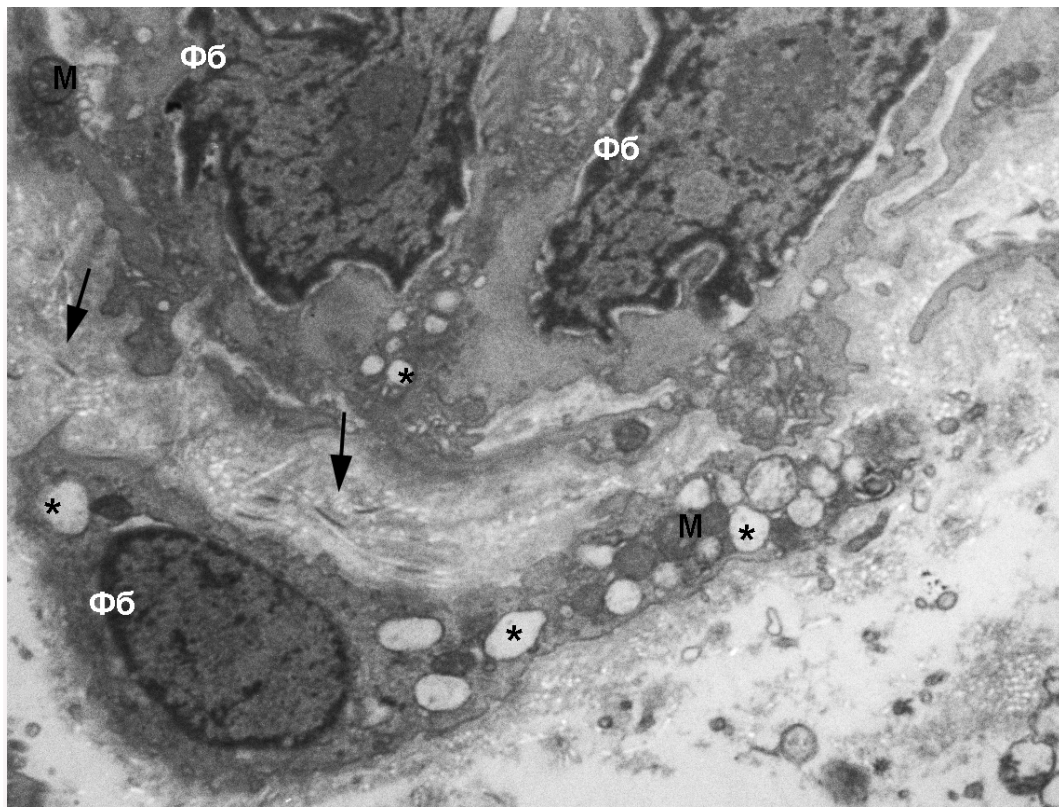


Рис. 2. Ранове ложе хворого на 3 добу застосування VAC-терапії. Фіброblastи у безпосередній близькості один до одного, присутні компоненти ЕЦМ: фіброblast (Фб), дилатовані цистерни ЕПС (зірочка), мітохондрії (М), колагенові волокна (стрілка). Електронна мікрофотографія. ×3000.

На 3 добу від початку ведення лікування у рановому ложі з'являлись міофіброblastи. Наявність даних клітин ми підтверджували за допомогою забарвлення з антитілами до гладком'язового актину α . Звертало увагу, що реакція α SMA виявила більш виразну його експресію у пацієнтів контрольної групи при порівнянні з досліджуваною (рис. 3А, Б). На нашу думку, це

пояснюється більш активною диференціацією міофіброblastів із клітин-попередників (фіброblastів, фіброцитів, перицитів, ендотеліоцитів, епітеліоцитів) під впливом прозапальних цитокінів (таких як IL-1 β , TNF- α mRNA), що виділяються гранулоцитами, а пізніше і макрофагами у ранньому періоді загоювання [8]. Така реакція з боку міофіброblastів була співставною з отри-

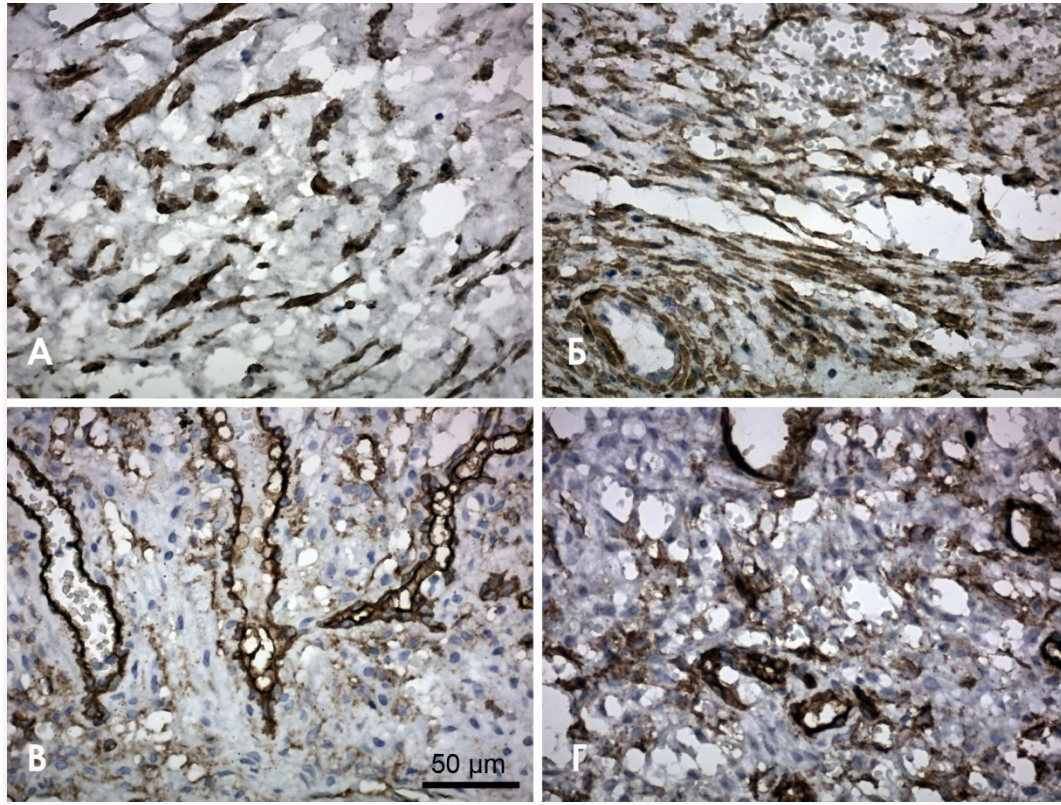


Рис. 3. Клітинні трансформації у процесі загоєння рани. Поява міофібробластів у рановому ложі спостерігається на 3 добу використання вакуумної терапії (А) та при стандартному лікуванні (Б). Розвиток грануляційної тканини у рановому ложі на 7 добу при застосуванні негативного тиску (В) та при звичайному лікуванні (Г). $\times 400$. Імунопероксидазний метод, забарвлення на α SMA (А,Б) та CD34 (В,Г).

Окрім імуногістохімічного підтвердження ми також аналізували присутність та будову міофібробластів у складі ради за допомогою чітких ультраструктурних критеріїв цих клітин: добре розвиненої грЕПС, наявності периферичних субмембранних міофіламентів та особливих контактних структур – фібронексусів [9]. Останні є пластинкою прикріплення або свого роду місцем зустрічі внутрішньоклітинних міофіламентів та позаклітинного фібронектину, а отже забезпечують взаємодію «клітина-ЕЦМ» (рис. 4А, Б; рис. 5А) або «клітина-клітина», безпосередньо приймаючи участь у скороченні рани (рис. 5Б).

Після проведення другого планового дебрідменту ран та забору біоптатів на 7 добу спостерігалось утворення молодого грануляційної тканини (рис. 1В), яка характеризувалася проліферацією та міграцією клітин сполучної тканини та початком епітелізації поверхні рани у групі пацієнтів із терапією негативним тиском (рис. 1Г). На даному етапі суттєво зростає показник відносної площі сполучнотканниної стромы серед пацієнтів контрольної групи при порівнянні з попереднім терміном дослідження (42,9%, $p < 0,05$). При цьому достовірної різниці із групою, де застосовувалася VAC-терапія виявлено не було

(табл. 1). Отже організація компонентів ЕЦМ серед пацієнтів контрольної групи відбувалася пізніше, ніж у хворих із VAC-методом.

Аналіз реакції гемомікроциркуляторного русла грануляційної тканини у відповідь на лікування ран негативним тиском показав різке підвищення щільності мікросудин протягом перших 3 післяопераційних днів (75,9%, $p < 0,05$) (табл. 1). Після 7-ї доби ведення рани у пацієнтів із VAC-терапією відзначалося зменшення рівня щільності мікросудин на 35,1% ($p < 0,05$), також значення показника було достовірно нижчим за контроль (29,3%, $p < 0,05$). Натомість приріст показника у пацієнтів групи контролю на 3 та 7 добу ведення рани був помірним та не набував статистичної значущості при порівнянні з попереднім терміном дослідження.

Для більш детального вивчення проангіогенних ефектів VAC у важких поліструктурних ранах, проводилося імуногістохімічне забарвлення CD34, маркера ендотелію, на ділянках ранової тканини. При цьому рівень експресії маркера на 7 добу терапії ран негативним тиском поступався контрольним значенням та був меншим ніж на 3 післяопераційний день (рис. 3В, Г).

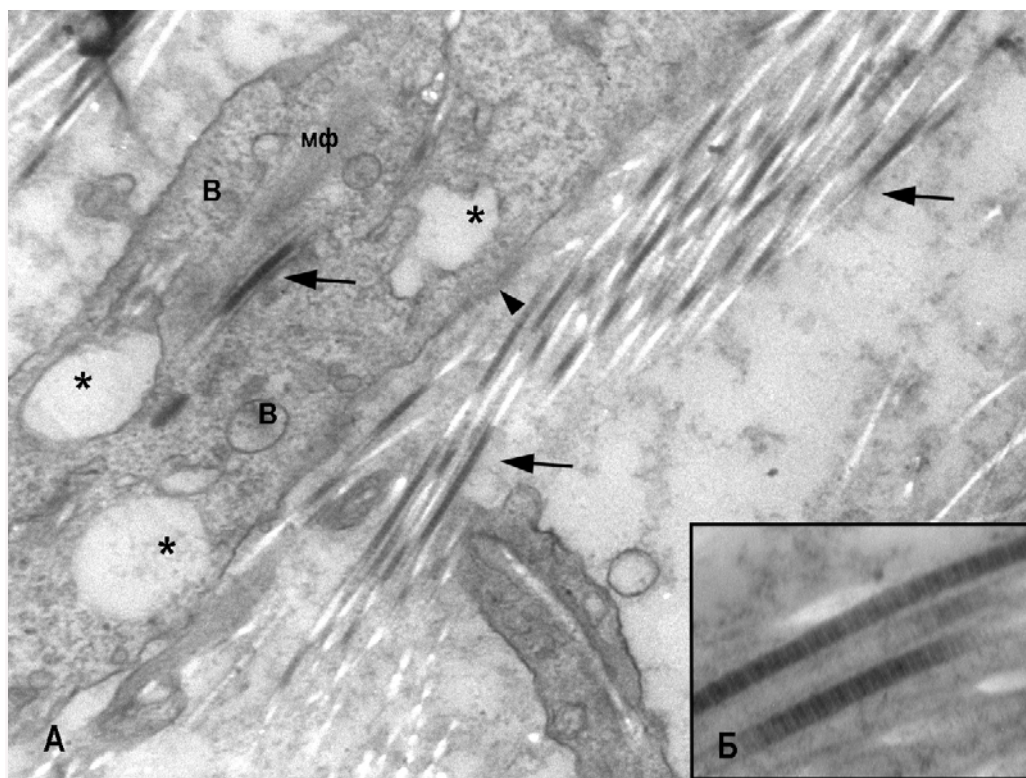


Рис. 4. А – фрагмент міофіробласта у рановому ложі пацієнта, якому застосовувалась вакуум-терапія на 3-ю добу після початку лікування. Розширені цистерни грЕПС (*), секреторні везикули комплексу Гольджі (В), колагенові фібрили ЕЦМ (стрілка), пучки мікрофіламентів (мф), фібронексус (головка стрілки). Б – екстрацелюлярні колагенові фібрили з характерною регулярною будовою. Електронна мікрофотографія. А. $\times 5000$; Б. $\times 30000$.

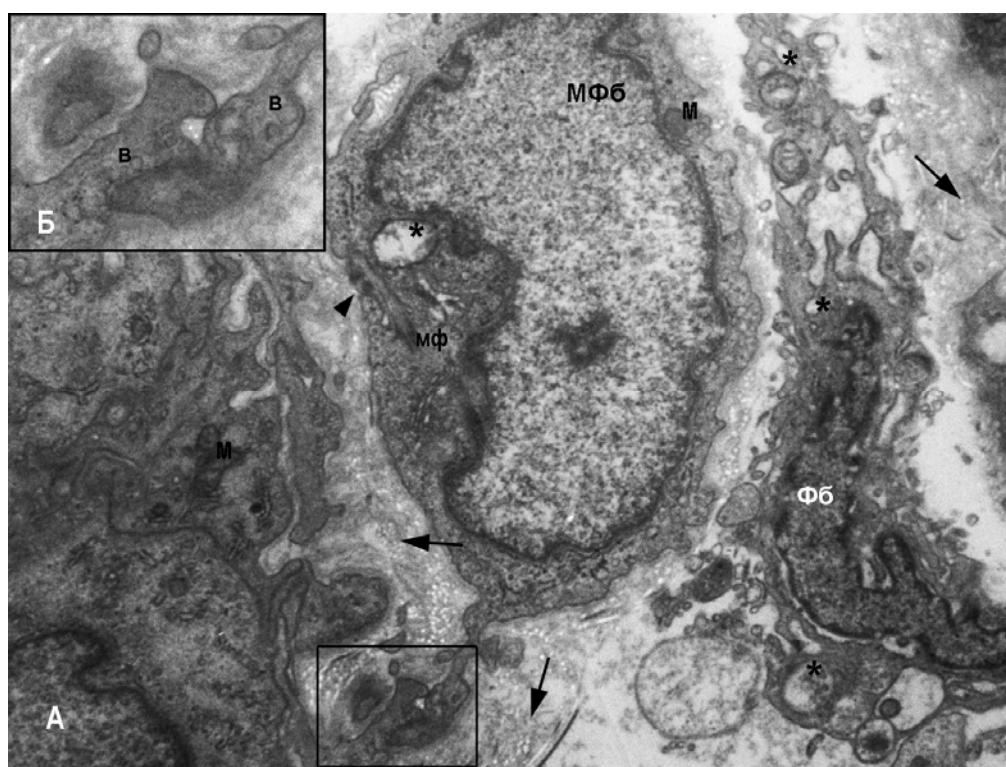


Рис. 5. А – грануляційна тканина пацієнта з традиційним веденням рани на 3-ю добу від початку терапії: міофіробласт (МФб), фібробласт (Фб), мітохондрії (М), розширені цистерни ЕПС (зірочка), секреторні везикули комплексу Гольджі (В), колагенові фібрили ЕЦМ (стрілка), пучки мікрофіламентів (мф), фібронексус (головка стрілки). Б (вставка) – взаємодія клітин фібробластичного ряду. А. $\times 3000$; Б. $\times 5000$.

Отримані нами дані були співставними із результатами світової літератури. Відомо, що негативний тиск, накладений на рану, є еквівалентом помірної гіпоксії. Нестача кисню посилює ангиогенез у грануляційній тканині, що, у свою чергу, підвищує місцеву циркуляцію крові та надходження кисню з нутрієнтами, необхідними для загоєння тканин [10]. Окрім того, це є однією із ознак проліферативної фази загоєння шкірних ран [11]. Результати дослідження Li T. та співавт. продемонстрували прискорення загоєння рани у щурів з діабетом при застосуванні VAC, сприяючи ранній фазі ангиогенезу, швидкість якого поступово знижувалася до 7 доби [12]. Аналогічно цьому, Jacobs S. та ін. досліджували механізм загоєння ран за умов негативного тиску на моделі гризунів і прийшли до висновку, що рани, оброблені постійним негативним тиском виявляють підвищену здібність формування кровонесних судин вже на третю добу, у той час як після п'ятої доби мікросудинна щільність поступово зменшується, що відповідає процесу дозрівання та перебудови сполучної тканини у рановому ложі [13].

Лікування рани марлевими пов'язками вже давно визнано як рутинний засіб для сприяння зростанню грануляційної тканини та загоєння. Тим не менш, багаторічний клінічний досвід застосування марлевих пов'язок демонструє можливість виникнення ускладнень, включаючи ранову інфекцію, неповноцінну регенерацію та утворення свищів [5]. Тому ведення цих ран як і раніше є клінічно складним завданням, і впродовж декількох десятиліть ця тема залишається актуальною з точки зору проведення досліджень [7]. З моменту впровадження VAC-терапії у клініку, практикуючі лікарі стали свідками значного покращення результатів ведення ран різноманітних типів, особливо важких поліструктурних ран. Багато клінічних досліджень продемонстрували, що застосування VAC має наступні переваги: ефективне покриття ран, що блокує потенційно небезпечне забруднення від навколишнього середовища, наприклад, у бойових умовах, і підтримує чисте та вологе середовище для кращого загоєння ран; зменшення набряку ранової

тканини, поліпшення локальної кровообігу, підвищення росту грануляційної тканини та механічне скорочення ран, що полегшує її загоєння; технологія VAC у поєднанні з місцевими промиваннями антибактеріальними розчинами зменшує частоту змін пов'язок, на відміну від традиційної терапії, що значно покращує комфорт пацієнта та зменшує навантаження медичного персоналу; VAC також сприяє розповсюдженню та міграції фібробластів та епідермальних клітин, що призводить до більш швидкого процесу загоєння ран.

Висновки

1. Морфологічні зміни тканини під впливом вакуумної терапії набувають своєї виразності вже на 3 добу ведення рани у вигляді зниження проявів деструктивних і запальних процесів за рахунок змін складу та зменшення клітинності запального інфільтрату на 31,9% ($p < 0,05$), прискорення організації екстрацелюлярного матриксу за рахунок більш ранньої проліферації фібробластів, підвищеного синтезу ними колагену, прискореної диференціації міофібробластів (α SMA-позитивних клітин) у складі грануляційної тканини, що разом проявляється у прирості відносної площі екстрацелюлярного матриксу на 66,2% ($p < 0,05$).

2. Внаслідок утворення штучної помірної гіпоксії, VAC-терапія посилює неоваскулогенез у рані: щільність мікросудин на 3 добу ведення рани збільшується на 75,9% ($p < 0,05$), на 7 добу застосування досліджуваного методу рівень показника зменшується на 35,1% ($p < 0,05$), що відповідає етапу дозрівання рани. Це є співставним із рівнем експресії маркера CD34 на відповідних термінах вивчення.

3. Лікування рани накладанням негативного тиску веде до епітелізації її поверхні на 7-добу від початку терапії та дозволяє скоротити терміни підготовки рани до пластичного закриття.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується вивчення мікробної навантаженості рани впродовж її загоєння у хворих із застосуванням VAC-методу та конвенційної терапії.

Літературні джерела References

1. Naumenko LY, Horehliad OM, Mamet'ev AA, Kostrica KY. [Role of VAC in treatment of open severe polystructural damage of extremities]. Trauma. 2016; 17 (3): 25-26. Ukrainian.
2. Naumenko L, Horehliad O, Mametyev A, Kostrytca K, Domansky A, [Healing of severe polystructural limb wounds using vacuum therapy]. Orthopaedics, Traumatology and Prosthetics. 2017; 4: DOI: [https://doi.org/10.15674/0030-](https://doi.org/10.15674/0030-59872017457-61)

59872017457-61. Ukrainian.

3. Jones SM, Banwell SM, Shakespeare PG. Advances in wound healing: topical negative pressure therapy. Postgraduate Medical Journal. 2005; 81 (956): 353-357.

4. Tittle SM, Gwinn DE, Andersen RC, Kumar AR. Soft tissue coverage of combat wounds. Journal of Surgery and Orthopedics Advances. 2010; 19(1):29-34.

5. Hunt TK, author; Barbul A, Caldwell MD, Eaglstein WH, editors. Vascular factors govern healing in chronic wounds. In: Clinical and Experimental Approach to Dermal and Epidermal Repair: Normal and Chronic Wounds. New York: Wiley & Leiss; 1991. pp. 1–17.
6. Pierce GF, Vande Berg J, Rudolph R, Tarpley J, Mustoe TA. Platelet-derived growth factor-BB and transforming growth factor beta1 selectively modulate glycosaminoglycans, collagen, and myofibroblasts in excisional wounds. American Journal of Pathology. 1991; 138 (3): 629–646.
7. Cohen K, Diegelmann RF, Lindblad WJ, authors. Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects. Philadelphia: WB Saunders; 1992.
8. Werner S, Krieg T, Smola H. Keratinocyte–Fibroblast Interactions in Wound Healing. Journal of Investigative Dermatology. 2007; 127: 998–1008.
9. Eyden B. The myofibroblast, electron microscopy and cancer research. Int. J. Cancer. 2009; 125: 1743–1745.
10. Laiho M, Keski OJ. Growth factors in the regulation of pericellular proteolysis: a review. Cancer Research. 1989; 49 (10): 2533–2553.
11. Whitby DJ, Ferguson MJ, authors; Adzick NS, Longaker MT, editors. Immunohistological studies of the extracellular matrix and soluble growth factors in fetal and adult wound healing. In: Fetal Wound Healing. New York: Elsevier Science; 1992. pp. 161–177.
12. Li T, Zhang L, Han LI. Early application of negative pressure wound therapy to acute wounds contaminated with *Staphylococcus aureus*: an effective approach to preventing biofilm formation. Experimental Therapeutic Medicine. 2016;11:769–776.
13. Jacobs S, Simhaee DA, Marsano A. Efficacy and mechanisms of vacuum- assisted closure (VAC) therapy in promoting wound healing: a rodent model. Journal of Plastic Reconstructive Aesthetic Surgery. 2009;62:1331–1338.

Лоскутов О.Є., Горегляд О.М., Бондаренко О.О., Бондаренко Н.С. Морфологічні особливості репаративних процесів у ранах бойового характеру під впливом вакуум-асистованої терапії.

Реферат. Важкі поліструктурні бойові рани важко піддаються загоюванню. Щоб надати відповідні експериментальні докази для запровадження лікування таких ран накладанням негативного тиску, ми використали морфологічний метод для порівняння ефективності лікування ран під впливом вакуум-асистованої терапії та звичайного ведення ран з використанням марлевих пов'язок. Морфологічні зміни тканини під впливом вакуумної терапії набувають своєї виразності вже на 3 добу ведення рани у вигляді зниження проявів деструктивних і запальних процесів за рахунок змін складу та зменшення клітинності запального інфільтрату на 31,9% ($p < 0,05$), пришвидшення організації екстрацелюлярного матриксу за рахунок більш ранньої проліферації фібробластів, підвищеного синтезу ними колагену, прискореної диференціації міофібробластів (α SMA-позитивних клітин) у складі грануляційної тканини, що разом проявляється у прирості відносної площі екстрацелюлярного матриксу на 66,2% ($p < 0,05$). Внаслідок утворення штучної помірної гіпоксії, VAC-терапія посилює неоваскулогенез у рані: щільність мікросудин на 3 добу ведення рани збільшується на 75,9% ($p < 0,05$), на 7 добу застосування досліджуваного методу рівень показника зменшується на 35,1% ($p < 0,05$), що відповідає етапу дозрівання рани. Це є співставним із рівнем експресії маркера CD34 на відповідних термінах вивчення. Лікування рани накладанням негативного тиску веде до епітелізації її поверхні на 7-добу від початку терапії та дозволяє скоротити терміни підготовки рани до пластичного закриття. Імуногістохімічне дослідження показало значне збільшення рівня ангіогенезу у рані, що проявлялося виникненням добре розвинених і більш функціональних судин на 3 день лікування методом накладання негативного тиску у порівнянні з контролем.

Ключові слова: бойова травма, VAC-терапія, загоєння рани, міофібробласти, CD34.

Лоскутов А.Е., Горегляд А.М., Бондаренко А.А., Бондаренко Н.С. Морфологические особенности репаративных процессов в ранах боевого характера под действием вакуум-ассистированной терапии.

Реферат. Тяжелые полиструктурные боевые раны трудно поддаются заживлению. Чтобы предоставить соответствующие экспериментальные доказательства для внедрения лечения таких ран наложением отрицательного давления, мы использовали морфологический анализ для сравнения эффективности лечения ран вакуум-ассистированным методом и с помощью использования марлевых повязок. Морфологические изменения ткани под влиянием вакуумной терапии приобретают свою выраженность уже на 3 сутки ведения раны в виде снижения проявлений деструктивных и воспалительных процессов за счет изменений состава и уменьшения клеточности воспалительного инфильтрата на 31,9% ($p < 0,05$), ускорения организации экстрацелюлярного матрикса за счет более ранней пролиферации фибробластов, повышенного синтеза ими коллагена, ускоренной дифференциации миофибробластов (α SMA-позитивных клеток) в составе грануляционной ткани, вместе проявляется в приросте относительно площади экстрацелюлярного матрикса на 66,2% ($p < 0,05$). Вследствие образования искусственной умеренной гипоксии,

VAC-терапия усиливает неоваскулогенез в ране: плотность микрососудов на 3 сутки ведения раны увеличивается на 75,9% ($p < 0,05$), на 7 сутки применения изучаемого метода уровень показателя уменьшается на 35,1% ($p < 0,05$), что соответствует этапу созревания раны. Это сопоставимо с уровнем экспрессии маркера CD34 на соответствующих сроках изучения. Лечение раны наложением отрицательного давления ведет к эпителизации ее поверхности на 7 сутки от начала терапии и позволяет сократить сроки подготовки раны к пластическому закрытию. Иммуногистохимическое исследование показало значительное увеличение уровня ангиогенеза в ране, что проявлялось возникновением хорошо развитых и более функциональных сосудов на 3 день лечения с использованием отрицательного давления по сравнению с контролем.

Ключевые слова: боевая травма, VAC-терапия, заживление раны, миофибробласты, CD34.