

УДК 615.5 – 001.4 – 003.9: 615.468.6

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ШОВНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ТЕЧЕНИЕ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА В КОЖЕ: ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

¹Петрова М.Б., ¹Мохов Е.М., ¹Сергеев А.Н., ²Серов Е.В.

¹ГБОУ ВПО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, Тверь;

²ГБУЗ «Солнечногорская ЦРБ», Солнечногорск, e-mail: pmargo-2612@mail.ru

В эксперименте на 45 самцах белых крыс изучена цитологическая картина дефектов кожи с имплантацией в зону их расположения поликапроамидной нити в оболочке из хитозана с включением антибактериального препарата ципрофлоксацина и препарата из группы германийсодержащих органических соединений астрагерма. Для сравнения использовали поликапроамидную нить и нить «Никант» – крученую поликапроамидную нить с сополимерным пленочным покрытием, содержащим антибиотик доксициклин. Установлено, что использование шовного материала с ципрофлоксацином и астрагермом приводит к сокращению продолжительности фазы воспаления. Морфологически заживление ран характеризуется активной миграцией клеток из кровеносного русла в область дефекта, ранним появлением макрофагов и активизацией их функций. Макрофагальная реакция обеспечивается нейтрофилами, которые, выделяя биологически активные вещества, создают благоприятные условия для хемотаксиса, дифференцировки макрофагов и усиления их функциональной активности. Имеются основания предполагать, что применение новых шовных материалов в клинике будет способствовать снижению числа послеоперационных гнойных осложнений и сокращению сроков реабилитации пациентов.

Ключевые слова: поликапроамидная нить (ПН), высокомолекулярный хитозан (ВХ), ципрофлоксацин (ЦФ), астрагерм (АГ), германийсодержащее органическое соединение (ГОС), макрофаги, нейтрофилы, воспаление, фагоцитоз

INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUTURE ON SKIN WOUND HEALING: CYTOLOGICAL ASPECT

¹Petrova M.B., ¹Mokhov E.M., ¹Sergeev A.N., ²Serov E.V.

¹Tver State Medical University, Tver;

²Solnechnogorsk Central Hospital, Solnechnogorsk, e-mail: pmargo-2612@mail.ru

The cytologic pattern of skin defects implanted with polycapramid thread coated with chitosan and the inclusion of the antibiotic ciprofloxacin and organic junction of astragerm containing germanium, had been studied in the experiment over 45 albino male rats. As a comparison, in the research, a polycapramide thread and “Nican” – a polycapramide polyfilament yarn spun with copolymer film coating comprising antibiotic doxycycline were used. It was proved that using a suture with ciprofloxacin and astragerm reduces the inflammation phase duration. In terms of morphology wound healing is characterised by active migration of cells from bloodstream to the defect location, early appearance of macrophages and activation of their functioning. Macrophage reaction is provided by neutrophils which secrete biologically active substances and create favorable conditions for chemotaxis, differentiation of macrophages and enhance their functional activity. We can assume, that the use of new sutures in clinic will reduce the number of postoperative septic complications and shorten rehabilitation period of patients.

Keywords: polycapramide thread, high weight molecular chitosan, ciprofloxacin, astragerm, organic junction of astragerm containing germanium, macrophages, neutrophils, inflammation, phagocytosis

Одним из перспективных направлений современной хирургии является совершенствование способов соединения тканей и поиск новых необходимых для этого шовных материалов [4, 6]. Применяемые хирургические нити нередко обладают целым рядом недостатков, что может привести к удлинению сроков лечения больных, увеличению его стоимости, неудовлетворительным косметическим результатам. Остается высоким процент развития послеоперационных раневых осложнений, особенно у ослабленных больных, пациентов пожилого и старческого возраста со сниженными регенерационными способностями. Достижения современного химическо-

го производства позволяют разрабатывать биологически активные шовные материалы, обладающие свойством противостоять развитию инфекционных осложнений в ране и улучшать репарацию тканей, не оказывая при этом вредного влияния на организм [8, 9].

По мнению ряда авторов, совершенствование способов соединения тканей и поиск новых хирургических нитей, в том числе содержащих антибактериальные препараты, является важным направлением в профилактике гнойно-воспалительных осложнений в хирургической практике [1, 2]. Исследования процессов регенерации послеоперационных ран и межкишечных

соуствий в экспериментальных условиях показали преимущества использования биологически активных хирургических шовных материалов комплексного действия [3, 4].

В связи с этим возникает целесообразность дальнейшей разработки и экспериментальной апробации новых видов биологически активных нитей с целью их дальнейшего внедрения в хирургическую практику [10].

Цель настоящего исследования состояла в изучении на экспериментальных животных цитологической картины кожных ран с имплантированными образцами разрабатываемого шовного материала.

Материалы и методы исследования

Серия опытов выполнена на 45 самцах белых крыс на базе экспериментальной лаборатории ГБОУ ВПО «Тверской государственной медицинской университету» Минздрава России.

Применялся разрабатываемый биологически активный шовный материал (ПН + ВХ + ЦФ + АГ), представляющий собой крученую поликапроамидную нить в оболочке из природного полимера хитозана, с включением антибиотика ципрофлоксацина и препарата из группы германийсодержащих органических соединений астрагерма. В эксперименте использованы три модификации нитей ПН + ВХ + ЦФ + АГ, различающиеся содержанием хитозана, антибиотика и астрагерма:

ПН + ВХ + ЦФ + АГ (1–4–0,1) – поликапроамидная нить в оболочке из высокомолекулярного хитозана (1%) с ципрофлоксацином (4%) и астрагермом (0,1%);

ПН + ВХ + ЦФ + АГ (1–2–0,5) – поликапроамидная нить в оболочке из высокомолекулярного хитозана (1%) с ципрофлоксацином (2%) и астрагермом (0,5%);

ПН + ВХ + ЦФ + АГ (2–4–1) – поликапроамидная нить в оболочке из высокомолекулярного хитозана (2%) с ципрофлоксацином (4%) и астрагермом (1%). Образцы всех модификаций шовного материала получены во Всероссийском научно-исследовательском институте синтетических волокон (ОАО ВНИИСВ).

Для сравнения использованы два вида нитей: ПН – поликапроамидная нить и шовный материал «Никант» – крученая поликапроамидная нить с сополимерным пленочным покрытием, нанесенным в две стадии: 1 стадия – 1% сополиамид с 5% антибиотиком доксициклином, 2 стадия – 2% сополиамид с 5% доксициклином в модифицирующем растворе.

В ходе опытов изучены цитологические особенности течения раневого процесса в коже. Для этого под эфирным наркозом однотипно всем животным на дорсальной поверхности тела в строго постоянном месте наносили экспериментальные раны. На значительном участке, превышающем размеры будущей раны, выстригали и выбривали шерсть, затем обрабатывали операционное поле 70% спиртом. Для формирования открытых ран использовался трафарет в форме квадрата с длиной стороны 20 мм (площадью 400 мм²). Трафарет смачивали раствором йодоната и прикладывали к коже. По границе отпечатка при помощи остроконечных ножниц производили иссечение лоскута кожи с подкожной клетчаткой. Затем в ткани дна раны параллельно ее поверхности на глубину 1–2 мм

при помощи швейной иглы последовательно имплантировали по 8 отрезков исследуемого шовного материала длиной 2 см каждый. Заживление раны происходило вторичным натяжением.

Выделено 5 групп экспериментальных животных в зависимости от вида имплантированного шовного материала: ПН (контроль); «Никант»; ПН + ВХ + ЦФ + АГ 1–4–0,1; ПН + ХЗ + ЦФ + АГ 1–2–0,5 и ПН + ХЗ + ЦФ + АГ 2–4–1. С поверхности ран через 12 часов после нанесения повреждения получали мазки-отпечатки по методу М.П. Покровской и М.С. Макарова и подвергали их цитологическому изучению. Предметные стекла, тщательно обезжиренные, перед употреблением смоченные смесью Никифорова и обожженные, прикладывали параллельно к поверхности раны. Мазки подсушивали на воздухе, фиксировали и окрашивали по методике Романовского. С целью изучения характера воспалительной реакции в мазках-отпечатках под иммерсионной системой светового микроскопа в 10 полях зрения производили дифференцированный подсчет количества клеток раневого экссудата (нейтрофилы, макрофаги). Одновременно с помощью окуляр-микрометра измеряли диаметр их ядер.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ отпечатков позволил выявить существенные различия качественного и количественного состава раневого экссудата у животных сравниваемых групп (таблица).

У животных контрольной группы (ПН) отмечалось значительное количество нейтрофильных лейкоцитов в экссудате ($229,1 \pm 14,2$ в поле зрения). Ядра многих из них были разрыхлены, увеличены в размерах. В мазках нейтрофилы располагались равномерно. Средний диаметр клеток составлял $12,8 \pm 0,1$ мкм. Появлялись единичные (до $2,9 \pm 0,1$ в поле зрения) фагоцитирующие макрофаги относительно небольших размеров ($18,7 \pm 0,4$ мкм) с ядрами неправильной формы и небольшим объемом цитоплазмы.

У животных второй («Никант») и третьей групп (ПН + ВХ + ЦФ + АГ 1–4–0,1) в мазках-отпечатках отмечалась похожая на контроль, но более выраженная в той или иной степени клеточная реакция со стороны основных цитологических элементов раневого отпечатка. Нейтрофильные лейкоциты в поле зрения располагались относительно равномерно, их ядра подвергались физиологическим дегенеративным изменениям. При этом у крыс второй группы характерны достоверно ($p < 0,05$) большие размеры нейтрофильных лейкоцитов ($13,3 \pm 0,1$ мкм) по сравнению с контролем ($12,8 \pm 0,1$ мкм), а в мазках-отпечатках животных третьей группы выявлено достоверно большее их количество ($235 \pm 10,2$ по сравнению с $229,1 \pm 14,2$ в контроле).

Количество (в 10 полях зрения) и диаметр (в мкм) клеток раневого экссудата через 12 часов после операции

Серия	M ± m	Нейтрофилы		Макрофаги	
		Количество	Диаметр	Количество	Диаметр
ПН (контроль) n = 9	M m	229,1 14,2	12,8 0,1	2,9 0,1	18,7 0,4
«Никант» n = 9	M m	231,6 12,2	13,3* 0,1	3,5 0,2	19,7 0,6
ПН + ВХ + ЦФ + АГ (1-4-0,1) n = 9	M m	235,0* 10,2	12,2 0,3	3,6 0,4	18,5 0,5
ПН + ВХ + ЦФ + АГ (1-2-0,5) n = 9	M m	284,3* 12,0	14,2* 0,3	8,1* 0,1	23,4* 0,4
ПН + ВХ + ЦФ + АГ (2-4-1) n = 9	M m	306,9* 18,1	15,9* 0,2	10,8* 0,5	28,0* 0,3

Примечание.* – $p < 0,05$ (по сравнению с контролем)

Анализ цитогрaмм раневого экссудата животных четвертой (ПН + ВХ + ЦФ + АГ 1-2-0,5) и пятой (ПН + ВХ + ЦФ + АГ 1-2-1) групп свидетельствовал о более выраженном нарастании в нем числа нейтрофилов, размеры которых оказались значительно большими, чем у животных первых двух групп, причем различия были статистически достоверными (таблица). Количество нейтрофилов в четвертой – $284,3 \pm 12,0$; в пятой – $306,9 \pm 18,1$ против $229,1 \pm 14,2$ в поле зрения в контрольной группе, а диаметр ядер клеток – $14,2 \pm 0,3$ и $15,9 \pm 0,2$ мкм против $12,8 \pm 0,1$ мкм соответственно. Подавляющее большинство нейтрофильных лейкоцитов находилось на различных стадиях физиологического разрушения. Клеточные ядра гомогенизировались, нарушалась их четкая сегментация. В некоторых клетках отдельные сегменты округлялись и теряли связь друг с другом, в других – сегменты ядра сливались в гомогенное образование.

У животных четвертой и пятой групп наблюдалась бурная реакция со стороны макрофагов, проявляющаяся в заметном увеличении их количества и размеров. В препаратах, полученных от крыс четвертой группы, насчитывалось в среднем – $8,1 \pm 0,1$ клеток в поле зрения, в пятой – $10,8 \pm 0,5$ против $2,9 \pm 0,1$ в контроле. Макрофаги в цитограмах располагались равномерно или группами по 2-4. Их размеры были достоверно ($p < 0,05$) больше, чем в контроле ($23,4 \pm 0,4$ и $28,0 \pm 0,3$ мкм против $18,7 \pm 0,4$). На высокую функциональную активность макрофагальных элементов указывало большое количество пищеварительных вакуолей внутри цитоплазмы, приобретающей вид ячеистого ри-

сунка. Вакуоли иногда содержали остатки непереваренных частиц. Наряду со зрелыми макрофагами встречались молодые формы, имеющие типичную структуру.

Заключение

Имплантация в рану шовного материала, содержащего астрагерм (в том числе и вместе с антибактериальным препаратом), приводит к интенсификации выселения в область повреждения клеточных элементов с одновременным повышением их функциональной активности. Этот факт свидетельствует о том, что в присутствии ГОС процесс воспаления значительно ускоряется, но проходит все характерные для него фазы. Результатом использования ГОС в составе шовного материала является увеличение общего количества выселяющихся в область повреждения нейтрофильных лейкоцитов и раннее появление макрофагов. Быстрое накопление этих элементов в раневом отделяемом указывает на более активное течение процессов экссудации и миграции клеток из кровеносного русла. Усиление функции макрофагов и их накопление в очаге воспаления связано с выраженной лейкоцитарной реакцией [5]. Нейтрофилы выделяют комплекс биологически активных веществ, которые создают благоприятные условия для хемотаксиса, дифференцировки макрофагов и усиления их функциональной активности [7]. Выявленное нами ускоренное течение воспалительного процесса, наступающее под влиянием нового шовного материала, позволяет рассчитывать на снижение числа раневых осложнений после операций, выполненных с использованием указанного материала в условиях клиники.

Список литературы

1. Воленко А.В. Профилактика раневой инфекции иммобилизованными антибактериальными препаратами // Хирургия. – 2004. – С. 54–58.
2. Жуковский В.А., Хохлова В.А., Коровичева С.Ю. Хирургические материалы с антимикробными свойствами // Химические волокна. – 2007. – № 2. – С. 37–43.
3. Мохов Е.М., Петрова М.Б., Жеребченко А.В. Морфологическая оценка течения фазы воспаления при заживлении экспериментальной раны, защитой с помощью нового биологически активного шовного материала. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 7 (часть 2). – С. 353–356.
4. Мохов Е.М., Сергеев А.Н. Возможности и перспективы применения в хирургии биологически активного шовного материала // Российский медицинский журнал. – 2007. – № 2. – С. 18–21.
5. Плечев В.В. Профилактика гнойно-септических осложнений в хирургии // Триада-Х. – 2003. – 320 с.
6. Семенов Г.М., Петришин В.Л., Ковшова М.В. Хирургический шов. – 2-е изд., испр. – СПб.: Питер, 2008. – 256 с.
7. Deliaert A.E. The effect of triclosan-coated sutures in wound healing. A double blind randomised prospective pilot study // J Plast Reconstr Aesthet Surg. – 2009 Jun. – Vol. 62, № 6. – P. 771–73.
8. Ming X., Nichols M., Rothenburger S. In vivo antibacterial efficacy of MONOCRYL plus antibacterial suture (Policaprone 25 with triclosan) // Surg Infect (Larchmt). – 2007 Apr. – Vol. 8, № 2. – P. 209–14.
9. Ming X, S. Rothenburger. S., Nichols. In vivo and in vitro antibacterial efficacy of PDS plus (polydioxanone with triclosan) suture // Surg Infect(Larchmt). – 2008 Aug. – Vol. 9, № 4. – P. 451–57.
10. Suárez Grau J. Prevention of surgical infection using reabsorbable antibacterial suture (Vicryl Plus) versus reabsorbable conventional suture in hernioplasty. An experimental study in animals // Cir Esp. – 2007 Jun. – Vol. 81, № 6. – P. 324–29.
3. Mohov E.M., Petrova M.B., Zherebchenko A.V. Morfoloģicheskaĵa ocenka teĵenija fazy vospalenija pri zazhivlenii ĵeksperimentalnoj rany, zashitoj s pomoshĵu novogo biologicheski aktivnogo shovnogo materiala., Fundamentalnye issledovaniĵa. 2014. no. 7 (chast 2). pp. 353–356.
4. Mohov E.M., Sergeev A.N. Vozmoĵnosti i perspektivy primeneniĵa v hirurgii biologicheski aktivnogo shovnogo materiala, Ros.med. zhurn. 2007. no. 2. pp. 18–21.
5. Plechev V.V. Profilaktika gnojnosepticheskih osloĵnenij hirurgii., M.: Triada H, 2003. 320 p.
6. Semenov G.M., Petrishin V.L., Kovshova M.V. Hirurgicheskiĵ shov 2 izd., ispr. SPb. : Piter, 2008. 256 p.
7. Deliaert A.E. The effect of triclosan-coated sutures in wound healing. A double blind randomised prospective pilot study. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2009 Jun. Vol. 62, no. 6. pp. 771–73.
8. Ming X., Nichols M., Rothenburger S. In vivo antibacterial efficacy of MONOCRYL plus antibacterial suture (Policaprone 25 with triclosan), Surg Infect (Larchmt). 2007 Apr. Vol. 8, no. 2. pp. 209–14.
9. Ming X., Rothenburger S., Nichols M.M. In vivo and in vitro antibacterial efficacy of PDS plus (polydioxanone with triclosan) suture., Surg Infect (Larchmt). 2008 Aug. Vol. 9, no. 4. pp. 451–57.
10. Suárez Grau J.M. Prevention of surgical infection using reabsorbable antibacterial suture (Vicryl Plus) versus reabsorbable conventional suture in hernioplasty. An experimental study in animals., Cir Esp. 2007 Jun. Vol. 81, no. 6. pp. 324–29.

References

1. Volenko A.V. Profilaktika ranevoj infekcii immobilizovannymi antibakterialnymi preparatami, Hirurgija. 2004. pp. 54–582.
2. Zhukovskij V.A., Hohlova V.A., Korovicheva S.Ju. Hirurgicheskie materialy santimikrobnymi svojstvami, Him. volokna. 2007. no. 2. pp. 37–43.

Рецензенты:

Баженов Д.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии человека, ГБОУ ВПО «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Тверь;

Цай Г.Е., д.м.н., профессор кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии, ГБОУ ВПО «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Тверь.