На правах рукописи

Малышева Алла Викторовна

**НОВЫЙ БИОРЕЗОРБИРУЕМЫЙ АНТИМИКРОБНЫЙ ХИРУРГИЧЕСКИЙ ШОВНЫЙ МАТЕРИАЛ: РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ, ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПРИМЕНЕНИЯ В КЛИНИКЕ**

**14.01.17 - хирургия**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

Тверь – 2015 год

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России на кафедре общей хирургии

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор **Мохов Евгений Михайлович**

**Научный консультант:**

доктор биологических наук, профессор **Петрова Маргарита Борисовна**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Афанасьев Александр Николаевич**

доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии ФГБУ «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента Российской Федерации

**Калинников Валентин Валентинович**

**Ведущая организация:**

ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Минздрава России

Защита диссертации состоится «\_19\_\_\_»\_05\_\_\_\_\_\_\_\_2015 г. в\_12\_\_часов на заседании Диссертационного совета (Д.208.099.01) при ГБОУ ВПО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России по адресу: 170100, Тверь, ул. Советская, 4.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Тверского государственного медицинского университета и на сайте www.twergma.ru

Автореферат разослан «\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2015 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета

кандидат медицинских наук, доцент  **В.В. Мурга**

**Общая характеристика работы**

**Актуальность исследования**

Перспективным направлением современной хирургии является совершенствование способов соединения тканей, в частности, разработка предназначенных для этого шовных материалов (В.Н. Егиев, 1998 г., Н.И. Коротков с соавт., 2002 г., Е.М. Мохов с соавт., 2010 г.).

Несмотря на создание и применение в настоящее время все новых и новых хирургических нитей, частота послеоперационных раневых (прежде всего гнойных) осложнений не имеет тенденции к сокращению, что ведет к большим экономическим и социальным потерям (Н.А. Ефименко с соавт., 2002 г., 2009 г., А.В. Воленко с соавт., 2004 г., T. Mauro, 2005).

К одной из причин низкой эффективности традиционной общей антибактериальной профилактики инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ) относится невозможность создания в очаге повреждения или ране достаточных концентраций используемых препаратов, что объясняется местным расстройством кровообращения стянутых швом тканей, частичной их девитализацией, скоплением в зоне шва геморрагического экссудата, фибрина и т. д. (Т.В. Попов, 2006 г., Н.А. Ефименко, 2000 г., В.К. Гостищев с соавт., 1997 г.).

Местное использование антибактериальных препаратов позволяет создавать в области операционной раны высокие концентрации лекарственных средств, способных затормозить развитие даже антибиотикорезистентных штаммов патогенных микроорганизмов (А.Н. Косинец с соавт., 2008 г., А.А. Алексеев с соавт., 2002 г., S.A. Zeienitsky, 2000г.), снизить неблагоприятное воздействие общей антибиотикотерапии на ослабленный организм пациентов пожилого и старческого возраста с заведомо сниженными регенеративными способностями (П.И. Толстых с соавт., 1988 г., Л.А. Вольф, 1989 г.).

Разновидностью местной антибактериальной терапии является использование в хирургии биологически активных (антимикробных) шовных материалов (В.Е. Рыкалина с соавт., 2011 г., J. Kleinheinz, U. Konter, 2000).

В настоящее время в хирургии применяются как нерассасывающиеся, так и биорезорбируемые (рассасывающиеся) шовные материалы. Первые из них инкапсулируются и практически пожизненно сохраняются в тканях, причем иногда они могут стать источником хронического асептического воспаления, а в отдельных случаях – нагноительных процессов в области операции (Х. Тандзава, 1981 г., И.А. Ерюхин, 2003 г., Е.М. Мохов с соавт., 2010 г., А.Б. Шехтер, И.Б. Розанова, 1999 г.). Основное положительное качество биорезорбируемых хирургических нитей состоит в том, что в процессе заживления тканей эти нити рассасываются, в результате чего не могут стать источником нагноения (В.А. Жуковский с соавт., 2010 г., Н.А. Ефименко с соавт., 2002 г., П.И. Толстых с соавт., 1980 г.)

К сожалению, на сегодняшний день среди разрабатываемых отечественных антимикробных шовных материалов лишь единичные относятся к числу биодеградируемых, что свидетельствует об актуальности научных изысканий, направленных на создание таких материалов.

**Цель исследования**

Целью настоящего диссертационного исследования является разработка нового биорезорбируемого хирургического шовного материала с антимикробной активностью.

З**адачи исследования**

Достижение указанной цели обусловило постановку и решение следующих задач:

1. Изучить физико-механические свойства новых биорезорбируемых шовных нитей.
2. Выявить особенности заживления экспериментальных ран, зашитых с помощью нового шовного материала.
3. Изучить состояние исходной антимикробной активности новых хирургических нитей и динамику последней при имплантации нитей в ткани живого организма.
4. Исследовать деформационно-прочностные свойства рубца, формирующегося на месте раны при шве ее новыми нитями.
5. Изучить динамику биорезорбции нового шовного материала в условиях имплантации.

**Научная новизна исследования.**

На основании результатов проведенных исследований рекомендован к использованию в хирургии новый абсорбируемый биологически активный (антимикробный) шовный материал, созданный на основе плетеной полигликолидной нити. Показано, что снабжение полигликолидной нити сополиамидной оболочкой с включением в состав последней антимикробного препарата (сангвиритрина или доксициклина) заметно уменьшает величину капиллярного эффекта нити, не снижая показателей разрывной нагрузки и удлинения в узле, в том числе при экспозиции в буферном растворе, имитирующем условия окружающей среды при имплантации. Выявлено, что шов раны новыми нитями ведет к ускорению раневого процесса, сопровождающемуся формированием полноценного рубца и совершенным восстановлением эпителиальных структур. Установлен пролонгированный характер антибактериального действия новых нитей в условиях имплантации их в ткани живого организма. Показано, что рубец, образующийся на месте раны, зашитой новыми нитями, бывает более прочным и эластичным, чем в контрольных опытах. Изучен ход биодеструкции новых нитей по скорости потери массы в условиях имплантации, что позволяет отнести их к быстро рассасывающимся шовным материалам, которые имеют свою нишу применения в клинической хирургии.

**Практическая значимость работы и ее реализация**

Практическая значимость работы определяется тем, что данные, полученные при выполнении экспериментальных исследований, дают основание рекомендовать разработанный шовный материал к использованию в хирургической практике. Указанный материал так же, как и обычная полигликолидная нить, относится к нитям с коротким сроком рассасывания, в

связи с чем может применяться по тем же показаниям, что и другие аналогичные биорезорбируемые шовные материалы. Новая нить пригодна для соединения тканей, образующих прочный рубец к 7–10 суткам после операции (шов фасций и мышц, наложение первого ряда швов в двухрядных анастомозах полых органов пищеварительного тракта и др.). Обладание новыми нитями антибактериальным действием в сочетании со способностью к быстрому рассасыванию позволяет рассчитывать на то, что их применении в клинике будет служить действенной мерой профилактики ранних и поздних послеоперационных осложнений инфекционного генеза.

Материалы диссертации используются в деятельности экспериментальной лаборатории Научно-исследовательского центра Тверской государственной медицинской академии, подразделений Всероссийского научно-исследовательского института синтетических волокон и в учебном процессе на кафедре общей хирургии Тверской государственной медицинской академии

**Личное участие автора в выполнении работы**

Автором лично проведены все представленные в диссертации экспериментальные исследования и осуществлен анализ полученных данных.

**Апробация работы и публикации**

Основные положения диссертационной работы доложены на заседании Тверского регионального отделения Российского общества хирургов, г.Тверь, 2012 г.; на VII Успенских чтениях (конференции врачей России с международным участием), г. Тверь, 2012г.; на межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 60-летию оториноларингологического отделения Тверской областной клинической больницы, г. Тверь, 2013 г.; на Всероссийской конференции с международным участием «Ошибки и осложнения в хирургической гастроэнтерологии», г. Геленджик, 2014. Материалы заслушаны и одобрены на межкафедральном заседании ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинской академии от 30 января 2015 г. (протокол №4).

По материалам диссертационного исследования опубликовано 9 работ, в том числе 3 – в изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов ВАК РФ. Получен патент на полезную модель.

**Структура и объем работы.**

Диссертационная работа построена по классическому типу, изложена на 122 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Текстовая часть работы содержит 12 таблиц и 19 рисунков. Список использованной литературы включает 199 отечественных и 70 зарубежных источников.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Новый антимикробный рассасывающийся хирургический шовный материал, созданный на основе полигликолидной нити, обладает близкими в сравнении с ней величинами разрывной нагрузки и растяжения в узле при более низких показателях капиллярного эффекта.
2. Использование новых нитей для шва раны оказывает положительное влияние на ход ее заживления, ускоряя разрешение воспаления и стимулируя репаративные процессы.
3. Новый шовный материал обладает достаточно выраженной пролонгированной антимикробной активностью.
4. Закрытие раны новым шовным материалом способствует повышению прочности и эластичности формирующегося на ее месте рубца.
5. По скорости деструкции в условиях имплантации предлагаемые нити следует отнести к биорезорбируемым шовным материалам с короткими сроками рассасывания.

**Содержание диссертации**

**Материалы и методы исследования**

В работе изучались лабораторные образцы биорезорбируемых антимикробных нитей, полученные во Всероссийском научно- исследовательском институте синтетических волокон (ОАО «ВНИИСВ»).

Основой разрабатываемого шовного материала послужила полигликолидная нить (ПГН) – плетеный синтетический рассасывающийся шовный материал из волокон гомополимера полигликолевой кислоты. Эта нить была модифицирована путем импрегнации сополиамидом и растворами антимикробных препаратов: сангвиритрина (ПГН с сангвиритрином) или доксициклина (ПГН с доксициклином). Указанные разновидности нового шовного материала исследовались в эксперименте «in vitro» и «in vivo».

В эксперименте «in vitro» изучалось изменение прочности нитей под влиянием пребывания их в фосфатно-буферном растворе (рН 7,4±0,2, температура 37°С), имитирующем среду живого организма.

По середине одинаково нарезанных отрезков исследуемых нитей завязывали и затягивали простой одинарный узел. Заготовленные отрезки нитей помещали в фосфатно-буферный раствор. Время экспозиции нитей в растворе составляло 3, 9, 14 и 21 сутки. До погружения в раствор и по истечении каждого из указанных сроков пребывания в растворе с помощью универсальной испытательной машины «INSTRON» определялись разрывная нагрузка и удлинение нити при разрыве в простом узле. Под разрывной нагрузкой понимали максимальное усилие в ньютонах (Н), выдерживаемое нитью с завязанным узлом при растяжении ее до разрыва, а под удлинением нити при разрыве – отношение приращения ее длины в момент разрыва к зажимной длине, выраженное в процентах. Одновременно вычислялся сохраненный процент прочности нити исходя из величины разрывной нагрузки ее до погружения в фосфатно-буферный раствор (ГОСТ 23364-2001).

Следующим показателем, который исследовался в эксперименте «in vitro», была величина капиллярности разрабатываемой нити. Определение капиллярности проводили специальным прибором, рекомендуемым ГОСТ 29104.11-91. Подготовленные образцы нитей заправляли в стеклянные трубки прибора. Трубки с нитями через отверстия в крышке сосуда опускали в раствор красителя (эозина) таким образом, чтобы концы испытуемых шовных материалов находились в этом растворе. Нити выдерживали в растворе до момента прекращения подъема по ним красителя. После обсыхания образцов нитей измеряли длину их окрашенного участка (в мм).

При изучении прочности шовного материала сравнивались ПГН с доксициклином и ПГН. Показатели капиллярности определялись у ПГН с сангвиритрином, ПГН с доксициклином и ПГН.

Объектом экспериментальных исследований «in vivo» послужил 170 самцах белых нелинейных крыс средней массой 145±3,5 грамма, на которых выполнен 221 опыт. Операции на животных проводились под эфирным наркозом. Выведение крыс из опыта осуществлялось передозировкой эфирного наркоза.

У 60 животных на подготовленном операционном поле производили рассечение поверхностных слоев мягких тканей (кожи и подкожной клетчатки) с формированием стандартной линейной раны длиной 5 см. Края раны соединяли с помощью исследуемой нити внутрикожным непрерывным швом. В зависимости от вида нитей, которые использовались для шва ран, выделены 3 серии животных исходя из названия нитей: ПГН (контроль), ПГН с сангвиритрином и ПГН с доксициклином. Течение раневого процесса изучали по макроскопическим данным (виду операционной раны и поведению животных), при помощи цитологического исследования мазков-отпечатков (с окраской по Романовскому-Гимзе), взятых с поверхности раны, и микроскопического (гистологического) исследования зоны повреждения. Микропрепараты готовились по общепринятой методике с окраской срезов гематоксилином и эозином. Сроки наблюдения при

проведении цитологических исследований составили 6, 12, и 24 часа, макро- и микроскопических – 3, 5 и 7 суток.

36 крыс были использованы для изучения срока сохранения антимикробной активности новых нитей в условиях имплантации в ткани живого организма. Нити помещали в предварительно сформированный канал в подкожной клетчатке на спине животных. Через 1, 3, 5 и 7 суток нити извлекали и определяли их антимикробную активность по общепринятой методике. Отрезки нитей длиной 2 см располагали на засеянной тест-культурами (штаммы Staphylococcus aureus 906, Escherichia coli K12, Bacillus subtilis L2) плотной питательной среде в стерильных чашках Петри. Затем посевы инкубировали в термостате ТС-80-«КЗМА» при температуре 370 С в течение 24 часов. О состоянии антимикробной активности нити судили по величине (в мм) зоны задержки роста микрофлоры вокруг образца на уровне его середины.

На 38 крысах изучались деформационно-прочностные свойства рубца, формирующегося на месте раны, зашитой разрабатываемым шовным материалом. На спине животного наносили линейную рану длиной 3 см и зашивали ее внутрикожным непрерывным швом одним из исследуемых шовных материалов (ПГН и ПГН с доксициклином). На 7-е сутки забирали кожный лоскут длиной около 120 мм с таким расчетом, чтобы рубец, образовавшийся на месте раны, располагался посредине лоскута. Лоскут фиксировали в зажимах испытательного аппарате «INSTRON» и подвергали растяжению. Регистрировали силу, необходимую для разрыва кожного рубца в кгс (разрывную нагрузку), а затем вычисляли разрывное напряжение (отношение разрывной нагрузки к площади сечения лоскута) и относительное удлинение препарата при его разрыве (отношение приращения длины препарата в момент разрыва к его исходной длине в % ).

Отдельную группу составили эксперименты на 36 крысах, посвященные изучению скорости деструкции имплантированной новой нити путем определения ее веса и микроскопии в сроки 14, 30 и 60 суток после операции. Сравнивались

между собой три вида шовных материалов: полигликолидная нить (ПГН), поликапроамидная нить (ПКАН) и полигликолидная нить с доксициклином (ПГН с доксициклином). Использовалась методика, предусматривающая помещение имплантируемой нити в диффузионные камеры (тонкостенные перфорированные силиконовые трубки). В камеру помещался один отрезок шовного материала, предварительно взвешенный на аналитических весах. У животного формировали карман в подкожной клетчатке, в который помещали камеру с нитью. По истечении положенных сроков образцы нитей извлекали, отмывали в органических растворах, высушивали при температуре 370С и взвешивали на аналитических весах. Отдельные экземпляры образцов нитей исследовали под микроскопом и документировали изменения их структуры микрофотографиями.

Статистическая оценка значимости различий показателей в исследуемых группах осуществлялась путем вычисления средних показателей (М), среднего квадратического отклонения (σ) и средней ошибки средней арифметической (m). Определялись t-критерий и средняя ошибка разности показателей m. Разница считалась значимой при р<0,05. В качестве инструмента статистических вычислений применялись пакет программ Statistica 6.1 и программы пакета OpenOffice®.

**Результаты исследования**

Изучение новой нити в эксперименте «in vitro» дало следующие результаты.

При исследовании прочности шовного материала сравнивались обычная полигликолидная нить и полигликолидная нить с доксициклином. Исходные показатели разрывной нагрузки в узле и той, и другой нити оказались одинаковыми (30,5±1,5 Н). Указанная величина находится в пределах требований ГОСТ Р 53005–2008.

Пребывание в фосфатно-буферном растворе вызывало постепенное равномерное снижение прочности обоих видов нитей. Многие из применяющихся в настоящее время быстро рассасывающихся шовных материалов полностью

теряют свою прочность к 14 суткам после операции – показатель разрывной нагрузки у них доходит до 0. На 14-е сутки экспозиции в фосфатно-буферном растворе разрывная нагрузка в узле у обычной полигликолидной нити составила 15,2±2,9 Н, у полигликолидной нити с доксициклином – 12,4±1,4 Н, т.е. полностью ни та, ни другая нить свою прочность не потеряла. Сохраненный процент прочности сравниваемых нитей оказался равным соответственно 49,83±0,77 и 47,32±0,52.

Разрывное удлинение в узле исходных образцов инертной в биологическом отношении полигликолидной нити и полигликолидной нити с доксициклином, по полученным данным, составило соответственно 18,1±0,97 % и 15,4±1,10 %. Пребывание нитей в фосфатно-буферном растворе вело к снижению этого показателя. Согласно рекомендации ГОСТ Р 53005–2008, значения разрывного удлинения хирургического шовного материала в простом узле не должны превышать 40 %. Поэтому данные, полученные нами при изучении величин разрывного удлинения разрабатываемой нити в узле, можно рассматривать как подтверждение возможности использования ее в хирургии.

Известно, что высокие показатели капиллярности шовного материала нежелательны, так как могут стать причиной распространения инфекционного начала по каналам, получаемым в результате прокола тканей иглой с заправленной в нее нитью. При изучении гигроскопических свойств трех сравниваемых между собой разновидностей шовных материалов установлено, что наибольшей капиллярностью (60±14,88 мм) обладала обычная полигликолидная нить. Капиллярность нити с сангвиритрином составила 32±11,43 мм (р<0,05), нити с доксициклином – 38±6,5 мм. Снижение капиллярности происходит за счет импрегнации нити сополиамидом и растворами антибактериальных препаратов, что придет ей свойства монофиламентного шовного материала. Низкий показатель капиллярности является преимуществом новой нити перед ее аналогом, инертными в биологическом отношении.

Изучение новой нити в опытах «in vivo» начали с анализа хода заживления зашитых с ее помощью экспериментальных ран.

После выхода из наркоза все оперированные крысы вели себя спокойно. По истечении 6 часов полностью восстанавливалась их мобильная активность.

На протяжении первых суток наблюдения во внешнем виде ран существенных отличий в зависимости от вида шовного материала, использованного для их закрытия, не отмечалось. Спустя 6 и 12 часов после операции рана представляла собой линейный дефект кожи, имелись небольшой отек краев раны, скудное количество серозного отделяемого. Спустя сутки края их полностью смыкались, раневой дефект был покрыт струпом. При использовании нитей, содержащих сангвиритрин или доксициклин, отмечалось раннее смыкание краев раны с появлением на ее поверхности плотно прикрепленного струпа, препятствующего получению мазков-отпечатков для цитологического исследования.

Спустя трое суток крысы становились менее активными, было заметно щажение области нанесенного дефекта при движениях. Отличия во внешнем виде ран в сравниваемых сериях животных были, по-прежнему, слабо выражены. Отмечалась умеренная гиперемия и инфильтрация краев раны, отделяемого практически не наблюдалось.

Через 5–7 суток после нанесения повреждения у части животных отмечено снижение их активности, что сопровождалось появлением воспалительных изменений тканей в области раны. В наименьшей степени воспалительные изменения выявлялись при шве раны разрабатываемой нитью, особенно варианта ее с доксициклином.

В цитограммах раневого экссудата животных контрольной серии через 6 часов после операции наблюдалась характерная реакция выселения клеточных элементов, среди которых преобладали нейтрофильные лейкоциты, их количество составило 124,63±6,4 в 10 полях зрения (табл.1). Нейтрофилы имели четкие контуры и хорошо сегментированное ядро, состоящее из 3–6 фрагментов.

Обнаруживались единичные лимфоциты с большим округлым ядром и узким ободком цитоплазмы, макрофаги не определялись. При шве раны полигликолидной нитью с сангвиритрином число нейтрофильных лейкоцитов было более высоким (136,25±4,8), а при использовании с указанной целью полигликолидной нити с доксициклином количество нейтрофилов в мазке (168,5±10,11) оказалось значимо большим (р<0,05) аналогичного показателя в контроле (табл. 1) Кроме того, при цитологическом исследовании раневого экссудата у животных, оперированных с помощью разрабатываемых вариантов антимикробных нитей отмечено появление фагоцитирующих форм макрофагов с пищеварительными вакуолями, содержащими переваривающиеся микробные тела.

Через 12 часов наблюдения в мазках-отпечатках поверхности ран животных контрольной серии количество нейтрофильных лейкоцитов возросло до 256,38±7,12 в 10 полях зрения (табл. 1); отмечено увеличение диаметра их ядер и признаки физиологической дегенерации. Наблюдалось появление относительно небольших отдельно расположенных макрофагов (типичная реакция фазы воспаления раневого процесса). В реакции выселения клеток в раневой экссудат у животных со швом раны нитью с сангвиритрином (вторая серия) и доксициклином (третья серия) в сравнении друг с другом существенных отличий выявлено не было. Наблюдалось нарастание числа клеточных элементов, которые располагались большими скоплениями. Подавляющее большинство клеток было увеличено в размерах, их структура характеризовалась нарушением ядерной сегментации. Обнаруживался активный диапедез клеток крови, что проявлялось количественным превалированием нейтрофилов по сравнению с аналогичным сроком контрольной серии (271,7±6,9 и 332,4±7,8 против 256,38±7,1 соответственно). Количество нейтрофильных лейкоцитов в цитограммах животных третьей серии (332,4±7,85) было значимо бόльшим (р<0,05), чем в контроле. Имелись проявления выраженной активности макрофагов

Таблица 1

Количество и диаметр клеток раневого экссудата (в 10 полях зрения) в послеоперационном периоде (M±m)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Серия | 6 часов | | | | 12 часов | | | | 24 часа | | | |
| нейтрофилы | | макрофаги | | нейтрофилы | | макрофаги | | нейтрофилы | | макрофаги | |
|  | |  | |  | |  | |  | |  | |
| коли  чество | Ø, мкм | коли  чество | Ø,мкм | коли  чество | Ø, мкм | коли  чество | Ø, мкм | коли  чество | Ø, мкм | коли  чество | Ø, мкм |
| ПГН  (контроль) | 124,63±  6,40 | 10,42± 0,4 | 0 | 0 | 256,38±  7,12 | 10,91±  0,6 | 9,0±  1,97 | 13,0 ±  0,1 | 73,1±  8,07 | 12,05±  0,1 | 11,45±  2,11 | 15,19±  0,4 |
| ПГН с сангвирит-рином | 136,25±  4,76 | 11,0±  0,7 | 11,9 ± 3,14 | 13,29±  0,3 | 271,7 ±  6,93 | 12,08± 0,1 | 24,75\*\* ± 7,23 | 25,24\* ± 0,4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ПГН с доксицик-лином | 168,5\*±  10,11 | 11,64± 0,9 | 13,05 ± 2,60 | 13,44±  0,2 | 332,4\* ±  7,85 | 12,54 ± 0,9 | 25,3\*\* ± 4,80 | 26,92\*± 0,4 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Примечание: \*– р < 0,05 (по сравнению с контролем)

\*\*– р < 0,01 (по сравнению с контролем)

заключающиеся в увеличении их размеров и количества по сравнению с контрольной серией (табл.1).

Через 24 часа в мазках-отпечатках ран животных контрольной серии (в двух других сериях, как указывалось выше, мазки-отпечатки получить не удалось из-за наличия сухого струпа на поверхности раны) отмечено сокращение количества нейтрофилов и усиление макрофагальной реакции.

Таким образом, ушивание ран биорезорбируемыми нитями, импрегнированными антибактериальными препаратами, привело к раннему выселению клеточных элементов из кровеносного русла, появлению макрофагов и повышению их функциональной активности, что свидетельствует об ускоренном течении фазы воспаления раневого процесса. Наиболее отчетливо эти явления были выражены у животных со швом раны полигликолидной нитью с доксициклином.

Следующую фазу раневого процесса (пролиферации), мы изучали по данным микроскопического исследования гистологических срезов биоптатов области линейных ран на 3, 5 и 7 сутки после операции.

На третьи сутки в контрольной серии животных (ПГН) в зоне раневого дефекта определялся массивный струп, под которым располагался мощный лейкоцитарный вал. Область повреждения была выполнена тканью, обильно инфильтрированной форменными элементами крови. Эпителиальный регенерат в центре дефекта был гипертрофирован; толщина его в центре раны составляла 67,7±7,53 мкм, а протяженность – 598±12,48 мкм (табл.2). Базальная мембрана в отдельных участках формировала выросты в подлежащую ткань.

Менее выраженные проявления воспалительной реакции в этот срок наблюдались у животных серий «ПГН с сангвиритрином» и «ПГН с доксициклином». Струп в области ран у этих животных был тоньше (табл.2) и более плотно прилегал к поверхности раневого канала, заполненного экссудатом. Под струпом наблюдался рост новообразованного эпителия, толщина которого составляла соответственно 75,75±6,29 и 82,1±4,33 мкм. Базальная мембрана была

неровной, формировала выросты в подлежащую ткань с образованием единичных дериватов дермы в виде волосяных фолликулов и сальных желез.

Таблица 2

Морфологические показатели раны через 3 суток после операции (M±m)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель  Серия | Толщина струпа, мкм | Эпителиальный регенерат | | Кол-во дериватов, в п/зр |
| Толщина, мкм | Протяженность, мкм |
| ПГН | 331,05±20,47 | 67,7±7,53 | 598,0±12,48 | 5,7±1,21 |
| ПГН c сангвиритрином | 231,55\*±18,95 | 75,75±6,29 | 560,1\*±11.40 | 7,35±1,38 |
| ПГН с доксициклином | 211,2\*±17,25 | 82,1±4,33 | 571,15±10,64 | 9,35±1,38 |

Примечание: \* – р < 0,05 (по сравнению с контролем)

Через 5 суток после нанесения ран у крыс всех экспериментальных серий при анализе микропрепаратов отмечено снижение высоты лейкоцитарного вала по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Одновременно с этим наблюдалась активная пролиферация эпителиального пласта, состоящего из 3-4 рядов клеток. При использовании для шва раны нити с доксициклином протяженность его была наибольшей и составила 622,85±11,75 мкм, причем базальная мембрана эпителиального регенерата образовывала выросты в толщу дермы с формированием из них фолликулов и сальных желез.

Седьмые сутки послеоперационного периода характеризовались формированием новообразованной соединительной ткани. Струп, покрывающий область бывшего повреждения кожи крыс, на препаратах либо отсутствовал, либо определялся в виде небольших фрагментов.

На микропрепаратах животных контрольной серии (ПГН) новообразованный эпителий был еще утолщен (52±8,94 мкм), протяженность его поверхности составляла 647,75±26,53 мкм, что превышало показатели

предыдущего срока наблюдения в этой же серии (табл. 3). Очертания базальной мембраны были относительно ровными, образование коротких выростов в подлежащую ткань наблюдалось только на периферии регенерата Наиболее интенсивное по сравнению с другими сериями течение формообразовательных процессов было выявлено у животных со швом раны полигликолидной нитью с доксициклином (серия «ПГН с доксициклином»). Новообразованный многослойный эпителий на большинстве препаратов указанной серии полностью покрывал раневой канал, толщина эпителиального покрова составляла 67,5±12,64 мкм (табл.3) Коллагеновые волокна в толще дермы уплотнялись, располагались параллельно друг другу, реже образовывали пучки. Соединительная ткань имела более зрелый вид, приближаясь по структуре к фиброзной. Область повреждения приобретала признаки строения неповрежденной кожи с характерными многочисленными выростами в подлежащую ткань базальной мембраны эпителия. Количество производных кожи было больше по сравнению с животными этой же серии в предыдущий срок наблюдения (13,3±1,52 и 11,15±1,66 в поле зрения соответственно).

Таблица 3

Морфологические показатели раны через 7 суток после операции (M±m)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель  Серия | Толщина струпа, мкм | Эпителиальный регенерат | | Кол-во дериватов, в п/зр |
| Толщина, мкм | Протяженность, мкм |
| ПГН | 163,35±15,88 | 52,0±8,94 | 647,75±26,53 | 10,4±1,18 |
| ПГН с сангвиритрином | 122,4\*±10,11 | 61,95±9,78 | 607,0\*±15,08 | 11,8±1,39 |
| ПГН с доксициклином | 102,0\*±12,43 | 67,5±12,64 | 659,95±11,01 | 13,3±1,52 |

Примечание: \* – р < 0,05 (по сравнению с контролем)

Результаты макро- и микроскопических исследований свидетельствовали о положительном влиянии новых разновидностей биорезорбируемых антимикробных шовных материалов на течение фазы пролиферации раневого процесса. Согласно полученным данным, применение указанных нитей приводит к быстрому разрешению воспалительной реакции тканей в области раны, к ускорению и более совершенному течению регенеративных процессов.

В результате изучения антимикробных свойств разрабатываемого шовного материала установлено, что в исходном состоянии полигликолидные нити, содержащие как сангвиритрин, так и доксициклин обладают достаточно выраженным антибактериальным действием. Нить с сангвиритрином наибольшую исходную активность показала в отношении Staph. aureus 906 (18,12±0,88 мм), наименьшую – в отношении E. coli K 12 (8,0±0,92 мм). Нить с доксициклином была наиболее активна в отношении Bac. subtilis L2 (22,09±0,49 мм), наименее активна (10,64±0,59 мм) в отношении E. coli K 12.

Антимикробная активность нити с увеличением срока имплантации постепенно и равномерно снижалась. Наиболее быстро активность падала у нити с сангвиритрином. Полностью неактивной эта нить становилась в опытах с Bac. subtilis L2 через 5 суток после имплантации. Однако по отношению к E. coli K 12 активность нити с сангвиритрином сохранялась (хотя и не на высоком уровне) и через 7 суток. Нити с доксициклином проявили постепенно снижающуюся антимикробную активность в течение 7 суток в опытах со всеми тремя тест-культурами.

Известно, что наиболее высокая микробная обсемененность тканей в заживающей ране отмечается в первой фазе раневого процесса (фазе воспаления). Именно в этой фазе целесообразно воздействие на микрофлору раны. В большинстве случаев продолжительность первой фазы раневого процесса не превышает 5 суток. В связи с этим установленные нами сроки сохранения антимикробной активности исследуемых нитей позволяют рассчитывать на их

антибактериальное действие в процессе заживления раны на всем протяжении указанной фазы.

При исследовании деформационно-прочностных свойств рубца на месте кожной раны были получены следующие результаты.

В серии с применением обычной полигликолидной нити (контроль) разрывная нагрузка составила 0,757±0,2 кгс, нити с сангвиритрином – 0,967±0,4 кгс, с доксициклином – 1,682±0,5 кгс, т.е. использование при шве раны разновидностей разрабатываемого шовного материала позволило получить более прочные рубцы в сравнении с контролем.

Аналогичные данные получены при изучении разрывного напряжения, значение которого в контрольной серии оказалось равным 0,044±0,011 кгс/мм2, а в двух других – соответственно 0,056±0,02 кгс/мм2  и 0,099±0,030 кгс/мм2.

Показатели относительного удлинения рубца, свидетельствующие о степени его эластичности, по указанным выше сериям оказались равными соответственно 0,027±0,005%, 0,036±0,022% и 0,026±0,010%. От контрольной серии отличалось в сторону увеличения значение относительного удлинения рубца, сформировавшегося на месте раны, зашитой нитью с сангвиритрином.

Показатели прочности и эластичности косвенно характеризуют состояние коллагеновых структур образующегося рубца, которое, по полученным данным, оказалось лучшим при использовании для шва раны нового шовного материала.

Опыты по изучению изменений массы и структуры шовных материалов в условиях имплантации проводились на обычной полигликолидной нити (ПГН), полигликолидной нити с доксициклином (ПГН с доксициклином) и поликапроамидной нити (ПКАН).

Спустя 14 суток существенных изменений массы и структуры нитей в сравнении с исходными показателями ни в одной из серий не обнаружено.

Через 30 суток у обычной полигликолидной нити сохранилось 87,75±6,9% ее массы, а у нити с доксициклином» – 68,32±16,32 %, однако разница оказалась недостоверной (р>0,05). Как и следовало ожидать, наименее деструктурируемой

была поликапроамидная нить, сохранившая 95,87±2,73 % своей массы. По данным микроскопии, полигликолидные нити, как обычные, так и содержащие доксициклин, претерпевали выраженные изменения строения в виде разволокнения и разрывов отдельных волокон. Структура поликапроамидных нитей практически не нарушалась.

Спустя 60 суток после имплантации масса ПГН и ПГН с доксициклином составила соответственно 41,75±23,70 % и 37,77±16,26 %. ПКАН сохранила 95,1±1,17 % своей массы. Микроскопия показала полное нарушение структуры обоих изучаемых видов биорезорбируемых шовных материалов при относительной сохранности строения поликапроамидной нитью.

Наиболее важным в описанном разделе исследований явилось установление факта отсутствия потери массы и изменений структуры разрабатываемой нити на протяжении первых 14 суток имплантации, так же, как и разрешенной к применению простой полигликолидной нити, принадлежащей к биорезорбируемым шовным материалам с коротким сроком рассасывания.

Результаты комплекса проведенных нами экспериментальных исследований свидетельствуют о возможности эффективного использования нового биорезорбируемого антимикробного хирургического шовного материала (двух его разновидностей: с сангвиритрином и доксициклином) в клинике.

**Выводы**

1. Показатели разрывной нагрузки и разрывного удлинения в узле новой нити в исходном состоянии и в условиях пребывания в модельном растворе соответствуют имеющимся требованиям к биорезорбируемым хирургическим шовным материалам с короткими сроками рассасывания. Гигроскопические свойства (капиллярность) нового материала достоверно ниже, чем у инертной в биологическом отношении полигликолидной нити.
2. Применение нового шовного материала для шва экспериментальной раны приводит к быстрому разрешению воспалительной реакции тканей зоны

повреждения, ускорению и более совершенному течению регенеративных процессов.

1. Новый шовный материал обладает достаточно высокой и универсальной антимикробной активностью, постепенно снижающейся в условиях имплантации. Максимальный срок пролонгации антимикробного эффекта у нити составляет 7 суток.
2. Показатели деформационно-прочностных свойств рубца, формирующегося на месте раны при шве ее новой нитью, выше, чем в случае использования с аналогичной целью обычного полигликолидного шовного материала.
3. Биодеструкция нового шовного материала в условиях имплантации идет постепенно и равномерно, при этом величина потери его массы на протяжении первых 14 суток не превышает таковую у обычной полигликолидной нити, разрешенной к применению в хирургии.

**Практические рекомендации**

1. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать разработанный биорезорбируемый шовный материал к применению в клинике.
2. Новые нити могут использоваться в клинической практике по тем же показаниям, что и известные биорезорбируемые шовные материалы с короткими сроками рассасывания.
3. Применение нового шовного материала в хирургии должно способствовать минимизации раневых послеоперационных осложнений инфекционного генеза.

**Список работ по теме диссертации**

**1. Жеребченко А.В. Биоразлагаемый шовный хирургический материал с покрытием. №11563. / С.И. Шкуренко, Е.В. Монахова, Е.М. Мохов, А.В. Жеребченко и др. // Полезные модели. – 2012. – № 13. – С. 24.**

**2. Жеребченко А.В. Морфологическая оценка течения фазы воспаления при заживлении экспериментальной раны, зашитой с помощью нового биологически активного шовного материала. / М.Б. Петрова, Е.М. Мохов.**

**А.В. Жеребченко // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 7 (часть 2). – С. 353-356.**

**3. Жеребченко А.В. Особенности заживления ран, ушитых с помощью нового биорезорбируемого антимикробного шовного материала. / Е.М.Мохов, М.Б. Петрова, А.В.Жеребченко, А.Н.Сергеев, В.Е.Рыкалина // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2014. – Т. 7. – № 3. – С. 201-207.**

4. Жеребченко А.В. Биологически активные хирургические шовные материалы (обзор литературы). / Е.М Мохов, А.В. Жеребченко // Верхневолжский медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 21-27.

5. Жеребченко А.В. Этапы разработки новых антимикробных хирургических нитей. / Е.М. Мохов, С.И. Шкуренко, Е.В. Монахова, С.И. Сергеева, В.Е.Рыкалина, А.В. Жеребченко и др. // Материалы конференции врачей России с международным участием (VII Успенские чтения). – Тверь, 2012. – Вып. 7. – С. 35-36.

6. Жеребченко А.В. Деформационно-прочностные свойства рубца, формирующегося на месте раны, зашитой с помощью новых биологически активных хирургических шовных материалов (экспериментальное исследование). / Е.М. Мохов, А.В. Жеребченко и др. // Наука и практика в медицине на современном этапе: материалы межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 60-летию отоларингологического отделения Областной клинической больницы. – Тверь, 2013. – С. 93-95.

7. Жеребченко А.В. Лечение неотложных хирургических заболеваний органов брюшной полости с применением биологически активных шовных материалов. / Е.М.Мохов, А.Н.Сергеев, Е.В. Серов, А.В. Жеребченко // 1-ый Международный конгресс «Раны и раневая инфекция» посвященный 90-летию проф. Б.М.Костюченка. 11-13 октября 2012. – Москва, 2012. – С. 249-250.

8. Жеребченко А.В. Новый антимикробный шовный материал: оценка возможности использования в хирургии в целях профилактики раневых

послеоперационных осложнений инфекционного генеза. / Е.М.Мохов, М.Б.Петрова, А.Н.Сергеев, А.В.Жеребченко, В.Е.Рыкалина // Материалы 2 международного конгресса, посвященного 70-летию института хирургии им. А.В.Вишневского. – Москва, 2014. – С. 258-260.

9. Жеребченко А.В. О новых возможностях профилактики инфекции области хирургического вмешательства в хирургической гастроэнтерологии. / Е.М.Мохов, А.Н.Сергеев, Е.В.Серов, А.В.Жеребченко // Вестник хирургической гастроэнтерологии, приложение к журналу. Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Ошибки и осложнения в хирургической гастроэнтерологии». – 2014. – С. 37-38.

**Список сокращений**

**ИОХВ** – инфекция области хирургического вмешательства

**ПГН** – полигликолидная нить

**ПКАН** – поликапроамидная нить