

УДК 612.751.3:616-001.4-089-053:547.995.15

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХИРУРГИЧЕСКОЙ РАНЫ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Ч.Б. Сатаев

Кыргызско-Российский Славянский университет, г. Бишкек, Кыргызстан

Проведен сравнительный анализ структурной организации хирургической раны в возрастном аспекте. Показано, что у пожилых животных, по сравнению с молодыми, емкость кровеносного русла подкожного клетчаточного пространства на 25 % меньше и прежде всего за счет снижения количества функционирующих сосудов.

Для половозрелых животных после применения гиалуроновой кислоты характерно более раннее увеличение фибробластов и их ранняя дифференциация в фиброциты, способствующие также развитию неоангиогенеза, но в большей степени лимфатического звена интерстициального пространства. Максимальный биостимулирующий эффект гиалуроновой кислоты проявляется у пожилых животных.

Ключевые слова: регенерация хирургической раны, возрастной аспект, гиалуроновая кислота.

Введение. Раневой процесс представляет собой сложный комплекс биологических реакций, последовательно развивающихся в тканях раны в ответ на повреждение. В ходе его имеют место деструктивные и восстановительные изменения тканей: соединительной, эпителиальной, нервной, мышечной. В нем находят отражение проблемы воспаления, химии биологически активных веществ и многие другие [5, 6].

Успехи в изучении динамики раневого процесса имеют и прикладное, и теоретическое значение. Первое состоит в том, что, только имея точное представление о динамике морфологических и цитологических изменений в ране, можно подойти к разработке рациональных, высокоэффективных методов лечения ран и предупреждения возможных осложнений [2, 3, 5, 6]. Теоретическое значение определяется тем, что осуществляется взаимоотношение различных клеточных элементов. Рана как наиболее экстремальный случай повреждающего воздействия и все постраневые процессы в организме представляют подлинно комплексную медико-биологическую проблему: медицинскую, направленную на изыскание мер, способствующих заживлению раны, и биологическую, по существу самого процесса заживления.

В связи с недостаточной эффективностью традиционных методов лечения осложнившихся нагноением хирургических ран, не всегда приводящих к ожидаемому результату, диктуется необходимость поиска новых подходов к санации данной патологии [2, 3], направленных на ускорение регенераторных процессов.

В настоящее время значительный арсенал препаратов на основе гиалуроновой кислоты становится предметом обширного научного поиска. Исследование ранозаживляющего действия гиалуроновой кислоты показало, что она является основой, на которой организуется нормальная тканевая архитектура. Использование гиалуроновой кислоты для изменения реактивности лимфоидных клеток, уровня регенераторных процессов в мягких тканях и для стимуляции деградации склеротических изменений также является весьма актуальным. Тем более что этот процесс в возрастном аспекте пока не изучен.

Цель исследования. Провести оценку структуры межфасциального клетчаточного пространства в норме у молодых, половозрелых и пожилых животных и дать морфологическое обоснование возможности применения гиалуроновой кислоты для ускорения регенераторного процесса в обширных асепти-

ческих хирургических ранах в возрастном аспекте.

Материалы и методы. В работе использовано 190 лабораторных крыс обоего пола. Животные содержались в клетках при температуре 18–22 °С. Доступ к воде и пище был свободным. Работу с животными проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к Приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 № 755).

Материалом для исследования послужили мягкие ткани в норме (10 крыс) и после создания модели обширной асептической раны (180 крыс) межфасциального пространства в области спины путем туннельного отсепаровывания кожи с подкожной жировой клетчаткой и поверхностной фасции от прилежащих мягких тканей площадью до 12 см²; в последующем рана ушивалась только по краю разреза кожи, моделируя тем самым вариант аутопластики. В первой опытной группе (90 крыс), состоящей из трех возрастных подгрупп (контроль), происходило спонтанное приживление вдоль отсепарованного межфасциального пространства. Во второй группе (основная, 90 крыс), также состоящей из трех возрастных подгрупп, перед ушиванием обширной хирургической раны межфасциальное пространство обрабатывалось гиалуроновой кислотой.

Известно, что гиалуроновая кислота является одним из основных компонентов соединительной ткани, она обеспечивает заполнение межклеточного пространства, связываясь с фибриновой сетью, образует переходный матрикс, который стимулирует активацию и миграцию гранулоцитов, макрофагов и фибробластов, пролиферацию эпителиальных клеток и ангиогенез. Расход препарата – 1 капля на 1 см² поверхности. Куриозин («Гедеон Рихтер») – вязкий, прозрачный стерильный раствор. Действующее вещество – ассоциат гиалуроновой кислоты и цинка.

Оценка состояния процессов заживления раны и эффективности лечения проводилась до 45 сут.

С целью оценки репаративного процесса и для объективного контроля за процессами заживления ран мягкие ткани области об-

ширной хирургической раны (модель аутопластики) исследовались общепринятыми макро- и микроскопическими, гистологическими и морфометрическими методами. Морфометрия тканевых структур проводилась в соответствии с общепринятыми требованиями [1, 4].

Характеристика морфофункционального состояния прилежащих мягких тканей складывалась из суммарной оценки признаков, наблюдаемых при визуальном изучении гистологических препаратов, и результатов количественных методов исследования.

Результаты и обсуждение. *Динамика регенераторного процесса хирургической раны после применения гиалуроновой кислоты у молодых крыс.* При инъекции кровеносного русла отмечено, что в процессе спонтанного заживления в зоне механического повреждения межмышечного фасциального пространства на 7-й день функционирующие сосуды еще отсутствуют, тогда как после применения гиалуроновой кислоты у молодых животных они начинают появляться уже через 24 ч (табл. 1), а к третьему дню хорошо видна формирующаяся сосудистая сеть.

При спонтанно протекающем обширном раневом процессе период заживления межфасциального пространства длителен и сопровождается клеточными реакциями в ране.

Динамика регенераторного процесса после применения гиалуроновой кислоты у молодых крыс свидетельствовала, что в цитограмме инфильтратов во все сроки наблюдения преобладали лимфоциты. Кроме этих клеток, практически всегда присутствовали нейтрофилы, моноциты, макрофаги, эритроциты и дегенерирующие клетки. Начиная с 3-х сут наблюдения увеличилось количество тучных и плазматических клеток.

В связи с изменением объема сосудов изменилось и отношение площади сосудов и интерстициальных пространств к площади клеток и межклеточного вещества на поперечном срезе подкожно-жировой клетчатки.

После интраоперационной обработки обширной хирургической раны гиалуроновой кислотой в первые сутки наблюдения, как и при спонтанно протекающем заживлении, дно раны образовано слоем инфильтрирован-

ной лейкоцитами некротизированной подкожной клетчатки и мышечных волокон, покрытых слоем детрита, фибрина и многочисленных нейтрофилов.

Перифокально наблюдались ткани в состоянии некроза, отека, лейкоцитарной инфильтрации. В субэпителиальном слое кожи в зоне наложения швов вокруг раны обнаруживалась значительная воспалительная реакция, отмечался некроз волосяных фолликулов, сальных желез.

На третьи сутки после применения гиалуроновой кислоты регенерат в ране морфологически отличался от структуры тканей интактных эпидермиса и дермы. В центре раны коллагеновые пучки очень тонкие, бледно окрашенные, длинные, напоминали фиброзную ткань. В новообразованной ткани преобладали клетки с овальными, реже круглыми ядрами, типичных фибробластов мало, встречались пролиферирующие и макрофагоподобные

клетки, которые преимущественно располагались в подкожной клетчатке. Отличительной особенностью являлось значительное снижение интерстициального отека тканей (табл. 1).

Начиная с 7-х сут у молодых животных объем коллагеновых волокон дермы в опыте превышал таковой в контроле, т.е. при спонтанном заживлении. Это проявлялось в увеличении пролиферативной активности эпителиоцитов, толщины базального слоя эпидермиса краевой зоны раны. В дерме ускорялось посттравматическое развитие лейкоцитарной и макрофагической реакции, а также формирование грануляционной ткани.

Как показали результаты проведенного исследования, применение гиалуроновой кислоты сокращает средние сроки эпителизации ран. Применяемый метод лечения ран гиалуроновой кислотой обладает также и высокими общими противовоспалительными свойствами (табл. 1).

Таблица 1

Динамика структуры соединительной ткани молодых (А), взрослых (Б) и пожилых (В) крыс после моделирования обширной хирургической раны и применения куриозина ($M \pm m$) (абсолютное количество в стандартном поле зрения)

Показатели	Серии	Норма	Сроки наблюдения, сут				
			1	3	7	14	21
Площадь интерстиция, $\text{мкм}^2 \times 10^3$	А	210±14	409±22*	243±15	184±11	151±10*	127±8*
	Б	184±7	313±19*	220±14* ⁺	192±11 ⁺	181±11 ⁺	174±10 ⁺
	В	129±6	189±19*	220±14*	192±11	181±11	164±10
Диаметр капилляров, мкм	А	8±0,4	0-*	7,5±0,4	7,5±0,4	8,1±0,4	8,1±0,3
	Б	8±0,4	0-*	7,2±0,3* ⁺	7,4±0,4	8,0±0,4	8,1±0,3
	В	7,8±0,4	0-*	7,0±0,4*	7,4±0,4	8,0±0,4	8,0±0,3
Количество капилляров	А	41±3	0-*	4±1*	16±2*	36±4	46±3
	Б	37±3	0-*	9±1* ⁺	18±1* ⁺	35±2 ⁺	38±3
	В	32±2	0-*	4±1*	18±1*	37±3*	47±4*
Емкость кровеносного русла, $\text{мкм}^3 \times 10^3$	А	2,1±0,1	0-*	0-*	0,49±0,02*	1,65±0,1*	2,26±0,2
	Б	1,9±0,1	0-*	0,37±0,01* ⁺	0,77±0,03* ⁺	1,76±0,1 ⁺	1,95±0,1 ⁺
	В	1,5±0,1	0-*	0,2±0,01*	0,34±0,03*	1,25±0,1*	1,6±0,1*
Общая клеточность	А	452±30	892±53	1006±85*	990±67*	800±52*	500±31
	Б	468±32	1064±41 ⁺	1070±80* ⁺	1010±80* ⁺	840±72* ⁺	540±54 ⁺
	В	475±32	749±41	864±80*	874±80*	646±72*	605±54*

Продолжение таблицы 1

Показатели	Серии	Норма	Сроки наблюдения, сут				
			1	3	7	14	21
Жировые клетки	А	0	0	12±1*	10±1*	6±0,5*	1±0,1*
	Б	14±2	17±1	57±4*	58±5*	57±5*	30±2*
	В	24±2	40±4	137±4*	125±5*	105±5*	92±2*
Фибробласты	А	169±11	181±12	482±27*	467±25*	325±19*	197±14
	Б	135±11	197±12* ⁺	394±23*	450±31*	390±28* ⁺	200±22* ⁺
	В	94±7	151±12	201±23*	281±31*	272±28*	169±22*
Макрофаги	А	27±2	31±3	142±10*	141±10*	75±6*	34±3*
	Б	24±2	45±3* ⁺	57±6* ⁺	58±5* ⁺	49±5* ⁺	37±3* ⁺
	В	18±2	35±3*	107±10*	118±10*	99±8*	47±5*
Тучные клетки	А	13±1	24±2*	68±5*	72±5*	77±6*	49±4*
	Б	11±1	33±2* ⁺	46±5* ⁺	50±4* ⁺	27±2* ⁺	17±2* ⁺
	В	6±1	23±2*	56±5*	60±4*	37±4*	14±1,5*
Внесосудистые эритроциты	А	0	38±3*	39±3*	20±2*	8±1*	2±1*
	Б	0	180±10*	107±8*	48±4* ⁺	25±2* ⁺	6±2* ⁺
	В	0	210±10*	127±15*	88±10*	45±5*	11±2*
Лимфоциты	А	11±1	33±3*	69±6*	91±8*	82±8*	53±5*
	Б	13±1	41±2* ⁺	74±7*	74±7*	63±6* ⁺	24±2* ⁺
	В	17±2	21±2*	74±7*	84±7*	103±9*	64±6*
Полиморфно-ядерные лейкоциты	А	11±1	39±4*	40±4*	32±3*	16±1*	8±1
	Б	9±1	189±13* ⁺	133±10* ⁺	93±8* ⁺	60±2* ⁺	42±1* ⁺
	В	7±1	226±30*	188±23*	141±13*	29±2*	10±1*
Моноциты	А	6±1	21±2*	44±3*	31±3*	18±1*	9±1
	Б	6±1	33±2* ⁺	50±4*	43±3*	30±2*	14±1*
	В	4±1	23±2*	50±4*	43±3*	30±2*	14±1*
Эозинофилы	А	2±1	4±0,4*	8±0,5*	11±0,7*	11±0,6*	4±0,3*
	Б	3±1	4±0,5*	11±1*	12±1*	16±1*	12±1*
	В	2±1	4±0,5*	11±1*	12±1*	16±1*	12±1*
Плазмобласты, плазмоциты	А	8±1	23±2*	61±5*	57±5*	27±2*	14±1*
	Б	6±1	23±1* ⁺	47±4* ⁺	60±5*	43±4*	12±1* ⁺
	В	3±1	13±1*	47±4*	60±5*	43±4*	19±1*

Примечание. * – достоверное отличие от соответствующей возрастной нормы; ⁺ – достоверное отличие от соответствующей возрастной группы без лечения.

На 7-е сут эксперимента наблюдалось значительное уменьшение размеров раны вследствие равномерного стягивания ее краев. Микроскопически лейкоцитарный вал на дне раны менее выражен, чем в соответствующий срок контроля. На 7-е и особенно 14-е сут наблюдения отмечался лучший гистоархитектурный порядок, лучшая васкуляризация и отсутствие клеток воспаления на уровне дермы. Клеточные показатели первой фазы также отражают ускорение процессов восстановления, снижение уровня местного воспаления, отмечено раннее появление в ране нейтрофильных гранулоцитов.

На 7-е сут отек сохранен, но больше в гиподерме. В сетчатом слое наблюдался резкий подъем количества лимфоцитов, снижение количества клеток лейкоцитарного ряда, увеличение тучных клеток и их функциональная активность. Отмечалось более интенсивное образование коллагеновых и эластических волокон, а также большое количество новообразованных сосудов на границе демаркационного вала, что указывает на развитие грануляционной ткани. Стенки сосудов несколько утолщены, некоторые из них заполнены форменными элементами крови.

Практически во всей зоне повреждения на 7-е сут лечения гиалуроновой кислотой были выявлены вновь образованные лимфатические сосуды.

Отмечено уменьшение дегенеративно-измененных форм нейтрофильных гранулоцитов в ране на 3-и и 7-е сут после применения гиалуроновой кислоты. Макрофаги опытных групп отличались большей величиной, полиморфностью, большим количеством включений.

При проведении сравнительного анализа результатов лечения гиалуроновой кислотой оказалось, что в группе молодых животных оно менее эффективно, хотя и создает определенное ускорение регенераторного процесса по сравнению с группой спонтанного заживления.

Динамика регенераторного процесса хирургической раны после применения гиалуроновой кислоты у половозрелых крыс. Сравнительный анализ цитогрaмм у групп половозрелых животных показал однонаправленное и примерно одинаковое биостимулирующее

воздействие на регенераторный процесс гиалуроновой кислоты (табл. 1). В зоне повреждения на 3-и и особенно 7-е сут лечения гиалуроновой кислотой были выявлены вновь образованные лимфатические сосуды. У половозрелых животных численная плотность тканевых лейкоцитов в клетчаточном пространстве была выше исходного уровня в течение трех недель после операции.

Динамика регенераторного процесса хирургической раны после применения гиалуроновой кислоты у пожилых крыс. У пожилых животных была отмечена выраженная воспалительная реакция, а также выраженный отек в тканях дермы и гиподермы. Клеточная картина была представлена полиморфноядерными лейкоцитами, отмечалось увеличение содержания макрофагов. Наблюдалось начало образования демаркационного вала.

Вновь образованные лимфатические сосуды в зоне обширной хирургической раны появлялись только на 7–14-е сут после интраоперационного применения гиалуроновой кислоты.

На 14 сут эксперимента имелись выросты эпидермиса в сетчатый слой. В толще дермы располагались вновь образованные производные кожи. Отмечался обильно васкуляризованный субэпидермальный слой и большое количество фибробластов. Новообразованные коллагеновые волокна более истончены по сравнению с волокнами неповрежденной зоны и расположены более хаотично, отмечались пучки эластических волокон.

К 21-м сут после интраоперационного применения гиалуроновой кислоты клеточные элементы в зоне повреждения располагались более упорядочено и были представлены в основном фибробластами и фиброцитами.

На основании вышеуказанных данных можно утверждать, что при использовании геля гиалуроновой кислоты происходит ускоренное снижение воспалительных явлений в травмированных тканях за счет стимуляции активации гранулоцитов, макрофагов и фибробластов.

Благодаря способности гиалуроновой кислоты связывать и удерживать воду и созданию влажной среды на контактируемой раневой поверхности в зоне обширного хирурги-

ческого повреждения усиливается миграция фибробластов, и происходит пролиферация всех клеток интерстиция.

Фибробластическая или пролиферативная стадия заживления раны начинается с появления в очаге повреждения важнейших клеточных компонентов грануляционной ткани – фибробластов (табл. 1).

Как показали наши исследования, у пожилых крыс количественная динамика тучно-клеточной реакции интерстициального пространства региона обширной хирургической раны после интраоперационного применения гиалуроновой кислоты в поздние сроки может говорить либо о продолжении репаративных процессов (однако рубец уже сформировался), либо о формировании иного уровня гомеостаза данного региона, направленного на более рациональное функционирование лимфатического звена интерстиция, что морфологически подтверждается наличием большего числа интерстициальных щелей и лимфатических сосудов.

Применение гиалуроновой кислоты сокращает период рубцевания ран на трое суток и, соответственно, способствует раннему стиханию воспаления, более раннему развитию грануляционной ткани и эпителизации, а заживление раны происходит в 1,5 раза быстрее, чем при спонтанном заживлении.

Из всего вышеизложенного можно заключить, что применение гиалуроновой кислоты является активным стимулятором репаративных процессов. Это происходит благодаря ее способности быстро проникать в глубинные слои, активируя местную защитную реакцию и приводя к ускорению процессов заживления, улучшению кровоснабжения и обмена веществ. Гиалуроновая кислота воздействует на корни лимфатической системы, стимулирует физиологические репаративные процессы и ангиогенез, направляет фиброгенез по органотипическому пути.

Следовательно, внедрение интраоперационного применения гиалуроновой кислоты в клиническую практику поможет оптимизировать результаты лечения больных в хирургии и косметологии только в том случае, если будет учитываться возраст пациента.

Выводы:

1. У пожилых животных по сравнению с молодыми емкость кровеносного русла межфасциального клетчаточного пространства на 25 % меньше и прежде всего за счет снижения количества функционирующих сосудов.

2. Морфология экспериментальной раны при использовании гиалуроновой кислоты характеризуется незначительной лимфоидной реакцией в ранние сроки, более ранним формированием молодой соединительной ткани и более высокой скоростью эпителизации дефекта, что способствует ускорению процесса регенерации в 1,7 раза по сравнению со спонтанным заживлением (контролем).

3. Для половозрелых животных после применения гиалуроновой кислоты характерно более раннее увеличение фибробластов и их ранняя дифференциация в фиброциты, способствующая также развитию неоангиогенеза, но в большей степени лимфатического звена интерстициального пространства.

4. Максимальный биостимулирующий эффект гиалуроновой кислоты проявляется у пожилых животных, у молодых он менее выражен.

1. *Автандилов Г. Г.* Основы количественной патологической анатомии : учеб. пособие для слушателей последипломного образования / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 238 с.

2. *Акрамов Э. Х.* Возможности применения ангиогенина для закрытия остаточных полостей в хирургии печени / Э. Х. Акрамов, Б. К. Кулбачаев // Хирургия, морфология, лимфология. – 2004. – Т. 1, № 2. – С. 24–27.

3. *Избранные вопросы гнойной хирургии : руководство для врачей / Э. Х. Акрамов [и др.].* – Бишкек ; Новосибирск, 1999. – 540 с.

4. *Катинас Г. С.* К методике анализа количественных показателей в цитологии / Г. С. Катинас, Ю. З. Полонский // Цитология. – 1970. – Т. 12, № 3. – С. 399–403.

5. *Кузин М. И.* Синдром системного ответа на воспаление / М. И. Кузин // Хирургия. – 2000. – № 2. – С. 54–59.

6. *Кузин М. И.* Раны и раневая инфекция : руководство для врачей / М. И. Кузин, Б. М. Костюченко. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 1990. – 592 с.

THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE SURGICAL WOUND IN DYNAMICS AFTER APPLICATION HYALURONIC OF THE ACID IN AGE ASPECT

C.B. Sataev

Kirghiz-Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyzstan

In work the comparative analysis of the structural organization of a surgical wound in age aspect is lead. It is shown, that at elderly animals, in comparison with young, the capacity of a blood channel hypodermic connecting fabric on 25 % is less than space and first of all due to decrease of quantity of functioning vessels.

For adult animals after application hyaluronic acids typically earlier increase fibroblasts and their early differentiation in fibrocells, promoting also to development neovascularization, but in the greater degree of a lymphatic link connecting fabric spaces. Maximal stimulating the effect hyaluronic acids is shown at elderly animals.

Keywords: regeneration of a surgical wound, age aspect, hyaluronic an acid.