

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ КОНТАМИНИРОВАННЫХ РАНАХ

MORPHOLOGICAL CHANGES IN CONTAMINATED WOUNDS

Блинова Н.П. Валияхмедова К.В. Алексеев А.М. Бондарев О.И.
Blinova N.P. Valiakhmedova K.V. Alekseev A.M. Bondarev O.I.

Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Государственное автономное учреждение здравоохранения Кемеровской области «Новокузнецкая городская клиническая больница № 1», г. Новокузнецк, Россия

Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine, the branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education,

Novokuznetsk City Clinical Hospital No.1,

Novokuznetsk, Russia

В настоящее время частота случаев инфекций операционных ран колеблется от 3 до 65 % и не имеет тенденции к уменьшению. В связи с этим достаточно актуальным является изучение эффективности местной цитокинопрофилактики.

Цель исследования – показать эффективность препаратов рекомбинантного интерлейкина-2 при контаминированных ранах в эксперименте.

Материал и методы. С октября 2016 по июнь 2017 г. на базе вивария НГИУВа проведено экспериментальное исследование на 200 белых крысах, которые были разделены на 3 группы. Крысам выполнялся разрез кожи в области холки. Формирование инфекций области хирургического вмешательства заключалось во введении в рану 10 % каловой взвеси. Основной группе крыс производилось инъекционное введение рекомбинантного интерлейкина-2 подкожно. Проводилась макроскопическая и микроскопическая оценка раны у крыс.

Полученные результаты. Выявлены достоверные различия в макроскопической и микроскопической картине операционной раны на 3, 7, 14 и 28-е сутки ($p = 0,003$). Макроскопические и микроскопические признаки воспаления были выражены меньше в группе с введением rIL-2 по сравнению с группой без введения rIL-2 ($p = 0,002$) и сопоставимы с результатами в группе без формирования раневой инфекции ($p = 0,7$). Признаки регенерации в группе с введением rIL-2 были более выражены в сравнении с группами без введения rIL-2.

Выводы. Местное введение препаратов rIL-2 способствует благоприятному течению раневого процесса у белых крыс, уменьшает выраженность воспалительных изменений в ране, стимулирует процесс регенерации. Представляется возможным использование препаратов rIL-2 для профилактики инфекций области хирургического вмешательства.

Ключевые слова: хирургия; раневая инфекция; профилактика; рекомбинантный интерлейкин-2.

At present, the incidence of infections of surgical wounds ranges from 3 to 65 % and has no tendency to decrease, and therefore, the effectiveness of local cytokine prevention is quite relevant.

Objective – to show the effectiveness of the preparations of recombinant interleukin-2 for contaminated wounds in the experiment.

Material and methods. From October 2016 to June 2017, an experimental study of 200 white rats was carried out. The rats were distributed into three groups and underwent a cut of the skin in the withers area. The formation of wound infection consisted in the introduction of 10 % of fecal mass in the wound. The main group of the rats received the recombinant interleukin-2 subcutaneously. A macroscopic and microscopic evaluation of the wounds was carried out.

Results. The differences in the macroscopic and microscopic picture of the surgical wounds were revealed on 3rd, 7th, 14th and 28th days ($p = 0.003$). The macroscopic and microscopic signs of inflammation were less expressed in the group with the introduction of rIL-2 compared to the group without the introduction of rIL-2 ($p = 0.002$) and were comparable to the results in the group without the formation of wound infection ($p = 0.7$). The signs of regeneration in the group with the introduction of rIL-2 were more pronounced in comparison with the groups without the introduction of rIL-2.

Conclusion. Local administration of rIL-2 agents promotes the favorable course of the wound process in white rats, decreases the intensity of inflammatory processes and stimulates the regeneration process. It seems possible to use rIL-2 agents for prevention of infections in surgical intervention site.

Key words: surgery; wound infection; prevention; recombinant interleukin-2.

Проблема инфекций области хирургического вмешательства (ИОХВ) в неотложной абдоминальной хирургии имеет большое социально-экономическое значение. В настоящее время частота случаев инфекций операционных ран колеблется от 3 до 65 % и не имеет тенденции к уменьшению [1, 2]; при

этом относительный риск развития летального исхода у хирургических пациентов повышается в среднем в 2,2 раза при развитии ИОХВ [3]. Помимо этого, инфекции области хирургического вмешательства приводят к существенным материальным затратам, увеличивая стоимость лечения более чем на 54 % [2].

На настоящий момент традиционным способом профилактики послеоперационной инфекции является антибиотикопрофилактика [1, 2, 4]. Но, несмотря на проводимую в 100 % случаев антибиотикопрофилактику, у больных все же развивается инфекция области хирургического вмешательства. В

связи с этим достаточно актуальной научно-практической задачей является изучение эффективности цитокинопрофилактики [2, 6].

Учитывая то, что раневой процесс является сложным биологическим механизмом, в котором наряду с клеточными элементами соединительной ткани участвуют многочисленные факторы иммунной системы, в том числе и цитокины, изучение роли цитокинов в регуляции раневого процесса имеет важное значение. С позиции раневого процесса цитокины воздействуют как на клетки, обеспечивающие фазу воспаления (гранулоциты, макрофаги, Т-лимфоциты) и фазу регенерации (мононуклеары, фибробласты, клетки эндотелия), так и на клетки, ответственные за развитие иммунного ответа. Цитокины как основные регуляторы воспаления способны влиять на течение и исход заболевания, контролируя силу иммунного ответа и выраженность процессов регенерации [5]. Вводимый в организм рИЛ-2 обеспечивает адекватную и целенаправленную медикаментозную коррекцию иммунных дисфункций, восполняя дефицит эндогенных регуляторных молекул и полностью воспроизводя их эффект [7].

В настоящее время накоплен неплохой клинический опыт системного применения рИЛ-2 для профилактики и лечения ИОХВ. Но, несмотря на то, что влияние системного введения рИЛ-2 на лечение гнойно-воспалительных послеоперационных раневых осложнений изучено достаточно хорошо, проблема эффективности местного введения рИЛ-2 с целью профилактики ИОХВ практически не изучена [5].

Цель нашего исследования — показать эффективность препаратов рекомбинантного интерлейкина-2 при контаминированных ранах в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с октября 2016 по июнь 2017 г. на базе вивария НГИУВа — филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России проведено экспериментальное исследование на 200 белых крысах обоих полов линии Вистар массой

200–300 гр. без внешних признаков заболевания. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом НГИУВа — филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (г. Новокузнецк), протокол № 75 п. 2 от 24.10.2016. Уход и содержание экспериментальных животных были стандартными, в соответствии с требованиями приказов: Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев от 06.04.1973 г. № 1045-73, а также № 1179 МЗ СССР от 10.10.1983, № 267 МЗ РФ от 19.06.2003, «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Правилами по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных», утвержденными МЗ СССР (1977) и МЗ РСФСР (1977), принципами Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинской декларации всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996). Крысы выращивались в условиях вивария Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей при 12-часовом периоде освещения, комнатной температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$, влажности 50-70 %. Кормление животных осуществлялось согласно установленному рациону с применением комбикорма для лабораторных крыс и мышей «ПроКорм» производства акционерного общества «БиоПро» (заводской артикул Р-22; ГОСТ Р50258-92, РФ). За 18 часов перед хирургическим вмешательством крыс лишали корма, вода оставалась в свободном доступе.

Животные были разделены на три группы:

1. Контрольная группа № 1 — крысы, которым выполнен разрез кожи без формирования ИОХВ и введения рИЛ-2 (50 крыс).
2. Контрольная группа № 2 — крысы, которым выполнен разрез кожи с формированием поверхностной ИОХВ, но без введения рИЛ-2 (75 крыс).
3. Основная группа — крысы, которым выполнен разрез кожи с формированием поверхностной ИОХВ и введением рИЛ-2 (75 крыс).

Операции выполнялись под общим обезболиванием фторотаном в стерильных условиях. Крысам всех трех групп выполнялся продольный разрез кожи (длиной 2,0 см) в области холки (рис. 1) с последующим ушиванием раны. Формирование ИОХВ заключалось во введении в рану (подкожно, субфасциально) 10% каловой взвеси (рис. 2). Основной группе крыс после разреза кожи и формирования ИОХВ производилось инъекционное введение рекомбинантного интерлейкина-2 человека производства ООО «НПК БИОТЕХ» (Россия) подкожно в дозе 2500 МЕ (рис. 3).

Для оценки характера течения раневого процесса в условиях формирования ИОХВ и местного введения рИЛ-2 животные выводились из эксперимента путем передозировки эфирного наркоза поэтапно на 3, 7, 14, 28-е сутки после операции. Указанные сроки были выбраны с учетом продолжительности фаз раневого процесса.

Первым этапом проводилась макроскопическая оценка раны у живых крыс в день выведения из эксперимента (рис. 4, 5). Каждый критерий (гиперемия, отек, инфильтрация, отделяемое из раны, наличие фибрина и ограниченных скоплений гноя) оценивали по степени выраженности.

После выведения животных из эксперимента, вторым этапом отсекался участок мягких тканей в области холки на всю толщину размером 3×3 см для гистологического исследования, которое проводили на базе научно-исследовательской лаборатории патологической анатомии НГИУВ — филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Проводилась фиксация исследуемого материала в универсальном параформальдегидовом нейтральном 10% растворе в течение 24 часов при температуре 36°C в термостате ТС-80М-2. Далее выполнялось промывание материала и его обезжизнение в этиловом спирте нарастающих концентраций и ксилоле.

Полученный материал в последующем заливался парафином. Нарезка материала проводилась на санном микротоме. Были изготовлены срезы толщиной 5-7 мкм,

Рисунок 1
Разрез кожи в области холки
Figure 1
Skin incision in the withers region

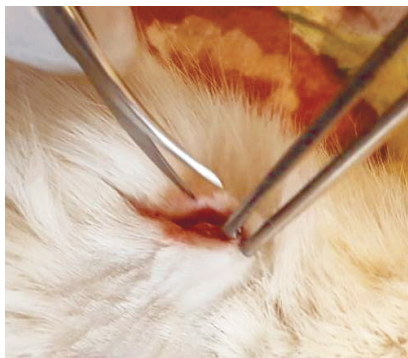


Рисунок 2
Введение в рану 10% каловой взвеси
Figure 2
Introduction of 10 % fecal mass into the wound

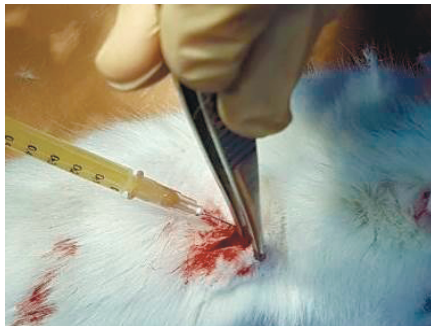


Рисунок 3
Инъекционное введение рекомбинантного интерлейкина-2.
Figure 3
Injection of recombinant interleukin-2



Рисунок 4
Макроскопический вид раны в контрольной группе № 1 и основной группе
Figure 4
Macroscopic appearance of the wound in the control group No.1 and in the main group



Рисунок 5
Макроскопический вид раны в контрольной группе № 2
Figure 5
Macroscopic appearance of the wound in the control group No.2



Рисунок 6
Микроскопическая картина – зона некроза
Figure 6
Microscopic view – necrosis region

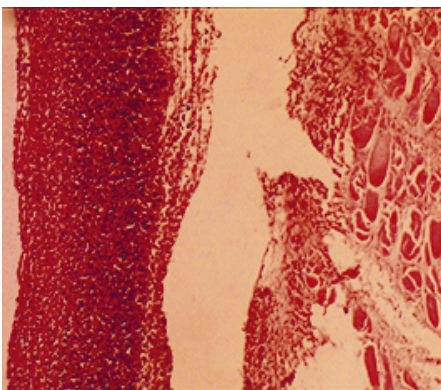


Рисунок 7
Микроскопическая картина – воспалительная инфильтрация
Figure 7
Microscopic view – inflammatory infiltration

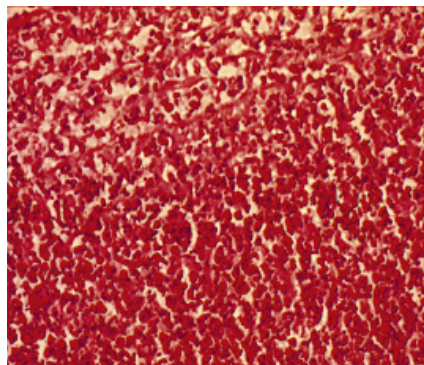
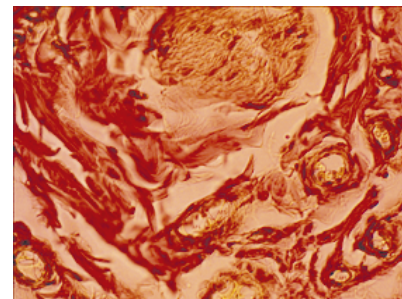


Рисунок 8
Микроскопическая картина – грануляционная ткань с признаками фиброза, полнокровные сосуды с ремодуляцией
Figure 8
Microscopic view – granulation tissue with signs of fibrosis; full-blooded vessels with remodulation



окрашены гематоксилином-эозином и по Ван-Гизону. Изучение микроскопической картины было выполнено с использованием микроскопа Nikon Eclipse E 200 с цифровой видекамерой Nikon digital sight-Fi 1, при этом была использована

компьютерная программа BioVision 4.0. В процессе морфологического исследования на срезе оценивали степень выраженности воспаления (слабая, умеренная, выраженная степень), зоны некроза, грануляции, фиброза (рис. 6-8).

При сравнении исследуемых групп использовался непараметрический критерий Манна-Уитни и критерий Крускала-Уоллиса. При уровне значимости $p < 0,05$ различия считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольной группе № 1 и в основной группе на 3-и сутки после операции местные признаки воспаления были выражены незначительно, отделяемого не было, при ревизии ран фибрин и ограниченные жидкостные скопления не обнаружены. На 7, 14 и 28-е сутки местные признаки воспаления отсутствовали.

В контрольной группе № 1 при микроскопическом исследовании на 3-и сутки воспалительная инфильтрация и зона грануляции были слабовыраженными, зона некроза умеренно выраженной, признаков фиброза не было, на 7-е сутки воспалительная инфильтрация была более выраженной, однако увеличилась зона грануляционной ткани и появились начальные признаки фиброза. На 14-е и 28-е сутки воспалительная инфильтрация уменьшилась, сохранялась прежняя выраженность грануляционной ткани и зоны фиброза. В основной группе при микроскопическом исследовании на 3-и сутки воспалительная инфильтрация и зона некроза были невыраженными, обнаружена грануляционная ткань с начальными признаками фиброза, на 7-е сутки воспалительная инфильтрация была прежней, отмечено выраженное развитие грануляционной ткани с умеренно выраженным фиброзом. На 14-е и 28-е сутки воспалительная инфильтрация была незначительной, без участков некроза, сохранялось выраженное развитие грануляционной и фиброзной ткани.

В контрольной группе № 2 на 3-и сутки послеоперационного периода были отмечены следующие особенности: умеренная гиперемия и отек, выраженная инфильтрация краев ран, поступление гнойного отделяемого, при ревизии стенки и дно были покрыты большим количеством фибрина, в стенках и на дне ран были обнаружены ограниченные скопления гноя. На 7-е сутки макроскопическая картина была прежней, из ран поступало гнойное отделяемое в небольшом количестве, сохранялись скопления гноя в стенках и дне раны. На 14-е сутки гиперемия, отек и инфильтрация ран стали незначительными, отделяемого из ран не было, однако при разведении краев ран стенки и дно были покрыты фибрином (незначительно), в них определялись гноиники. На 28-е сутки местных признаков воспаления не было, в стенках ран сохранялись единичные скопления гноя. При микроскопическом исследовании на 3-и сутки отмечена выраженная воспалительная инфильтрация с широкой зоной некроза, слабовыраженная грануляционная ткань без признаков фиброза, на 7-е сутки воспалительная инфильтрация и зона некроза были прежними, увеличилась зона грануляционной ткани, признаки фиброза по-прежнему отсутствовали. На 14-е и 28-е сутки воспалительная инфильтрация сохранялась прежней, количество некротических тканей несколько уменьшилось, сохранялась прежняя выраженность грануляционной ткани, появились начальные признаки фиброза.

ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении исследуемых групп выявлены достоверные различия в макроскопической и микроскопической картине операционной раны на 3, 7, 14 и 28-е сутки ($p = 0,003$). Дальнейший анализ выявил, что макро- и микроскопические признаки воспаления были выражены в меньшей степени в группе с введением рИЛ-2 по сравнению с группой без введения рИЛ-2 ($p = 0,002$) и сопоставимы с результатами в группе без формирования ИОХВ ($p = 0,7$). Также выявлено, что признаки регенерации в группе с введением рИЛ-2 были более выражены в сравнении с группами без введения рИЛ-2.

ВЫВОДЫ:

1. Местное введение препаратов рИЛ-2 способствует благоприятному течению раневого процесса у белых крыс, уменьшает выраженность воспалительных изменений в ране, стимулирует процесс регенерации.
2. Представляется возможным использование препаратов рИЛ-2 для профилактики инфекций области хирургического вмешательства.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Surgical infections of the skin and soft tissues. Russian national recommendations. 2th ed. Moscow: 2015. P. 10-13. Russian (Хирургические инфекции кожи и мягких тканей: российские национальные рекомендации. 2-е изд., испр. и доп. М., 2015. С. 10-13.)
2. Zubritskiy VF, Bryusov PG, Fominykh EM. The use of yeast recombinant interleukin-2 in the emergency prevention of postoperative infectious complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *Biopreparations*. 2011; 3(43): 27-31. Russian (Зубрицкий В.Ф., Брюсов П.Г., Фоминых Е.М. Использование дрожжевого рекомбинантного интерлейкина-2 в экстренной профилактике послеоперационных инфекционных осложнений у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // Биопрепараты. 2011. № 3(43). С. 27-31.)
3. Leschishin YaM. Local cytokine therapy in the prevention of surgical site infection. Abstracts of candidate of medical science. Kemerovo, 2013. 22 p. Russian (Лещишин Я.М. Местная цитокиноterapia в профилактике инфекций области хирургического вмешательства: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Кемерово, 2013. 22 с.)
4. Ostanin AA. Cytokine therapy with Roncoleukin in the complex treatment and prevention of surgical infections. St. Petersburg: Alter ego Publ., 2009. 56 p. Russian (Останин А.А. Цитокиноterapia Ронколейкином в комплексном лечении и профилактике хирургических инфекций. СПб.: Альтер Эго, 2009. 56 с.)
5. Serozudinov KV. Local cytokinotherapy in the prevention of wound complications with the injured ventral hernias. Abstracts of candidate of medical science. Kemerovo, 2013. 22 p. Russian (Серозудинов К.В. Местная цитокиноterapia в профилактике раневых осложнений при ущемленных вентральных грыжах: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Кемерово, 2013. 22 с.)

6. Ageev NL, Shamray NA, Ovechkin AV. Roncoleukin in the treatment of patients with purulent-surgical pathology: preliminary results of randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trials. *Medical immunology*. 2001; 3(2): 301. Russian (Агеев Н.Л., Шамрай Н.А., Овечкин А.В. Ронколейкин в лечении больных с гнойно-хирургической патологией: предварительные результаты рандомизированных, двойных-слепых, плацебо-контролируемых клинических испытаний // Медицинская иммунология. 2001. Т. 3, № 2. С. 301.)
7. Egorova VN, Popovich AM, Babachenko IV. Interleukin-2: a generalized clinical experience. St. Petersburg: Ultra Print Publ., 2012. 98 p. Russian (Егорова В.Н., Попович А.М., Бабаченко И.В. Интерлейкин-2: обобщенный опыт клинического применения. СПб.: Ультра Принт, 2012. 98 с.)

Сведения об авторах:

Блинова Н.П., аспирант кафедры хирургии, урологии, эндоскопии и детской хирургии, НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, врач-хирург, ГАУЗ КО НГКБ № 1, г. Новокузнецк, Россия.

Валиахмедова К.В., врач-хирург, ГАУЗ КО НГКБ № 1, г. Новокузнецк, Россия.

Алексеев А.М., к.м.н., доцент кафедры хирургии, урологии, эндоскопии и детской хирургии, НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия.

Бондарев О.И., к.м.н., доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией патологической анатомии, НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия.

Адрес для переписки:

Блинова Н.П., пр. Строителей, 5, г. Новокузнецк, Россия, 654005
Тел: +7 (950) 577-21-64
E-mail: natalihime@yandex.ru

Information about authors:

Blinova N.P., postgraduate of chair of surgery, urology, endoscopy and pediatric surgery, Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine, the branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, surgeon, Novokuznetsk City Clinical Hospital No.1, Novokuznetsk, Russia.

Valiakhmedova K.V., surgeon, Novokuznetsk City Clinical Hospital No.1, Novokuznetsk, Russia.

Alekseev A.M., candidate of medical science, docent of chair of surgery, urology, endoscopy and pediatric surgery, Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine, the branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Novokuznetsk, Russia.

Bondarev O.I., candidate of medical science, docent, chief of scientific research laboratory of pathological anatomy, Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine, the branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Novokuznetsk, Russia.

Address for correspondence:

Blinova N.P., Stroiteley, 5, Novokuznetsk, Russia, 654005
Tel: +7 (950) 577-21-64
E-mail: natalihime@yandex.ru

