

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.124.77>

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖНОЙ РАНЫ У КРЫС ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ОТДЕЛЬНОГО УЗЛОВОГО И НЕПРЕРЫВНОГО ПОДКОЖНО-ВНУТРИКОЖНОГО ШВА

Научная статья

Созыкин А.А.^{1,*}, Кивва А.Н.², Баранов П.А.³, Тышлек Ю.В.⁴

¹ ORCID : 0000-0001-9282-2156;

² ORCID : 0000-0002-0802-9364;

⁴ ORCID : 0000-0002-9698-2322;

^{1,2,4} Ростовский Государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

³ Центральная городская больница, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (aleks_sozykin[at]mail.ru)

Аннотация

Отдельные аспекты при восстановлении морфологических элементов, составляющих кожу как орган после наложения различных видов швов изучены недостаточно. Цель: выявить и сравнить некоторые структурные особенности процесса заживления кожи в лапаротомной ране, ушитой непрерывным подкожно-внутрикожным и отдельными узловыми швами у крыс в эксперименте.

Материалы и методы: созданы две экспериментальные группы крыс, которым на переднюю брюшную стенку наносился линейный хирургический разрез с наложением отдельного узлового шва и, предложенного нами (патент РФ №2631740) непрерывного подкожно-внутрикожного. Биоматериал - участки кожи вокруг ушитой кожной раны, забирался на 3,5,30-е сутки. Для изучения и оценки полученных результатов применялись методы: светооптической микроскопии, просвечивающей электронной микроскопии, иммуногистохимии и морфометрии. Результаты: Проведенное нами сравнительное экспериментальное исследование показало ряд преимуществ восстановления морфологических элементов кожи при ушивании кожи в лапаротомной ране непрерывным подкожно-внутрикожным швом: образующийся рубец более тонкий, в нем фиксируется меньшее образование коллагена, оптимальна толщина надрубцового эпидермиса, возле рубца практически восстанавливается количество волосяных луковиц и сальных желез, а также выявляется статистически достоверно большее присутствие элементов дермального микроциркуляторного кровеносного русла. Вывод: морфологические особенности регенерации кожи в лапаротомной ране указывают на более благоприятное течение репаративного процесса при применении непрерывного подкожно-внутрикожного шва по сравнению с использованием отдельного узлового шва.

Ключевые слова: клеточная регенерация, лапаротомная рана, отдельный узловой шов, непрерывный подкожно - внутрикожный шов.

MORPHOLOGICAL ASPECTS OF SKIN WOUND REGENERATION IN RATS WITH USAGE OF SEPARATE NODAL AND CONTINUOUS SUBCUTANEOUS INTRADERMIC SUTURES

Research article

Sozikin A.A.^{1,*}, Kivva A.N.², Baranov P.A.³, Tishlek Y.V.⁴

¹ ORCID : 0000-0001-9282-2156;

² ORCID : 0000-0002-0802-9364;

⁴ ORCID : 0000-0002-9698-2322;

^{1,2,4} Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

³ Central City Hospital, Rostov-on-Don, Russian Federation

* Corresponding author (aleks_sozykin[at]mail.ru)

Abstract

Certain aspects in the restoration of morphological elements composing the skin as an organ after applying different types of sutures have been insufficiently studied. Objective: to identify and compare some structural specifics of the skin healing process in the laparotomy wound sutured with continuous subcutaneous intradermic and individual nodular sutures in rats in the experiment.

Materials and methods: two experimental groups of rats were formed; they underwent a linear surgical incision on the anterior abdominal wall with a separate nodal suture and a continuous subcutaneous intradermal suture proposed by us (RF patent #2631740). Biomaterial - skin areas around the sutured skin wound were taken on the 3rd, 5th, and 30th days. The following methods were used to study and evaluate the results obtained: light optical microscopy, transmission electron microscopy, immunohistochemistry and morphometry. Results: Our comparative experimental study showed a number of advantages of skin morphological elements' restoration in the laparotomy wound by continuous subcutaneous intradermic suturing: the formed scar is thinner, less collagen formation is registered in it, the thickness of the epidermis above the scar is optimal, the number of hair follicles and sebaceous glands is almost restored near the scar, and statistically significantly more presence of elements of the dermal microcirculatory bloodstream is found. Conclusion: morphological specifics of skin regeneration in the laparotomy wound indicate a more favorable course of the reparative process when using continuous subcutaneous intradermic suture in comparison with using a separate nodal suture.

Keywords: cellular regeneration, laparotomy wound, separate nodal suture, continuous subcutaneous - intradermic suture.

Введение

Закрытие кожи является неотъемлемой частью ушивания послеоперационной раны после лапаротомии [1]. Причем тип закрытия кожи связан с возможным осложнением течения раневого регенераторного процесса [2]. Тип закрытия кожи влияет на заживление ран и косметический результат [3]. Существует множество методов ушивания кожи после лапаротомии, однако окончательный выбор в пользу какой-либо методики не совершен, и мы полностью согласны с утверждением [4] что на сегодняшний день оптимальный выбор закрытия кожи после лапаротомного разреза пока не определен. Поэтому существующая неудовлетворенность результатами наложения кожных швов у пациентов, перенесших лапаротомию, диктует необходимость дальнейшего поиска шовной техники, создающей оптимальные условия для заживления раны.

Разработанная нами (Патент РФ на изобретение №2631740) [5] методика формирования непрерывного подкожно-внутрикожного шва требует всестороннего, в том числе и морфологического изучения и сравнения с часто применяющимися способами ушивания послеоперационной раны.

Цель данной работы - в эксперименте выявить особенности процесса заживления лапаротомной кожной раны, ушитой непрерывным подкожно-внутрикожным швом и сравнить полученные результаты с результатами закрытия лапаротомной кожной раны отдельными узловыми швами.

Методы и принципы исследования

Дизайн эксперимента. Эксперимент выполнен на годовалых самках крыс чистой линии Wistar, средней массы 150-200г. Всем животным в стерильных условиях, после наркоза инъекцией препарата «Рометар», выполнялась срединная лапаротомия с последующим ушиванием послеоперационной раны. В зависимости от методики ушивания поверхностных слоев (кожи) лапаротомной раны экспериментальные животные распределялись на две группы, по двенадцать особей в каждой. Первая группа состояла из крыс, у которых кожа была ушита викрилом отдельными узловыми швами. Во вторую группу входили крысы, которым для ушивания поверхностных слоев лапаротомной раны применялся непрерывный подкожно-внутрикожный шов по предложенной нами методике [5]. Животные содержались и выводились из эксперимента согласно правилам лабораторной практики Российской Федерации (приказ МЗ РФ №267 от 2003 года) и в соответствии с принципами, изложенными в Конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986). На эту экспериментальную работу получено разрешение локального Этического комитета РостГМУ №12/19 от 27.06.2019г.

Объектом исследования служили слои кожи вокруг швов крыс, взятые на 3,5,30-е сутки после ушивания раны. Течение репаративных процессов в коже оценивали, используя гистологические срезы, изготовленные по стандартным методикам и окрашенные гематоксилином по Карацци и докрашенные эозином просматривались в светооптический микроскоп ZEISS Axio Imager Германия. Использован также метод электронной микроскопии (низковакуумный СЭМ EM6900 LV) Германия, для которого материал забирался и фиксировался в глутаральдегиде с последующей фиксацией в осмиевой кислоте. Морфометрические исследования включали: вычисление толщины эпидермиса; вычислялось количество жизнеспособных волосных фолликулов и сальных желез в дерме; оценивалась интенсивность васкуляризации сосочкового и сетчатого слоев, а также выраженность коллагена в новообразованной плотной волокнистой соединительной ткани рубца. После ушивания экспериментальной раны, используя маркеры для иммуногистохимической реакции: Ki-67, p-53 DO7, CD-34 фирмы SIGMA США, на 5-е и 30-е сутки оценивались интенсивность апоптотической гибели, пролиферативная активность, степень васкуляризации при регенерации слоев кожи в обеих экспериментальных группах. Полученные при подсчетах данные подвергались проверке на достоверность с использованием критерия Мани-Уитни.

Основные результаты

Признаков перитонита и гибели, животных после операции не было. Осложнений в послеоперационном периоде, которые можно было бы, связать с выполнением предложенного способа мы не наблюдали. Проведенное исследование через 3-е суток после ушивания лапаротомной раны установило, что наблюдаемые морфологические проявления воспалительного и репаративного процессов в коже схожи в обеих экспериментальных группах. Однако следует отметить, что в зависимости от способа наложения шва, уже четко прослеживается различие в интенсивности проявлений и объемов морфологического восстановления в кожных слоях. На всем протяжении раневого канала, наряду с жизнеспособными тканями, содержится значительное количество некротизированных тканевых участков, окруженных вновь сформированным межклеточным веществом, содержащим кровеносные микрососуды. Во всех слоях кожной раны, и прежде всего в местах прохождения лигатур, наблюдается выраженная лейкоцитарная инфильтрация, преимущественно нейтрофильного характера. Отчетливо заметен межтканевой отёк. Описанные изменения ярче проявляются у животных, перенесших наложение отдельных узловых швов. В дерме видны вновь образующиеся анастомозирующие микрососуды. Причем, эти изменения интенсивнее представлены у животных, составляющих вторую группу. Кроме того, у животных этой же группы, наблюдается менее выраженные участки некроза, что свидетельствует о более динамично протекающем фагоцитозе детрита.

Над соединительной тканью в ране на 5-е сутки эксперимента определяется организованный эпидермис. Несмотря на воссоздание первоначальной структуры, толщина надкожицы и её рогового слоя, к этому сроку эксперимента, продолжает превышать нормальные показатели, причем особенно выражена она у животных, где рана ушивалась отдельными узловыми швами. Морфологическое исследование в обеих изучаемых группах через пять суток эксперимента обнаружило молодую обильно васкуляризованную соединительную ткань ширина которой у крыс в 1-й группе – $2,3 \pm 0,3$ мм., что статистически значимо больше ($p < 0,5$ при использовании критерия Манна-Уитни) в группе с использованием непрерывного подкожно-внутрикожного шва ($1,2 \pm 0,3$ мм). В ране этой же группы отмечаются более интенсивное восстановление структуры кожных слоев и сосудов микроциркуляторного русла.

Насыщенное появление маркера Ki-67 в кератиноцитах базального слоя указывает на функциональную активность эпидермиса. Окружающие формирующийся рубец и полноценные по гистологическим критериям волосяные луковицы у крыс первой группы были обнаружены лишь в редких случаях. При этом у животных второй группы волосяные фолликулы нормального морфологического строения при исследовании раны встречались гораздо чаще, достигая в среднем концентрации 43 ± 2 штуки в $1/\text{мм}^2$.

Сходная картина наблюдалась и при изучении сальных желез. У животных второй группы по краям раны, с помощью прицельной электронной микроскопии, обнаруживались неповрежденные сальные железы. Тогда как в первой группе редко встречавшиеся сальные железы, как правило, были окружены различными видами гранулярных лейкоцитов и имели частично разрушенные секреторные отделы. В области рубца, при участии коллагеновых волокон, наблюдается образование коллагеновых конгломератов и фибриллярных пластин. Вместе с тем в сетчатом слое обнаруженные коллагеновые и, представленные в небольшом количестве, эластические волокна расположены хаотично. Неупорядоченное расположение соединительнотканых волокон более выражено при соединении кожных краёв отдельными узловыми швами. Так же в этой группе ещё остаются признаки межтканевого отёка и нарушения целостности основного компонента межклеточного вещества. В то же время у крыс второй группы очевидны проявления динамичного фибриллогенеза и более строгого упорядочения коллагеновых волокон.

Проведенное спустя пять суток после ушивания ран морфометрическое исследование установило, что средняя величина относительного объема коллагена в рубце у животных первой группы достигает $556 \pm 0,9$ мкг/мл, что статистически достоверно ($p < 0,5$ при использовании критерия Манна-Уитни) больше чем во второй группе, где этот показатель равен $301 \pm 1,12$ мкг/мл.

В шитых краях концентрация сосудов в собственно коже статически значимо ($p < 0,5$ при использовании критерия Манна-Уитни) преобладает во второй группе ($45 \pm 0,04$ %) по сравнению с аналогичным показателем определяемым во второй группе ($38 \pm 0,07$).

Через 30 суток после ушивания раны высота вновь сформированного эпидермиса превышала показатели нормы, при этом высокодостоверно ($p < 0,005$ при применении критерия Манна-Уитни) была больше при использовании отдельного узлового шва ($8,2 \pm 1,14$ мкм), чем в группе крыс где применялась новая методика ($4,1 \pm 3,18$ мкм.). При нашей методике наложения шва количество волосяных фолликулов ($64 \pm 0,93$ в 1мм^3) немного не достигало нормальных показателей, статистически недостоверно превышая аналогичные показатели у животных первой группы ($57 \pm 1,2$ в 1мм^3). В дерме околорубцовой зоны у крыс второй группы обнаруживались единичные сальные железы. Тогда как в первой группе железы не были визуализированы. Объём коллагена в рубце составил в первой группе 531 мкг/мл., а во второй группе $370 \pm 0,06$ мкг/мл. Разница этих показателей при использовании непараметрического критерия Манна-Уитни статистически достоверна.

Исследование проявлений иммуногистохимических маркеров к пятым суткам заживления позволяет утверждать, что пролиферация (оцениваемая по маркеру Ki-67) в кератиноцитах эпидермиса и клеток собственно кожи зоны регенерации раны сильнее у крыс второй группы. Развитие сосудов микроциркуляторного русла идет активнее также во второй группе, о чем свидетельствует высокий показатель CD-34. Апоптоз клеток дермы ($p-53$ DO7), был характерен, но статистически не различался для обеих групп.

В конце нашего экспериментального срока наблюдений у всех исследуемых животных реакция на иммуногистохимические маркеры апоптоза клеток дермы, кератиноцитов волосяных луковиц в регенерировавшей ране была отрицательной. А интенсивность окрашивания тканей при обработке маркерами Ki-67 и CD-34 соответствовала морфологической картине физиологической регенерации слоев кожи.

Обсуждение

Предыдущее изучение восстановления кожи после наложения непрерывного подкожно-внутрикожного шва выявило отличия при применении методики прерывистого наложения швов [6], [7], [8]. В нынешнем исследовании установлено, что процесс регенерации слоев кожи и её производных различается в зависимости от выполненной методики формирования швов. В наблюдениях, где ушивание раны выполнялось отдельными узловыми швами, на протяжении первых пяти суток эксперимента отмечались резко выраженные воспалительные изменения, сопровождаемые нейтрофильной инфильтрацией, межтканевым отеком и значительными некротическими участками. Не все структуры кожи восстанавливаются к концу наблюдений, что проявляется в формировании рубца на месте линейного хирургического разреза. Подобный исход является характерным для репаративной регенерации кожи [9], [10]. Однако большая ширина рубца, повышенное содержание в нем коллагена, значительная высота вновь сформированного эпидермиса, отсутствие вокруг рубца сальных желез, недостаточное восстановление волосяных луковиц, малое число сосудов микроциркуляции свидетельствуют о грубых морфологических изменениях, сопровождающих течение репаративного процесса в коже животных первой экспериментальной группы.

Во второй экспериментальной группе на начальных сроках заживления признаки воспаления носят умеренный характер. В лейкоцитарной инфильтрации не выявлялись нейтрофилы. Наблюдался активный фагоцитоз фрагментарных масс детрита. В конечные сроки эксперимента после наложения непрерывного подкожно-внутрикожного шва морфологические аспекты регенерации кожной раны имеют определенные особенности. Рубец на месте раны узкий, более организованный. Высота эпидермиса над раной приближается к норме, волосяные фолликулы практически сохранены, в около раневой зоне регистрируются сальные железы, а вновь образованные капилляры, вены и артериолы имеют признаки функциональной активности. По нашему мнению, вышеперечисленные структурные преимущества связаны со способом наложения предлагаемого нами варианта непрерывного шва, обеспечивающего маловыраженный тканевой валик, надежный гемостаз, плотное прилегание и точное сопоставление сшиваемых слоев кожи.

Заключение

Выявленные морфологические особенности регенерации лапаротомной кожной раны указывают на более благоприятное течение репаративного процесса при применении непрерывного подкожно-внутрикожного шва по сравнению с использованием отдельного узлового шва.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Сообщество рецензентов Международного научно-исследовательского журнала

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.124.77.1>

Conflict of Interest

None declared.

Review

International Research Journal Reviewers Community

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.124.77.1>

Список литературы / References

1. Conner S.N. Maternal Obesity and Risk of Post-Cesarean Wound Complications / S.N. Conner, J.C. Verticchio, M.G. Tuuli et al. // *Am J Perinatol.* - 2014. - № 31(4). - P. 299–304. - DOI: 10.1055/s-0033-1348402.
2. Shin T.M. How suture technique affects the cosmetic outcome of cutaneous repairs / T.M. Shin, J.S. Bordeaux // *J Drugs Dermatol.* - 2014. - № 13(8). - P. 967-969.
3. Xu B.A. Absorbable versus nonabsorbable sutures for skin closure: A meta-analysis of randomized controlled trials / B.A. Xu, B.B. Xu, L.C. Wang et al. // *Annals of Plastic Surgery.* - 2016. - Vol. 76. - Iss. 5. - P. 598-606. - DOI: 10.1097/SAP.0000000000000418.
4. Daykan Y. Skin closure at cesarean delivery, glue vs subcuticular sutures: a randomized controlled trial / Y. Daykan, M. Sharon-Weiner, Y. Pasternak et al. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* -2017. - Vol. 216. - Iss. 4. - P. 406.e1-406.e5. - DOI: 10.1016/j.ajog.2017.01.009.
5. Пат. RU 2631740 С Российская Федерация. Способ ушивания послеоперационной раны после лапаротомии / Баранов П.А., Кивва А.Н., Абрамчук В.А. и др. - № 2016142926; заявл. 31.10.2016; опубл. 26.09.2017.
6. Власов А.П. Оптимизация репаративной регенерации лапаротомной раны при механической желтухе / А.П. Власов, П.П. Зайцев, Т.И. Власова и др. // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* - 2018. - № 154(6). - С. 98–104.
7. Власов А.П. Зависимость течения репарации тканей от вида шва / А.П. Власов, В.В. Сараев, П.П. Зайцев и др. // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки.* - 2017. - № 2. - С. 5-15.
8. Мнихович М.В. Экспериментально-морфологический анализ гистогенеза кожной раны под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения / М.В. Мнихович, Н.Р. Еремин // *Вестник новых медицинских технологий.* - 2013. - № 20(2). - С. 113-120.
9. Созыкин А.А. Сравнение восстановления структур кожи в экспериментальной лапаротомной ране после хирургического ушивания прерывистым и непрерывными швами / А.А. Созыкин, А.Н. Кивва, П.А. Баранов и др. // *Международный научно-исследовательский журнал* - 2022. - № 117. - Ч. 1. - С. 143-148.
10. Ноздрин В.И. Гистофизиология кожи / В.И. Ноздрин, С.А. Барашкова, В.В. Семченко ; Мед. ин-т. - Омск; Орел.: Омская гос. мед. акад., 2008. - 279 с.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Conner S.N. Maternal Obesity and Risk of Post-Cesarean Wound Complications / S.N. Conner, J.C. Verticchio, M.G. Tuuli et al. // *Am J Perinatol.* - 2014. - № 31(4). - P. 299–304. - DOI: 10.1055/s-0033-1348402.
2. Shin T.M. How suture technique affects the cosmetic outcome of cutaneous repairs / T.M. Shin, J.S. Bordeaux // *J Drugs Dermatol.* - 2014. - № 13(8). - P. 967-969.
3. Xu B.A. Absorbable versus nonabsorbable sutures for skin closure: A meta-analysis of randomized controlled trials / B.A. Xu, B.B. Xu, L.C. Wang et al. // *Annals of Plastic Surgery.* - 2016. - Vol. 76. - Iss. 5. - P. 598-606. - DOI: 10.1097/SAP.0000000000000418.
4. Daykan Y. Skin closure at cesarean delivery, glue vs subcuticular sutures: a randomized controlled trial / Y. Daykan, M. Sharon-Weiner, Y. Pasternak et al. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* -2017. - Vol. 216. - Iss. 4. - P. 406.e1-406.e5. - DOI: 10.1016/j.ajog.2017.01.009.
5. Pat. RU 2631740 С Rossijskaja Federacija. Sposob ushivaniya posleoperacionnoj rany posle laparotomii [Russian Federation. Method of suturing postoperative wound after laparotomy] / Baranov P.A., Kivva A.N., Abramchuk V.A. et al.- № 2016142926; submt. 31.10.2016; apvt. 26.09.2017. [in Russian]
6. Vlasov A.P. Optimizacija reparativnoj regeneracii laparotomnoj rany pri mehanicheskoj zheltuhe [Optimization of Reparative Regeneration of Laparotomy Wound in Mechanical Jaundice] / A.P. Vlasov, P.P. Zajcev, T.I. Vlasova et al. // *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija [Experimental and Clinical Gastroenterology].* - 2018. - № 154(6). - P. 98–104. [in Russian]
7. Vlasov A.P. Zavisimost' techenija reparacii tkanej ot vida shva [Dependence of the Course of Tissue Reparation on the Type of Suture] / A.P. Vlasov, V.V. Saraev, P.P. Zajcev et al. // *Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Povolzhskij region. Medicinskie nauki [Proceedings of Higher Educational Institutions. Volga Region. Medical sciences].* - 2017. - № 2. - P. 5-15. [in Russian]
8. Mnihovich M.V. Jeksperimental'no-morfologicheskij analiz gistogeneza kozhnoj rany pod vlijaniem nizkointensivnogo lazernogo izlucheniya [Experimental and Morphological Analysis of Skin Wound Histogenesis under the Influence of Low

Intensity Laser Radiation] / M.V. Mnihovich, N.R. Eremin // Vestnik novyh medicinskih tehnologij [Bulletin of New Medical Technologies]. - 2013. - № 20(2). - P. 113-120. [in Russian]

9. Sozykin A.A. Sravnenie vosstanovlenija struktur kozhi v jeksperimental'noj laparatomnoj rane posle hirurgicheskogo ushivaniya preryvistym i nepreryvnymi shvami [Comparison of Skin Structural Repair in Experimental Laparatomic Wound after Surgical Suturing with Interrupted and Continuous Sutures] / A.A. Sozykin, A.N. Kivva, P.A. Baranov et al. // Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal [International Scientific Research Journal] - 2022. - № 117. - Pt. 1. - P. 143-148. [in Russian]

10. Nozdrin V.I. Gistofiziologija kozhi [Skin Histophysiology] / V.I. Nozdrin, S.A. Barashkova, V.V. Semchenko; Med. institute. - Omsk; Orel.: Omsk State Medical Academy., 2008. - 279 p. [in Russian]