

© Коллектив авторов, 2012

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МНОГОСЛОЙНЫХ ТОНКОПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ ДЛЯ ПОЛНОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ ПРИ ИХ ГЛУБОКИХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

И.Е. Никитюк, В.В. Петраш, В.А. Кубасов

ФГБУ «Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера» Минздравсоцразвития России, ФГУП «НИИ промышленной и морской медицины» ФМБА, ФГУП «НИИ электрофизической аппаратуры им. Д.В. Ефремова», Санкт-Петербург

В эксперименте исследовалось влияние многослойного тонкопленочного раневого покрытия на регенерацию кожных покровов при их глубоких повреждениях у 18 кроликов породы шиншилла. На спине кроликов иссекали участки кожи до фасции размером 40×40 мм. У животных опытной группы рану закрывали многослойным покрытием, состоящим из 50 пленок лавсана, металлизированного алюминием. В контрольной группе использовали однослойное раневое покрытие, представленное тонкой пластиной алюминия. У всех животных контрольной группы в течение 1–2 нед в ранах развились гнойно-некротические процессы. У кроликов опытной группы заживление ран протекало без клинических признаков воспаления; через 6 нед в области глубокого кожного дефекта сформировался полноценный регенерат, имеющий толщину и структуру, характерную для нормальной кожи. Сделан вывод о перспективности использования принципа многослойности при разработке покрытий для лечения глубоких, но небольших кожных ран различной этиологии в случаях, когда требуется высокое качество дермального регенерата.

Ключевые слова: кожная рана, регенерация кожи, раневые покрытия.

Use of Multilayer Thin-Film Coatings for Complete Restoration of Integument in Its Deep Damage (Experimental Study)

I.E. Nikityuk, V.V. Petrash, V.A. Kubasov

The effect of multilayer thin-film wound coatings upon regeneration of skin in its deep damage was studied 18 Chinchilla rabbits. Full-layer skin wounds 40 x 40 mm were inflicted on the back of the animals. In experimental group of animals the wounds were closed by multilayer coatings consisting of 50 aluminum metalized lavsan films. In control group one layer coating with thin aluminum plate was used. In all control animals the pyonecrotic wound processes developed within 1 – 2 weeks after intervention. In experimental rabbits the wound healing process showed no clinical signs of inflammation. In 6 weeks a full value regenerate in the zone of deep skin damage was formed. Its thickness and structure was typical of normal skin. Principle of multilayer coatings is perspective for the elaboration of coatings at treatment of deep and small wounds of various etiology when high quality of dermal regenerate is required.

Key words: skin wound, skin regeneration, wound coatings.

Лечение обширных глубоких поражений кожи различного происхождения является одной из важнейших проблем современного здравоохранения. Особое клиническое значение приобретает проблема регенерации кожи в связи с острой необходимостью разработки эффективных методов полного восстановления дефектов кожного покрова, особенно возникших в результате тяжелой ожоговой травмы. В литературе опубликованы данные значительного числа исследований, посвященных поиску новых лечебных мероприятий, способствующих быстрому заживлению полнослойных кожных ран. В основе большинства существующих методов лечения глубоких повреждений кожи лежат технологии пересадки дермальных тканей в различных модификациях. Все более широкое распро-

странение получают технологии выращивания клеточных культур (кератиноцитов и фибробластов) с последующей их трансплантацией на раневые поверхности. Однако методы культивации культур клеток кожи чрезвычайно дороги и требуют сложного оборудования. Кроме того, в организме реализуются собственные резервные механизмы по воспроизведению тканевых структур, активность которых при чрезвычайных обстоятельствах увеличивается в десятки и даже сотни раз [12]. Источниками клеток-предшественников при гистогенезе кожных покровов являются стволовые клетки из органов костномозгового кроветворения, которые мигрируют через сосудистое русло в дермальную ткань, а также местные соединительно-тканевые клетки — перициты, которые дифферен-

цируются в фибробласты [6]. Работы по поиску оптимального окружения раневой поверхности, способствующего регенерации кожи за счет репаративного потенциала собственных клеток организма, отражают современные потребности медицины в идеальной системе лечения ран и служат основой для развития новых технологий регенеративной хирургии в аспекте восстановления кожного покрова. Предпринимаются попытки повысить регенераторные возможности дермальных тканей путем воздействия на них низкоинтенсивными полями электромагнитной природы [4]. Широкое клиническое применение нашли электромагнитные волны оптического диапазона частот [5]. В настоящее время электромагнитные волны рассматривают как конкретный физический фактор — носитель биологической информации, с помощью которого можно изменять активность клеток, определяя последовательность и направление их развития [8]. Кроме того, клетки организма человека и животных вследствие непрерывно протекающих в них квантовых и биохимических превращений сами являются источниками широкого спектра электромагнитных излучений [1]. Причем доказана возможность активизации метаболических процессов в биотканях путем воздействия на них собственным отраженным электромагнитным излучением [9].

Целью настоящего экспериментального исследования было в условиях микробно контаминированной глубокой кожной раны изучить воздействие на ее поверхность специального покрытия, способного отражать и преобразовывать электромагнитные волны, в аспекте объемной регенерации дермальных тканей без использования антибактериальных препаратов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 18 кроликах породы шиншилла обоих полов в возрасте от 4 до 6 мес.

В *опытной* группе для 12 животных по размеру и форме раны предварительно было собрано многослойное раневое покрытие, изготовленное из 50 слоев полупрозрачных металлизированных полимерных пленок. Выбор количества слоев в покрытии был обусловлен следующим. Известно, что уже в 30-слойных структурах в физических экспериментах хорошо проявляется эффект усиления электромагнитных полей. В наших опытах изучалось биологическое воздействие многослойного покрытия, которое ранее не оценивалось, поэтому было решено увеличить количество слоев до 50. Большее количество слоев было делать нецелесообразно, чтобы избежать слишком большой толщины покрытия.

Каждый слой покрытия был представлен полимером — лавсаном (полиэтилентерефталатом) толщиной 12 мкм, с одной стороны которого напылен тонкий слой алюминия толщиной 250 нм. Слои пленок скрепляли шелковыми нитями

(рис. 1, а). Алюминий, несмотря на свою довольно высокую химическую активность, в данном случае не мог оказать какого-либо химического воздействия на биологические ткани благодаря наличию на его поверхности тончайшей пленки естественного окисла Al_2O_3 , который является чрезвычайно инертным соединением. Несмотря на малую толщину — 100 нм, этот слой окисла не только защищает пленку алюминия от внешней среды, но и предотвращает воздействие алюминия на биологические ткани.

При выборе покрытия для 6 животных *контрольной* группы руководствовались следующими соображениями. Основной целью работы было выявить биологические механизмы действия многослойного покрытия без дополнительного использования каких-либо методик с антибактериальным эффектом. Поэтому для подтверждения эффекта «многослойности» в контроле использовали однослойное покрытие, которое не оказывало какого-либо лечебного воздействия и не являлось изделием медицинского назначения. При выборе контрольного покрытия акцент делался на жесткости его конструкции, способности предотвращать стягивание краев раны в процессе ее заживления. Этому условию удовлетворяло покрытие, которое было представлено тонкой пластинкой алюминия толщиной 100 мкм (рис. 1, б).

У каждого кролика на спине в межлопаточной области выстригали шерсть и в соответствии с Международными требованиями и Европейской Конвенцией по гуманному отношению к экспериментальным животным под местным обезболиванием 0,25% раствором новокаина иссекали участки кожи до фасции размером 40×40 мм (рис. 2, а). Для обеспечения стерильности все покрытия перед операцией выдерживали в течение суток в 96% растворе этилового спирта. В обеих группах животных на период наблюдения покрытия фиксировали к краям раны узловыми швами. Причем в опытной группе эту манипуляцию проводили таким образом, чтобы слои металла были обращены к ране, а слои полимера — кнаружи (рис. 2, б).

В контрольной группе покрытия удаляли через 1 и 2 нед — в связи с выраженностью гнойно-некротических процессов в ране срок наблюдений был ограничен в соответствии с Конвенцией по гуманному отношению к животным. В опытной группе наблюдение велось в течение всего периода формирования кожного регенерата; покрытия удаляли через 1, 2, 4 и 6 нед после нанесения раны. Процессы, происходящие в дермальных тканях, изучали классическим гистологическим методом. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В *контрольной* группе животных при использовании раневого покрытия, представленного одним слоем алюминия, в период наблюдения от 1 до 2 нед в области кожного дефекта развились нек-

ротические процессы. После снятия покрытия на дне раны выявлялся слой некротически измененных тканей белого цвета и вязкой консистенции, по внешнему виду напоминающих гомогенную «творожную» массу (рис. 3, а). Такое гнойно-некротическое течение воспалительных процессов у кроликов весьма характерно для подкожного, т. е. закрытого, развития инфекционного процесса. Эти воспалительные реакции у кроликов отличаются от таковых при небольших открытых кожных ранах, когда наблюдается серозное отделяемое, при этом сами раны быстро заживают за счет выраженной контракции краев. Таким образом, при использовании покрытия из одного слоя листового алюминия создались условия, характерные для закрытого течения раневого процесса. В гистологических срезах дна раны (рис. 3, б) отчетливо определялся слой гнойно-некротически измененных тканей, характеризовавшейся обильной инфильтрацией лейкоцитов, наличием большого числа распадающихся клеток. После снятия однослойного покрытия происходила контракция краев раны, которая заживала в дальнейшем под струпом с формированием рубцовой ткани, при этом обязательным условием благоприятного течения процесса являлось дополнительное использование антибиотикотерапии.

Отличительной особенностью течения раневого процесса у кроликов *опытной* группы являлось отсутствие за весь период наблюдения клинических признаков воспаления и экссудации отделяемого в ране. Макроскопически через 1 нед после операции дно раны было покрыто тонкой прозрачной пленкой малодифференцированной соединительной ткани, не спаянной с прилегающей поверхностной фасцией. Через 2 нед после операции кожный регенерат под многослойным покрытием по периферии был покрыт эпителием. Не покрытая эпителием центральная часть регенерата была красного цвета и имела округлую форму размером 8–10 мм.

При гистологическом исследовании на ранних этапах эксперимента в области кожного

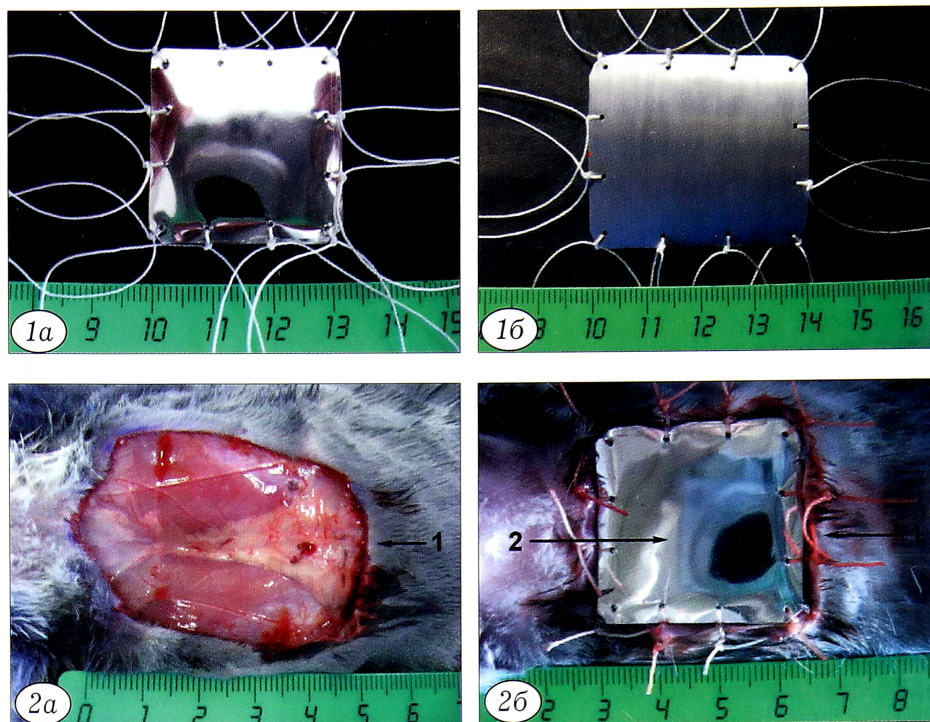


Рис. 1. Типы использованных раневых покрытий. а — многослойное; б — однослойное.

Рис. 2. Глубокая кожная рана на спине кролика. а — сразу после создания дефекта; б — сразу после установки многослойного покрытия.

дефекта наблюдалось формирование неспецифической грануляционной ткани, представленной многочисленными мелкими и некрупными кровеносными сосудами, располагающимися в рыхлой, отечной клеточно-волокнуистой соединительнотканной строме, с большим количеством «клеток воспаления» — полиморфно-ядерных лейкоцитов, лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов. К концу 2-й недели заживления области поражения она постепенно замещалась клеточно-волокнуистой фиброзной тканью, представленной «молодыми» соединительнотканскими клетками — фибробластами — с хорошо выраженной оксифильной цитоплазмой и довольно крупными овальными умеренно базофильными ядрами (рис. 4, б). Отме-

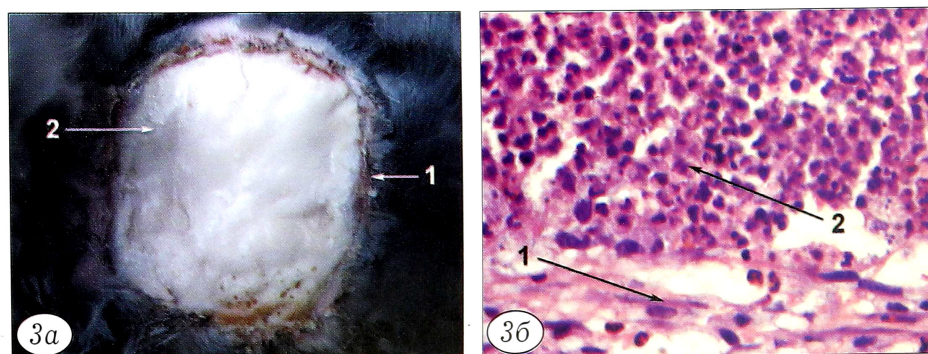


Рис. 3. Кожная рана на спине кролика контрольной группы через 2 нед после повреждения (однослойное покрытие удалено).

а — общий вид раны, б — гистологический срез дна раны: 1 — слой клеточно-волокнуистой фиброзной ткани; 2 — слой гнойно-некротически измененных тканей (окраска гематоксилином и эозином, ув. 600).

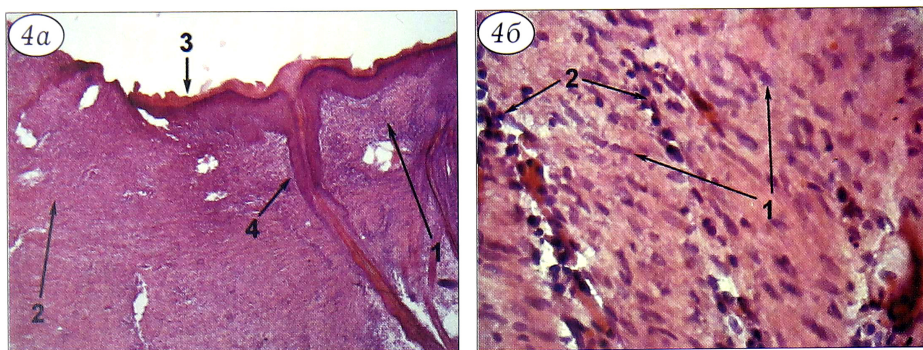


Рис. 4. Гистологический срез кожной раны спины кролика под многослойным покрытием в опыте через 2 нед после повреждения.

a — граница «край раны — регенерат»: 1 — край кожной раны; 2 — кожный регенерат; 3 — краевая эпителизация; 4 — сохранившийся волосяной фолликул на границе поврежденных и intactных тканей (окраска гематоксилином и эозином, ув. 100); *б* — кожный регенерат: 1 — фибробласты; 2 — очаги инфильтрации лейкоцитами (окраска гематоксилином и эозином, ув. 600).

чались остаточные проявления острого воспаления в виде очаговой, неравномерно выраженной лейкоцитарной инфильтрации. Таким образом, наблюдавшиеся морфологические изменения можно было расценить как проявления обычной тканевой реакции, характерной для заживления

не был спаян с прилежащими тканями, при пальпации свободно скользил по глубже лежащим мышцам. Гистологически регистрировали признаки дальнейшего созревания фиброзной ткани, состоявшей главным образом из коллагеновых волокон и клеток соединительной ткани (фибро-

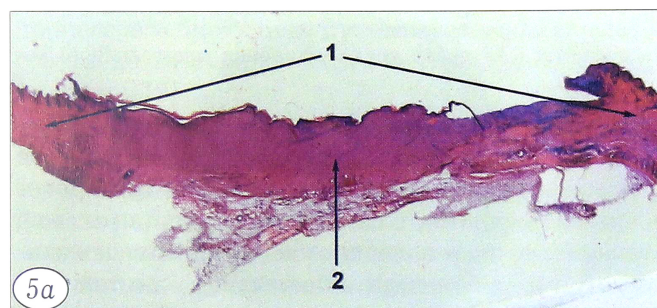


Рис. 5. Гистологический срез кожной раны спины кролика под многослойным покрытием в опыте через 4 нед после повреждения.

a — гистограмма раны: 1 — края кожной раны; 2 — кожный регенерат, имеющий толщину, соответствующую толщине окружающих кожных покровов (окраска гематоксилином и эозином, ув. 5); *б* — кожный регенерат: 1 — слой ороговевающего эпителия; 2 — слой созревающей фиброзной соединительной ткани (окраска гематоксилином и эозином, ув. 100); *в* — кожный регенерат: 1 — фиброциты; 2 — единичные лейкоциты (окраска гематоксилином и эозином, ув. 600).

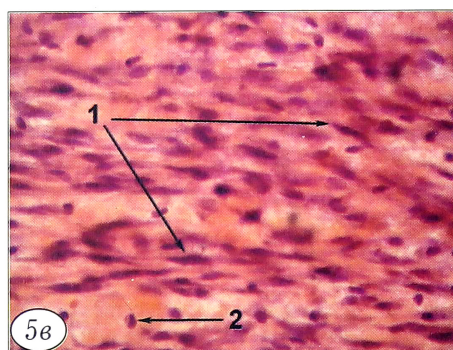


Рис. 6. Заживление кожной раны на спине кролика опытной группы.

a — через 6 нед после установки многослойного покрытия; *б* — сразу после удаления многослойного покрытия: 1 — край кожной раны; 2 — многослойное покрытие; 3 — кожный регенерат.

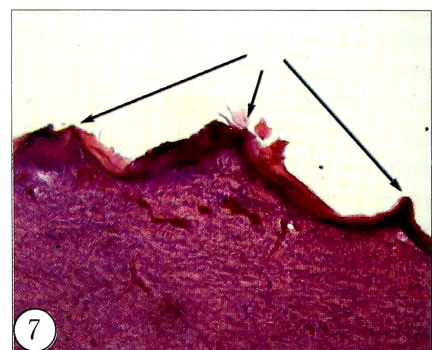
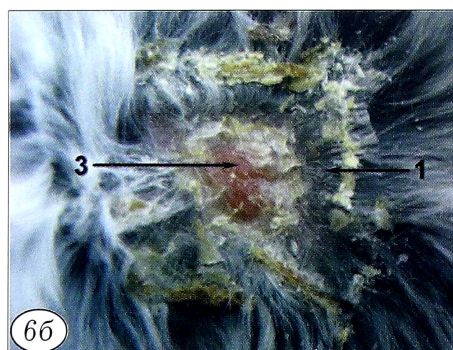
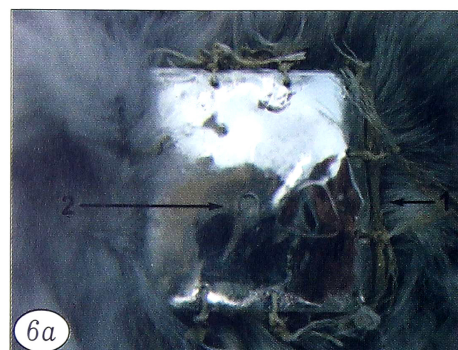


Рис. 7. Гистологический срез кожной раны спины кролика под многослойным покрытием в опыте через 6 нед после повреждения. Неровная поверхность центрального участка кожного регенерата покрыта пластом эпидермиса разной толщины (указан стрелками) (окраска гематоксилином и эозином, ув. 100).

бластов и фиброцитов), многие из которых по своим морфологическим характеристикам в большей степени соответствовали фиброцитам. Они имели вытянутую форму, веретенообразные гиперхромные ядра, узкий, слабо различимый «ободок» оксифильной цитоплазмы (рис. 5, в). Общее количество соединительнотканых клеток было довольно значительным, однако все же несколько меньшим по сравнению с таковым в 2-недельных регенератах (рис. 5, б); встречались единичные полиморфно-ядерные лейкоциты. В отличие от кожных дефектов, замещающихся грубоволокнистой рубцовой тканью при обычных условиях, сформировавшийся под многослойным раневым покрытием в те же сроки регенерат был весьма эластичен, имел полупрозрачный вид, о чем свидетельствовали просвечивавшиеся через его толщу кровеносные сосуды.

Спустя 6 нед многослойное покрытие стабильно удерживалось на ране, не причиняя беспокойства кролику (рис. 6, а). К концу этого периода значительная часть раневой поверхности регенерата представлялась закрытой тканевым покровом, имевшим почти обычное количество волосяных элементов, за исключением небольшого, неравномерно красновато-сероватого участка, расположенного в центре регенерата (рис. 6, б). Макроскопически этот участок характеризовался шероховатостью, типичной для кожи животных этого вида. При световой микроскопии также была отмечена неровность его наружной поверхности, покрытой пластом эпидермиса неодинаковой толщины, под которым располагалась клеточно-волоконистая рубцовая ткань (рис. 7). После удаления многослойного раневого покрытия участки регенерата, не содержавшие волосяных фолликулов, выглядели полностью покрытыми волосяным покровом за счет остаточной контракции регенерата и сближения краев раны к центру.

ОБСУЖДЕНИЕ

Широко распространено мнение, что заживление полнослойных кожных ран у человека и животных заканчивается однотипно – образованием рубца. Вероятно, поэтому в настоящее время невелик удельный вес исследований, посвященных изучению влияния тех или иных факторов на качество и полноту восстановления кожных покровов. Высказано предположение о возможности искусственно формировать модели объемных упорядоченных тканевых структур и соответственно им направлять трансформацию регенерирующих клеток [11]. Генерируемые этими клетками электрические потенциалы и их фотонно-волновые взаимодействия, по всей вероятности, являются небезразличными для организма и могут при определенных условиях выполнять регулируемую функцию: служить информационными сигналами для регуляторных систем, способных изменять свойства формирующихся клеточных структур [3, 10].

Вопрос заключается в нахождении технологий создания этих «определенных условий» для регенерирующих тканей.

Ранее уже предпринимались попытки использовать с лечебной целью тонкие листки металла, изготовленные из серебра [14], алюминия, свинца, золота [2] для аппликации на неглубокие ожоговые раны. В настоящем исследовании с глубокими ранами в контрольной серии также были использованы однослойные алюминиевые покрытия, однако в результате через 1–2 нед в ране наблюдались гнойно-некротические изменения.

Совершенно иной результат регенерации был достигнут в серии опытов с многослойным покрытием, состоящим из чередующихся слоев металла и диэлектрика.

Биофизические механизмы полученного эффекта пока неясны и, несомненно, требуют глубокого исследования. На данном этапе можно высказать лишь гипотезы.

Во-первых, использованное многослойное покрытие, исходя из его структуры, можно рассматривать как многослойный конденсатор, оказывающий электростатические влияния на регенерирующие ткани. Однако сведение регенерационного процесса только к электростатике вряд ли правомерно.

Во-вторых, покрытие — это слоистая периодическая структура, состоящая из чередующихся слоев материалов с различными физическими характеристиками. Подобные структуры обладают свойством преобразовывать в частотном спектре и усиливать электромагнитное излучение [13]. Несмотря на то что в биологическом аспекте свойства подобных структур практически не изучены, отмечен эффект их дистанционного взаимодействия с кожными тканями, проявляющийся в повышении жизнеспособности последних [7].

Следует также отметить, что металловансовое многослойное покрытие не пропускает воздух, поэтому логично было бы ожидать развития воспалительных процессов в создавшихся благоприятных условиях. Однако ни в одном случае в опытной группе клинически воспалительных явлений отмечено не было. Причина, возможно, заключается в следующем. Как уже было сказано выше, на каждой лавсановой пленке (диэлектрик) с одной стороны был напылен слой алюминия толщиной около 250 нм, на поверхности которого всегда присутствует пленка естественного окисла алюминия Al_2O_3 толщиной около 100 нм, являющаяся кристаллическим диэлектриком. Таким образом, имеет место слоистая периодическая структура, представляющая собой объемную дифракционную решетку, масштаб периодичности которой составляет сотни нанометров. В такой структуре вполне возможно преобразование исходящего от раневой поверхности инфракрасного излучения в более коротковолновый диапазон длин волн (закон Брэгга) с присутствием гармоник, обуславливающих нор-

мализацию течения регенерационных процессов, а также создающих условия, препятствующие развитию воспалительных явлений в ране.

Заключение. Применение разработанного нами раневого покрытия, активный компонент которого представлен чередующимися тончайшими слоями металла (алюминия) и кристаллического диэлектрика (оксида алюминия), позволяет существенно повысить качество формирующегося регенерата кожи. К его особенностям следует отнести полное восстановление их толщины при глубоких дефектах, а также отсутствие воспалительных явлений в ране. Принцип многослойности может быть использован при разработке химически и биологически инертных покрытий для лечения глубоких, но небольших кожных ран различной этиологии в случаях, когда требуется высокое качество дермального регенерата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов В.Ф. Биофизика: учеб. для студ. высш. учеб. заведений. — М., 2003.
2. Арьев Т.Я. Термические поражения. — Л., 1966.
3. Бурлаков А.Б., Бурлакова О.В., Королев Ю.Н. Дистантное оптическое взаимодействие эмбрионов низших позвоночных в процессе развития //Онтогенез. — 1999. — Т. 30, № 6. — С. 471–473.
4. Воробьев М.Г., Пономаренко Г.Н. Практическое пособие по электро- и магнитотерапии. — СПб., 2002.
5. Герасимова Л.И. Лазеры в хирургии и терапии термических ожогов: Руководство для врачей. — М., 2000.
6. Назаренко Г.И., Сугурова И.Ю., Глянцев С.П. Рана. Повязка. Больной. Современные медицинские технологии. — М., 2002.
7. Никитюк И.Е., Петраш В.В., Кубасов В.А. Дистанционное влияние слоистых периодических структур на жизнеспособность изолированных кожных трансплантатов //Междунар. конгр. «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине», 5-й: Сб. Тезисов. — СПб, 2009. — С. 130.
8. Новиков А.С., Субботина Т.И., Хадарцев А.А. и др. Межорганизменный перенос физиологической информации в проходящем электромагнитном излучении //Вестн. новых мед. технологий. — 2006. — Т. XIII, № 1. — С. 155–157.
9. Петраш В.В., Боровков Е.И., Довгуша В.В. и др. Аутооптический эффект //Доклады РАН. — 2004. — Т. 396, № 3. — С. 410–413.
10. Петраш В.В., Никитюк И.Е. Использование эффектов фотонно-волновых взаимодействий биосистем с веществом в продлении жизнеспособности изолированных кожных лоскутов //Вестн. Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. — 2007 — № 1. — С. 118–121.
11. Савостьянов Г.А. Принципы пространственной организации клеточных пластов // Биофизика. — 2001. — Т. 46, Вып. 3. — С. 512–517.
12. Саркисов Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. — М., 1987.
13. Aktsipetrov O.A., Dolgova T.V., Fedyanin A.A. et al. Magnetization-induced second- and third harmonic generation in magnetophotonic crystals //J. Optical Soc. Am. — 2005. — Vol. 22, № 1. — P. 176–186.
14. Hein W. Der heutige Stand der ertlichen Verbrennungsbehandlung //Der Chirurg. — 1957. — Bd. 28, № 3. — S. 127–135.

Сведения об авторах: Никитюк И.Е. — канд. мед. наук, ведущий науч. сотр. лаборатории физиологических и биомеханических исследований НИДОИ им. Г.И. Турнера; Петраш В.В. — доктор биол. наук, зав. лабораторией медико-биологических технологий НИИ промышленной и морской медицины; Кубасов В.А. — канд. физ.-мат. наук, старший науч. сотр. Центра микроимпульсных технологий НИИЭФА им. Д.В. Ефремова.

Для контактов: Никитюк Игорь Евгеньевич. 196603, Санкт-Петербург, г. Пушкин, ул. Парковая, дом 64–68, НИДОИ им. Г.И. Турнера. Тел.: 8 (812) 465-28-57, 8 (951) 641-24-54. E-mail: femtotech@mail.ru

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статей в редакцию просим обращать особое внимание на правильность представления иллюстративного материала.

Прилагаемые иллюстрации (фотографии, рисунки, чертежи, диаграммы) по качеству должны быть пригодными для полиграфического воспроизведения. Фотографии должны быть контрастными, рисунки — четкими, чертежи и диаграммы выполняются тушью или печатаются на принтере с высоким разрешением. Один экземпляр рисунка дается с дополнительными обозначениями (стрелки, буквы и т.п.), второй — без обозначений. На обороте каждой иллюстрации ставятся номер рисунка, фамилия автора и пометки «верх» и «низ». Фотоотпечатки с рентгенограмм желательно присылать со схемой.

Иллюстрации могут быть представлены в электронной версии — обязательно как отдельные графические файлы (без дополнительных обозначений — стрелок, букв и т.п.): в формате TIFF (разрешение 400 dpi), векторные рисунки — в виде публикации Corel Draw, диаграммы — в виде таблиц данных Excel. Используются следующие типы носителей: CD, DVD, Flash-носители, дискеты 1,44 MB, возможна доставка материала по электронной почте. При этом обязательно прилагаются распечатанные иллюстрации.

Подписи к рисункам печатаются на отдельном листе с указанием номера рисунка. В тексте обязательно дается ссылка на каждый рисунок. В подписях приводится объяснение значения всех кривых, букв, цифр и других условных обозначений. В подписях к микрофотографиям указывается увеличение (окуляр, объектив) и метод окраски или импрегнации материала.