

УДК 616-089.819.84-092.4:615.468.6

УКРЕПЛЕНИЕ ТОНКОКИШЕЧНОГО ШВА С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

¹Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

²ФГБУН ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск

³Краевая клиническая больница, г. Барнаул

Жариков А.Н.¹, Лубянский В.Г.¹, Гладышева Е.К.², Скиба Е.А.², Будаева В.В.², Семенова Е.Н.³

В экспериментальных исследованиях на 5 собаках изучена возможность герметизации тонкокишечного шва с применением новых материалов. Были использованы пластины влажной (99%) бактериальной наноцеллюлозы, которая была получена путем культивирования в синтетической питательной среде ферментативного гидролизата мискантуса (лаборатория биоконверсии ФГБУН ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск). Продуцентом явилась культура *Medusomyces gisevii*, известная как «чайный гриб», представляющая собой симбиотическую культуру, состоящую из разных видов уксуснокислых бактерий и дрожжей. Во время лапаротомии к шву раны тонкой кишки фиксировалась пластина бактериальной целлюлозы, а затем через 14 и 45 суток проводилась релапаротомия, во время которой визуально оценивался фиксированный материал, его взаимодействие с тонкой кишкой. В дальнейшем выполнялась резекция кишки для проведения морфологического исследования. Установлена хорошая фиксация материала на тонкой кишке с формированием вокруг капсулы, отсутствие гнойных осложнений, наличие активных репаративных процессов в области кишечного шва, усиливающиеся к 45 суткам послеоперационного периода.

Ключевые слова: кишечный шов, бактериальная целлюлоза.

In experimental studies on 5 dogs, there was studied the possibility of sealing the small-intestine suture using new materials. Plates of wet (99%) bacterial nanocellulose were used, obtained by cultivating the inoculum in a synthetic nutrient medium of an enzymatic hydrolyzate of miscanthus (laboratory of bioconversion FSBUN IPHET SB RAS, Biysk). The producer was a culture of *Medusomyces gisevii*, known as "Kombucha", which is a symbiotic culture consisting of different types of acetic acid bacteria and yeast. During laparotomy, a plate of bacterial cellulose was fixed to the suture of the wound of the small intestine, and then after 14 and 45 days a relaparotomy was performed, during which the fixed material and its interaction with the small intestine were visually evaluated. Later resection of the intestine for morphological studies was performed. There was determined a good fixation of the material on the small intestine with the formation around the capsule, the absence of purulent complications, the presence of active reparative processes in the region of the intestinal suture, increasing to the 45th day of the postoperative period.

Key words: intestinal suture, bacterial cellulose.

В абдоминальной хирургии случаются ситуации, когда приходится накладывать кишечные швы при большом риске их нестойкости: межкишечные анастомозы в условиях перитонита, кишечной непроходимости, панкреатокишечные анастомозы у больных с раком поджелудочной железы или хроническим панкреатитом [1]. В связи с этим в хирургии применяются различные методы укрепления кишечного шва: фибрин-коллагеновые пластины «Тахокомб», клей «Сульфакрилат», клей «Тиссукол-Кит», клеи на криопреципитатной основе и т.д. Использование их бывает ограничено в связи с некоторыми отрицательными свойствами либо дороговизной. Поиск и использование новых наноматериалов может способствовать созданию дополнительной герметизации проблемных кишечных швов. Бактериальная наноцеллюлоза (БНЦ) – органический мате-

риал, синтезируемый внеклеточно микроорганизмами. Молекулярная формула и наноструктура БНЦ, соответствуют целлюлозе, выделенной из растительного сырья, но при этом БНЦ за счет трехмерной структуры, образованной волокнами, обладает более высокой кристалличностью, модулем прочности на разрыв, водопоглощающей способностью, пластичностью [2]. Она широко используется в текстильной, бумажной и пищевой промышленности [3, 4, 5]. Некоторые свойства бактериальной целлюлозы, такие как пористость, влажность, нетоксичность и биосовместимость, высокая прочность делают пригодными эти материалы для биомедицинских применений, включая инженерию костной ткани [6], формирование кровеносных сосудов в микрохирургии [7, 8, 9] и сосудистых стентов [10], для лечения ожогов [11] и восстановления кожи [12], для замены хрящевой

ткани уха [13], регенерации нервов [14], лечения трофических язв [15, 16], замены твердой мозговой оболочки [17], лечения заболеваний пародонта [18].

Цель исследования: в эксперименте изучить возможности применения бактериальной целлюлозы для герметизации межкишечных швов на разных сроках послеоперационного периода.

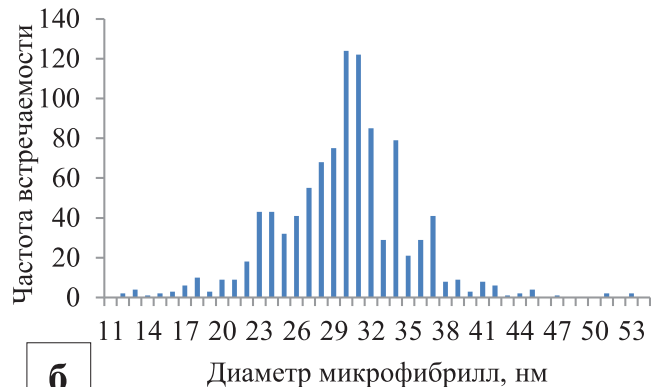
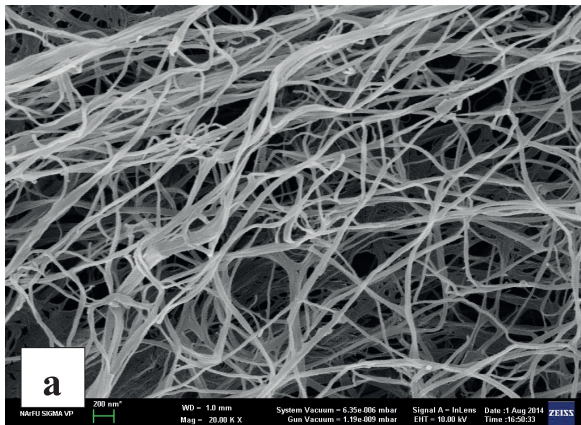


Рисунок 1а – фото сетчатой наноструктуры БНЦ (увеличение в 20 000 раз), б – распределение значений диаметра микрофибрилл образца БНЦ, полученной на синтетической питательной среде

Продуцентом явилась культура *Medusomyces gisevii*, известная как «чайный гриб», представляющая собой симбиотическую культуру, состоящую из разных видов уксуснокислых бактерий и дрожжей. Под общей анестезией с соблюдением международных норм гуманного обращения с животными (Европейская конвенция «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях», Страсбург, 1986 г.) в стерильных условиях операционного блока кафедры общей хирургии, оперативной хирургии и топографической анатомии Алтайского государственного медицинского университета 5 собакам выполнялась лапаротомия, в срединную рану выводилась петля тонкой кишки, на которую наносилась рана в поперечном направлении до 1 см длиной с последующим ее зашиванием 2 узловыми швами (Vicril 4,0). Для дополнительного закрытия кишечных швов использовался отрезок БНЦ размером 1,5х2,5 см. Так как БНЦ является влажной гель-пленкой (соотношение сухого полимера/вода около 1/100), то самостоятельное приклепление к кишке было затруднительно вследствие низкой ее адгезионной способности. Для того чтобы обеспечить фиксацию, материал фиксировался к серозной оболочке тонкой кишки путем наложения 6 серозно-мышечных швов (рисунок 2а, б).

В ряде случаев фиксация пластины БНЦ на кишечных швах достигалась без наложения швов с укреплением материала с помощью

Материал и методы

В качестве материала для экспериментальных исследований были использованы пластины влажной (99%) бактериальной целлюлозы (БНЦ), которая была получена путем культивирования в синтетической питательной среде ферментативного гидролизата мискантуса (лаборатория биоконверсии ФГБУН ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск). Наноструктура БЦ представлена на рисунке 1.

фибринового сгустка, образующегося при смешивании сухого криопреципитата (показано стрелкой), и раствора, включающего 150 ед. НН/мл тромбина и 10 мл аминокaproновой кислоты (рисунки 3а, б).

Известно, что криопреципитат содержит высокоадгезивные белки плазмы крови, (фибронектин, фибриноген, факторы свертывания крови), причем в сухом лиофилизированном виде активность этих веществ больше, нежели в жидком. При смешивании этих двух компонентов формировался устойчивый фибриновый сгусток, который с учетом дальнейшей полимеризации фиксировал пластину БНЦ на серозной оболочке тонкой кишки. После этого петля тонкой кишки погружалась в брюшную полость, и проводилось послойное ушивание послеоперационной раны.

Результаты и обсуждение

Оценка результатов фиксации БНЦ к тонкой кишке была проведена через 14 и 45 суток после операции. После проведения релапаротомии и входа в брюшную полость в срединную рану выводилась петля тонкой кишки. Оказалось, что через 14 суток после первого эксперимента к расположенной на кишке БНЦ плотно фиксировалась часть сальника. Она как бы окутала ее, «погрузила в капсулу». Отделение сальника было возможно рыхлым путем. После отделения сальника от кишки и рассечения тканей стенки БНЦ хорошо дифференцировались (рисунок 3б).

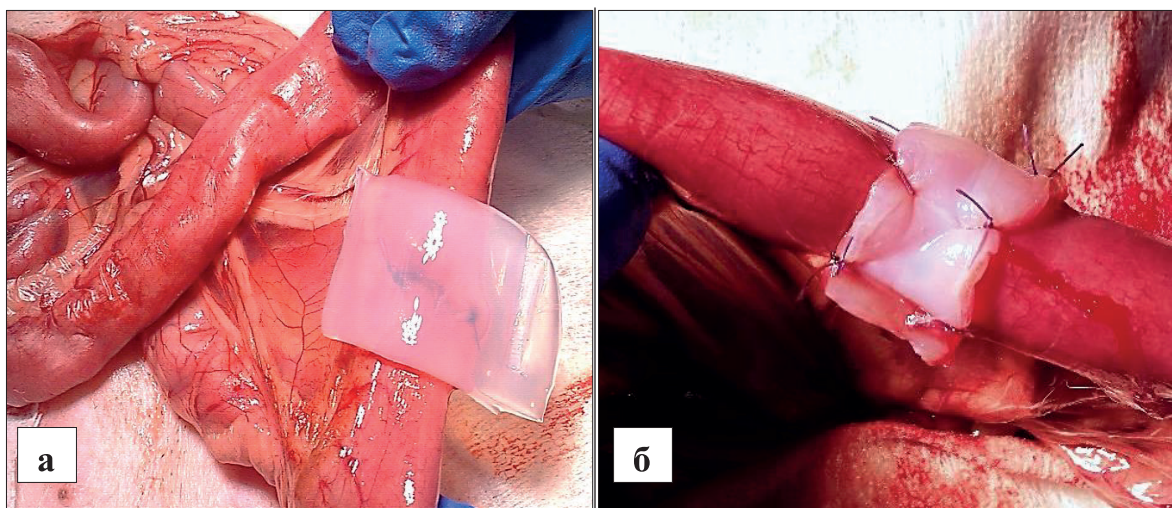


Рисунок 2 – Экспериментальное исследование: а – расположение БНЦ на тонкокишечном шве, б – фиксация БНЦ к тонкой кишке узловыми швами

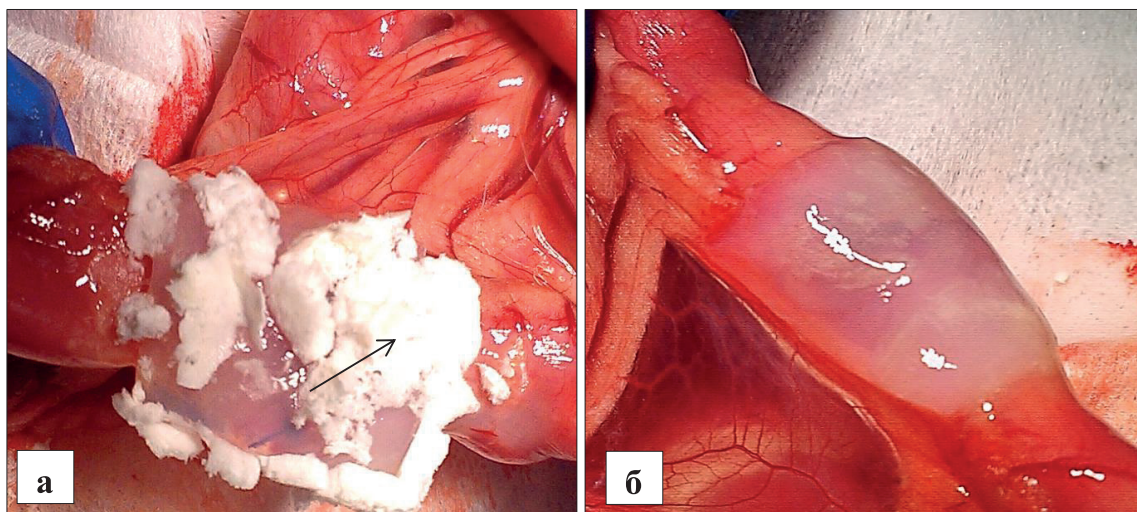


Рисунок 3 – Экспериментальное исследование: а – фиксация БНЦ на тонкой кишке с помощью сухого криопреципитата (показано стрелкой) и раствора тромбина, б – окончательный вид сформированной муфты в области тонкокишечного шва.

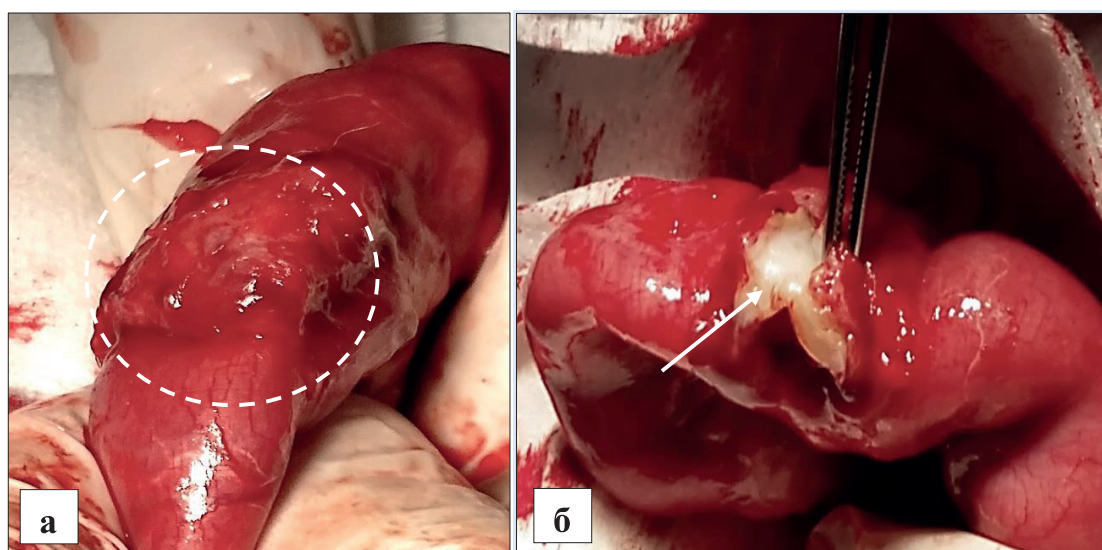


Рисунок 3 – Экспериментальное исследование. 14-е сутки после операции: а – формирование капсулы (показано пунктиром) в области фиксированной на тонкой кишке БНЦ, б – передняя стенка капсулы над БЦ образована сальником (захвачена пинцетом), снизу БНЦ рыхло фиксирована к серозной поверхности тонкой кишки (показано стрелкой).

При этом БНЦ очень плотно фиксировалась вверх, где прилежал сальник, и более свободно отделялась снизу от серозной оболочки тонкой кишки. В этом месте сращение ее с кишкой было небольшое. Однако ранее наложенный кишечный шов был закрыт грануляционной тканью и не был виден. В заключение эксперимента выполнялась резекция тонкой кишки. Непрерывность желудочно-кишечного тракта восстанавливалась наложением энтеро-энте-

роанастомоза «бок в бок». Тонкая кишка с образцом БНЦ направлялась на гистологическое исследование. При микроскопии было установлено, что на 14-е сутки послеоперационного периода на границе БНЦ и серозной оболочки тонкой кишки имела умеренная лейкоцитарная инфильтрация вследствие миграции в эту область клеточных элементов, представленных нейтрофилами, лимфоцитами (рисунки 4а, б).

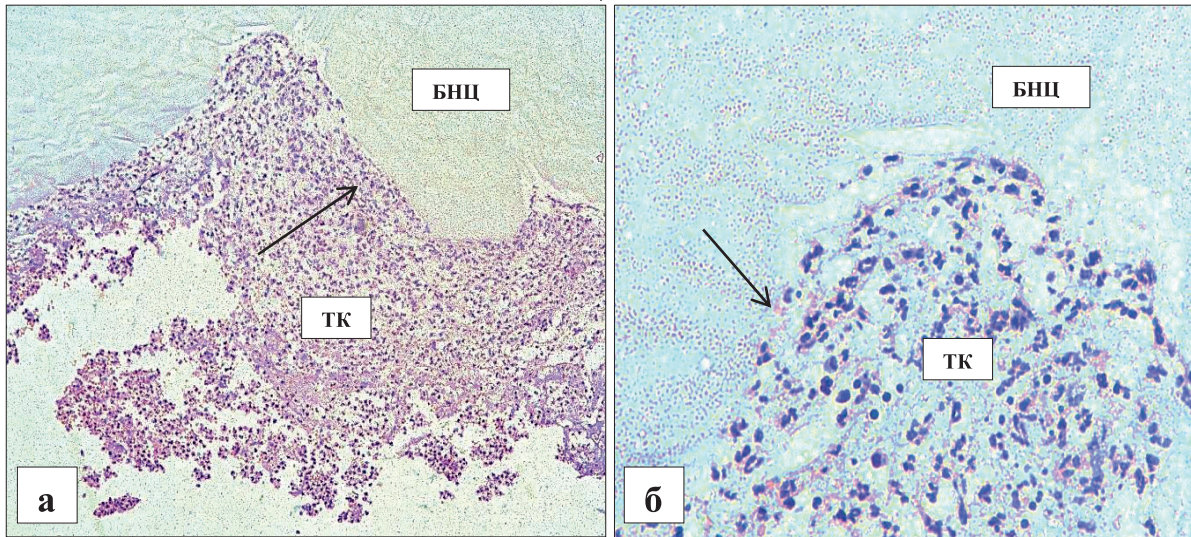


Рисунок 4 – Морфология пластины БНЦ и тонкой кишкой (ТК) через 14 суток после имплантации. Окраска гематоксилин – эозин. Увеличение x10 (а), x20 (б). Лейкоцитарная инфильтрация на границе между БНЦ и ТК (показано стрелкой).

Через 45 суток после имплантации БНЦ при визуальной оценке состояния тонкой кишки мы также не отметили признаков инфицирования или формирования в этой области жидкостных скоплений. Материал был хорошо укрыт и плотно фиксирован на серозной оболочке тонкой кишки (рисунок 5а). При рассечении

верхнего участка, где располагалась БНЦ, в толще образованных тканей имелись структуры, напоминающие рыхлые коллагеновые волокна (рисунок 5б). Признаков несостоятельности кишечного шва при проведении пробы с водной нагрузкой не было.

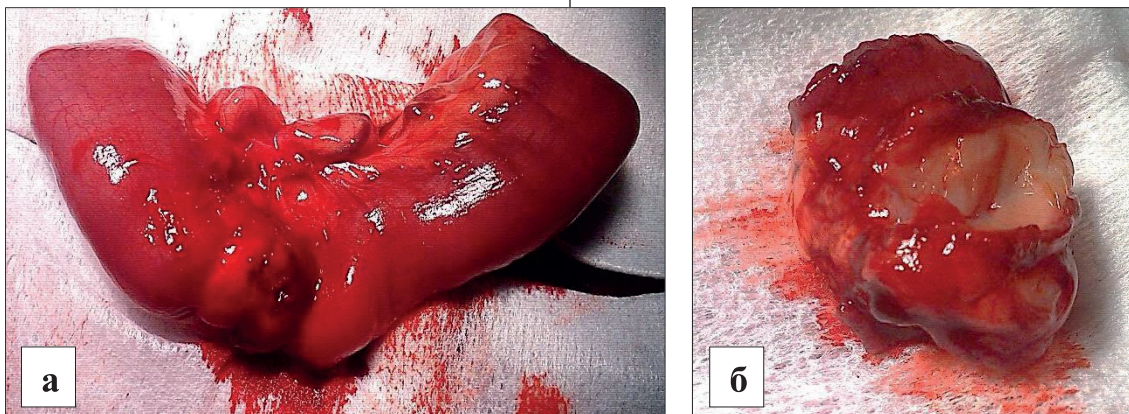


Рисунок 5 – Экспериментальное исследование. 45-е сутки после операции: а – фиксация БНЦ на тонкой кишке, б – при рассечении БНЦ видна ткань, напоминающая коллаген, интегрированная в серозную оболочку кишки

При гистологическом исследовании материала через 45 суток с использованием окраски на фибрин (Пикро-Маллори) на границе БНЦ и серозной оболочки тонкой кишки на-

ряду с уменьшением лейкоцитарной инфильтрации наблюдалось формирование двух волн («молодого» и «зрелого») фибрина (рисунок 6), который был плотно фиксирован к серозной

оболочке тонкой кишки, что указывало на происходящие в этой области репаративные процессы.

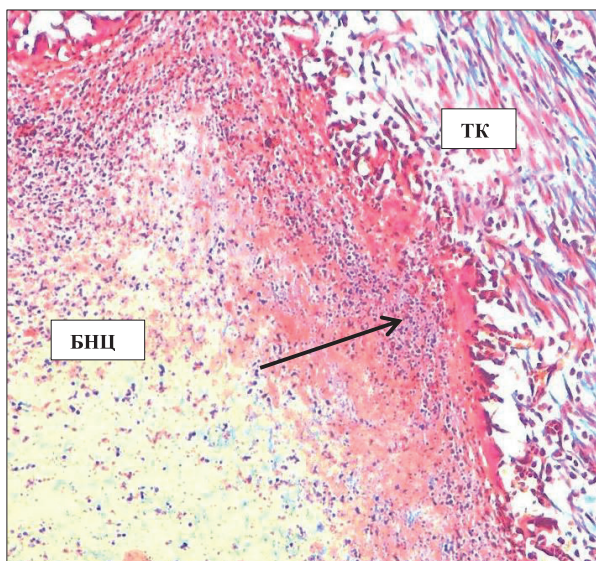


Рисунок 6 – Морфология пленки БНЦ и тонкой кишки (ТК) спустя 45 суток. Окраска на фибрин (показано стрелкой) по Пикро – Маллори, увеличение $\times 10$. Имеется волна формирования «молодого» фибрина (стрелка) на границе серозной оболочки тонкой кишки и БНЦ.

Обсуждение

Таким образом, в этом экспериментальном исследовании сделан подход к возможному использованию новых материалов для герметизации швов тонкой кишки. Было показано, что после наложения пластин БНЦ на шов тонкой кишки на 14-е и 45-е сутки послеоперационного периода инфицирования материала не происходит. На 14-е сутки вокруг БНЦ и тонкой кишки образуется незрелая соединительная ткань в виде легких фибриновых сращений на границе с материалом и элементами пограничного асептического воспаления, определяемом при гистологическом исследовании. При анализе фиксации материала на 45-е сутки отмечены активные признаки формирования более плотных фиброзных структур на тонкой кишке с БНЦ, появление молодого «фибрина» с одновременным уменьшением пограничной лейкоцитарной инфильтрации.

Выводы:

1. В экспериментальных исследованиях после имплантации пластин БНЦ на шов тонкой кишки на 14-е и 45-е сутки послеоперационного периода отсутствуют признаки инфицирования и отторжения материала, несостоятельность шва тонкой кишки.
2. Процесс биоинтеграции БНЦ к 45-м суткам послеоперационного периода сопровождается плотной фиксацией материала к се-

розной оболочке тонкой кишки, уменьшением лейкоцитарной инфильтрации на границе их соприкосновения и появлением фибриновых структур, регистрируемых при морфологическом исследовании.

Список литературы:

1. Горский В.А., Шуркалин Б.К., Фаллер А.П., Леоненко И.В., Медведев С.С., Андреев С.С. Проблема надежности кишечного шва при перитоните и кишечной непроходимости. Трудный пациент. 2005; 4:12–15.
2. Dahman Y. Nanostructured Biomaterials and Biocomposites from Bacterial Cellulose Nanofibers. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2009; 9(9): 5105–5122.
3. Громовых Т.И., Фан Ми Хань, Бирюков Е. Г., Данильчук Т.Н., Абдрашитова Г.Г. Перспективы применения бактериальной целлюлозы в мясопродуктах. Мясная Индустрия. 2013; 4: 32–35.
4. Hioki N, Hori Y, Watanabe K, Morinaga Y, Yoshinaga F, Hibino Y, Ogura T. Bacterial cellulose as a new material for papermaking. *Jpn TAPPI J*. 1995; 49: 718–723.
5. Iguchi M, Yamanaka S, Budhiono A. Bacterial cellulose— a masterpiece of nature's arts. *J Mater Sci*. 2000; 35: 261–270.
6. Saska S, Barud HS, Gaspar AMM, Marchetto R, Ribeiro SJL, Messaddeq Y. Bacterial cellulose-hydroxyapatite nanocomposites for bone regeneration. *International Journal of Biomaterials*. 2011; 175362: 1–8.
7. Klemm D, Schumann D, Udhard U, Marsch S. Bacterial synthesized cellulose: Artificial blood vessels for microsurgery. *Prog. Polym. Sci*. 2001; 26: 1561–1603.
8. Zhang J. Glutaraldehyde treatment of bacterial cellulose/fibrin composites: Impact on morphology, tensile and viscoelastic properties. *Cellulose*. 2012; 19: 127–137.
9. Wippermann J, Schumann D, Klemm D, Kosmehl H, Satehi-Gelani S, Wahlers T. Preliminary results of small arterial substitute performed with a new cylindrical biomaterial composed of bacterial cellulose. *Eur J Vasc Endovasc*. 2009; 37(5): 592–596.
10. Fink H, Faxälv L, Molnár GF, Drotz K, Risberg B, Lindahl TL, Sellborn A. Real-time measurements of coagulation on bacterial cellulose and conventional vascular graft materials. *Acta Biomater*. 2010; 6: 1125–1130.
11. Czaja W, Krystynowicz A, Kawecki M, Wysota K, Sakiel S, Wróblewski P, Glik J, Nowak M, Bielecki S. Biomedical Applications of Microbial Cellulose in Burn Wound Recovery. *Cellulose: Molecular and Structural Biology. Selected Articles on the Synthesis, Structure, and Applications of Cellulose*. Springer: Dordrecht, 2007: 307–321. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5380-1>

12. Fu L, Zhang J, Yang G. Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair. *Carbohydr. Polym.* 2013; 92: 1432–1442. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.10.071

13. Nimeskern L, Avila HM, Sundberg J, Gatenholm P, Mueller R, Stok KS. Mechanical evaluation of bacterial nanocellulose as an implant material for ear cartilage replacement. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2013; 22: 12–21. doi: 10.1016/j.jmbbm.2013.03.005

14. Kowalska-Ludwicka K, Cala J, Grobelski B, Sygut D, Jesionek-Kupnicka D, Kolodziejczyk M, Bielecki S, Pasieka Z. Modified bacterial cellulose tubes for regeneration of damaged peripheral nerves. *Arch Med Sci.* 2013; 9: 527–534. doi: 10.5114/aoms.2013.33433

15. Portal O, Clark WA, Levinson DJ. Microbial Cellulose Wound Dressing in the Treatment of Nonhealing Lower Extremity Ulcers. *Wounds-A Compendium of Clinical Research and Practice.* 2009; 21(1): 1–3.

16. Solway DR, Clark WA, Levinson DJ. A parallel open-label trial to evaluate microbial cellulose wound dressing in the treatment of diabetic foot ulcers. *International Wound Journal.* 2011; 8(1): 69–73.

17. Rosen CL, Steinberg GK, De Monte F, Delashaw JBJr, Lewis SB, Shaffrey ME, Aziz K, Hantel J, Marciano FF. Results of the prospective, randomized, multicenter clinical trial evaluating a biosynthesized cellulose graft for repair of dural defects. *Neurosurgery.* 2011; 69(5): 1093–1103.

18. Novaes AB Jr, Novaes AB. Soft tissue management for primary closure in guided bone regeneration: Surgical technique and case report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997; 12: 84–87.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку: Жариков Андрей Николаевич, д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии имени профессора И.И. Неймарка, госпитальной хирургии с курсом ДПО Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.

656056, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1.

Тел.: (3852) 689574.

Email: zhar67@mail.ru

Информация об авторах

Лубянский Владимир Григорьевич, д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии имени профессора И.И. Неймарка, госпитальной хирургии с курсом ДПО Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.

656056, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1.

Тел.: (3852) 689574.

Email: science@agmu.ru

Гладышева Евгения Константиновна, м.н.с. лаборатории биоконверсии ФГБУН ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск.

659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1.

Тел.: (3854) 301415.

E-mail: evg-gladysheva@yandex.ru

Скиба Екатерина Анатольевна, к.т.н., с.н.с. лаборатории биоконверсии ФГБУН ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск.

659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1.

Тел.: (3854) 305955.

Email: science@agmu.ru

Будаева Вера Владимировна, к.х.н., доцент, заведующая лабораторией биоконверсии ФГБУН ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск.

659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1.

Тел.: (3854) 305985.

Email: science@agmu.ru

Семенова Елена Николаевна, врач-патологоанатом Краевой клинической больницы, г. Барнаул.

656038, г. Барнаул, Комсомольский пр., 73.

Тел.: (3852) 245830.

Email: science@agmu.ru