

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАЖИВЛЕНИЯ РАНЕВОЙ ПОВЕРХНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Затолокина М.А., Григорьян А.Ю., Жилиева Л.В., Кобзарева Е.В., Мишина Е.С.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет Минздрава России», Курск, Россия (305041, Курск, ул. Карла Маркса, 3), e-mail:katusha100390@list.ru

В статье представлены результаты экспериментального лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей с использованием иммобилизованных на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы препаратов, содержащих «Мирамистин» и «Метронидазол» в сравнении с официальной мазью «Левомеколь». Эксперименты произведены на 144 белых крысах-самцах породы Вистар массой 180,0±20,0 грамм. Животным на спине моделировалась гнойная рана по методике П.И. Толстых размером 15x15 миллиметров. В каждой серии животным производилась ежедневная обработка раны одним из препаратов. Было доказано, что применение иммобилизованных препаратов на основе NaКМЦ в лечении гнойных ран оказывают выраженное сорбирующее и противовоспалительное действие в фазу экссудации воспалительного процесса, а в фазу регенерации процесс эпителизации протекает более активно. Результаты исследования подтвердили эффективность применения разработанных препаратов в лечении гнойных ран, за счет высокой сорбционной активности и пролонгированного антимикробного эффекта иммобилизованных компонентов.

Ключевые слова: лечение ран, мирамистин, метронидазол, гнойно-воспалительный процесс, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы.

MORPHOLOGY OF WOUNDS REPARATION AFTER APPLICATION OF SUBSTANCE BASED ON CARBOXYMETHYLCELLULOSE

Bezhin A.I., Pankrusheva T.A., Zatolokina M.A., Grigoryan A.Y., Zhilyaeva L.V., Kobzareva E.V., Mishina E.S.

Kursk State Medical University, Kursk, Russia (305041, Kursk, Karl Marx str., 3), e-mail:katusha100390@list.ru

The article presents the results of an experimental treatment of inflammatory diseases of skin using immobilized on the basis of sodium carboxymethyl cellulose preparations containing «Miramistin» and «Metronidazolium» in comparison with officinal ointment "Levomekol." Experiments were performed on 144 white male rats Wistar weighing 180,0 ± 20,0. The animals on the back of purulent wound size of 15x15. In each series, the animals are cleaned daily debridement one of the drugs. It has been proven that the use of immobilized preparations based NaCMC in treatment of purulent wounds and sorbent have a pronounced anti-inflammatory effect in the exudation inflammation phase, and in the regeneration phase epithelization process occurs more actively. The study confirmed the effectiveness of the developed drugs in the treatment of septic wounds, due to the high sorption activity and prolonged antimicrobial effect of immobilized components.

Keywords: treatment of wounds, miramistin, metronidazole, sodium carboxymethylcellulose, inflammatory processes.

В настоящее время, несмотря на многообразие лекарственных препаратов и методик лечения, проблема гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей и послеоперационных гнойных осложнений остается актуальной в современной хирургии. По данным некоторых авторов от всех хирургических заболеваний гнойные осложнения составляют от 35% до 45%. Среди них доля внутригоспитальной инфекции составляет от 12% до 22%, а летальность достигает 25% [2]. В связи с массовым, а нередко и бесконтрольным применением антибактериальных препаратов большинство современных микроорганизмов – возбудителей гнойной инфекции – стали либо резистентными, либо

малочувствительными к антибиотикам. Таким образом, на фоне недостатков антибиотикотерапии, нас больше привлекают антисептики, которые имеют меньше побочных эффектов, к ним реже развивается устойчивость микроорганизмов[1].

Без сомнения, современные тенденции диктуют необходимость применение сорбционного дренажа при остром и хроническом воспалении мягких тканей, что приводит к снижению нагрузки на лимфатическую систему. В наших работах, мы уже рассматривали различные комбинации антисептических препаратов и их сочетание с ранозаживляющими компонентами при иммобилизации, как на гидрофильных, так и на гидрофобных основах[3,4,5,6].

В связи с изложенным, целью исследования явилось изучить в эксперименте на животных, в сравнительном аспекте, ранозаживляющее действие, иммобилизованных на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (NaКМЦ) препаратов, содержащих «Мирамистин» и его сочетание с «Метронидазолом» в первую и вторую фазу раневого процесса.

Цель исследования. Изучить особенности изменения соединительной ткани передней брюшной стенки в раннем послеоперационном периоде при использовании различных сетчатых эндопротезов с антибактериальным покрытием.

Материалы и методы. На основании проведенного комплексного исследования были разработаны следующие составы мазей (массовые части):

Состав 1:

Раствор Мирамистина 0,01% - 100,0

NaКМЦ – 4,0

Состав 2:

Раствор Мирамистина 0,01% - 100,0

Метронидазол – 1,0

NaКМЦ – 4,0

В экспериментах на животных изучена ранозаживляющая активность разработанных иммобилизованных лекарственных препаратов в сравнении с использованием официальной мази «Левомеколь».

Эксперименты произведены на 144 белых крысах-самцах породы Вистар массой 180,0±20,0 грамм. Работа выполнена с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС), «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Биоэтических правил проведения исследований на человеке и животных».

Животным на спине моделировалась гнойная рана по методике П.И. Толстых (1976) размером 15x15 миллиметров. В контрольной серии животным производилась ежедневная обработка раны 3% раствором перекиси водорода. В серии сравнения – обработка раны 3% раствором перекиси водорода и наложение марлевой салфетки с официальной мазью «Левомеколь». В серии «NaKMЦ+Мирамистин» – обработка раны 3% раствором перекиси водорода и наложение марлевой салфетки с лекарственным препаратом состава 1. В серии «NaKMЦ+Мирамистин+Метронидазол» – обработка раны 3% раствором перекиси водорода и наложение марлевой салфетки с лекарственным препаратом состава 2. Перевязки экспериментальным животным во всех сериях производили один раз в день, ежедневно в течение 15 суток.

Гистологическое изучение раневых биоптатов производили на 1-е, 3-и, 5-е, 8-е, 10-е и 15-е сутки от начала лечения после выведения животного из эксперимента. Забор материала осуществляли путем иссечения участка мягких тканей дна и прилежащего края раны лезвием. Взятый материал сразу фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина с последующей проводкой по восходящим спиртам и заливкой в парафин по стандартной методике. Приготовленные парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином. При оценке гистологических срезов обращали внимание на выраженность воспалительных реакций, сроки появления грануляционной ткани, возникновение краевой эпителизации, а также структурную полноценность вновь образованного эпителия.

С целью определения отличительных особенностей процесса репаративной регенерации в сравниваемых экспериментальных сериях нами были исследованы макропрепараты раневой поверхности. С целью подтверждения статистической значимости расхождений средних величин в сериях эксперимента нами в соответствии со стандартами ИСО 3534-3-99, а также ГОСТ Р 50779.10-2000 (ИСО 3534-1-93) после определения типа распределения данных был выбран метод оценки достоверности отличий Вилкоксона-Манна-Уитни. Решение принято на основании высоких значений скоса и эксцесса графиков распределения данных, что свидетельствует о высоком отклонении от кривой Гауссова распределения. Учитывая низкую чувствительность методики определения доверительного интервала к типу распределения, а также допустимый для экспериментальных медико-биологических исследований уровень $P \leq 0,05$, для подтверждения статистической гипотезы был выбран именно такой уровень значимости. Все вычисления выполнялись с помощью аналитического пакета приложения Excel Office 2010.

Полученные результаты и их обсуждение

При изучении микропрепаратов установлено, что во всех сериях к первым суткам после моделирования раневого дефекта вся поверхность раны была покрыта массивным

фибринозно-гнойными массами, в которых при микроскопии обнаруживалось большое количество погибших лейкоцитов. Подлежащие ткани резко отечны и инфильтрированы полиморфно-ядерными лейкоцитами (ПЯЛ) и макрофагами на разных стадиях дифференцировки, пучки коллагеновых волокон в сохранившихся участках дермы разрыхлены и разделены друг от друга очагами инфильтрата и скоплениями негемолизированных эритроцитов. Фибробласты имели резко базофильную цитоплазму и набухшие, разрыхленные ядра. Кровеносные и лимфатические сосуды расширены. Отек тканей и инфильтрат в сочетании с пропитыванием эритроцитами распространялся за пределы раневого дефекта по всей толщине дермы и переходил на гиподерму. Ближайшие к краю раневого дефекта участки эпидермиса истончены за счет отсутствия рогового и уменьшения толщины шиповатого слоев. Непосредственно под истонченными участками эпидермиса отмечались свежие кровоизлияния в виде скоплений эритроцитов с тенденцией к слиянию очагов.

Через 3-е суток после моделирования инфицированной раны у животных контрольной серии морфологическая картина регенерирующих тканей в зоне раневого дефекта выглядела следующим образом: поверхность раны покрыта фибрином, инфильтрированным ПЯЛ. В ране присутствовали зачатки грануляционной ткани, также инфильтрированной ПЯЛ. Инфильтрат распространялся за пределы интактной дермы. На тех же сроках в серии «Левомеколь» поверхность раны покрыта струпом. Под струпом – грануляционная ткань, инфильтрированная ПЯЛ. Отек дермы и клетчатки. При использовании «НаКМЦ+Мирамистин» поверхность раны покрыта струпом с некротическими массами и нейтрофильной инфильтрацией, хорошо выражен грануляционный вал, участки нижележащей дермы отечны, инфильтрированы преимущественно нейтрофилами и макрофагами. В серии с использованием «НаКМЦ+Мирамистин+Метронидазол» рана была покрыта фибрином, с нечетким грануляционным валом, инфильтрированного ПЯЛнейтрофилами. В дерме и гиподерме инфильтрация и явления отека слабо выражены.

На 5-е сутки наблюдения: в контрольной серии продолжалось развитие экссудативной фазы воспаления. Воспалительный инфильтрат выражен с тенденцией к абсцедированию, состоящий преимущественно из ПЯЛ, распространяется в глубину тканей, расслаивая при этом сохранные участки дермы. Последние – резко отечны, с явлениями лимфо – и капилляростаза. В серии «Левомеколь» рана покрыта лейкоцитарно-некротическим струпом, под струпом грануляционная ткань инфильтрированная ПЯЛ (в меньшей степени чем на 3-и сутки), признаки эпителизации отсутствуют. Глубокие участки дермы несколько отечны. При использовании «НаКМЦ+Мирамистин» струпное покрытие раны сохраняется, под ним располагается новобразованная грануляционная ткань с хорошо выраженным

неоангиогенезом, сосуды новообразованной, ткани дилатированы и полнокровны. В сравнении с предыдущим сутками отек дермы уменьшен, в сосудах наблюдаются явления тромбоза и краевого стояния лейкоцитов. Отмечаются признаки периваскулярного склероза и гиалиноза. Клеточный компонент преобладает над волокнистым, в поле зрения преобладают сегментоядерные нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты. В гиподерме крупноклеточная инфильтрация на фоне незначительного отека. В серии с использованием «NaKMЦ+Мирамистин+Метронидазол» грануляционная ткань покрыта фибрином и достаточно четко отграничена грануляционным валом. В грануляционной ткани наблюдаются ярко выраженные процессы неоангиогенеза. В сосудах наблюдаются явления тромбоза, капилляростаза и полнокровия. Грануляционная ткань инфильтрирована нейтрофилами, лимфоцитами и макрофагами.

На 8-е сутки эксперимента: в серии «Левомеколь» на поверхности раны лейкоцитарно-некротический струп присутствует частично. Дно раны выполнено полноценной грануляционной тканью, богатой кровеносными сосудами. Фибробласты соединительной ткани разнообразной отростчатой формы, располагаются тяжами, окружая кровеносные сосуды. Отмечаются признаки краевой эпителизации. При использовании «NaKMЦ+Мирамистин» рана покрыта небольшим количеством грануляционной ткани, которая слабо инфильтрирована нейтрофилами. В подлежащей дерме наблюдается формирование соединительнотканного рубца, который незначительно инфильтрирован лимфоцитами и нейтрофилами. В поверхностных слоях новообразованной соединительной ткани волокнистый компонент преобладает над клеточным. В гиподерме клеточная инфильтрация сохранена. В серии с использованием «NaKMЦ+Мирамистин+Метронидазол» в поверхностных слоях раневого дефекта сохраняются лишь незначительные участки грануляционной ткани. Расположенная под ней новообразованная соединительная ткань хорошо васкуляризована, клеточная инфильтрация менее выражена, чем при использовании NaKMЦ+Мирамистин, явления тромбоза и капилляростаза сохранены. Наблюдаются признаки краевой эпителизации раны.

На 10-е сутки наблюдений в препаратах контрольной серии (рис. 1А) продолжалось заполнение раневого дефекта грануляционной тканью, которая местами была покрыта фибриновыми наложениями. Инфильтрат распространялся на всю глубину грануляций. Отмечались признаки краевой эпителизации. В серии «Левомеколь» происходит формирование эпителиального вала на границе раневого дефекта. Грануляционная ткань четко отграничена от интактной дермы и инфильтрирована ПЯЛ (рис. 1Б). При использовании «NaKMЦ+Мирамистин» грануляционная ткань практически отсутствует (рис. 1В). Хорошо выражены признаки краевой эпителизации раны. Раневой дефект

заполнен практически полностью созревшей новообразованной хорошо васкуляризованной соединительной тканью в которой сохранена полиморфноклеточная инфильтрация, на фоне существенного преобладания волокнистого компонента над клеточным. При использовании «НаКМЦ+Мирамистин+Метронидазол» хорошо выражены признаки эпителизации раны. Инфильтрация поверхностных слоев дермы сохранена. Новообразованная соединительная ткань хорошо васкуляризована, признаков отека нет. Реактивные изменения менее выражены. Участки регенерировавшего эпителия без выраженных морфологических изменений (рис. 1Г).

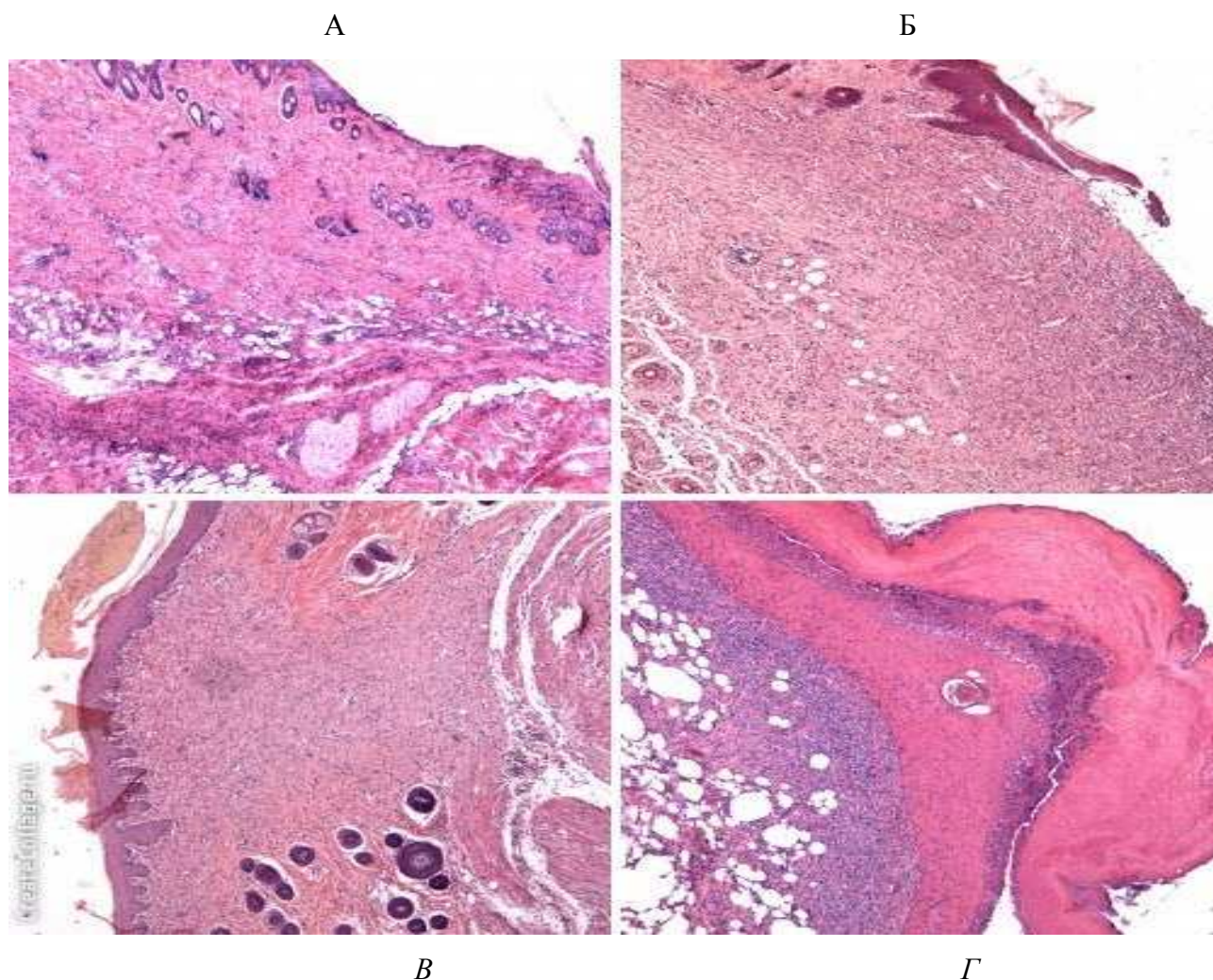


Рис.1. Микрофотографии поперечных срезов экспериментальных ран на 10-е сутки. Окраска Г+Э. Ув. x100. Примечание: А. Контрольная серия. Инфильтрация распространяется на всю глубину грануляций. Б. Серия сравнения Левомеколь. Грануляционная ткань отграничена от дермы и инфильтрирована ПЯЛ. В. Серия НаКМЦ+Мирамистин. Раневой дефект заполнен полностью созревшей новообразованной соединительной тканью. Г. Серия НаКМЦ+Мирамистин+Метронидазол. Участки регенерировавшего эпителия без выраженных морфологических изменений

На 15-е сутки: в препаратах контрольной серии продолжается процесс эпителизации раневого дефекта, однако сохраняется умеренная инфильтрация подлежащих тканей. Полной эпителизации раны не происходит. В серии «Левомеколь» раневой дефект полностью

выполнен пучками незрелых коллагеновых волокон. Поверхность раневого дефекта покрыта эпидермисом, имеющим полнослойную организацию.

При использовании «NaKMЦ+Мирамистин» наблюдается полная эпителизация раневого дефекта. Регенерировавший эпителий без особенностей. В дерме, непосредственно в области ранее существовавшего раневого дефекта, общая площадь новообразованной соединительной ткани значительно больше, чем в серии NaKMЦ+мирамистин+метронидазол. В дерме хорошо выражена краевая регенерация волосяных фолликулов с постепенным их подрастанием к центральной области ранее существовавшего раневого дефекта, постепенно происходит полное восстановление структурной организации поверхностных и глубоких слоев дермы. При использовании «NaKMЦ+Мирамистин+Метронидазол» наблюдается полная эпителизация раневого дефекта. Под регенерировавшим эпителием участки зрелой новообразованной соединительной ткани хорошо васкуляризованы, волокнистый компонент существенно преобладает над клеточным. Общая площадь новообразованной соединительной ткани, в области ранее существовавшего раневого дефекта, существенно меньше, чем при использовании «NaKMЦ+мирамистин».

Выводы. Таким образом, полученные нами морфологические данные проведенного нами исследования свидетельствуют о том, что применение иммобилизованных препаратов на основе NaKMЦ в лечении гнойных ран оказывают выраженное сорбирующее и противовоспалительное действие в фазу экссудации воспалительного процесса, а в фазу регенерации процесс эпителизации протекает более активно.

Список литературы

1. Абаев А.К., Прокопчук Н.Р., Адарченко А.А. Эффективность антисептиков и значение микрофлоры в процессе раневого заживления // *Детская хирургия*. - 2008. - № 1. - С. 25-29.
2. Блатун, Л.А. Местное медикаментозное лечение ран. Проблемы и новые возможности их решения // *Consilium medicum: хирургия (прил.)*. – 2007. №1. С. 9-16.
3. Бубенчикова В.Н., Малютина А.Ю., Затолокина М.А., Григорьян А.Ю., Новикова Л.С. Морфологическая характеристика течения раневого процесса при лечении экспериментальной инфицированной раны гелем на основе густого экстракта травы прозаника крапчатого // *Современные проблемы науки и образования*. – 2013. – № 3; www.science-education.ru/109-9345.

4. Бубенчикова В.Н., Малютина А.Ю., Новикова Л.С., Григорьян А.Ю., Затолокина М.А., Жилиева Л.В. Ранозаживляющая активность геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 8, ч. 1. – С. 123-127.
5. Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Иванов А.В., Жилиева Л.В., Кобзарева Е.В., Мишустин В.Н. Имобилизованные формы антисептиков для лечения гнойных ран в эксперименте // *Курский научно-практический вестник "Человек и Его Здоровье"*. – 2011. – №4. – С. 24-33.
6. Григорьян А.Ю., Иванов А.В., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Жилиева Л.В., Кобзарева Е.В. Гистологическая характеристика течения раневого процесса при лечении экспериментальных гнойных ран препаратами на основе энтеросгеля // *ЭНИ Забайкальский медицинский вестник*. – 2011. – № 2. – С. 132–145.

Рецензенты:

Бежин А.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии им. профессора А.Д. Мясникова, ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, г. Курск;

Иванов А.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии, ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, г. Курск.