УДК 616.5-003.9-018:615.246.2:612.084

ГОЄННЯ РАН ЗА УМОВ ЇХ ОБРОБКИ НОВИМ ПРЕПАРАТОМ З СОРБЦІЙНИМИ ТА БАКТЕРИЦИДНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ АПЛІКУС

©О.М. Грабовий, О.І. Фіцай, Н.М. Сухарева, О.О. Жданова, О.С. Францева

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

РЕЗЮМЕ. В експерименті вивчено морфологію гоєння інфікованих ран за умов їх обробки препаратом "Аплікус"®, який є комбінацією гідрогелю метилкремнієвої кислоти (препарат "Ентеросгель") та іонів міді, що має сорбційні та бактерицидні властивості. Показано, що "Аплікус" зменшує виразність запальної інфільтрації в ділянці рани та регенерату, прискорює загоєння рани й приводить до формування менш товстого рубця.
КЛЮЧОВІ СЛОВА: гоєння ран, ентеросгель, "Аплікус"®.

Вступ. Проблема ран є принципово важливою в медицині, що визначається поширеністю цієї патології. Способи лікування ран, які існують на сьогодні, не вичерпують багатогранності цієї проблеми, що спонукає вивчати як механізми гоєння ран, так і розробляти нові методи їх лікування.

Враховуючи те, що наявність рани порушує бар'єрну функцію шкіри, що виступає у якості додаткового пошкоджувального чинника й зумовлює надходження з ділянки травми продуктів розпаду тканин, у тому числі тих, які виникають за рахунок життєдіяльності мікроорганізмів. Відповідно до цього можливим шляхом впливу на рановий процес є компенсація порушених бар'єрних властивостей шкіри й зменшення резорбції продуктів розпаду тканин, що можна забезпечити за рахунок нанесення на рану препаратів з високими сорбційними властивостями.

Мета роботи - вивчити в експерименті вплив на гоєння інфікованих ран нового препарату "Аплікус" виробництва ЗАТ "Екологоохорона фірма "КРЕОЛА-ФАРМ" (м. Київ), який є композицією гідрогелю метилкремнієвої кислоти (препарат "Ентеросгель") та іонів міді та поєднує сорбційні і бактерицидні властивості.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведено на 75 щурах-самцях лінії Вістар вагою 250-300 г. Їм під внутрішньоочеревинним тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) в міжлопатковій ділянці вилучався прямокутний повношаровий клапоть шкіри розміром 20х20 мм. На ранову поверхню наносилася суспензію патогенних мікроорганізмів (Staphilococus aureus - 0,5х109/мл, Proteus vulgaris - 5х109/мл). Всі тварини були поділені на три групи. Перша група - контрольна, рана додатково не оброблялася. У другій групі тваринам на ранову поверхню щоденно протягом експерименту наносився гідрогель метилкремнієвої кислоти ("Ентеросгель") шаром 1-2 мм. Щурам третьої групи на рану таким же чином наносився препарат "Аплікус". Матеріал для досліджень забирали через 1, 3, 7, 14 і 28 днів після нанесення рани за умов введення тваринам надмірної дози тіопенталу натрію (100 мг/кг). Перед забором матеріалу вимірювалася площа ранової поверхні за допомогою прозірки з нанесеною міліметровою сіткою. Шматочки шкіри, що включали рану й прилеглі ділянки, фіксувалися в 10 % нейтральному формаліні, зневоднювалися у спиртах і заливалися в парафін. З отриманих блоків виготовлялися гістологічні зрізи товщиною 7 мкм, які забарвлювалися гематоксиліном і еозином, азур-II-еозином, за Ван Гізоном та за Новеллі [3]. На гістологічних зрізах визначалася товщина сполучнотканинного регенерату, що виповнював рановий дефект за допомогою системи аналізу зображення Olympus BX51 з Olympus DP-Soft. Кількісні дані піддавалися стандартному статистичному аналізу.

Результати й обговорення. Проведені дослідження показали, що в усіх дослідних групах тварин процес гоєння ран відбувається з типовою динамікою [4]. У відповідь на пошкодження в краях і дні рани розвивається запальна реакція, яка проявляється набряком та інфільтрацією. Протягом 1-3 діб на рановій поверхні формується струп, товщина якого поступово збільшується. Через 3 доби експерименту спостерігаються ознаки утворення сполучнотканинного регенерату, який поступово, приблизно до 14 доби, виповнює рановий дефект. Основним джерелом новоутворення сполучної тканини виступає гіподерма країв і дна рани. У ній накопичується велика кількість клітинних елементів, формуються острівці регенерувальної сполучної тканини (3 доба після нанесення рани), які збільшуються і зливаючись утворюють суцільний шар грануляційної тканини (через 7 днів спостережень). З 14 доби після початку досліду в грануляційній тканині виявляється велика кількість колагенових волокон, щільність сітки яких збільшується від поверхневих до глибоких шарів.

Одночасно з регенерацією сполучної тканини в ділянці рани спостерігається і регенерація

епідермісу, яка в міру виповнення ранового дефекту молодою сполучною тканиною наростає на неї.

На 28 добу після початку експерименту рановий дефект виявляється виповненим сполучнотканинним регенератом, в якому більшою або меншою мірою визначаються ознаки ремоделювання. При цьому зникають тонкостінні кровоносні судини, притаманні грануляційній тканині, формується щільна сітка зрілих колагенових волокон на рівні сітчастого шару дерми, а під епідермісом зазвичай виявляється нешироκий шар тонких, з відносно нещільно розташованими, й часто менш зрілими колагеновими волокнами. Рани до цього часу виявляються повністю епітелізованими або в їх центрі залишаються невеличкі ділянки вкриті струпом.

Оцінюючи в цілому динаміку гоєння ран і враховуючи те, що вони були додатково інфіковані, слід відзначити більшу виразність, порівняно з "чис-тими ранами" [1], запальної інфільтрації, утворенням лейкоцитарно-некротичного шару більшої товщини, деяким посиленням продуктивних процесів з боку сполучної тканини та незначною затримкою епітелізації.

Обробка ран ентеросгелем приводить до деякого зменшення, порівняно з контролем, виразності запальної інфільтрації країв та дна рани на 1 і 3 добу спостережень. За цих умов у меншому обсязі відбувається накопичення клітин фібробластичного ряду, і через 3 доби досліду осередки новоутвореної сполучної тканини на дні рани мають менший обсяг, ніж у контролі.

Грануляційна тканина, що сформувалася в рані до 7 доби досліду за умов обробки ентеросгелем, виявляється дещо тоншою, ніж у контролі (рис. 1). Разом з тим відрізняється характер вмісту в ній клітин запальної інфільтрації, які порівняно часто формують вогнища, а також спостерігається потовщення лейкоцитарно-некротичного шару. У ділянках грануляційної тканини, які містять небагато макрофагів і лейкоцитів, виявляється дещо більше, ніж у контролі, колагенових волокон, у тому числі і таких, що проявляють фуксинофілію при забарвлені за Ван Гізоном.

У подальшому, через 14 діб спостережень, в грануляційній тканині зберігається тенденція до вогнищевого скупчення макрофагів та гранулоцитів, перш за все, у поверхневих ділянках. Це значною мірою визначає більшу, ніж у контролі, товщину лейкоцитарно-некротичного шару на окремих її ділянках, що може бути пояснено активацією ранової мікрофлори [5]. Вміст фібробластів у грануляційній тканині також варіює більшою мірою, ніж у контролі. Однак кількість сполучнотканинних волокон та рівень їх зрілості є дещо більшим порівняно з тваринами контрольної групи.

Через 28 діб після початку досліду у тварин, рани яких оброблялися ентеросгелем, на їх поверхні визначалися струпи більших розмірів, ніж у контролі, хоча ця різниця не була статистично достовірною (рис. 2). Сполучнотканинний регенерат у тварин цієї групи за товщиною достовірно не відрізнявся від контролю. Як і в останньому, він містив щільну сітку колагенових во-локон, але кількість фібробластів та клітин запальної інфільтрації у ньому виявляється дещо менше. В центральних ділянках регенерату, вкритих струпом, ще можуть зберігатися поодинокі тонкостінні кровоносні судини, які характерні для грануляційної тканини. Інколи в регенераті зустрічаються периваскулярні макрофагально-лімоцитарні інфільтрати. Порівняно часто, ніж у контролі, у тварин, рани яких оброблялися ентеросгелем, у поверхневих ді-лянках виявляються більш щільна й груба сітка колагенових волокон.

Дія ентеросгелю на рану дещо змінює процес її епітелізації. При цьому спостерігається потовщення регенерувального епідермісу і уповільнення його насування на молоду сполучну тканину. Це відображує затримку міграції його клітин і посилення їх проліферації, що збігається з даними, отриманими на інших експериментальних моделях [2]. Важливою ознакою, яка свідчить про зміну взаємодій між регенерувальним епітелієм та сполучною тканиною шкіри при дії ентеросгелю, є утворення епідермісом заглиблених розростань, які у контролі утворюються нечасто і мають значно менші розміри. Остаточне ж перекриття ранової поверхні епітелієм за цих умов лише незначно затримується порівняно з контролем.

Щоденна обробка ран аплікусом протягом 28 діб приводить до значного зменшення як судинного, так і клітинного компонента запальної реакції в травмованих тканинах шкіри. Також меншою виявляється запальна інфільтрація грануляційної тканини, а її лейкоцитарно-некротичний шар в цих умовах виявляється тоншим, ніж у контролі.

Ріст молодої сполучної тканини за цих умов дещо уповільнюється і відбувається у меншому обсязі. Вже на 7 добу досліду виявляється, що вона має достовірно меншу товщину порівняно з контролем (рис. 1). При цьому в її складі виявляється дещо менше фібробластичних елементів та кровоносних мікросудин. Разом з тим фібробласти молодої сполучної тканини значно швидше набувають високого ступеня базофілії їх цитоплазми. Переконливим свідченням про

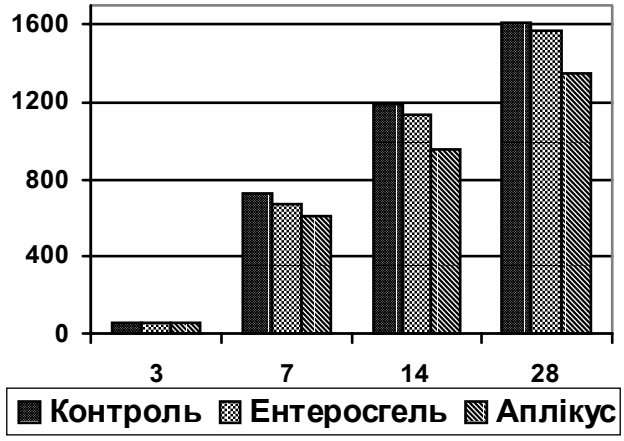

Рис. 1. Товщина сполучнотканинного регенерату (мкм), що виповнює рановий дефект, за умов обробки рани ентеросгелем та аплікусом через 3-28 діб після початку досліду.

підвищення функціональної активності фібробластів є те, що за умов обробки ран арлікусом у сполучнотканинному регенераті відбувається, починаючи з 3 і 7 діб після початку експерименту, більш швидке утворення й дозрівання колагенових волокон. Але при цьому на більш пізніх строках спостережень (14 та 28 доба) вони формують порівняно тонші, ніж у контролі пучки. Через 14 діб після нанесення ран їх площа у тварин, що зазнали дії аплікусу, виявляється достовірно меншою, порівняно з контролем (рис. 2), а на 28 добу у всіх тварин цієї групи рани повістю загоюються.

Через 14 діб експерименту та коли до 28-го дня після нанесення рани відбувається її загоєння, сполучнотканинний регенерат, що сформувався за умов дії аплікусу, має меншу товщину, ніж у контролі, яка наближається до товщини інтактної шкіри (рис. 1). Слід зазначити, що за умов обробки ран аплікусом через 28 діб після

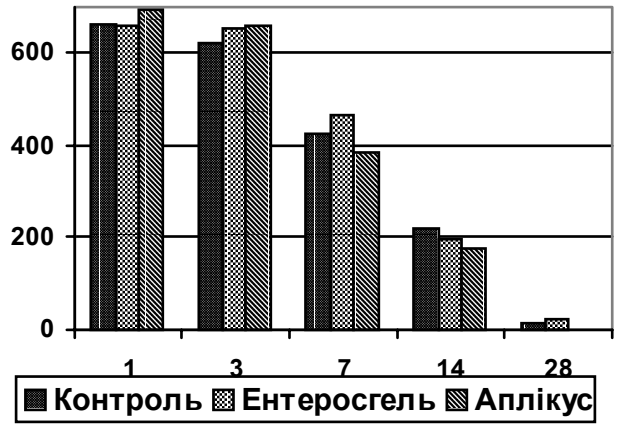

Рис. 2. Площа ранової поверхні (мм^2) за умов обробки рани ентеросгелем та аплікусом через 1-28 діб після початку досліду.

їх нанесення підепітеліальний шар сполучно тканинного регенерату значно більшою мірою, ніж у контролі, нагадує сосочковий шар дерми. Він містить порівняно негусту сітку тонких колагенових волокон, значна частка яких забарвлюється за Новеллі у синій колір.

На ранніх строках спостереження (3 і 7 доба після нанесення рани) дія аплікусу на рану приводить до зменшення реакції епідермісу на травму. Це проявляється менш значним потовщенням епітеліального пласта над краями рани, яке можна розцінювати як пригнічення проліферації його клітин. Починаючи з сьомої доби експерименту, і що стає особливо виразним на 14-ту добу, регенерувальний епідерміс утворює довгий витончений пласт, який далеко просувається на сполучнотканинний регенерат. Це можна трактувати як ознаку посилення процесу міграції епідермоцитів [5].

Завершення епітелізації ран за умов дії аплікусу завершується у всіх тварин цієї групи, на відміну від контролю, до 28-ї доби експерименту. Разом з тим у новоутвореному епітелії виявляються більш виразними ознаки вертикальної анізоморфії та формується, на відміну від контролю, тонкий роговий шар. Розростань епідермісу, які вростають у підлеглу сполучну тканину, у тварин цієї дослідної групи майже не спостерігалося, а межа між цими компонентами рубця виглядала помірно хвилястою.

Висновки. 1. Дослідження гоєння інфікованих ран шкіри у щурів за умов нанесення на їх поверхню препаратів "Ентеросгель" та "Аплікус" показало, що вони змінюють характер перебігу процесів регенерації.

2. "Ентеросгель" приводить до зменшення виразності запальної реакції на початкових етапах (1 і 3 доба після нанесення ран) в області травми. Грануляційна тканина, що формується в ранах під покриттям ентеросгелем, характеризується певною мозаїчністю, яка може бути обумовлена посиленням інфекційного процесу в вологих умовах, який створює наявність на поверхні рани "Ентеросгелю", що призводить до затримки епітелізації та ремоделювання рубця.

3. Обробка ран "Аплікусом" приводить як до зменшення запальної інфільтрації тканин країв та дна рани на ранніх етапах їх гоєння і вмісту макро-фагів та гранулоцитів у грануляційній тканині, що можна пояснити як сорбційними, так і бактеріоцидними властивостями препарату. За цих умов відбувається прискорення закриття ранового дефекту, який набуває меншої, порівняно з контролем, площі. Крім того, рубець більшою мірою наближується за товщиною до інтактної

дерми, на відміну від контролю де він є товщим, та більшою мірою зазнає ремоделювання.

Перспективи подальших досліджень. Подальші гістологічні дослідження особливостей загоєння ран за умов обробки їх лікарськими препаратами стануть морфологічним обгрунтуванням доцільності використання цих препаратів у практичній медицині для прискорення регенераторних процесів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Грабовой А. Н. Содержание фибробластов, макрофагов, гранулоцитов и лимфоцитов в соединительнотканном регенерате кожи при заживлении ран в условиях воздействия норадреналина, ацетилхолина, пропранолола, и атропина // Морфология. – 1999. – Т. 115, № 4. – С. 41-44.

2. Martin P. Wound Healing – Aiming for Perfect Skin Regeneration // Science. – 1997. – Vol. 276, N 5309. – P. 75-81.

3. Novelli G. A new staining method of collagen, reticulin and othe histological elements //Anat. Anz. – 1979. – V. 130, N 1-2. – P. 129-131.

4. Ross R. (Росс Р.). Заживление ран // Молекулы и клетки.– Вып. 5. – М.: Мир, 1970. – С. 134-152.

5. Singer A.J., Clark R. A.F. Cutaneous Wound Healing // The New England Journal of Medicine. – 1999. – Vol. 341, N 10. – P. 738-746

WOUNDS HEALING TREATED BY A NEW REMEDY WITH SORPTION AND BACTERICIDAL PROPERTIES "APLICUS"

©O.M. Hrabovy, O.I. Fitsay, N.M. Sukhareva, O.O. Zhdanova, O.S. Frantseva

National Medical University by O.O. Bohomolets

SUMMARY. The morphology of infected wounds healing is studied in ex-periment under conditions of their covering by a new specimen "Aplicus"®, which is a combination of enterosgel and copper ions with sorption and bacteri-cidal properties. The "Aplicus" reduces an expression of inflammatory infiltration in a wound area and regenerate speeds up a wound repair and results in formation of less thick cicatrix.

KEY WORDS: wound healing, enterosgel, "Aplicus"®.