

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 616-001.17-08:615.322.035.4]-092.6

ВЛИЯНИЕ 5% ГЕЛЯ ПЕКТИНА В КОМПЛЕКСЕ С АМИНОФТАЛГИДРАЗИДОМ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖГОВЫХ РАН

INFLUENCE OF 5% GEL PECTIN COMPLEX WITH AMINOPHTALGIDRAZIDOM ON THE HEALING OF EXPERIMENTAL BURN WOUNDS

А.А. Хуранов¹, А.А. Евглевский¹, С.Г. Павленко²
A.A. Huranov¹, A.A. Evglevsky¹, S.G. Pavlenko²

¹Кубанский государственный медицинский университет
Россия, 350000, г. Краснодар, ул. Седина, 4

²Кубанский медицинский институт
Россия, 350015, г. Краснодар, ул. Буденного, 198

¹Kuban state medical university
Russia, 35000, Krasnodar, Sedina Str., 4

²Kuban medical Institution
Russia, 350015, Krasnodar, Budennogo Str., 198

E-mail: aues757757@yandex.ru, drpaulson@mail.ru

Ключевые слова: крысы, экспериментальная ожоговая рана, 5% гель пектина, аминофталгидразид, цитология.
Key words: rats, experimental burn wound, 5% pectin gel, aminofthalgidrazid, cytology.

Аннотация. У 20 самцов крыс линии «Вистар» весом 180-200г, оценивали влияние 5%геля пектина с аминофталгидразидом на заживление экспериментальной модели ожоговой раны. Анализу подверглись мазки-отпечатки с раны в сроки на 1-е, 3-и, 7-е и 10-е сутки после отторжения ожогового струпа. Доказана эффективность влияния 5% геля пектина с иммуномодулятором аминофталгидразидом на заживление ран в основной группе, выражающаяся в переходе из воспалительно-регенераторной фазы к регенераторно-воспалительной уже на 3-и сутки после отторжения ожогового струпа, что быстрее по сравнению с контролем.

Resume. In 20 male "Wistar" rats, weighing 180-200 g, we evaluated the effect of 5% pectin gel aminofthalgidrazid on the healing of experimental model burn wounds. We analyzed smears from the wound on the 1st, 3rd, 7th and 10th day after the rejection of burn eschar. The efficiency of the impact of a 5% gel pectin immunomodulator aminofthalgidrazid on wound healing in the study group, as expressed in the transition from the inflammatory phase to the regenerative regenerative-inflammatory, already on the third day after the rejection of burn eschar, which is faster than in the control.

Введение

Лечение ожоговых ран подразумевает использование комплексной терапии, ведущее значение в которой принадлежит воздействию на местный раневой процесс. Наличие большого выбора перевязочных средств говорит о том, что продолжают поиски раневых покрытий и препаратов, отвечающих требованиям лечебного воздействия на рану в соответствии с фазой процесса. Защита раны, атравматичность, антимикробное воздействие, и положительное влияние на регенерацию - основные требования к раневым покрытиям и препаратам. В лечении ожоговых и гнойных ран хорошо зарекомендовали себя пектины [Донченко, 2000; Лазарева и соавт., 2002; Чумаков, 2006; Хубутя и соавт., 2012], показавшие высокую антимикробную активность в отношении музейных и клинических штаммов кишечной палочки, протей, синегнойной палочки [Павленко и соавт., 2008; Беретарь и соавт., 2009; Шевчук и соавт. 2013], а также патогенных представителей кишечной микрофлоры [Потиевский и соавт., 1994]. Немаловажное значение приобретает использование иммунных препаратов для местного лечения ожоговых ран [Паничев и соавт., 2004; Крюкова, 2005].

Доступным и малозатратным способом мониторинга раны является оценка мазков-отпечатков [Покровский, Макаров, 1942], позволяющая по количественному и качественному кле-

точному составу не только определить состояние раны, но и прогнозировать направленность вектора течения раневого процесса [Нестерова, 1996; Widgerow et al., 2015].

Материалы и методы

Материалом для нашего исследования послужили мазки-отпечатки раневого экссудата, полученные от 20 самцов крыс линии «Вистар» весом 180-200г, у которых в области спины создавалась модель ожоговой раны глубиной IIIA степени. Моделирование ожоговой раны осуществляли с помощью разработанного приспособления, на которое получен патент на полезную модель №151026, 2015 г.

Лечение раны после отторжения ожогового струпа проводилось 5% гелем свекловичного пектина с аминофталгидразидом. Группу сравнения составили также 20 самцов крыс линии «Вистар» весом 180-200г, подвергнутых лечению мазью левомеколь. Окраску мазков-отпечатков выполняли методом Май-Грюнвальда. Учет результатов в каждом мазке-отпечатке осуществляли путем визуального дифференцированного подсчета клеточных форм в 10 полях зрения при общем увеличении светового микроскопа 700х с последующим расчетом средних величин. Забор материала выполняли на 1-е, 3-и, 7-е и 10-е сутки после отторжения ожогового струпа. Результаты обрабатывали методами вариационной статистики на ЭВМ с помощью программы «Статистика 6». Результаты представлены на рисунках 1-7 и таблице 1.

Результаты

Исследование мазков экссудата, полученных с поверхности ран через 1-е сутки после отторжения ожогового струпа в экспериментальной ране крыс и окрашенных по Май-Грюнвальду показало, что в его составе присутствует большое количество полинуклеаров, которые, по всей видимости, являются сегментоядерными нейтрофильными лейкоцитами, мононуклеаров было меньше приблизительно в 2-2.5 раза. Среди мононуклеаров преобладают типичные лимфоциты. Встречаются макрофаги, эпителиоидные клетки, плазмциты и единичные фибробласто-подобные клетки. Следует отметить, наличие в ряде мазков значительного количества типичных эозинофилов. Экссудат был богат эритроцитами, в том числе и "выщелоченными". Большинство клеток гистиогенного происхождения имели явные признаки дегенерации (кариопикноз, кариорексис, вакуолизацию цитоплазмы). Визуальных различий в картине мазков экссудата, полученного от различных групп экспериментальных животных обнаружено не было.

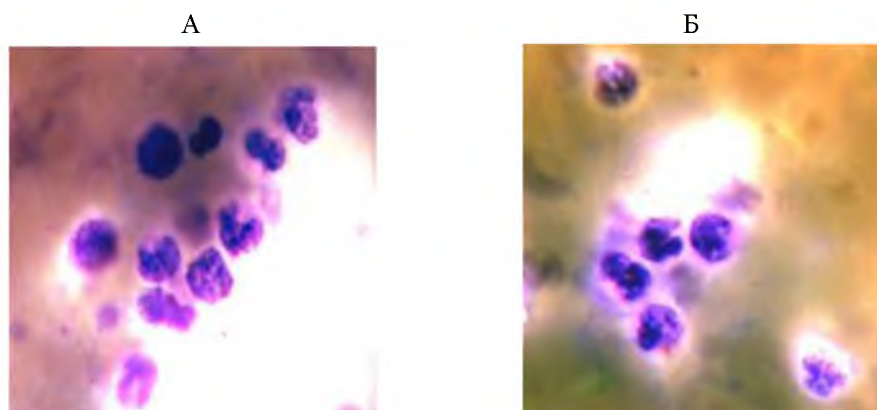


Рис. 1. Цитологическая картина раневого отделяемого экспериментальных ожоговых ран на 1-е сутки после отторжения ожогового струпа (А - группа контроля, Б - экспериментальная группа).
Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 1000х)

Fig. 1. Cytologic picture wound separated experimental burn wounds for the 1st days after rejection of a burn scab (A - group of control, B - experimental group)

При подсчете количества клеточных форм в полях зрения микроскопа были установлены некоторые различия между животными контрольной и экспериментальной групп (лечение раны с использованием 5% гелепектина в комплексе с аминофталгидразидом) (см. рис. 1), свидетельствующие об увеличении доли полинуклеаров в составе клеток экссудата, полученного от животных, у которых в качестве лечебного средства использовали 5% гелепектин в комплексе с аминофталгидразидом, однако это увеличение не было статистически достоверным ($P > 0.05$). Прирост количества мононуклеаров также не был статистически значим. Следует отметить, что общее количество клеток (не считая эритроцитов) в мазке экссудата из ран, леченных с применением 5% гелепектина было в среднем на 20% больше, чем в контроле ($P < 0.05$).

На 3-и сутки после отторжения ожогового струпа и начала лечения визуальная цитологическая картина мазка экссудата практически осталась прежней по отношению к наблюдаемой на предыдущем сроке исследования, однако количественные показатели претерпели существенные изменения.

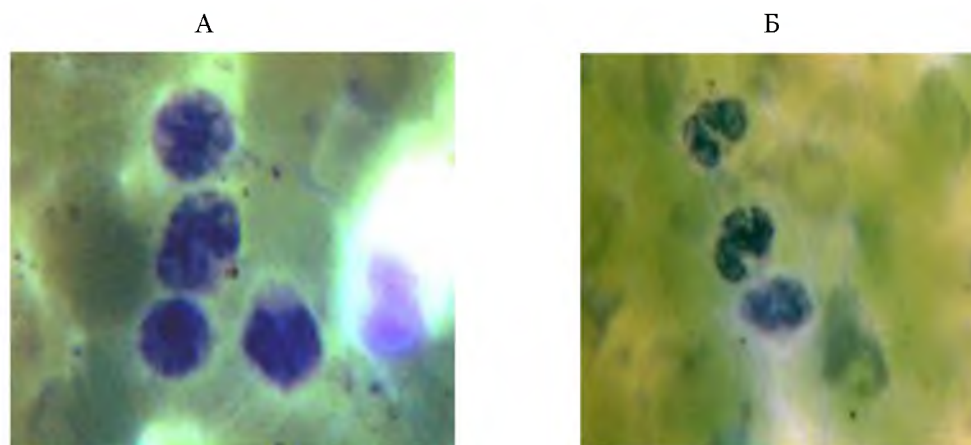


Рис. 2. Цитологическая картина раневого отделяемого экспериментальных ожоговых ран на 3-и сутки после отторжения ожогового струпа (А - группа контроля, Б экспериментальная группа).

Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 700×).

Fig. 2. Cytologic picture separated experimental burn wounds for the 3rd days after rejection of a wound burn scab (A - group of control, B experimental group)

В контрольной группе среднее число клеток в поле зрения снизилось на 13% по отношению к их количеству, зарегистрированному на 1-е сутки, количество полинуклеаров и мононуклеаров также упало на 5 и 37% соответственно.

При использовании в качестве лечебного средства 5% гелъпектина в комплексе с аминофталгидразидом в экссудате были обнаружены существенные отличия как по сравнению с аналогичными данными характерными для забора материала на момент отторжения ожогового струпа, так и по сравнению с контролем в пределах данного забора материала. Так, по сравнению с предыдущим сроком исследования количество полинуклеаров увеличилось на 4%, содержание мононуклеаров стало меньше на 6%, общее число клеток снизилось на 5%. По сравнению с контролем различия были также весьма существенны и статистически значимы (см. рис. 2). Так, количество полинуклеаров увеличилось на 26%, число мононуклеаров возросло на 66%, общее число клеток в поле зрения микроскопа стало больше в среднем на 31%.

На 7-е сутки после начала эксперимента цитологическая картина мазка экссудата претерпела серьезные изменения по сравнению с выявленной на предыдущем сроке исследования. В мазках, полученных от всех исследованных групп животных, отмечено резкое снижение общего числа клеток, как гематогенного, так и гистиогенного происхождения. Так в контроле общее число клеток упало на 68%, количество мононуклеаров уменьшилось на 40%.

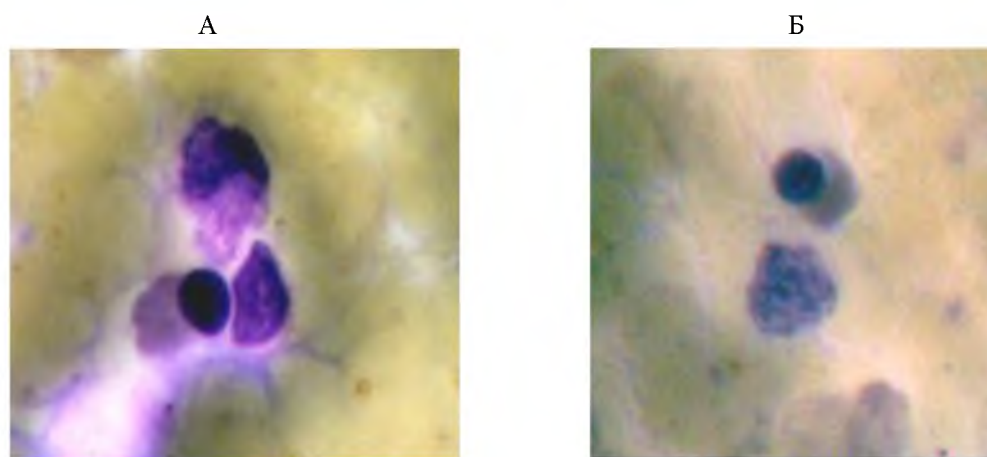


Рис. 3. Цитологическая картина раневого отделяемого экспериментальных ожоговых ран на 7-е сутки после отторжения ожогового струпа (А - группа контроля, Б - экспериментальная группа)

Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 700×).

Fig. 3. Cytologic picture separated experimental burn wounds for the 7th days after rejection of a wound burn scab (A - group of control, B - experimental group)

Аналогичные и еще более явные изменения претерпела цитологическая картина экссудата ран, подвергшихся терапии с применением 5% гелъпектина в комплексе с аминофталгидразидом. Изученные цитологические показатели в этих экспериментальных группах сильно отличались как от

аналогичных данных характерных для предыдущего срока исследования, так и от контроля. Эти отличия были статистически значимы ($P < 0.001$). Следует отметить, что в мазках экссудата практически исчезли эозинофилы, фибробластоподобные клетки, гистиоциты и плазматические клетки.

На 10-е сутки эксперимента визуальная цитологическая картина в мазках раневого отделяемого животных контрольной группы характеризовалась бедностью клеточных форм. Наблюдаемые клетки отличались сильными дегенеративными изменениями, касающимися их морфологической структуры. Многие клетки имели нарушения целостности внешней оболочки, ядра многих из них были сильно фрагментированы, цитоплазма вакуолизирована. В основном в экссудате присутствовали клетки гематогенного происхождения - поли- и мононуклеары.

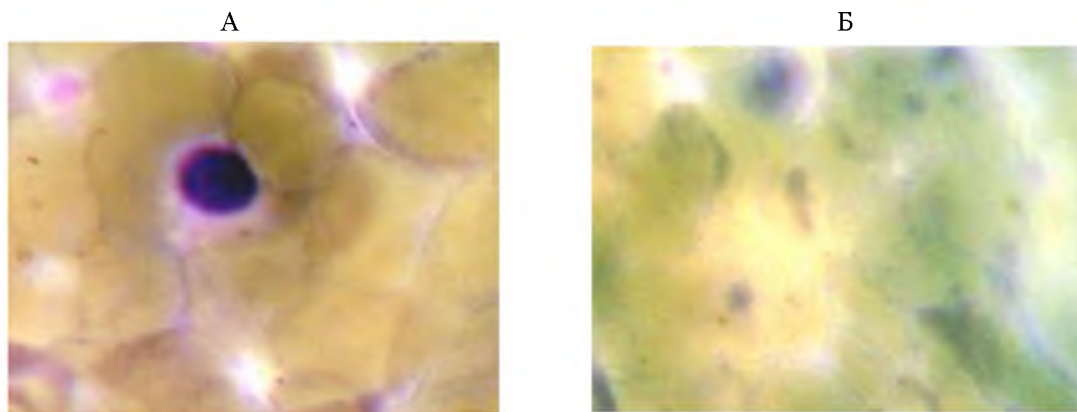


Рис. 4. Цитологическая картина раневого отделяемого экспериментальных ожоговых ран на 10-е сутки после отторжения ожогового струпа (А - группа контроля, Б - экспериментальная группа).

Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 700×

Fig. 4. Cytologic picture separated experimental burn wounds for the 10th days after rejection of a wound burn scab (A - group of control, B - experimental group)

Следует отметить, что морфологическая идентификация клеток была сильно затруднена в виду их дегенеративных изменений. Общее количество клеток, определяемых в мазках, было незначительно. В мазках раневого отделяемого животных леченных с использованием 5% гелпектина в комплексе с аминофталгидразидом встречались лишь единичные клетки. Их число было недостаточно для проведения статистической обработки.

На рис. 5 отображена динамика содержания полинуклеаров в составе экссудата ожоговой раны. На рис. 6 отражена динамика содержания (в расчете на одно поле зрения) мононуклеаров в составе экссудата ожоговых ран крыс. На рис. 7 отражена динамика общего количества клеток (в расчете на одно поле зрения) в составе экссудата ожоговых ран крыс.

В таблице 1 представлены данные о некоторых цитологических показателях раневого экссудата в условиях применения 5% гелпектина в комплексе с аминофталгидразидом.



Рис. 5. Динамика содержания (в расчете на одно поле зрения) полинуклеаров в составе экссудата ожоговых ран крыс

Fig. 5. Dynamics of the contents (counting on one field of vision) polinuclear as a part of exudate burn wounds of rats



Рис. 6. Динамика содержания (в расчете на одно поле зрения) мононуклеаров в составе экссудата ожоговых ран крыс
 Fig. 6. Dynamics of the contents (counting on one field of vision) mononuclear as a part of exudate of the burn wounds of rats



Рис. 7. Динамика общего количества клеток (в расчете на одно поле зрения) в составе экссудата ожоговых ран крыс
 Fig. 7. Dynamics of total of cages (counting on one field of vision) as a part of exudate burn wounds of rats

Таблица 1
 Table.1

Некоторые цитологические показатели раневого экссудата в условиях применения 5% гелпектина в комплексе с аминофталгидразидом
Some cytologic indicators of wound exudate in the conditions of application of 5% of a gelpektin in a complex with the aminoftalgidrazidy

Сроки исследования		Количество полинуклеаров	Количество мононуклеаров	Суммарное количество клеток в экссудате
Первые сутки после отторжения ожогового струпа	Контроль	135±11	56±5	220±12
	Лечение 5% гелем пектина с аминофтал-гидразидом	158±12 P>0.05	62±6 P>0.05	265±11 P<0.05
Третьи сутки после начала эксперимента	Контроль	129±12	35±6	191±18
	Лечение 5% гелем пектина с аминофтал-гидразидом	165±11 P<0.05	58±6 P<0.05	251±12 P<0.01
Седьмые сутки после начала эксперимента	Контроль	14±2	21±4	61±6
	Лечение 5% гелем пектина с аминофтал-гидразидом	4±2 p<0.001	8±1 P<0.01	29±3 P<0.001
Десятые сутки после начала эксперимента	Контроль	2±0,3	5±2	21±2
	Лечение 5% гелем пектина с аминофтал-гидразидом	Клеток недостаточно для статистической обработки		

Примечания:

1. P - достоверность отличия от контроля.
2. Суммарное количество клеточных форм экссудата включает в себя мононуклеары, полинуклеары, а также другие клетки (эозинофилы, моноциты, макрофаги и т.п.) обнаруженные в нем.



Выводы

Таким образом, анализ результатов цитологического исследования показал, что в ожоговых ранах исследованных групп лабораторных животных, как в контроле, так и с применением 5% гелепектина в комплексе с аминоталгидразидом, наблюдается положительная динамика, характеризующая переходом воспалительно-регенераторной тканевой реакции к регенераторной. Однако, с применением 5% гелепектина в комплексе с аминоталгидразидом динамика процесса предпочтительней, так как уже на 3-и сутки отмечается переход процесса из воспалительно-регенераторной фазы к регенераторно-воспалительной. Следует отметить, что у 2-х животных основной группы на 3-и сутки наблюдался переход процесса даже в регенераторную стадию, что не отмечалось ни у одного лабораторного животного контрольной группы.

Использование 5% гелепектина в комплексе с аминоталгидразидом для лечения ожоговых ран является целесообразным также и при клинических испытаниях.

Список литературы References

Беретарь С.Т. 2009. Антибактериальные свойства свекловичного пектина. Материалы международной научно-практической конференции «Функциональные продукты питания: ресурсосберегающие технологии переработки сельскохозяйственного сырья, гигиенические аспекты и безопасность». КубГАУ. Краснодар.:58-63.

Beretar' S.T. 2009. Antibakterial'nye svojstva sveklovichnogo pektina. Materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Funkcional'nye produkty pitaniya: resursosberegajushhie tehnologii pererabotki sel'skoxozjajstvennogo syr'ja, gigienicheskie aspekty i bezopasnost'». KubGAU. Krasnodar.:58-63 (in Russian).

Донченко Л.В. 2000. Технология пектина и пектинопродуктов. М., ДеЛи, 11-16.

Donchenko L.V. 2000. Tehnologija pektina i pektinoproduktov. M., DeLi, 11-16 (in Russian).

Крюкова В.В. 2005. Патогенетическое обоснование сорбционно-апликационной терапии гнойных ран. Дис. канд... мед. наук. Чита, 151 с.

Krjukova V.V. 2005. Patogeneticheskoe obosnovanie sorbcionno-applikacionnoj terapii gnojnyh ran. Dis. kand... med. nauk. Chita, 151 s (in Russian).

Лазарева Е.Б. 2002. Эффективность местного применения пектинов в лечении ожоговых ран. Антибиотики и химиотерапия, (9): 9-13.

Lazareva E.B. 2002. Jeffektivnost' mestnogo primenenija pektinov v lechenii ozhogovyh ran. Antibiotiki i himioterapija, (9): 9-13 (in Russian).

Нестерова И.В. 1996. Комплексное трехуровневое исследование системы нейтрофильных гранулоцитов с возможной диагностикой ИДС при различной патологии. Метод. рекомендации. – Краснодар, 49 с.

Nesterova I.V. 1996. Kompleksnoe trehurovnevoe issledovanie sistemy nejtrofil'nyh gra-nulocitov s vozmozhnoj diagnostikoj IDS pri razlichnoj patologii. Metod. rekomendacii. – Kras-nodar, 49 s(in Russian).

Паничев А.М. 2004. Цеолиты в хирургии. Владивосток, изд-во ДВГУ, 120 с.

Panichev A.M. 2004. Ceolity v hirurgii. Vladivostok, izd-vo DVGU, 120 s (in Russian).

Павленко С.Г. 2008. Пектиновая пленка при лечении гнойных ран и трофических язв. Фундаментальные исследования, М.,(1): 150-151.

Pavlenko S.G. 2008. Pektinovaja plenka pri lechenii gnojnyh ran i troficheskikh jazv. Funda-mental'nye issledo-vaniya, M.,(1): 150-151 (in Russian).

Хубутия М.Ш. 2012. Способ лечения инфицированных ожоговых ран IIIA степени. Патент на изобретение РФ №2455997.

Hubutija M.Sh. 2012. Sposob lechenija inficirovannyh ozhogovyh ran IIIA stepeni. Patent na izobretenie RF №2455997 (in Russian).

Потиевский Э.Г. 1994. Экспериментальное и клиническое изучение влияния пектина на возбудителей острых кишечных инфекций. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. Приложение: 106-109.

Potievskij Je.G. 1994. Jeksperimental'noe i klinicheskoe izuchenie vlijanija pektina na vozbuditelej ostryh kishechnykh infekcij. Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii. Prilozhenie: 106-109.

Чумаков П.А. 2006. Применение препаратов пектина в комплексном лечении гнойных заболеваний мягких тканей. Дис. канд. мед. наук. Омск, 120с.

Chumakov P.A. 2006. Primenenie preparatov pektina v kompleksnom lechenii gnojnyh zabo-levanij mjagkih tkanej. Dis. kand. med. nauk. Omsk, 120s (in Russian).

Шевчук В.Ю. 2013. Влияние 5% свекловичного пектинового геля на госпитальную микрофлору. Кубанский научный медицинский вестник. 1(136): 195-197.

Shevchuk V.Ju. 2013. Vlijanie 5% sveklovichnogo pektinovogo gelja na gospital'nuju mikroflo-ru. Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik. 1(136): 195-197 (in Russian).

Widgerow A.D. 2015. The burn wound exudate-An under-utilized resource. Burns. 41(1): 11-7.