

Е.В. Намоконов, М.Н. Лазуткин, А.М. Миromanov

**АНТИОКСИДАНТНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В РАНЕ
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

НУЗ Дорожная клиническая больница ОАО РЖД на ст. Чита II (Чита)

В эксперименте на модели инфицированной раны у крыс изучена клиническая эффективность антиоксидантного препарата — диметилселенита. Установлено, что местное использование диметилселенита улучшает процессы репарации, сокращает сроки заживления ран.

Ключевые слова: рана, гипоксия, антиоксиданты

ANTIOXIDANT STIMULATION OF REPARATIVE PROCESSES IN WOUND IN EXPERIMENT

E.V. Namokonov, M.N. Lazutkin, A.M. Miromanov

Railway Clinical Hospital of Russian Railways Ltd. on the station Chita II, Chita

In the experiment on the model of contaminated wound in rats clinical efficiency of antioxidant preparation (dimetilselenit) is studied. It was determined that local application of dimetilselenit improved reparation processes, reduced terms of wounds healing.

Key words: wound, hypoxia, antioxidants

ВВЕДЕНИЕ

Заживление ран является сложным многостадийным процессом, который контролируется большим количеством клеточных факторов, перекисным и иммунным статусом организма [1, 2, 4, 6, 7].

В последние годы получены серьезные доказательства влияния перекисного окисления липидов (ПОЛ) на течение раневого процесса. Чрезмерное образование активных форм кислорода (АФК) может быть важным патогенетическим фактором, нарушающим процессы заживления. Поэтому одним из элементов патогенетической терапии является стимуляция антиоксидантной системы организма, которая представляет собой ряд ферментов (глутатионпероксидаза и др.), способных нейтрализовать активные радикалы, запускающие систему ПОЛ [3]. Основным структурным элементом всех глутатионпероксидаз является селен (Se), отвечающий за индукцию синтеза глутатионпероксидазы (ГП), что может служить инструментом защиты развивающейся грануляционной ткани и эпителия в ране от избытка АФК, в первую очередь гидроперекисей и липопероксидов [1, 7].

В связи с этим важным является поиск и разработка новых лекарственных средств, обладающих антиоксидантным действием, обеспечивающих значительный противовоспалительный и регенераторный эффект не только на поверхности но и в глубоких слоях раны.

Целью исследования было изучить репаративные процессы в ране при местном использовании антиоксидантной лекарственной композиции на основе селена.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами использована стимуляция репаративных процессов кожной раны местным действием лекарственной композиции — диметилселенита [5].

Эксперименты проводили на 55 белых беспородных крысах-самцах массой 200–220 г. После депиляции и обработки спиртом под эфирным наркозом иссекали участок кожи диаметром до 4 см на спинках животных до подлежащей фасции и накладывали асептическую повязку [7]. Начиная со 2-х суток под контролем бактериологических исследований с целью стимуляции репаративных процессов у 20 животных использовали для местного лечения диметилселенит (группа № 1), а у остальных (20 крыс) — мазь на основе диметилсульфоксида (группа № 2). Контрольная группа (группа № 3) была представлена 15 животными, у которых местное лечение не проводилось, раны заживали под асептической повязкой.

Раны накрывали марлевыми салфетками, и фиксировали узловыми швами. У животных 2–3-й групп повязки менялись ежедневно, повторно наносились мазевые препараты, оценивался внешний вид раны и состояние грануляций. Для морфологического исследования биоптаты с центра ран фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина с последующей проводкой через спирты восходящей концентрации и заливкой в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкр окрашивались гематоксилином и эозином, пикрофуксином по методу Ван-Гизона с последующим изучением методом световой микроскопии.

Комплексное исследование, включающее визуальное наблюдение за раной, изучение биоптатов грануляционной ткани проводилось на 2-е и 4-е сутки после нанесения раны, что соответствовало 1-м и 3-м суткам лечения.

Эксперименты на животных были проведены в асептических условиях операционного блока кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ.

Операции и все манипуляции с животными проводились с использованием общего обезболивания, а эвтаназия — путем передозировки средств для наркоза с учетом положений, регламентируемых приложением № 8 («Правила гуманного обращения с лабораторными животными»), «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утвержденных Главным Государственным санитарным врачом СССР 6 апреля 1973 г. (№ 1045-73), а также приказом № 724 от 1984 г. Министерства высшего образования СССР «Правила проведения работ с экспериментальными животными».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Раны у животных контрольной группы на 2-е сутки после операции характеризовались наличием краевого некроза, кровоизлияний, отмечалась воспалительная инфильтрация с большим количеством распадающихся полиморфноядерных лейкоцитов. На 4-е сутки опыта у большинства животных этой группы в области ран сохранялся выраженный отек мягких тканей и воспалительный инфильтрат. В инфильтрате преобладали нейтрофильные лейкоциты, прилежащие в глубине раны мышечные волокна — набухшие, фрагментированы и частично некротизированы, по периферии в инфильтрате встречались единичные макрофаги, лимфоциты. У животных 1-й и 2-й групп на 2-е сутки наблюдения морфологическая картина была схожей с контрольной группой в эти же сроки.

У крыс 1-й группы при использовании диметилселенита установлено, что к 4-м суткам опыта лейкоцитарная инфильтрация в краях раны отсутствовала, раневая поверхность представлена широким слоем молодой грануляционной тканью с множеством мелких новообразованных капилляров. Элементы грануляционной ткани с признаками созревания проникали и между пучками мышечных волокон. Отмечалось наличие коллагеновых волокон, окруженных большим количеством полибластов, макрофагов, эпителиоидных клеток с тенденцией их трансформации в фибробласты (рис. 1).

Морфологическая картина ран у животных 2-й группы выявило следующее. К 4-м суткам лечения поверхностный лейкоцитарно-некротический слой был тонким, снижена диффузная лейкоцитарная воспалительная инфильтрация мягких тканей раны. Грануляционная ткань содержала достаточно большое количество лимфоцитов и нейтрофилов, имелись незрелые клетки фибробластического ряда. Новообразованных кровеносных сосудов небольшое количество, лимфостазы. Сохранялась необильная межмышечная макрофагально-лейкоцитарная инфильтрация, по периферии прослеживались единичные фибробласты (рис. 2).

Цитологическая картина раневых отпечатков ран у животных контрольной группы характеризовалась наличием разрушенных гранулоцитов ($45,5 \pm 2,1\%$ от общего количества клеток) с большим количеством фагосом с микробным и клеточным детритом. В последующие дни наблюдения

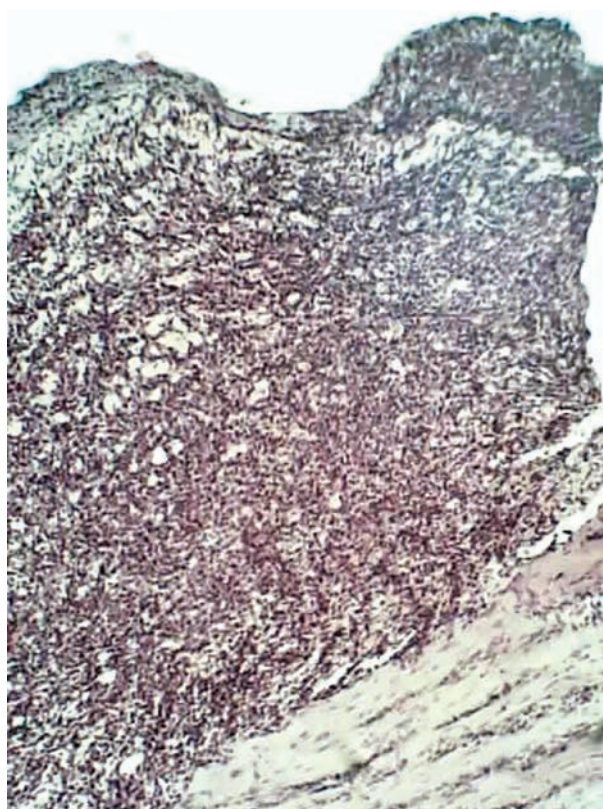


Рис. 1. Многочисленные полнокровные капилляры. Коллагеновые волокна, окруженные эпителиоидными клетками с тенденцией трансформации в фибробласты. Первая опытная группа, 4-е сутки от начала наблюдения. Окраска гематоксилин-эозином, ок. $\times 7$, об. $\times 20$.

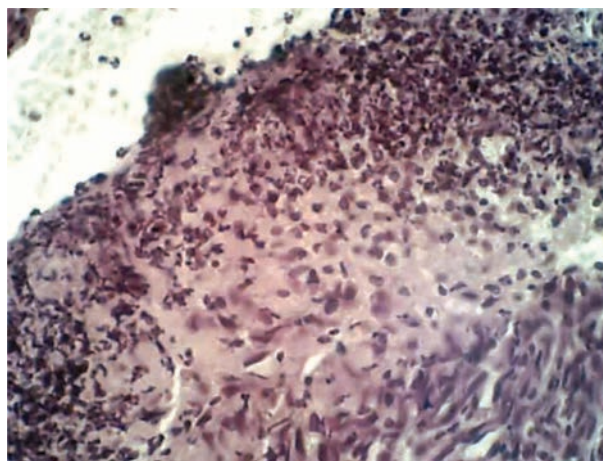


Рис. 2. Выраженная нейтрофильная инфильтрация раны с интерстициальным отеком. В глубине формирование грануляционной ткани. Вторая опытная группа, 4-е сутки наблюдения. Окраска гематоксилин-эозином, ок. $\times 7$, об. $\times 40$.

нейтрофильные лейкоциты сохранялись в большом количестве, но без признаков дегенерации ($69,2 \pm 1,8\%$), появлялись единичные полибласты ($4,8 \pm 2,1\%$).

При цитологическом исследовании на 2-е сутки лечения у животных 1-й группы (диметилселенит) во всех наблюдениях отмечалась положительная динамика, которая проявлялась в значительном

Таблица 1

Результаты цитограмм раневых отпечатков у экспериментальных животных в процессе лечения (%) (M + m)

Клеточный состав (%)	Исследуемые средства			
	Группа 1 (диметилселенит), n = 20		Группа 2 (диметилсульфоксид), n = 20	
	2-е сутки	4-е сутки	2-е сутки	4-е сутки
Нейтрофилы	32,2 ± 3,1	35,2 ± 2,1	58,5 ± 2,2	54,5 ± 1,7
Недифференцированные полибласты	10,8 ± 2,1	26,5 ± 5,2	6,7 ± 1,9	9,6 ± 0,9
Макрофаги	12,7 ± 2,4	13,7 ± 2,12	11,3 ± 1,4	12,1 ± 1,2
Фибробласты	–	7,8 ± 1,79	–	2,7 ± 0,09
Фагоцитоз завершённый	+	+	–	–

снижении количества нейтрофильных лейкоцитов до 32,2 ± 3,1 % от общего числа клеток, большинство из них было без признаков дегенерации. Обращало на себя внимание нарастание количества макрофагов до 12,7 ± 2,4 % в поле зрения и появление полибластов (10,8 ± 2,1 %), которые имели тенденцию к расположению гнездами. На 4-е сутки лечения, к моменту разрастания в ранах полноценных грануляций, цитограммы были представлены большим количеством полибластов, которые чаще всего имели гнездовое расположение и составляли 26,5 ± 5,2 % от общего числа клеток, происходила их активная трансформация в про- и фибробласты, которые располагались гнездами по 7–8 в поле зрения (табл. 1).

Во 2-й группе на 2-е сутки отмечалось менее значительное снижение количества нейтрофильных лейкоцитов (до 58,5 ± 2,2 %), большинство из них было без признаков дегенерации, многие микроорганизмы находились внутри клеток в различной стадии разрушения. Отмечалось нарастание количества гистиоцитарных клеток (полибластов), которые составили 6,7 ± 1,9 % от общего числа клеток. К 4-м суткам лечения в цитограммах всех животных этой группы отмечалось отсутствие микробных тел, гнездовое расположение полибластов (до 9,6 ± 0,9 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основным антиоксидантным ингредиентом в предлагаемой лекарственной композиции является селенит натрия, который, активируя глутатионпероксидазу, регулирует перекисный гемостаз. Диметилсульфоксид используют как в качестве бактерицидного компонента, так и в качестве стабилизатора и диполярного носителя, способствующего проникновению селенита натрия через биологические мембраны вглубь тканей. Дистиллированная вода является растворителем селенита натрия.

Таким образом, применение селена в лекарственной композиции для заживления ран вторичным заживлением позволяет уменьшить некроз в

краях раны, ускорить пролиферативные процессы в грануляционной ткани и тем самым создать благоприятные условия для проведения реконструктивно-восстановительных операций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляев А.Н., Рыгин А.Н., Захватов А.Н. Системная и региональная антиоксидантная терапия при осложненных формах диабетической стопы // Хирургия. — 2007. — № 11. — С. 46–50.
2. Глухов А.А., Алексеева Н.Т., Лобцов А.В. Клинико-морфологическое обоснование применения гидропрессивной санации и поляризованного облучения при лечении ран мягких тканей в эксперименте // Вестн. эксперим. и клин. хирургии. — 2010. — Т. 3, № 2. — С. 133–145.
3. Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н. Системное воспаление как типовой патологический процесс // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 3. — С. 48–53.
4. Лиханов И.Д., Цыбиков М.Н., Кузник Б.И. Влияние биорегулирующей терапии на иммунитет и гемостаз при гнойной хирургической инфекции // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. — 2007. — № 5. — С. 128.
5. Средство для стимуляции репаративных процессов в ране: Патент РФ № 2369395 / Намоконов Е.В., Миromanов А.М., Луценко В.Н., Терешков П.П., Лазуткин М.Н.; № заявки 2008103046, Оpubл. 10.10.2009 г. — 2009.
6. Чекмарева И.А. Процессы репаративной регенерации в ране при действии биологически активных покрытий в эксперименте // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2002. — Т. 133, № 2. — С. 226–230.
7. Экспериментальная и клиническая оценка антиоксидантной эффективности многокомпонентного антиоксидантного препарата / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Г.Г. Коновалов [и др.] // Терапевтический архив. — 2004. — № 8. — С. 10–15.

Сведения об авторах

Намоконов Евгений Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ (672090, г. Чита, ул. Горького, 39а; e-mail: namokonov@mail.ru)

Лазуткин Михаил Николаевич – начальник дирекции медицинского обеспечения Забайкальской железной дороги (672000, г. Чита, ул. Чкалова, 137)

Миromanов Александр Михайлович – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ