

УДК 616-001.4-002.3-08-092.9

МЕСТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ГНОЙНЫХ РАН МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ КОМБИНАЦИЕЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНОКСИДА

¹Григорьян А.Ю., ¹Мишина Е.С., ²Горохова А.С.

¹ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, e-mail: arsgrigorian@mail.ru;

²ОБУЗ «Тимская центральная районная больница», Курск

В статье показаны результаты эксперимента на модели гнойной раны с применением планиметрического (процент уменьшения площади ран, скорость заживления), гистологического (окраска гематоксилином и эозином) и статистического методов исследования. Эксперимент был выполнен на крысах породы Вистар, которые были разделены на 3 группы (интактная, контрольная, опытная) по 60 особей в каждой. В качестве опытного образца была применена комбинация, состоящая из антисептика и антибактериального препарата, иммобилизованных на полиэтиленоксиде. Планиметрическое исследование показало: процент уменьшения площади ран в опытной группе был больше, чем в контрольной на 5 – 15 сутки наблюдения, при этом скорость заживления в опытной группе была достоверно ($p \leq 0,05$) выше в 1,63 раза, по сравнению с контролем. После проведенного гистологического исследования было отмечено, что скорость регенерации была больше и эпителизация наступала раньше в опытной группе, чем в контрольной. Таким образом, результаты исследования показали высокую эффективность разработанной нами комбинации в сравнении с интактной и контрольной экспериментальными группами.

Ключевые слова: гнойная рана, лечение ран, полиэтиленоксид, антисептики

LOCAL TREATMENT OF PURULENT WOUNDS BY DINT OF MEDICAMENTOUS COMBINATION BASED ON POLYETHYLENE OXIDE

¹Grigoryan A.Y., ¹Mishina E.S., ²Gorohova A.S.

¹Kursk State Medical University, Kursk, e-mail: arsgrigorian@mail.ru;

²Tim Central Regional Hospital, Kursk

The article shows the results of the experiment on the model of purulent wounds using planimetric (percentage reduction in wound area, the rate of healing), histology (hematoxylin and eosin stain) and statistical methods. The experiment was performed in rats Wistar, which were divided into 3 groups (intact, control, experimental), 60 animals each. The combination of a test sample was applied, consisting of antiseptic and antibiotic immobilized on polyethylene oxide. Planimetric study showed that the percentage reduction in wound area in the experimental group was greater than the control at 5-15 days of observation, while the rate of healing in the experimental group was significantly ($p \leq 0,05$) above 1.63 times, compared with control. After a histological study, it was noted that the regeneration rate was more and epithelialization occurs earlier in the experimental group than in the control. Thus, the results showed higher contact efficiency of the developed combination compared to intact and control groups.

Keywords: purulent wound, wound healing, polyethylene oxide, antiseptics

Повсеместно появляются новые штаммы микроорганизмов, которые вызывают гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей, нечувствительные к антибиотикам, являющимся устоявшимися в лечении данной патологии [3, 4]. Многие официальные препараты, используемые врачами ежедневно, требуют довольно продолжительного применения, что затягивает процесс заживления раны и увеличивает период временной нетрудоспособности больного [1, 6, 9]. На наш взгляд необходимо продолжать поиск и разработку современных форм и комбинаций из антисептиков и противомикробных препаратов иммобилизованных на основах, способных длительное время высвобождать вещества в рану, что ускорит процесс заживления и уменьшит кратность перевязок [2, 5, 8].

Цель исследования: Обосновать возможность применения иммобилизован-

ной формы бензалкония хлорида и метронидазола в лечении экспериментальной гнойной раны.

Материалы и методы исследования

Материалом настоящего изыскания явилась иммобилизованная форма бензалкония хлорида, изготовленная на кафедре фармацевтической технологии КГМУ (зав. кафедрой профессор Т.А. Панкрушева) следующего состава (в %): бензалкония хлорид – 0,02; метронидазол – 1,0; полиэтиленоксид М.м. 400 – 80,0; полиэтиленоксид М.м. 1500 – 20,0.

В исследованиях на лабораторных животных (крысы) была изучена ранозаживляющая активность Левомеколя и предлагаемого нами препарата в сравнительном аспекте. Для проведения эксперимента отбирались животные массой $183,0 \pm 17,05$ г. Опыты *in vivo* реализованы на 180 крысах породы «Vistar». Исследованию подвергались животные без признаков болезни после 15 суточного карантина в виварии КГМУ. Все животные содержались на стандартном пищевом рационе в одинаковых условиях. Протокол экспериментов был составлен в соответствии

с принципами биоэтики, правилами лабораторной практики (GLP), соответствует этическим нормам и выполнен в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (18.03.1986). Животным в стерильных условиях под наркозом моделировался гнойно-воспалительный процесс мягких тканей следующим образом: предварительно бритая и обработанная антисептиком кожа с подкожной клетчаткой иссекалась размером 16x16 мм. В образовавшийся дефект вводили марлевый тампон, пропитанный 1 миллиардом микробных агентов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-R, выдержанных 24 часа, и ушивали рану. Через 48 часов после моделирования у всех экспериментальных животных формировалось гнойное воспаление мягких тканей. После удаления швов рану широко раскрывали, марлевый тампон извлекали, удаляли гной. После чего были сформированы 3 группы экспериментальных животных: интактная, контрольная и опытная.

Обработка ран производилась ежедневно, один раз в сутки: в интактной группе только 3 % раствором перекиси водорода; в контрольной – 3 % раствором перекиси водорода и наложение стерильной салфетки с препаратом «Левомеколь»; в опытной – 3 % раствором перекиси водорода и накладывали стерильную салфетку с предлагаемой нами формой бензалкония хлорида. Срок лечения составлял 15 дней.

На 1, 3, 5, 8, 10 и 15 сутки производилась оценка эффективности лечения в экспериментальных группах планиметрическим и гистологическим методами.

При проведении планиметрии раневой поверхности по методике Л.Н. Поповой оценивались процент уменьшения площади (ПУП) и скорости заживления (СЗ). Микроскопическое исследование раневых срезов совершали после выведения крыс из опыта путем передозировки наркоза. Забор раневого дна и прилежащего к нему края производили путем иссечения лезвием. Полученный материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. После фиксации, иссекали меньшие кусочки тканей и после промывки, обезжизивания и пропитывания парафином по стандартной методике, микротомировали. Срезы, толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. При изучении микропрепаратов фиксировали следующие изменения: насколько выражена воспалительная реакция, срок появления зрелой грануляционной ткани, начало эпителизации с краёв и структурную полноценность вновь сформировавшегося эпителиального слоя.

Результаты обработаны с использованием следующих методов статистики: однофакторный дисперсионный анализ, вычисление средних величин показателей (M) и средней ошибки (m). Нормальность распределения выборки оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Статистическую значимость различий определяли по критерию Даннета, Ньюмена-Кейлса.

Результаты исследования и их обсуждение

Динамика планиметрических показателей ран представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Планиметрические изменения ран (M ± m)

Группа	Интактная		Контрольная		Опытная	
	S раны, (мм ²)	ПУП, %	S раны, (мм ²)	ПУП, %	S раны, (мм ²)	ПУП, %
1 сутки	250,0 ± 0,97	1,6 ± 0,33	251,0 ± 0,58	0,1 ± 0,17	249,2 ± 0,35	0,4 ± 0,20
3 сутки	223,4 ± 1,28	12,2 ± 0,72	197,7 ± 2,33*	21,2 ± 0,97*	207,5 ± 2,83	16,8 ± 1,20
5 сутки	175,8 ± 2,58	31,0 ± 1,21	138,2 ± 1,87	44,9 ± 0,79	114,6 ± 4,61*	54,0 ± 1,90*
8 сутки	131,8 ± 2,69	48,1 ± 1,21	104,0 ± 1,25	58,5 ± 0,51	83,8 ± 3,51*	66,4 ± 1,40*
10 сутки	114,5 ± 2,52	54,9 ± 1,17	54,2 ± 2,43	78,4 ± 0,97	53,1 ± 3,11	78,7 ± 1,22
15 сутки	69 ± 2,91	72,8 ± 1,28	27,8 ± 2,31	88,9 ± 0,95	15,2 ± 1,84*	93,5 ± 0,80*

Примечание: * – $p \leq 0,05$ при сопоставлении опытной группы с контрольной (по критерию Ньюмена-Кейлса).

Таблица 2

Скорость заживления ран у экспериментальных животных в процессе лечения, мм²/сут. (M ± m)

Группа	Интактная	Контрольная	Опытная
1-3 сутки	5,2 ± 0,36	10,5 ± 0,51*	8,2 ± 0,61***
3-5 сутки	9,2 ± 0,57	12,0 ± 0,69*	19,5 ± 1,02***
5-8 сутки	5,9 ± 0,37	4,4 ± 0,32	4,6 ± 0,72
8-10 сутки	3,9 ± 0,54	10,1 ± 0,54*	7,0 ± 1,25***
10-15 сутки	3,4 ± 0,28	2,0 ± 0,12	3,1 ± 0,50

Примечание: * – $p \leq 0,05$ при сопоставлении опытной группы и контрольной с нелеченой (по критерию Даннета); ** – $p \leq 0,05$ при сравнении опытной группы с контрольной (по критерию Ньюмена-Кейлса).

При сравнении контрольной и опытной групп с интактной по критерию Даннета статистически существенные отличия встречались по всем показателям на всех сроках. Изменения площади и процента уменьшения площади ран (как представлено в табл. 1) указывает на более эффективное течение процесса заживления в опытной группе по сравнению с контрольной начиная с 5 суток наблюдения (данное различие статистически достоверно, $p \leq 0,05$).

В интактной группе СЗ устойчиво слабая на протяжении всего срока наблюдения. В контрольной и опытной группах наибольшие значения приходились на срок 3-5 суток, однако при этом СЗ в опытной группе была выше в 1,63 раза (статистически значимое отличие, $p \leq 0,05$), что указывает на высокую активность в предлагаемом нами лекарственном комплексе в первую фазу раневого процесса.

При микроскопии гистопрепаратов ран во всех группах животных к первым суткам после моделирования гнойно-воспалительного процесса вся раневая поверхность была покрыта сплошным слоем фибринозно-гнойных масс, в которых обнаруживалось значительное количество погибших лейкоцитов. Отмечалась дилатация лимфатических и кровеносных сосудов. Отек клетчатки и тканей, залегающих глубже, и инфильтрат в сочетании с диапедезным пропитыванием, который расходился за границы изначально нанесенного дефекта на всю глубину не только дермы, но и на гиподерму. Подлежащие ткани резко отечны и пропитаны полиморфно-ядерными лейкоцитами (ПЯЛ) и макрофагами на разных ступенях дифференцировки, очаги инфильтрата разделяли разрыхленные коллагеновые волокна друг от друга.

Через 3-е суток после моделирования гнойно-воспалительного процесса в интактной группе поверхность раны выполнена фибрином, инфильтрированным ПЯЛ. В ране отмечалось образование грануляционной ткани, лейкоцитарная инфильтрация. Инфильтрат переходил за пределы интактной дермы. У животных в контрольной и опытной группе поверхность раны выполнена струпом, под которым начинает созревать грануляционная ткань, клеточный состав которой представлял собой преимущественно гранулоциты. Отек дермы и клетчатки не выражен. Наблюдается активный неангиогенез.

На 5-е сутки эксперимента в интактной группе воспалительный инфильтрат выражен с тенденцией к формированию абсцесса, состоящего преимущественно из ПЯЛ, который пробирался в глубину

тканей, расслаивая при этом участки дермы не подвергшиеся дегенерации. Однако, они резко отечны, с дилатированными лимфатическими и кровеносными капиллярами. В контрольной группе поверхность раны прикрыта лейкоцитарно-некротическим слоем, под которым находится образующаяся грануляционная ткань, краевая эпителизация отсутствовала. Глубокие участки дермы немного отечны. В опытной группе отека не отмечалось, все же в инфильтрате отмечалось скопление макрофагов на фоне ПЯЛ.

На 8-е сутки проводимого исследования в интактной группе выявлялось усиление отека, особенно в глубоких слоях грануляций, расширение капилляров (кровеносных и лимфатических). В большинстве гистопрепаратов сохранялась лимфогистиоцитарная инфильтрация поверхностного слоя грануляций, причем в основе клеточного состава инфильтрата выступали ПЯЛ и лимфоциты. В контрольной группе на раневой поверхности отчасти локализуется лейкоцитарно-некротический слой. Дно раны заполнено зреющей грануляционной тканью, богатой кровеносными сосудами. Клетки фибробластического ряда различной отростчатой конфигурации, располагаются тяжами, опоясывая кровеносные сосуды. В опытной группе происходило наполнение вновь образованного эпителиального вала с периферии на фоне сформировавшейся грануляционной ткани.

На 10-е сутки наблюдений в интактной группе происходило заполнение раневого дефекта недозревшей соединительной тканью, которая в некоторых местах была выполнена фибрином. Инфильтрация отмечалась на всей глубине грануляций. Наблюдалась признаки краевой эпителизации. В контрольной группе происходит организация эпителиального вала на рубце раневого дефекта. Грануляционная ткань, инфильтрированная лейкоцитами, отчетливо ограничена от интактной дермы. В опытной группе отмечалось практически повсеместное покрытие созревших грануляций новым (новообразованным) эпидермисом. Производные эпидермиса отсутствовали в области раневого дефекта.

В связи с тем, что раневой процесс проходит определенные фазы течения, является необходимым использование препаратов с различными свойствами на разных этапах лечения. Так же, одним из моментов, который усугубляет течение раневого процесса, является образование биопленки, формирующейся в процессе жизнедеятельности микроорганизмов. Таким образом, основные усилия при те-

рапии гнойной раны в фазу гидратации должны быть направлены на разрушение биопленки, уничтожение патогенных микроорганизмов и хороший дренаж раны. Бензалкония хлорид ослабляет поверхностное натяжение на границе раздела двух сред, что приводит к нарушению целостности мембран клеток, денатурации внутриклеточных белков, срыву обменных процессов в клетках, обеспечивая выход компонентов, имеющих жизненно важное значение, в межклеточное пространство, что, в конце концов, приводит к элиминации микроорганизмов [7]. Таким образом, результаты планиметрических и гистологических наблюдений свидетельствуют о явном положительном влиянии на заживление раны иммобилизованной формы бензалкония хлорида и метронидазола. Так же благодаря применению гелевой основы происходит пролонгация действия препарата в ране и обеспечивается хороший ее дренаж.

Выводы

Иммобилизованная форма бензалкония хлорида и метронидазола в геле полиэтиленоксида обладает достаточно высоким антимикробным действием и противовоспалительным эффектом, форсирует сроки эпителизации гнойных ран в эксперименте. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать разработанный нами препарат для лечения гнойных ран в первой фазе течения раневого процесса.

Работа поддержана грантом Президента РФ для молодых кандидатов наук МК-5245.2016.7.

Список литературы

1. Бежин А.И. Морфологические особенности заживления раневой поверхности при использовании новых препаратов на основе карбоксиметилцеллюлозы / А.И. Бежин, Т.А. Панкрушева, М.А. Затолокина, А.Ю. Григорьян, Л.В. Жилиева, Е.В. Кобзарева, Е.С. Мишина // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3; URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=20333>.
2. Глухов А.А. Показатели окислительного стресса и антиоксидантной защиты как критерии качества лечения хронического экспериментального остеомиелита / А.А. Глухов, Е.В. Микулич, Н.Т. Алексеева, А.П. Остроушко // Новости хирургии. – 2013. – Т. 21, № 6. – С. 10–16.
3. Григорьян А.Ю. Морфологическое обоснование применения некоторых антисептиков в лечении ран / А.Ю. Григорьян, А.И. Бежин, Т.А. Панкрушева, Е.В. Кобзарева, Л.В. Жилиева, Е.С. Мишина // Медицинский вестник северного кавказа. – 2015. – Т. 10, № 3. – С. 292–295.
4. Суковатых Б.С. Лечение гнойных ран иммобилизованными формами антисептиков / Б.С. Суковатых, А.И. Бежин, Т.А. Панкрушева, А.Ю. Григорьян, Л.В. Жилиева, Е.В. Кобзарева, Е.Г. Андрияшина, Е.С. Мишина // Врач. – 2016. – № 3. – С. 16–20.
5. Суковатых Б.С. Эффективность иммобилизованной формы хлоргексидина в лечении гнойных ран / Б.С. Суковатых, А.Ю. Григорьян, А.И. Бежин, Т.А. Панкрушева, С.А. Абрамова // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23, № 2. – С. 138–144.
6. Чекмарева И.А. Морфофункциональные аспекты регенерации ран при лечении йод-содержащими мазями / И.А. Чекмарева, Л.А. Блатун, Л.П. Терехова // Хирургия. – 2014. – № 1. – С. 54–58.
7. Epstein S. Evaluation of biomarkers of inflammation in response to benzalkonium chloride on corneal and conjunctival epithelial cells / S. Epstein, M. Ahdoot, E. Marcus, P. Asbell // J. Ocul. Pharmacol. Ther. – 2009. – Vol. 25, № 5. – P. 415–424.
8. Kallstrom G. Are Quantitative Bacterial Wound Cultures Useful? / G. Kallstrom // J. Clin. Microbiol. – 2014. – Vol. 52. – P. 2753–2756.
9. Sanchez C.J.Jr. D-Amino Acids Enhance the Activity of Antimicrobials against Biofilms of Clinical Wound Isolates of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa / C.J.Jr. Sanchez, K.S. Akers, D.R. Romano, R.L. Woodbury, S.K. Hardy, C.K. Murray, J.C. Wenke // Antimicrob. Agents Chemother. – 2014. – Vol. 58. – P. 4353–4361.