

УДК 616-001.4:616.379-008.64

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У КРЫС НА ФОНЕ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ

А.В. Студеникин, А.А. Стадников, О.Б. Нузова, Н.И. Колосова*

Оренбургский государственный медицинский университет, Россия

PECULIARITIES OF EARLY PROCESS COURSE IN RATS AGAINST THE BACKGROUND OF ALLOXAN DIABETES WHEN USING DIFFERENT METHODS OF LOCAL THERAPY

A.V. Studenikin, A.A. Stadnikov, O.B. Nuzova, N.I. Kolosova*

Orenburg State Medical University, Russian Federation

Цель. Определить клиническую эффективность местного применения «Милиацила» и КВЧ-терапии в лечении гнойных ран на фоне аллоксанового диабета в экспериментальных условиях.

Материалы и методы. Исследования проведены с участием 140 белых беспородных крыс. В основной группе для лечения гнойных ран применяли «Милиацил» и КВЧ-терапию. В I контрольной группе лечение ран не проводилось, у крыс II контрольной группы использовали «Милиацил», у 24 крыс III контрольной группы применяли КВЧ-терапию.

Результаты. У экспериментальных животных повреждение островных клеток поджелудочной железы в ранние сроки наблюдений нашло отражение в различного вида структурных изменениях, преимущественно дегенеративного характера. Сравнительные изучения тканевых структур гнойных ран в различных условиях воздействия показали большую лечебную эффективность сочетанного использования «Милиацила» и КВЧ-терапии. Усиливались лейкоцитарные и макрофагальные реакции, ускорялось купирование воспалительного процесса и отделение некротических масс.

Выводы. Установлен феномен потенцирования противовоспалительного и регенераторного эффекта «Милиацила» и КВЧ-терапии.

Ключевые слова. «Милиацил», КВЧ-терапия, аллоксановый диабет, раны.

Aim. The aim of the study was to determine the clinical efficiency of local use of "Miliacyl" and EHF-therapy for the treatment of purulent wounds against the background of alloxan diabetes in experimental conditions.

Materials and methods. One hundred and forty white outbred rats were studied. In the main group, miliacyl and EHF-therapy were used for the treatment of purulent wounds. In the control group I no therapy of wounds was carried out; in the control group II "Miliacyl" was used; EHF-therapy was applied in 24 rats of the control group III.

Results. In experimental animals, damage of pancreatic islet cells during the early period of observation was reflected in different types of structural changes, predominantly of the degenerative type. Comparative study of tissue structures of purulent wounds in different conditions showed a high therapeutic efficiency of com-

© Студеникин А.В., Стадников А.А., Нузова О.Б., Колосова Н.И., 2016

тел. 8 905 894 50 06

e-mail: nuzova_27@mail.ru

[Студеникин А.В. – аспирант кафедры факультетской хирургии; Стадников А.А. – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии; Нузова О.Б. (*контактное лицо) – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской хирургии; Колосова Н.И. – старший преподаватель кафедры биофизики и математики].

bined use of "Miliacyl" and EHF-therapy. Strengthening of leukocytic and macrophagal reactions, faster arrest of inflammatory process and separation of necrotic masses was revealed.

Conclusions. Potentiation phenomenon of anti-inflammatory and regenerator effect when using miliacyl and EHF was stated.

Key words. "Miliacyl", EHF-therapy, alloxan diabetes, wounds.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема лечения гнойной инфекции у лиц, страдающих сахарным диабетом, не теряет своей актуальности в связи с неуклонным ростом числа больных данной категории [1, 2]. Важным остается поиск новых методов и средств местного лечения, обладающих разнонаправленным действием [4, 6, 7]. Этим требованиям отвечает разработанный препарат «Милицаил» [3]. Широкое применение в клинической практике получили физические методы воздействия, в том числе и КВЧ-терапия.

Цель исследования – определить клиническую эффективность местного применения «Милицаила» и КВЧ-терапии в лечении гнойных ран на фоне аллоксанового диабета в экспериментальных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лечебная эффективность «Милицаила» и КВЧ-терапии изучена в опытах на 140 белых беспородных крысах-самцах массой 260–330 г с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» согласно приказу Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г., Федеральному закону РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.12.1999 г., «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1985). У подопытных животных после суточного голодания был вызван аллоксановый диабет путем введения подкожно крысам 5%-ного раствора аллоксана. Диабет возникал через 2 суток после введения указанного раствора. С 6-х суток после возникнове-

ния диабета с целью его компенсации ежедневно в течение всего периода проведения эксперимента крысам вводился подкожно раствор протамина-цинк-инсулина в дозе 4 ЕД.

Через 30 дней после получения аллоксанового диабета у животных моделировали гнойно-воспалительный процесс задних конечностей, в том числе при инфицировании 64 крыс *S. aureus* с антилактоферриновой активностью (АЛФА*) и 64 животных микробным штаммом стафилококка без антилактоферриновой активности (АЛФА). Подопытным крысам после удаления волосяного покрова и обработки кожи настойкой йода и спиртом в стерильных условиях внутримышечно в область бедра вводился 1 мл взвеси суточной культуры стафилококка (2 млрд микробных тел) и 0,25 мл 25%-ного раствора сульфата магния. Гнойный очаг у подопытных животных возникал через 5–7 дней. После получения экспериментальной модели гнойно-воспалительного очага под общей анестезией производили его хирургическую обработку в объеме, обеспечивающем удаление нежизнеспособных тканей. Уровень сахара крови определен у животных до начала опытов, через 2, 16 дней после введения аллоксана, а также через 1, 7, 14, 21, 28 дней после операции. Для проведения гистологических исследований диабета дополнительно было использовано 12 крыс. Кроме определения сахара крови для подтверждения диабета, через 2, 16 дней после введения аллоксана и через 7 дней после операции были забиты 34 крысы и гистологически исследована ткань поджелудочной железы. Далее у крыс основной группы в местном лечении ран использовали «Милицаил» и КВЧ-терапию при помощи аппарата «Явь-1» с рабочей длиной волны 7,1 мм (частота $42\,194 \pm 10$ МГц). В первой контрольной группе был

исследован характер течения гнойно-воспалительного процесса без лечебной коррекции. Во второй контрольной группе лечение гнойных ран осуществлялось «Милиацилом». В третьей контрольной группе применяли КВЧ-терапию (аппарат «Явь-1»). В каждой группе было взято по 32 крысы (16 крыс, инфицированных *S. aureus* АЛФА⁺, и 16 крыс – *S. aureus* АЛФА⁻). Динамику течения патологического процесса оценивали по клиническим признакам – срокам исчезновения инфильтрации и гиперемии краев раны, характеру и количеству раневого отделяемого, срокам очищения ран от гнойно-некротического содержимого, срокам появления грануляций, краевой эпителизации и заживления. Помимо учета клинических данных, проводились гистологические и гистохимические исследования тканей из края ран на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни лечения после забоя крыс.

Полученные данные были обработаны с помощью программы Statistica 6.1. Количественные признаки были подвергнуты статистической обработке путём подсчёта основных статистических характеристик: выборочного среднего, ошибки среднего (стандартной ошибки). При выборе критерия для сравнения выборок проводилась проверка данных на соответствие нормальному закону распределения методом построения нормальных вероятностных графиков, по которым визуально исследовалось, насколько распределение данных близко нормальному. Так как в исследовании анализировались независимые выборки и данные не подчинялись нормальному закону, то для анализа был использован непараметрический критерий Манна–Уитни [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У экспериментальных животных повреждение островных клеток поджелудочной железы в ранние сроки наблюдений нашло отражение в различного вида структурных изменениях, преимущественно дегенеративного характера. Одни инсулоциты

имели гиперхромные ядра, другие характеризовались очаговой вакуолизацией (набуханием) с прекариолеммно расположенным конденсированным хроматином. Большинство В-клеток содержало разрушенный ядерный материал в виде мелких фрагментов (кариорексис). Дегенеративные изменения в панкреатических островках приводили к уменьшению количества В-инсулоцитов. В последующие сроки эксперимента деструктивные изменения инсулоцитов прогрессивно нарастали, на фоне плазменной инфильтрации активизировался коллагенез с образованием фиброзных волокон, которые приводили к сдавлению расширенных гемокapилляров и инсулоцитов. Размеры островков значительно уменьшались. Основным типом изменения В-инсулоцитов была резкая вакуолизация цитоплазмы, которая в последующем приводила к образованию на месте погибших клеток очагов колликационного некроза. В поздние сроки наблюдений разрастание соединительной ткани в островной части поджелудочной железы возрастало с последующим склерозированием новообразованных фибриллярных структур. Таким образом, при введении экспериментальным животным аллоксана значительная часть В-инсулоцитов подвергается некрозу. Вблизи таких дегенерирующих клеток часто обнаруживаются крупные макрофаги, которые, вероятно, поглощают фрагменты распадающихся В-клеток. При этом А-инсулоциты сохраняли свою структурную организацию, занимая преимущественно периферическое расположение в островках.

Материалы экспериментальных исследований, проведенных с использованием белых беспородных крыс, представлены в таблице. Данные свидетельствуют о высокой эффективности сочетанного применения «Милиацила» и КВЧ-терапии в лечении гнойных ран у крыс, а также о том, что статистически достоверных различий сроков заживления гнойных ран у крыс, инфицированных стафило-

кокком с антилактоферриновой активностью и микробным штаммом без антилактоферриновой активности, нет в основной группе. Данные клинических исследований полностью коррелировали с результатами, полученными при морфологическом исследовании. Гистологический анализ выбранных объектов у крыс первой контрольной группы, которые не подвергались лечебной коррекции, выявил, что в ранах преобладали некротические процессы, на фоне выраженных альтеративных изменений отмечали вполне отчетливо все признаки сосудистой реакции с образованием экссудата, в коже развивались явления геморрагического васкулита. Они характеризовались поражением артериол, венул и гемокпилляров. Периваскулярный инфильтрат содержал нейтрофильные и эозинофильные гранулоциты, характерным был кариорексис нейтрофилов. Формировались обширные кро-

воизлияния в дерме и гиподерме, пролиферативная фаза воспаления была резко подавлена. Область некротически измененных тканей ограничивалась валом малодифференцированной (грануляционной) соединительной ткани в более поздние сроки наблюдений (7–14 суток). Процессы их фагоцитарной активности носили незавершенный характер, наступающий этап экссудации в наблюдаемые сроки не сопровождался адекватной мобилизацией к репродуктивной деятельности эпителиоцитов. Течение гнойного воспаления у крыс, инфицированных *S. aureus* АЛФА⁺, имело выраженную тенденцию распространения по межклеточным пространствам и соответствующим прослойкам соединительной ткани. Эпителиальные структуры в раневой области находились в состоянии деструкции, некробиоза.

Результаты лечения гнойных ран крыс в зависимости от характера местного воздействия и свойств стафилококков

Группа крыс	Стафилококк	Срок, дни ($M \pm m$)			
		очищение ран	появление грануляций	начало эпителизации	заживление
Первая контрольная (без лечения)	АЛФА ⁺	11,42 ± 0,19*# (n = 12)	10,25 ± 0,22** (n = 12)	16,38 ± 0,26**# (n = 8)	На 28-е сутки не происходило (n = 4)
	АЛФА ⁻	9,33 ± 0,19# (n = 12)	8,08 ± 0,23# (n = 12)	13,58 ± 0,23# (n = 12)	На 28-е сутки не происходило (n = 4)
Вторая контрольная («Милиацил»)	АЛФА ⁺	5,56 ± 0,13# (n = 16)	5,06 ± 0,06# (n = 16)	8,44 ± 0,16# (n = 12)	15,13 ± 0,23* (n = 8)
	АЛФА ⁻	5,25 ± 0,14# (n = 16)	4,75 ± 0,11# (n = 16)	8,13 ± 0,09# (n = 16)	12,63 ± 0,26*** (n = 12)
Третья контрольная (КВЧ-терапия)	АЛФА ⁺	9,17 ± 0,17***# (n = 12)	8,25 ± 0,18*# (n = 12)	12,17 ± 0,17*# (n = 12)	На 28-е сутки не происходило (n = 4)
	АЛФА ⁻	8,42 ± 0,19# (n = 12)	6,63 ± 0,12# (n = 16)	9,67 ± 0,19# (n = 12)	На 28-е сутки не происходило (n = 4)
Основная группа («Милиацил» и КВЧ-терапия)	АЛФА ⁺	4,13 ± 0,09 (n = 16)	3,56 ± 0,13 (n = 16)	6,27 ± 0,12 (n = 16)	12,15 ± 0,15 (n = 12)
	АЛФА ⁻	3,81 ± 0,10 (n = 16)	3,44 ± 0,13 (n = 16)	5,88 ± 0,09 (n = 16)	11,67 ± 0,28 (n = 12)

Примечание: # – достоверность различий показателей от таковых основной серии ($p < 0,001$); ## – достоверность различий показателей от таковых основной серии ($p < 0,01$); ### – достоверность различий показателей от таковых основной серии ($p < 0,05$); * – достоверность различий показателей в зависимости от штамма стафилококка ($p < 0,001$); ** – достоверность различий показателей в зависимости от штамма стафилококка ($p < 0,01$); *** – достоверность различий показателей в зависимости от штамма стафилококка ($p < 0,05$).

На 7-й день лечения гнойных ран «Милиацилом» у крыс второй контрольной группы отмечалась значительная пролиферация эпидермиса. Очаги альтерации были небольших размеров или отсутствовали. В очагах продуктивного воспаления обнаруживалось усиленное созревание фибробластов и волокнистых структур. Новообразование малодифференцированной грануляционной соединительной ткани приводило к мобилизации камбиальных элементов адвентициальных клеток, миоэпителиальных клеток желез кожи, базальных эпителиоцитов покровного эпителия, малодифференцированных клеток волосяных фолликулов. К 14-му дню раны подопытных животных заживали.

Через 7 дней в области раневых дефектов у крыс третьей контрольной группы выявлялась грануляционная ткань разной степени созревания, на поверхности дефектов сохранялись некротические массы, под некрозом в дерме отмечалась обильная воспалительная инфильтрация. Через 14 дней лечения в области раневых дефектов выявлялась грануляционная ткань, в толще которой имелись участки с различной степенью регенерации. Через 21 день лечения ран наблюдалась значительная атрофия эпидермиса, через 28 дней обнаруживались разной величины некрозы, в глубоких отделах дермы выявлялась формирующаяся грануляционная ткань разной степени созревания.

Сравнительное изучение тканевых структур гнойных ран в различных условиях воздействия показало большую лечебную эффективность сочетанного использования «Милиацила» и КВЧ-терапии. Усиливались лейкоцитарные и макрофагальные реакции, ускорилось купирование воспалительного процесса и отделение некротических масс.

Образование экссудата и воспалительного клеточного инфильтрата приводило к наступлению пролиферативных процессов клеток в соответствии с их гисто- и органоб-

ластическими потенциями. Наблюдалась активизация камбиальных клеток, сопровождающаяся возрастанием численности лимфоцитов, моноцитов. Новообразование и цитодифференцировка соединительнотканых элементов раны носили адекватный гомеостатический характер, т.е. эпителиальный регенерат повторял все гистотипические признаки вертикальной анизоморфности. Интенсивное образование грануляционной ткани сопровождалось ускорением эпителизации поверхности раневого дефекта (рис. 1). В прилегающих участках раны регистрировались процессы репаративного миогенеза поперечнополосатых миосимпластов (рис. 2).

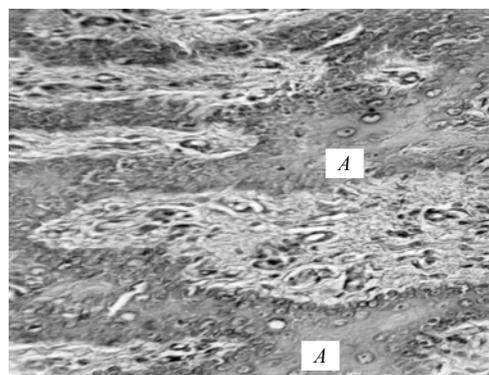


Рис. 1. Эпителиальные пролифераты (А) в раневой зоне. Фиксация – спирт-формол. Окраска по Браше. Увеличение – объектив 40, окуляр 10

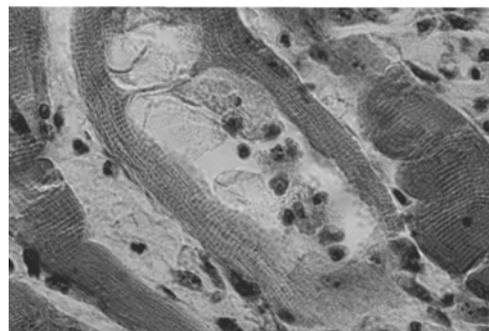


Рис. 2. Фрагменты регенерирующих миосимпластов раневого дефекта крысы. Фиксация – 10%-ный раствор нейтрального формалина. Окраска тирокрофузином по Ван Гизону. Увеличение – объектив 40, окуляр 10

Выводы

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать заключение о высокой эффективности сочетанного местного применения в лечении гнойных ран на фоне аллоксанового диабета «Милицаила» и КВЧ-терапии. Заживление гнойных ран у крыс основной группы происходило хуже по сравнению со второй контрольной группой в 1,2 раза. У животных первой и третьей контрольных групп раны не заживали к 28-м суткам. Таким образом, на основе структурно-функционального анализа биоптатов гнойных ран установлен феномен потенцирования противовоспалительного и регенераторного эффекта «Милицаила» и КВЧ-терапии.

Библиографический список

1. *Амирасланов Ю.А., Турова Т.Г., Борисов И.В.* Острая хирургическая инфекция у больных сахарным диабетом. Материалы международного научно-практического конгресса, посвященного 40-летию отдела ран и раневых инфекций Института хирургии

им. А.В. Вишневого, «Сахарный диабет и хирургические инфекции». М. 2013; 7.

2. *Бордуновский В.Н., Тертышник С.С., Еремин И.В.* Вакуумная терапия ран: сборник научно-практических работ, посвященный 70-летию Южно-Уральской железной дороги и 60-летию Челябинской медицинской академии. Челябинск 2004; 349–353.

3. *Нузов Б.Г., Стадников А.А., Нузова О.Б.* Оптимизация репаративной регенерации тканей. М.: Медицина, 2012; 200.

4. *Оболенский В.Н.* Хроническая рана: обзор современных методов лечения. Российский медицинский журнал 2013; 5: 3–10.

5. *Трухачева Н.В.* Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica: учебное пособие. М: ГЭОТАР-Медиа 2012; 384.

6. *Koseoglu H.* Ultrastructural stages of biofilm development of *Escherichia coli* on urethral catheters and effects of antibiotics on biofilm formation. Urology 2006; 5: 942–946.

7. *James G.A.* Biofilms in chronic wounds. Wound Repair Regen 2008; 1: 37–44.

Материал поступил в редакцию 10.01.2016