

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616.379-008.64-06:616-001.4-022-089]-092.9

© І. М. КЛИЩ, І. Я. ДЗЮБАНОВСЬКИЙ, М. Ю. КРИЦАК

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського"

## Принципи місцевого лікування інфікованих ран у щурів зі змодельованим цукровим діабетом

I. M. KLISHCH, I. YA. DZYUBANOVSKY, M. YU. KRITSAK

SHEI "Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky"

### PRINCIPLES OF LOCAL TREATMENT OF THE INFECTED WOUNDS IN RATS WITH SIMULATED DIABETES

Проаналізовано результати застосування композиційної суміші на основі похідних  $\gamma$ -кротонолактону та Zn-карнозину при лікуванні стандартних інфікованих дерматомних ран в експериментальних тварин – 45 білих щурів. Отримані дані вказують, що швидше загоєння ран відбувається внаслідок інтенсивного впливу на початковій фазі регенерації, коли домінують ознаки посттравматичного запального процесу.

The results of using a composite mix from derivatives of  $\gamma$ -Crotonolactone and Zn-carnosine in the treatment of standart infected cutaneous wounds in experimental animals – 45 rats were evaluated. The received data indicate that faster wound healing occurs due to the intense impact on the initial phase of the regeneration, when the features of posttraumatic inflammation dominate.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Хворі з гнійно-запальними процесами м'яких тканин складають значну частину загальної кількості хірургічних хворих. Велика кількість робіт присвячена вивченню на тлі діабету процесів, що відбуваються в хронічних ранах на клітинно-молекулярному рівні і перешкоджають їх загоєнню. Так, відомо, що контракція ранового дефекту й утворення грануляційної тканини здебільшого зумовлені активністю фібробластів [1, 3], які впливають на загоєння та епітелізацію ран завдяки їх здатності продукувати колагени різних типів [1, 2] та фактори росту [1, 5]. Поряд з цим встановлено, що в ранах, які тривалий час не загоюються на тлі цукрового діабету, проліферативна й метаболічна активність фібробластів значно знижується [1, 5]. У результаті патологічної модифікації рецепторного апарату функціонуючі клітини стають нечутливими до впливу деяких факторів росту [2, 3]. Тож для відновлення репаративних процесів можна привнести в рану ззовні активні фактори росту. Таким чином, можна з певністю говорити про надзвичайну актуальність розробки нових технологій для регуляції ранового процесу при комплексному хірургічному лікуванні хворих на діабетичну стопу.

Незважаючи на великий досвід та постійні наукові дослідження з розробки сучасних методів, лікування ран залишається однією з актуальних проблем

хірургії. Результати спостережень засвідчують, що найефективніші сучасні лікарські засоби при їх застосуванні поступово втрачають ефективність [5].

Цікавим для експериментального та клінічного дослідження буде комплексний препарат, який містить композиційну суміш на основі похідних  $\gamma$ -кротонолактону та Zn-карнозину в пропорціях згідно з Патентом України на корисну модель №22612 від 25.04.2007 року. Цей засіб, завдяки кількісному співвідношенню компонентів, забезпечує антисептичну, протинабрякову, некролітичну, регенерувальну активність, що дало можливість скоротити терміни загоєння рани, звести до мінімуму побічні явища [4].

**Мета роботи:** визначення ефективності дії запропонованої композиційної суміші на загоєння інфікованих дерматомних ран в експериментальних тварин.

**Матеріали і методи.** Робота виконана на 45 білих статевозрілих щурах обох статей вихідною масою ( $220 \pm 12$ ) г, яким моделювали цукровий діабет 1 типу шляхом введення у хвостову вену алоксану (15 мг/кг). Розвиток інсулярної недостатності підтверджували через 14 діб шляхом оцінки глікемії (більше 12 ммоль/л). Усіх тварин поділили на три групи, по 15 тварин у кожній групі. Під час експерименту їх утримували в однакових умовах віварію з вільним доступом до стандартного харчування та води.

Регенераційний потенціал композиційної суміші вивчали на моделі стандартної інфікованої дерматомної рани, модельованої в міжлопатковій ділянці дослідних тварин за допомогою попередньо виготовленого трафарету округлої форми загальною площею 400 мм<sup>2</sup>. Тканини висікали із забором поверхневої фасції. Для відтворення ранової інфекції використовували штамп патогенного *S. aureus*, який вирощували на середовищі Чистова.

Тваринам першої групи не проводили лікування, рана на спині впродовж усього часу була відкритою, гоїлась самостійно вторинним натягом. Тваринам другої і третьої груп, починаючи з наступного дня після відтворення рани, одноразово щоденно наносили однакову кількість композиційної суміші (друга група) та 10 % метилурацилової мазі (третя група). Лікувальні властивості мазей досліджували на 3-тю, 5-ту, 7-му, 10-ту, 14-ту, та 21-шу доби. Евтаназію проводили шляхом передозованого внутрішньочеревного кетамінового наркозу на 3-тю, 7-му, 14-ту і 21-шу доби. У м'яких тканинах рани проводили визначення вмісту гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [1, 2], ТБК-активних продуктів (ТБП) [1, 5], активність супероксиддисмутази (СОД) [1, 3] і каталази (КТ) [1], у периферійній крові визначали фагоцитарну активність лейкоцитів (ФАЛ) [1], вміст Т- і В-лімфоцитів [1], у сироватці крові – бактерицидну активність сироватки крові (БАСК) [1], лізоцимну активність сироватки (ЛАСК) [1, 5], комплементарну активність сироватки (КАСК) [1, 5], рівень загальних циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [1, 2].

**Результати досліджень та їх обговорення.**

Відповідно до термінів проводили фотографування ран та копіювання країв рани на прозорий папір. Після цього визначали площу рани та динаміку її зміни у кожній групі тварин. Спостереження показали, що в кожній групі тварин на третю добу домінував посттравматичний запальний процес, краї рани були валикоподібні, набряклі, рана вкрита товстими кірками коричневого кольору, дно гіперемоване. Ці ознаки були найвиразнішими у тварин першої групи.

У подальші терміни спостереження зареєстровано суттєві зміни у стані ран та перебігу загоєння. На 5-ту добу в контрольній групі надалі спостерігали ознаки запального процесу, її краї були набряклими, валикоподібними, рана вкрита шаром кірок. Стан тварин, яких лікували метилурациловою маззю, різнився значно меншою гіперемією та набряком, рани були вкриті тонким шаром кірок. На цей час у дослідній групі не виявлено ознак запального процесу, рана чиста, вкрита тонким шаром фіброзної плівки.

На 7-му добу значно зменшилась площа рани у тварин, яких лікували композиційною сумішшю, краї рани щільно прилягали до її дна, на якому починають свій розвиток грануляційні тканини.

Далі загоєння ран у всіх групах характеризувалось розвитком грануляційної тканини, яка із країв вкривалась епітелієм. Значно сильніше домінування цих процесів в обох дослідних групах, особливо у тварин, яких лікували композиційною сумішшю.

На 14-ту добу стан ран характеризувався подальшим процесом епітелізації з її країв та, відповідно, зменшенням площі рани. Виражені позитивні зміни у тварин дослідної групи, яких лікували композиційною сумішшю, полягали в тому, що у них спостерігалась невелика чиста овально-розтягнена рана посередині ділянки, де моделювали первинну рану. На 14-ту добу рани в інших групах були значно більших розмірів.

Наприкінці спостереження, на 21-шу добу, рана майже цілковито загоїлась у дослідній групі, у тварин, яких лікували композиційною сумішшю, спостерігали невелику ділянку, вкриту щільним струпом.

Зменшення величини рани та кінцеві терміни загоєння свідчили про швидкість регенераційних процесів. Отримані дані наведено в таблиці 1.

Як бачимо, дані вимірювань корелюють із клініко-візуальною картиною перебігу загоєння рани. У всі терміни позитивна динаміка загоєння ран в обох дослідних групах порівняно з контрольною зберігалася.

Зважаючи на значну роль процесів ліпідної пероксидації у перебігу запальних реакцій, в тому

**Таблиця 1. Зміна площі інфікованих дерматомних ран у білих щурів**

Доба дослідження	Площа рани, мм <sup>2</sup>		
	контроль	10 % метилурацилова мазь	мазь композиційної суміші
Початкові дані	400	400	400
3-тя	397±22,4	390±17,5	381±15,8*
5-та	384±18,5	372±16,9	324±14,7*/**
7-ма	371±16,7	347±15,9	270±14,2*/**
10-та	314±13,3	279±12,9*	187±12,4*/**
14-та	232±11,5	184±9,7*	128±8,9*
21-ша	84±8,7	41±6,8	31±5,1*

Примітка. \* – різниця достовірна порівняно з тваринами, яких не лікували; \*\* – різниця достовірна порівняно з тваринами, яких лікували 10 % метилурациловою маззю.

числі й спричинених рановим процесом, ми дослідили інтенсивність нагромадження проміжних (ГПЛ) і кінцевих (ТБП) продуктів ліпопероксидації і стан ензимної ланки антиоксидантної системи (СОД і КТ) у м'яких тканинах рани. Результати представлено у таблиці 2.

**Таблиця 2. Показники процесів ліпідної пероксидації і стану антиоксидантної системи у м'яких тканинах білих щурів у динаміці інфікованого ранового процесу і корекції**

Групи тварин				
Інтактні	Інфікований рановий процес			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба
ГПЛ, ум.од./л				
1,41±0,01	2,30±0,02*	2,52±0,02*	3,20±0,03*	3,41±0,03*
ТБП, нмоль/г				
1,02±0,02	1,71±0,02*	2,23±0,02*	6,60±0,02*	2,92±0,03*
СОД, у.о./мг б-ка				
29,3±1,2	37,4±2,1*	19,1±1,7*	14,5±1,4*	14,0±1,4*
КТ, кмоль/(хв× мг б-ка)				
39,3±1,2	48,4±1,8*	25,6±1,8*	21,3±1,7*	20,8±1,7*
Корекція з використанням композиційної суміші				
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба
ГПЛ, ум.од./л				
1,41±0,01	1,73±0,02**	1,90±0,02**	2,36±0,03**	2,53±0,03**
ТБП, нмоль/г				
1,02±0,02	1,27±0,02	1,24±0,02	3,31±0,02	1,42±0,03
СОД, у.о./мг б-ка				
29,3±0,2	39,4±2,4	23,1±1,5**	22,5±1,2**	24,0±1,2**
КТ, кмоль/(хв× мг б-ка)				
39,3±0,2	53,4±1,4**	34,6±1,6**	30,3±1,5**	35,8±1,4**

Примітка. Тут і у наступних таблицях: \* – різниця достовірна відносно інтактних тварин; \*\* – різниця достовірна відносно уражених тварин, яких не лікували.

З наведених результатів видно, що в інфікованій рані значно зростає інтенсивність продукування проміжних продуктів ліпопероксидації – гідропероксидів ліпідів. Зокрема, на 3-тю добу від моменту завдання рани показник перевищував рівень здорових тварин в 1,6 раза і продовжував зростати до 21-ї доби, коли склав 242 % від норми. Це вказує на активування оксигензалежних процесів у тканинах, спричинених мобілізацією з периферійної крові мононуклеарних фагоцитів і генерацією ними активних форм кисню з метою знищення інфекційного збудника.

Значною мірою зростали також ТБК-активні продукти, навіть більш інтенсивно, ніж ГПЛ. Так, на 3-тю добу показник становив 168 % від норми, на 7-му – 218, 14-ту – 647, 21-шу – 282 %.

Однією з причин такого зростання, поряд з інтенсивним утворенням активних форм кисню, може бути також зниження швидкості їх інактивації компонентами антиоксидантної системи. У нашому дослідженні спостерігали хвилеподібну динаміку активності ключових ферментів антиоксидного захисту – СОД і каталази. Зокрема, супероксиддисмутазна активність на 3-тю добу становила 110 % від норми, однак у наступні терміни спостережен-

ня значно знижувалась і склала, відповідно, 65, 49 і 47 % від показника інтактних тварин. Аналогічні зміни ми виявили і стосовно каталази – зростання в 1,2 раза на 3-тю добу і зниження у подальші терміни спостереження, причому до 21-ї доби показник склав 53 % від норми.

Використання композиційної суміші мало сприятливий вплив на досліджувані показники. Зокрема, концентрація ГПЛ порівняно з тваринами без корекції була меншою уже на 3-тю добу дослідження і становила 75 % від їх рівня. У подальшому показники продовжували знижуватись і до 21-ї доби вміст ГПЛ достовірно відрізнявся від аналогічного показника тварин без корекції. Більший позитивний ефект композиційної суміші встановлено щодо ТБК-активних продуктів. Вже на 3-тю добу спостереження показник не відрізнявся достовірно від рівня здорових тварин, однак до 21-ї доби все ж перевищував їх рівень на 39 %.

Показники активності антиоксидантних ферментів за дії композиційної суміші зростали. Якщо у початкові терміни спостереження це зростання не було достовірним, то до 14-ї і 21-ї діб досліджувані показники були достовірно вищими від рівня контролю без корекції.

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ**

На позитивний ефект композиційної суміші вказує також динаміка показників неспецифічного імунітету (табл. 3). Якщо у пізні терміни інфікованого ранового процесу ми зафіксували суттєве зниження (після короткотривалого підвищення на 3-тю добу) фагоцитарної активності лейкоцитів бактерицидної активності сироватки крові, лізоцимної активності сироватки крові, комплементарної активності сироватки крові, що вказує на виснаження резервів неспецифічної ланки імунного захисту, то за

корекції з використанням композиційної суміші ці показники значною мірою відновились і до 21-ї доби наближались до рівня здорових тварин.

Ще одним підтвердженням позитивного ефекту досліджуваної мазі є позитивна динаміка показників клітинної ланки імунної системи, а також вмісту циркулюючих імунних комплексів (табл. 4). Ми зафіксували повну нормалізацію показників В- і Т-активних лімфоцитів, а також значне зниження вмісту циркулюючих імунних

**Таблиця 3. Показники неспецифічної ланки імунного захисту білих щурів у динаміці інфікованого ранового процесу і корекції**

Групи тварин				
Інтактні	Інфікований рановий процес			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба
	ФАЛ, %			
55,6±1,3	62,7±1,4*	67,5±1,5*	43,4±1,2*	42,1±1,2*
	БАСК, %			
25,8±1,5	33,9±2,1*	37,6±2,4*	19,4±1,8*	19,1±1,8*
	ЛАСК, %			
40,6±0,7	45,3±2,2*	46,4±1,9*	34,2±2,1*	33,8±2,0*
	Комплементарна активність, од			
0,031±0,005	0,034±0,005	0,056±0,007*	0,039±0,005*	0,021±0,004*
	Корекція з використанням композиційної суміші			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба
	ФАЛ, %			
55,6±1,3	68,3±1,1**	69,4±1,7	61,4±1,3**	53,1±1,1**
	БАСК, %			
25,8±1,5	38,2±1,3**	37,1±1,6	29,5±1,4**	26,2±1,2**
	ЛАСК, %			
40,6±0,7	48,5±1,4	47,3±1,7	39,5±1,4**	41,2±1,3**
	Комплементарна активність, од			
0,031±0,005	0,039±0,004	0,055±0,005	0,041±0,004	0,034±0,004**

**Таблиця 4. Показники клітинної ланки імунного захисту білих щурів у динаміці інфікованого ранового процесу і корекції**

Групи тварин				
Інтактні	Інфікований рановий процес			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба
	В-лімфоцити, %			
44,3±1,4	48,9±1,0*	51,1±1,2*	43,8±1,4	44,9±1,4
	Т-активні лімфоцити, %			
18,2±0,8	18,4±0,8	13,6±0,9*	12,4±0,6*	12,1±0,6*
	ЦІК, ммоль/л			
65,3±1,9	79,8±2,6*	86,3±2,8*	97,4±3,8*	98,5±3,9*
	Корекція з використанням композиційної суміші			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба
	В-лімфоцити, %			
44,3±1,4	45,6±1,1	47,3±1,1**	44,2±1,2	44,7±1,1
	Т-активні лімфоцити, %			
18,2±0,8	19,8±0,8	15,7±0,7	17,5±0,5**	18,7±0,4**
	ЦІК, ммоль/л			
65,3±1,9	71,2±2,1**	73,4±2,5**	76,8±2,6**	81,2±2,3**

комплексів у сироватці крові, що вказує на більш сприятливий перебіг ранового процесу.

**Висновки.** Проаналізовані дані вказують на те, що швидке загоєння експериментальних ран при застосуванні композиційної суміші зумовлено інтенсивним впливом на початкові фази регенерації, при цьому зменшується прояв посттравматичного запального процесу. На 5–7-му добу спостерігаються найбільші темпи загоєння рани. Відбувається це завдяки пригніченню мікрофлю-

ри в рані внаслідок присутності антимікробного засобу  $\gamma$ -кροτοнолактону та антиоксидантних властивостей Zn-карнозину, що сприяє перериванню запального ланцюга, очищенню рани та розвитку грануляційної тканини.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальше дослідження особливостей загоєння інфікованих ран сприятиме розробці ефективних препаратів для швидкого очищення рани та подальшого швидшого її загоєння.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кризина П. С. Морфофункціональна оцінка перебігу ранового процесу при застосуванні ксенопротекторів, антимікробних середників та біостимуляторів при місцевому лікуванні інфікованих ран та локальних гнійно-запальних захворювань : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : 14.03.01 / П. С. Кризина / Нац. мед. академія післядиплом. освіти ім. П. Л. Шупика. – К., 2006. – 28 с.
2. Дикий І. Л. Мікробіологічне обґрунтування складу антисептичного препарату пролонгованої дії “декацеол” / І. Л. Дикий, О. І. Зайцев, Н. І. Філімонова // Лікарська справа. – 2002. – № 7. – С. 114–117.
3. Огоновський Р. З. Ранозагоювальні та протимікробні властивості мазевої форми композиційної суміші похідних  $\gamma$ -кροτοнолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський // Львівський медичний часопис. – 2008. – Т. XIV, № 4 – С. 68–70.
4. Патент України на корисну модель № 22612, МПК (2006), А61Л 31/19, А61К 31/34, А61Р 31/00 / Пастернак Ю. Б., Огоновський Р. З., Регеда М. С. та ін. Антисептичний, регенеруючий засіб на основі похідних  $\gamma$ -кροτοнолактону та Zn-карнозину для лікування інфікованих ран та гнійно-запальних захворювань шкіри / Львів. нац. мед. ун-т / Уа /. – № 2006 12726; заявл. 04.12.2006; опубл. 25.04.2007, Бюл. № 5. – 4 с.
5. White R. Wound colonization and infection: the role of topical antimicrobials / R. White, R. Cooper, A. Kingsley // Br<sup>t</sup> J Nurs. – 2001. – № 10(9). – P. 563–578.

Отримано 08.08.13