

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНГИОАКТИВНОГО ПРЕПАРАТА НА ТЕЧЕНИЕ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ И СКОРОСТЬ ЗАЖИВЛЕНИЯ ПОЛНОСЛОЙНЫХ РАН КОЖИ

Вопросы заживления полнослойных обширных кожных дефектов остаются по-прежнему актуальным на фоне высокого уровня бытового травматизма, распространения вооруженных конфликтов, природных и техногенных катастроф. Большинство применяемых в настоящее время в клинической практике средств не обладают сочетанной репаративной и противовоспалительной активностью. В этом аспекте обращают на себя внимание ангиоактивные короткие пептиды, нормализующие клеточный метаболизм. Результаты экспериментальных исследований *in vivo* показали, что цитоген Везуген обладает тканеспецифическим действием на клетки сосудистой стенки, улучшает их трофику и оказывает регулирующее действие на обменные процессы в них [2, 3].

Цель исследования: изучить влияние ангиоактивного пептида Везуген на течение воспалительной фазы репаративного процесса и скорость заживления экспериментальной обширной полнослойной раны кожи.

Материалы и методы: исследования проводили на 34-х самках белых беспородных крыс массой 220-240г. Животные содержались в виварии на стандартном рационе при естественном освещении и средней температуре воздуха 20°-22°С, вода не ограничивалась. Экспериментальные манипуляции выполняли в соответствии с международными рекомендациями по использованию животных в биологических и медицинских исследованиях (1986), международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1989), методическими рекомендациями «Деонтология медико-биологического эксперимента» (1987). На работу получено разрешение Этического комитета ТГМУ.

Животным под эфирным наркозом на дорсальной поверхности тела наносили стандартные полнослойные кожные раны площадью 225 мм², что составляет 14 % площади тела. Крыс разделили на две группы: 1 — контрольную и 2 — опытную. Животным первой контрольной группы ежедневно, в течение 15 дней после операции внутривентриально вводили 1,0 мл физиологического раствора, крысам второй группы аналогичным образом вводили водный раствор Везугена, представляющего собой пептидный комплекс, содержащий аминокислоты: лизин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту [4]. Оценку течения воспалительного процесса осуществляли на основании цитологического исследования раневой поверхности при помощи мазков-отпечатков, которые получали из области раны через 6, 12 и 24 часа после нанесения повреждения. Мазок брали путем прикладывания обезжиренного стерильного предметного стекла непосредственно к ране, затем высушивали на воздухе и фиксировали в 96 % спирте в течение 35-40 мин, после чего вновь высушивали. Окраску мазков осуществляли по Романовскому — Гимзе [1]. Для определения количества и размера клеток экссудата использовалась морфометрия. С помощью окуляр-микрометра измеряли размеры клеточных элементов. Для анализа скорости заживления по типу вторичного натяжения использовали методику планиметрии — динамического измерения площади раневой поверхности. На рану накладывали стерильную пластинку целлофана и на нее наносили контуры раны. Рисунок переносили на миллиметровую бумагу и подсчитывали площадь. Измерение повторяли ежедневно и вычисляли процент уменьшения площади раневой поверхности за сутки по отношению к предыдущему результату. При нормальном течении заживления суточное уменьшение площади раны составляет 4 %.

Результаты и обсуждения: в мазках контрольной серии через 6 часов после операции цитологическая картина представлена нейтрофильными лейкоцитами ($207,6 \pm 12,3$) и единичными моноцитами, выселившимися из кровеносного русла в область повреждения. Определялись отдельные микробные тела, часть которых была фагоцитирована нейтрофилами. Число лимфоцитов в отделяемом раны невелико. В опытной серии в те же сроки количество нейтрофильных лейкоцитов в мазках по сравнению с контрольной серией было несколько выше ($227,4 \pm 10,4$), однако, по-видимому, их фагоцитарная активность более ярко выражена, так как размеры клеточных элементов по сравнению с контролем увеличены. Кроме того, появились отдельные макрофаги с активной фагоцитарной функцией (таблица 1).

Таблица 1 — Количество (в 10 полях зрения) и диаметр (в микрометрах) клеток раневого экссудата через 6 часов после операции

Серии	M±m	Нейтрофилы количество диаметр		Макрофаги количество диаметр	
		Контроль	M m	207,6 9,3	11,4 0,2
Везуген	M m	227,4* 10,4	12,3* 0,2	4,1 0,2	16,5 0,3

Примечание: * — $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

Через 12 часов в мазках, полученных от контрольной группы животных, сохранялась миграция нейтрофильных лейкоцитов ($246,3 \pm 12,3$), часть которых была подвержена физиологической дегенерации, выявлено небольшое количество макрофагов ($6,7 \pm 0,3$). У опытной группы в мазках через 12 часов также отмечалось продолжение выхода значительного количества нейтрофильных лейкоцитов в очаг повреждения как по сравнению с контролем, так и предыдущим сроком опытной серии ($294,6 \pm 18,4$ против $227,4 \pm 10,4$). В экссудате на этом сроке уже обнаруживались нейтрофилы с признаками дегенерации (таблица 2).

Таблица 2 — Количество (в 10 полях зрения) и диаметр (в микрометрах) клеток раневого экссудата через 12 часов после операции

Серии	M±m	Нейтрофилы количество диаметр		Макрофаги количество диаметр	
		Контроль	M m	246,3 12,3	12,6 0,2
Везуген	M m	294,6* 18,4	15,4 0,2	16,3* 0,7	18,2* 0,2

Примечание: * — $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

В цитограммах контрольной группы через 24 часа, по-прежнему, нейтрофилы оставались основными клеточными элементами ($289,2 \pm 27,3$), возросло число их дегенеративных форм, увеличены количество ($12,8 \pm 0,5$) и размеры макрофагов ($17,4 \pm 0,2$). В опытной группе количество нейтрофильных лейкоцитов резко уменьшено как по сравнению с контролем, так и с предыдущим сроком (табл. 2 и 3), в раневом экссудате в этот период доминировали крупные ($19,2 \pm 0,2$) фагоцитирующие элементы гематогенного и тканевого происхождения ($30,9 \pm 0,7$).

Таблица 3. Количество (в 10 полях зрения) и диаметр (в микрометрах) клеток раневого экссудата через 24 часа после операции

Серии	M±m	Нейтрофилы количество диаметр		Макрофаги количество диаметр	
		Контроль	M m	289,2 27,3	12,5 0,2

Везуген	M m	251,7* 25,1	14,9* 0,1	30,9** 0,7	19,2* 0,2
---------	--------	----------------	--------------	---------------	--------------

Примечание: * — $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

Полное заживление раневого дефекта у крыс опытной серии наблюдалось на 15-е сутки послеоперационного периода, что на несколько дней опережало репарацию кожной раны у животных контрольной серии (рисунок 1).

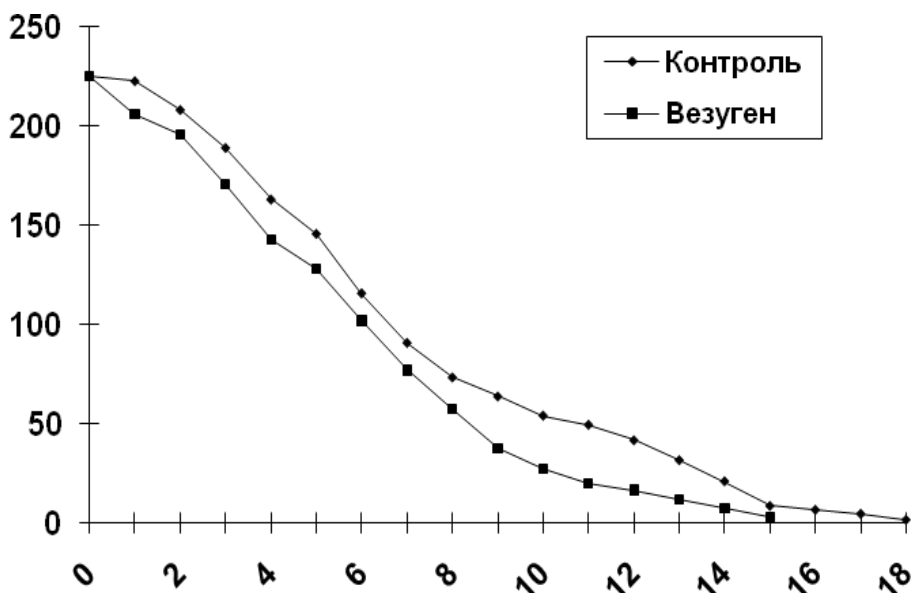


Рисунок 1 — Общие сроки заживления кожной раны.

В результате экспериментальных исследований в органотипической культуре ткани сосудов было показано, что Везуген обладает способностью стимулировать пролиферативную и функциональную активность основных клеточных элементов тканевой культуры сосудистой стенки, снижать уровень спонтанной гибели клеток, усиливать регенераторно-адаптационные процессы в пролиферирующих и дифференцирующихся клетках [4].

Выводы: применение ангиоактивного препарата Везуген оптимизировало микроциркуляцию в прилежащих к зоне повреждения участках кожи, обеспечило миграцию клеточных элементов в очаг воспаления, активацию иммунокомпетентных клеток, что привело к повышению интенсивности течения воспалительной фазы заживления и сокращению общих сроков регенерации.

Литература

1. Семченко В. В., Барашкова С. А., Ноздрин В. Н., Артемьев В. Н. Гистологическая техника: учебное пособие.- 3-е изд., доп. и перераб. — Омск — Орел: Омская областная типография, 2006. — 290 с.
2. Шестакова В. Г., Баженов Д. В. — Корреляция процессов ангиогенеза и эпителизации при репаративной регенерации послышной хирургической раны кожи// Сборник статей под ред. А. А. Стадникова и др. Актуальные проблемы морфологии, адаптогенеза и репаративных гистогенезов: материалы международной научной конференции, посвященной памяти члена-корреспондента АМН СССР, профессора Ф.М. Лазаренко/ Оренбургская гос. мед. академия. — Оренбург: Ред.-изд. центр Оренб. Гос. мед. акад., 2013. — С. 44-45.
3. Шестакова В. Г., Некрасова И. Л., Хавинсон В. Х., Рыжак Г. А. Строение регенерирующих структур и сосудистого компонента грануляционной ткани при пептидной регуляции заживления ран кожи// Научно-теоретический журнал

«Морфология» под ред. В. Л. Быкова. Том 145 3. С.-Петербург, «Эскулап», 2014 – 224 с.

4. Цитогены. Биологически активные добавки к пище// Методические рекомендации. — СПб.: «Издательско-полиграфическая компания «КОСТА», 2011. — 40 с.