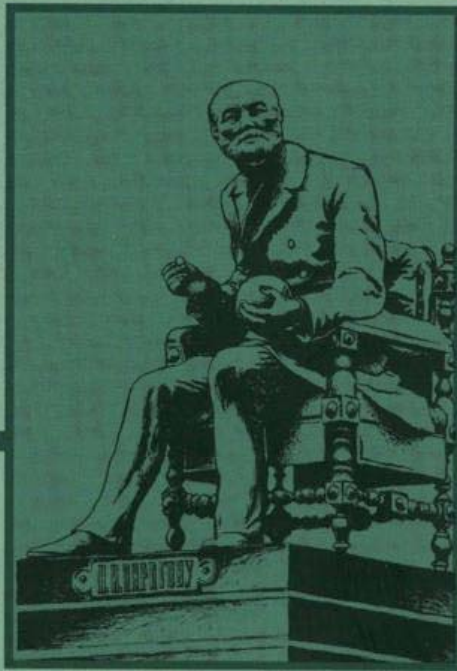


8-7-125

ISSN 0023-1207 (Print)
ISSN 2309-5628 (Online)

ХИРУРГИЯ

Журнал имени Н.И. Пирогова



1'2014

Научно-практический журнал

Основан в 1925 г.



Морфофункциональные аспекты регенерации ран при лечении йодсодержащими мазями

Д.б.н. И.А. ЧЕКМАРЕВА*, к.м.н. Л.А. БЛАТУН, к.м.н. Р.П. ТЕРЕХОВА, д.б.н. О.А. ЗАХАРОВА, Е.В. КОЧЕРГИНА, к.б.н. В.А. АГАФОНОВ

Институт хирургии им. А.В. Вишневского (дир. — акад. РАМН В.А. Кубышкин) Минздрава России, Москва

Morphological and functional aspects of wound regeneration in the treatment by iodine-containing ointments

I.A. CHEKMAREVA, L.A. BLATUN, R.P. TEREKHOVA, O.A. ZAKHAROVA, E.V. KOCHERGINA, V.A. AGAFONOV

A.V. Vishnevskiy Institute of Surgery (director — academician of RAMS V.A. Kubyshevskiy), Ministry of Health, Russian Federation, Moscow

Комплексное морфологическое исследование показало высокую антимикробную активность йодсодержащих мазей при лечении гнойных ран с первых дней применения. 3% мазь «Стелланин-ПЭГ» способствует уменьшению местных воспалительных изменений, активизируя нейтрофильные лейкоциты и макрофаги. Полноценное очищение ран при лечении 3% мазью «Стелланин-ПЭГ» улучшает их состояние, стимулируя процессы регенерации, что приводит к интенсификации пролиферативной и функциональной активности клеток грануляционной ткани. Клинические, морфологические и цитологические данные свидетельствуют о сокращении сроков купирования гнойного процесса, что приводит к более ранней (по сравнению с использованием мази «Бетадин») эпителизации ран.

Ключевые слова: электронная микроскопия, репаративная регенерация, йодсодержащие мази, грануляционная ткань, функциональная активность клеток.

The comprehensive morphological investigation indicated a high antimicrobial activity of iodine-containing ointments in the treatment of septic wounds from the first days of the ointments using. 3% ointment «Stellanin-PEG» helps to reduce the local inflammatory changes by activating neutrophils and macrophages. A management of wounds by 3% ointment «Stellanin-PEG» improves their condition by stimulating regeneration, which leads to an intensification of the proliferative and functional activity of granulation tissue. Clinical, morphological and cytological data are evidence of time reduction of relief of purulent process, which leads to an earlier (in comparison with the use of ointment «Betadine») wound epithelization.

Key words: electron microscopy, reparative regeneration, iodine-containing ointments, granulation tissue, the functional activity of the cells.

Введение

Заживление гнойных или вяло заживающих ран у больных характеризуется нарушением синхронизации фаз воспаления и регенерации, что проявляется пролонгированием воспалительных изменений. При этом угнетается макрофагальная реакция, отмечаются расстройства системы микроциркуляции и происходит торможение процессов репарации. Проблема создания новых высокоэффективных препаратов, стимулирующих процесс заживления гнойных ран, остается актуальной, несмотря на постоянный поиск новых методов лечения больных с гнойной хирургической инфекцией и ее профилактики. Современная методология лечения ран основана на направленном применении препаратов с заданным воздействием на раневой процесс в определенной фазе раневого процесса, в связи с чем появились определенные стандарты лечения разных

видов ран [1, 2, 5, 8, 9]. Эффективность указанной методологии в значительной степени определяется наличием спектра качественных высокоэффективных препаратов, научно обоснованными данными, касающимися механизма воздействия препаратов на ткани раны. Создание современных препаратов для местного лечения ран на всех этапах комплексного лечения дает возможность сократить сроки системной антимикробной терапии. В клинической практике применяются различные комплексные соединения с йодом, которые отличает высокая активность в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, грибов, простейших, трепонем, некоторых вирусов [1—3, 8]. Эффективным препаратом для лечения больных с гнойными ранами, трофическими язвами, пролежнями, инфицированными ожогами является мазь «Бетадин». Основное действующее вещество мази (повидон-йод) обладает антисептическим и дезинфицирующим

Микроорганизмы	Зона задержки роста микроорганизмов, мм	
	«Бетадин»	«Стелланин»
<i>S. epidermidis</i> (n=10)	36,5±0,16	41,8±0,29
<i>S. aureus</i> (n=10)	34,8±0,87	41,5±0,56
<i>Enterococcus</i> spp. (n=10)	25,9±0,31	25,9±0,23
<i>E. coli</i> (n=10)	21,2±0,29	35,8±1,5
<i>P. aeruginosa</i> (n=10)	17,1±0,43	21,2±0,97
<i>Acinetobacter</i> spp. (n=10)	19,3±1,06	22,7±0,97
<i>Citrobacter</i> spp. (n=10)	23,5±0,73	25,2±0,51
<i>Proteus</i> spp. (n=10)	17,9±2,3	21,3±2,64
<i>Enterobacter</i> spp. (n=10)	20,2±1,05	22,7±0,42
<i>Klebsiella</i> spp. (n=10)	20,8±0,42	25,4±0,42

Примечание. n — количество штаммов микроорганизмов.

шим свойствами [1, 3—6, 8, 11]. Антимикробное действие препарата основано на повреждении йодом клеточной стенки патогенных микроорганизмов.

В состав 3% мази «Стелланин-ПЭГ» (далее мазь «Стелланин») включен оригинальный препарат 1,3-диэтилбензимидазолия трийодид. Доклинические исследования этой мази выявили ее выраженное противомикробное, противогрибковое и противовирусное действие.

Бактерицидный эффект препарата обусловлен входящим в его состав активным йодом, который инактивирует белки бактериальной стенки и ферментные белки бактерий, оказывая тем самым бактерицидное действие на микроорганизмы. В Институте хирургии им. А.В. Вишневского проведено исследование эффективности препарата.

В рамках проведенного исследования была поставлена цель — изучить и сравнить эффективность и механизмы влияния мазей «Стелланин» и «Бетадин» на регуляцию репаративных процессов в ране.

Материал и методы

Для лечения гнойных ран различного генеза у 82 больных (основная группа) применяли мазь «Стелланин», у 30 (группа сравнения) — мазь «Бетадин». У всех обследованных больных был изучен качественный и количественный состав микрофлоры. У 18 больных проведено морфологическое (свето- и электронно-микроскопическое) исследование образцов ткани гнойной раны. Исследование проводили до и на 3, 5 и 8-е сутки лечения мазями «Бетадин» и «Стелланин». Кусочки ткани для электронно-микроскопического исследования фиксировали в 2,5% растворе глютаральдегида, в 1% растворе OsO₄ и заключали в смесь аралдитовых смол. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе фирмы JEOL (Япония) JEM 100CX в трансмиссионном режиме при ускоряющем напряжении 80 кВ. На всех сроках исследования подсчитывали количество полиморф-

но-ядерных лейкоцитов (ПМЯЛ), макрофагов, фибробластов и сосудов.

Микробную активность оценивали по следующим критериям:

- зона задержки роста диаметром до 10 мм или ее отсутствие указывает на то, что микроорганизмы не чувствительны к внесенному в лунку препарату;
- зона задержки роста диаметром 11—15 мм указывает на малую чувствительность культуры;
- зона задержки роста диаметром 15—25 мм рассматривается как показатель чувствительности микроорганизмов;
- зона задержки роста диаметром выше 25 мм свидетельствует о высокой чувствительности микробов.

Полученные данные были обработаны с помощью программы Statistica 6.1. Статистическую проверку степени достоверности полученных результатов осуществляли путем вычисления критериев Стьюдента (*t*). Количественные признаки предварительно исследовали на нормальность распределения. Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$. Результаты представлены в виде средних значений ($M \pm m$).

Результаты и обсуждение

Антимикробная активность мази «Стелланин» по отношению к грамотрицательной флоре по критериям оценки довольно высокая (см. таблицу). Мазь «Стелланин» имеет такую же, как мазь «Бетадин», активность воздействия на микроорганизмы группы кишечных бактерий. Следует отметить, что 30% штаммов культур *E. coli* и *Klebsiella* spp. продуцировали β-лактамазы расширенного спектра. По отношению к группе грамотрицательных неферментирующих бактерий активность мази «Стелланин» несколько ниже, чем к группе кишечных бактерий, при этом активность мази «Бетадин» также снижается. Такой эффект можно объяснить тем, что именно среди этой группы оказалось более 50% полирезистентных штаммов микроорганизмов, т.е.

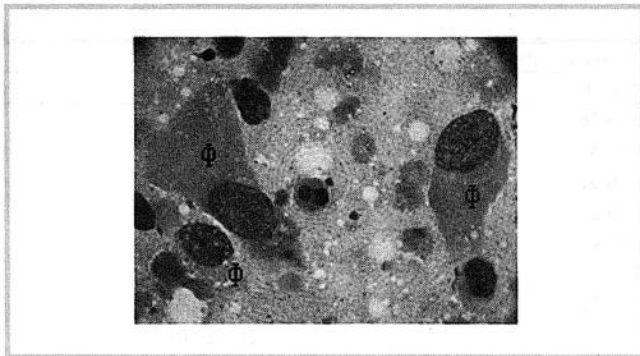


Рис. 1. Регенераторный тип цитограммы.
Φ — фибробласт. Окраска по Папенгейму. Ув. 1000.

устойчивых практически ко всем применяемым в клинике антибактериальным препаратам, включая карбапенемы. Сравнительное изучение показало, что мазь «Стелланин» обладает высокой антимикробной активностью ко всем видам тестируемых грамположительных кокков. Активность мази «Стелланин» выше, чем мази «Бетадин». Следует учесть, что в эту группу входили и метициллинорезистентные стафилококки, устойчивые ко многим антибактериальным препаратам.

Полученные данные показывают, что мазь «Стелланин» обладает более высокой антимикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, чем мазь «Бетадин».

Данные динамики качественного и количественного состава микрофлоры ран полностью коррелировали с динамикой показателей цитологического исследования раневых отпечатков, выполненного у 10 больных в каждой группе.

У больных сравниваемых групп исходным был воспалительный тип цитограммы. В процессе лече-

ния в основной группе клеточный состав мазков на 5—7-е сутки начинал смещаться в сторону регенераторных типов цитологической картины. На 7—10-е сутки лечения в препаратах наблюдали снижение количества клеток продуктивного воспаления в результате активного процесса эпителизации, что подтверждалось появлением молодых эпидермоцитов. К концу лечения (в среднем к 10-м суткам) в цитограммах отпечатков ран наблюдали картину, характерную для активного процесса регенерации, о чем свидетельствовало преобладание фибробластов (рис. 1). В то же время в группе сравнения в половине наблюдений сохранился воспалительный тип цитограммы.

Во всех наблюдениях фагоцитоз флоры был завершенным, с внутриклеточным содержанием поглощенных микроорганизмов, что указывало на несложное течение процесса заживления. Ни в одном отпечатке не было признаков развития аутоиммунной реакции в ответ на применение мази «Стелланин».

При морфологическом исследовании у большинства больных уже на 1—3-и сутки лечения под повязками с мазью «Стелланин» в ранах значительно уменьшилось количество гнойного отделяемого, сократилась зона воспалительной инфильтрации краев ран, гиперемии (рис. 2, а). По данным электронной микроскопии с высоким разрешением удалось проследить, как мази влияют на функциональную активность клеток и как при этом изменяется их ультраструктура. С первых суток лечения мазью «Стелланин» функциональная активность ПМЯЛ, а затем и макрофагов повышается, что является необходимым условием эффективного очищения ран, последующего развития фибропластических процессов и восстановления кровообращения в ране. Морфологические признаки активации ПМЯЛ за-

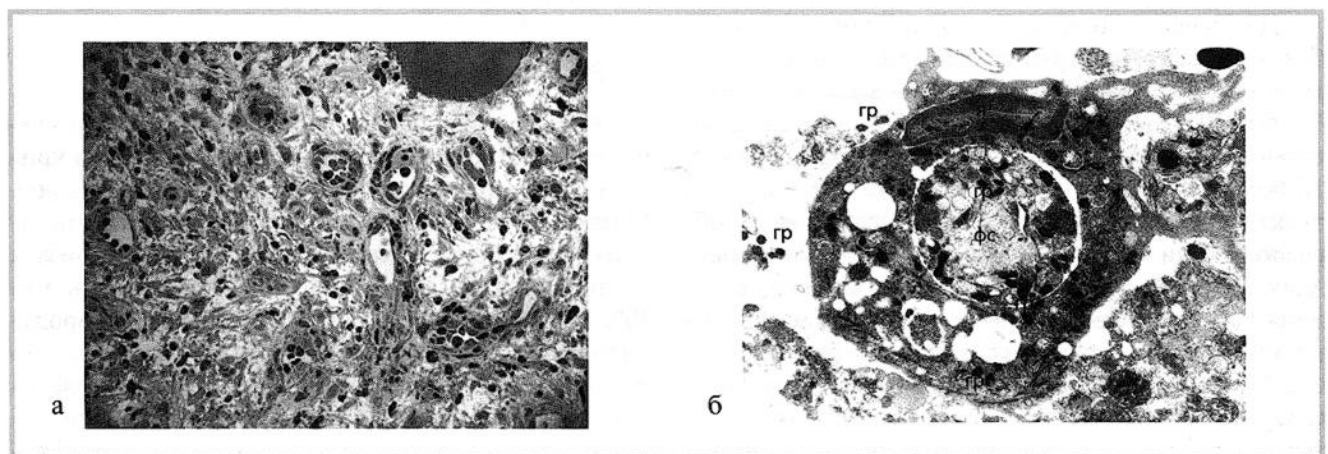


Рис. 2. Состояние раны на 3-и сутки лечения мазью «Стелланин-ПЭГ».

а — световая микроскопия. Фрагмент грануляционной ткани. Окраска толуидиновым синим. Ув. 200; б — электронограмма. Полиморфно-ядерный лейкоцит с крупной фагосомой (лс), содержащей клеточный детрит; Я — ядро клетки; гр — специфические гранулы. Контрастирование цитратом свинца. Ув. 15 000.

ключались в наличии выростов цитоплазмы, фагосом, а на усиление внутриклеточного пищеварения указывали крупные пищеварительные вакуоли с бактериальным и/или клеточным детритом. ПМЯЛ не только saniруют очаг воспаления (активация фагоцитоза), но и регулируют процесс воспаления путем выброса активных веществ во внеклеточное пространство (рис. 2, б). При лечении ран мазью «Стеллантин» количество дегранулирующих клеток и гранул в межклеточном пространстве было больше, чем при лечении мазью «Бетадин». Среднее количество ПМЯЛ в поле зрения при лечении мазью «Стеллантин» на 3-и сутки было ниже (почти в 2,5 раза), чем при лечении мазью «Бетадин», — $4,2 \pm 0,2$ и $10,1 \pm 0,3$ соответственно ($p < 0,001$). Таким образом, на 3-и сутки использования мази «Стеллантин» отмечали затухание процессов воспаления. С уменьшением количества ПМЯЛ происходит замена нейтрофильного пула в очаге мононуклеарными фагоцитами и процесс заживления ран вступает в фазу репарации [7].

Макрофаги вырабатывают регуляторные и эффекторные цитокины, которые вызывают миграцию, пролиферацию и дифференциацию в ране клеток, обеспечивающих заживление. Макрофаги с преимущественно фагоцитарной функцией преобладали в ранах у больных обеих групп и выполняли свою основную функцию — очищение ран от клеточного детрита. При лечении ран мазью «Стеллантин» среднее количество макрофагов на 3-и сутки составляло $6,4 \pm 0,2$, на 5-е сутки достигало максимального значения — $6,9 \pm 0,2$ и снижалось на 8-е сутки. При использовании мази «Бетадин» количество макрофагов на 3-и и 5-е сутки лечения было несколько ниже — $5,2 \pm 0,3$ и $5,8 \pm 0,3$ соответственно ($p < 0,05$), чем при лечении мазью «Стеллантин», а максимальное значение ($6,2 \pm 0,3$) достигалось на 8-е сутки. При лечении гнойных ран мазью «Стеллантин» отмечали не только большее количество макрофагов, но и более выраженную активацию фагоцитарной функции клеток, на что указывали большое количество везикул и мультивезикулярных теллец, всевозможные гранулы, овальные глобулы липидного происхождения, миелиноподобные включения, фагосомы и гетерофаголизосомы с фагоцитированным материалом. Эффективное и раннее очищение ран от микробного и клеточного детрита приводит к интенсификации функциональной и пролиферативной активности клеток грануляционной ткани.

На 3-и сутки лечения мазью «Стеллантин» в области дна ран формировалась грануляционная ткань. Фибробласты находились в различном функциональном состоянии — в основном это были молодые клетки с высоким уровнем обменных процессов, способные к делению, были и зрелые клетки, синтезирующие коллаген, имеющие веретенообраз-

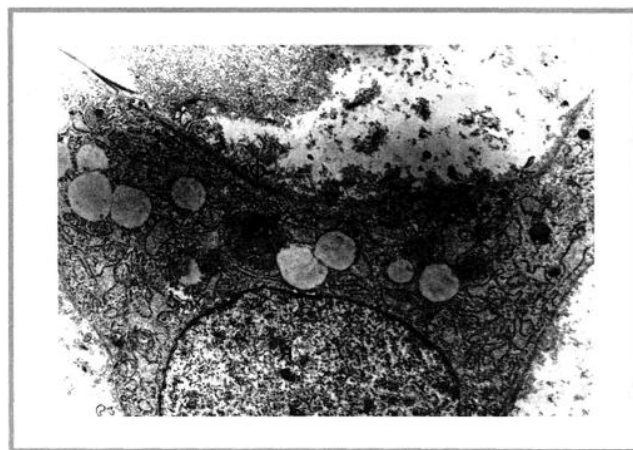


Рис. 3. Электронограмма. Миофибробласт в грануляционной ткани при лечении мазью «Стеллантин-ПЭГ».

Мф — миофиламенты; я — ядро. Контрастирование цитратом свинца. Ув. 10 000.

ную форму и хорошо развитую гранулярную цитоплазматическую сеть. Среднее количество фибробластов в поле зрения при лечении ран мазью «Стеллантин» составило $7,3 \pm 0,2$, при лечении мазью «Бетадин» — $6,3 \pm 0,2$ ($p < 0,05$). На 5-е сутки лечения мазью «Стеллантин» дефекты были заполнены грануляционной тканью, степень зрелости которой повышалась от поверхности раны ко дну. В ране появлялись миофибробласты, ответственные за контракцию раны; фиброциты — функционально неактивные фибробласты (рис. 3).

При лечении ран мазью «Бетадин» стимулирующий эффект выражен слабее, более длительная воспалительная стадия приводит к позднему созреванию грануляционной ткани. Лишь на 8-е сутки исследования созревающая грануляционная ткань заполняла раневой дефект. Максимальное количество фибробластов в поле зрения при использовании мазей «Стеллантин» и «Бетадин» определяли на 8-е сутки лечения, оно составляло $10,1 \pm 0,3$ и $8,2 \pm 0,3$ соответственно ($p < 0,05$). Степень зрелости грануляционной ткани на 8-е сутки при лечении ран мазью «Стеллантин» была несколько выше, чем при лечении мазью «Бетадин».

Динамика количества сосудов и фибробластов была одинаковой в обеих группах больных. Максимальное количество сосудов при лечении мазью «Стеллантин» отмечали на 5-е сутки ($2,6 \pm 0,1$ в поле зрения), а при лечении мазью «Бетадин» — на 8-е сутки ($1,8 \pm 0,2$). Синхронизация этих количественных показателей может рассматриваться как результат общего стимулирующего влияния йодсодержащих мазей, а также как результат гистогенетической связи фибробластов и мелких сосудов грануляционной ткани [10].

Результатом применения мази «Стеллантин» явилось формирование на 8-е сутки лечения в яло

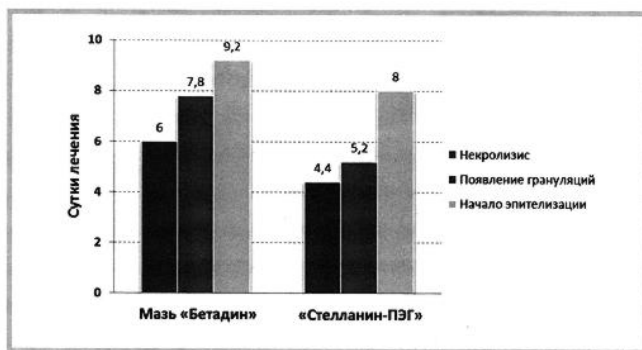


Рис. 4. Сроки купирования I фазы раневого процесса.

заживающих гнойных ранах зрелой грануляционной ткани с признаками краевой эпителизации (рис. 4).

Таким образом, йодсодержащие мази эффективны с первых дней применения, проявляют высокую антимикробную активность. 3% мазь «Стелланин» при лечении гнойных ран уменьшает местные воспалительные изменения, активизируя нейтрофильные лейкоциты и макрофаги. При этом нормализуется система микроциркуляции, уменьшается отек ткани. Полноценное очищение ран при лечении 3% мазью «Стелланин-ПЭГ» улучшает их состояние, стимулируя процессы регенерации, что приводит к интенсификации пролиферативной и функциональной активности клеток грануляционной ткани. Клинические, морфологические и цитологические данные свидетельствуют о сокращении сроков купирования гнойного процесса, что приводит к более ранней (по сравнению с использованием мази «Бетадин») эпителизации ран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блатун Л.А. Местное медикаментозное лечение ран. Проблемы и новые возможности их решения. Consilium Medicum. Хирургия 2007; 9: 1. Режим доступа: <http://www.consilium-medicum.com/magazines/magazines/cm/surgery/>, свободный. Загл. с экрана 10.10.10.
2. Булынин В.И., Глухов А.А., Мошуров И.П. Лечение ран. Воронеж 1998; 248.
3. Герман Г. Методическое руководство по лечению ран. Пер. с нем. М: Медика 2000; 123.
4. Даценко Б.М. Теория и практика местного лечения гнойных ран. Проблемы лекарственной терапии. Киев: Здоров'я 1995; 344.
5. Ерюхин И.А., Гельфанд Б.Р., Шляпников С.А. Хирургические инфекции: Руководство. М 2003; 854.
6. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей. М: Медицина 1991; 592.
7. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. М 1991; 10—30.
8. Назаренко Г.И., Сугурова И.Ю., Глянцев С.П. Рана, повязка, больной. М: Медицина 2002; 472.
9. Савельев В.С. Хирургические инфекции кожи и мягких тканей. Российские национальные рекомендации. Руководство. М 2009; 89.
10. Саркисов Д.С. Сосуды. В кн.: Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. Руководство. М: Медицина 1987; 295—306.
11. Федоров В.Д., Светухин А.А. Избранный курс лекций по гнойной хирургии. М: Миклош 2004; 365.

Поступила 19.06.13