

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
«ЦЕНТР ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ»
(ФГУП «ЦЭМ»)

УДК
Регистрационный №
Инв. №

Экз. № 2

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор ФГУП «ЦЭМ»
доктор медицинских наук
профессор
генерал-лейтенант медицинской службы

« 4 » _____ Е.Г. Жилиев
2000г.



О Т Ч Е Т
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ
«ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО
ЭФФЕКТА УГЛЕРОДНОЙ СМЕСИ ВЫСОКОЙ
РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ»

(Итоговый)

Шифр «Прелюдия-ЦЭМ»

Зам. Генерального директора
по научно-исследовательской работе
доктор медицинских наук
профессор

полковник медицинской службы
Н.М. Шалимов
« 4 » _____ 12 2000 г.

Начальник 2 научно-
исследовательского управления
кандидат медицинских наук
старший научный сотрудник

« 4 » _____ 12 А.К. Волков
2000 г.

Директор научных программ
кандидат медицинских наук

« 6 » _____ 14 В.А. Ларьков
2000 г.

Научный руководитель НИР
начальник отдела
доктор медицинских наук
старший научный сотрудник

« 4 » _____ 12 Н.А. Мешков
2000 г.

СПИВОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Научный руководитель НИР
начальник отдела
доктор медицинских наук



Н.А. Мешков
(разработка замысла и
общей методики
проведения НИР)

Ответственный исполнитель:
старший научный сотрудник
кандидат биологических наук



Е.А. Вальцева
(введение,
заключение, методика
проведения
эксперимента, участие
в постановке
эксперимента,
оформление отчета,
Заключение о наличии
ранозаживляющего
эффекта УСВР...)

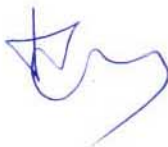
Исполнители:

старший научный сотрудник
кандидат медицинских наук



Ф.Е. Шин
(Проведение
эксперимента, глава 3,
Заключение о наличии
ранозаживляющего
эффекта УСВР...)

старший научный сотрудник
кандидат медицинских наук



В.В. Филатов
(раздел 3.1.2, 3.1.3)

научный сотрудник



Е.А. Юрова
(Проведение
эксперимента, участие
в оформлении отчета)

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
РЕФЕРАТ.....	4
1. ВВЕДЕНИЕ.....	5
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	6
3. ОЦЕНКА РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ УГЛЕРОДНОЙ СМЕСИ ВЫСОКОЙ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ.....	10
3.1. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УСВР НА ДИНАМИКУ МИКРОБНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ РАНЫ, КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С ГНОЙНОЙ РАНОЙ.....	10
3.2. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УСВР НА ДИНАМИКУ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С ОЖГОВОЙ РАНОЙ.....	29
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	39
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	41

РЕФЕРАТ

Отчет изложен на 41 странице, содержит 1 рисунок, 7 таблиц, 5 литературных источников.

УГЛЕРОДНАЯ СМЕСЬ ВЫСОКОЙ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ,
СОРБЕНТ, РАНОЗАЖИВЛЕНИЕ, ГНОЙНАЯ РАНА, ОЖОГОВАЯ РАНА

В отчете представлены результаты проведенного экспериментального исследования по доклинической оценке ранозаживляющего эффекта углеродной смеси высокой реакционной способности (УСВР) при лечении гнойных и ожоговых ран у лабораторных животных. Дано заключение о наличии ранозаживляющей активности УСВР и целесообразности продолжения его доклинического исследования для получения данных по острой токсичности, местнораздражающему и алергизирующему действию препарата для представления в Фармакологический государственный комитет Минздрава России. Приведенная в настоящем отчете информация поможет в решении вопроса о целесообразности проведения дальнейших клинических исследований данного углеродного сорбента.

1. ВВЕДЕНИЕ

Научно-исследовательским институтом физики фуллеренов и новых материалов РАЕН разработан углеродный сорбент УСВР (углеродная смесь высокой реакционной способности). Как указано в «Заключении экспертной комиссии государственной экологической экспертизы материалов экологического обоснования применения препарата УСВР для очистки окружающей среды от углеводородного загрязнения» от 03.07.2000 г. № 485, препарат изготавливается из природного чешуйчатого графита, предварительно обработанного кислотой. Его производство имеет достаточно низкую цену. УСВР характеризуется высокой сорбционной способностью к загрязняющим веществам органической природы.

Целью настоящего исследования явилось изучение ранозаживляющей эффективности углеродной смеси высокой реакционной способности (УСВР) гнойных и ожоговых ран у лабораторных животных. В отчете впервые описаны результаты эксперимента по оценке ранозаживляющего эффекта УСВР на основе данных, полученных клиническими и лабораторными методами исследования. Дано заключение о наличии ранозаживляющей активности УСВР и целесообразности продолжения его доклинического исследования для получения данных по острой токсичности, местнораздражающему и аллергизирующему действию препарата для представления в Фармакологический государственный комитет Минздрава России. Приведенная в настоящем отчете информация поможет в решении первоочередных задач, стоящих на данном этапе исследований по изучению эффективности препарата в медицине, а именно: задачи по определению целесообразности дальнейших клинических испытаний углеродного сорбента.

2. МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Предмет исследования.

Исследованный в рамках комплексной НИР препарат УСВР обладает высокой сорбирующей способностью, что является предпосылкой для изучения целесообразности использования его в качестве средства, ускоряющего заживление различных ран. Углеродный сорбент УСВР из класса фуллеренов представляет собой сыпучий, мелкодисперсный порошок черного цвета. Массовое содержание углерода 99,4%, насыпная плотность от 0,002 до 0,01 г/см³. Размеры пор до 40 мкм. Препарат с чрезвычайно развитой поверхностью и высокой поглотительной способностью.

Объекты исследования

Объектом исследования являются белые крысы, беспородные, самцы. Углубленное изучение ранозаживляющего эффекта углеродного соединения высокой реакционной способности (УСВР) проводится в опытах «in vivo» на модели экспериментальной гнойной и ожоговой раны. Преимущество указанных животных состоит в быстром проявлении эффекта вследствие их физиологических особенностей.

Состав объектов исследования: 4 группы по 30 крыс в каждой:

- | | |
|--------------------------------|------------|
| 1 группа: контроль | – 30 крыс; |
| 2 группа: опыт (ожоговая рана) | – 30 крыс; |
| 3 групп: контроль | – 30 крыс; |
| 4 группа: опыт (гнойная рана) | – 30 крыс. |

Методы исследования

Цитоморфологические и цитохимические исследования

Цитоморфологические и цитохимические исследования проведены по методу, предложенному П.М. Покровской и М.С. Макаровым в 1942 [1]. Мазки-отпечатки брали при каждой очередной перевязке после предварительного удаления гноя с поверхности раны у животных в сроки на

3, 7, 10, 15 сутки. Для цитологического исследования мазки-отпечатки окрашивали по Романовскому-Гимзе с приготовлением на буферном растворе (рН 6,5). Для исследования гликогена мазки окрашивали с помощью ШИК-реакции по Мак-Манусу с контрольной обработкой мазков амилазой. Для выявления дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислот мазки окрашивали галлоцианом по Эйпарсону с контрольной обработкой мазков по Демпси.

Микробиологические исследования

1. Метод исследования проницаемости УСВР для воздушной микрофлоры.

Для проведения исследования использовали мясо-пептонный агар (МПА), залитый в стерильные чашки Петри. МПА покрывали УСВР путем его присыпки толщиной 0,2–0,3 см, и такие чашки выдерживали в течение 30 минут открытыми для свободного оседания на поверхность воздушной микрофлоры. Параллельно ставили контрольные чашки Петри с МПА без добавления УСВР. Для проращивания микроорганизмов чашки Петри помещали в термостат при температуре 37°C на 48 ч. Результат оценивали по всем выросшим колониям в опыте и контроле.

2. Изучение влияния УСВР на рост и развитие микроорганизмов в кровяном агаре.

Для изучения влияния углеродного сорбента на рост и развитие микроорганизмов использовали смыв односуточной тест-культуры (Музейные тест-штаммы *St.aureus*-209, *E.coli*, *Cl.perfringens*-235). Тест-культуру с посевом на косячке смывали физиологическим раствором и доводили концентрацию по шкале стандартных мутностей до 20 ед. Методом стандартных разведений получали взвесь равную 2,5 ед. Из разведения 2:5 ед (250 мл) переносили 1 стандартную петлю в 1 мм³ физиологического раствора. Затем – разведенную тест-культуру. После этого производили посев разведенной культуры на кровяном МПА путем глубинного посева. В

пустую чашку Петри вносили 1 мл приготовленной культуры, покрывали его путем присыпания слоем сорбента толщиной 0,2–0,3 мм и заливали его сверху МПА при температуре 45°C. Контрольные и опытные чашки Петри помещали на 24 ч в термостат (37°C). Результат оценивали по всем выросшим колониям в опыте и контроле.

3. Определение степени микробной обсемененности гнойных ран.

Количественный бактериальный контроль обсеменения изучали методом E.D. Rotheram [2].

4. Характеристика регенеративных процессов в костном мозге по данным ретикулоцитоза периферической крови.

Осуществляли по общепринятой методике [3] путем проведения исследований крови забранной из хвостовой вены животного.

Модель экспериментальной плоскостной кожно-мышечной раны

Экспериментальную гнойную рану получали следующим образом. У крыс после удаления волосяного покрова в межлопаточной области животного под кетаминным наркозом вырезали круглый лоскут кожи вместе с подкожножировой клетчаткой площадью 400 мм². Края раны и подлежащие мышцы раздавливали зажимом Кохера. Заражение ран проводили микробной взвесью *Staphilococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* в количестве 10⁹ микробных тел в 1 мм. Штаммы были выделены от больных с гнойными осложнениями. Для исключения контракции раны и обеспечения у всех животных исходных размеров раневой поверхности ее края фиксировали на дюралевом кольце площадью 400 мм². Сверху кольцо герметично закрывали целлофановой пленкой. Через 48 ч раневая поверхность представляла собой очаг острого гнойного воспаления [4].

Термические ожоги получали по следующей методике [5]: у наркотизированных животных производили депиляцию шерсти на спине,

после чего укладывали на этот участок кожи кусочки марли (несколько слоев), смоченной спиртом, и поджигали. Продолжительность действия термического фактора от 1 до 2 мин. В результате образовывалась ожоговая рана размерами 3×4 см (12 см²) с полным поражением всей толщи кожных покровов и подкожной клетчатки – ожог 3–4 степени.

3. ОЦЕНКА РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ УГЛЕРОДНОЙ СМЕСИ ВЫСОКОЙ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ

3.1. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УСВР НА ДИНАМИКУ МИКРОБНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ РАНЫ, КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С ГНОЙНОЙ РАНОЙ

3.1.1. ВЛИЯНИЕ УГЛЕРОДНОГО МАТЕРИАЛА УСВР НА ТЕЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГНОЙНЫХ РАН У КРЫС

Влияние углеродного сорбента УСВР на процессы ранозаживления на 60 беспородных крысах весом 200–220 г. Распределение животных в зависимости от применяемого метода лечения представлено в таблице 1.

Таблица 1

Распределение экспериментальных животных в зависимости от применяемого метода лечения

Группа животных	Метод лечения	Количество, абс. число
Контрольная группа	Лечение растворами антисептиков и мазевыми повязками	30
Опытная группа	Лечение сорбентом УСВР	30

Экспериментальные полнослойные кожно-мышечные гнойные раны через 48 часов после их нанесения и инфицирования микробной взвесью *St. aureus* и *Ps. aeruginosa* представляли собой очаги острого гнойного воспаления. При первичном осмотре края ран были валикообразно утолщены и подрыты. Раневая поверхность кратерообразно углублена, дно ран покрыто рыхлым легкоудаляющимся струпом. Отделяемое обильное, гнойное, с сильным ихорозным запахом. Подлежащие к струпу фасция и мышечные волокна некротизированы.

На 3 сутки лечения гнойные раны животных контрольной группы характеризовались картиной нарастающего воспаления. Отек и гиперемия прилежащих к ранам тканей увеличились, раневая поверхность покрыта плотно прилежащим толстым струпом темно-коричневого цвета. После удаления струпа обнажалось дно ран, заполненное гнойно-фиброзными массами.

В тоже время у крыс, лечение которых проводили сорбентом УСВР, выраженность отека и гиперемии тканей оставалась на прежнем уровне. Раневой струп был толстым, однако, не таким плотным как в контрольной группе крыс. У большинства животных определялась тенденция к изменению характера экссудата из гнойного в серозно-фибринозный. Динамика изменения некоторых показателей заживления раны представлена на рисунке 1.

После 4-х перевязок (5 сутки лечения) в контрольной группе животных признаки острого воспаления продолжали нарастать. Отек и гиперемия тканей увеличились по сравнению с предыдущим сроком. Струп плотный, с трудом отделяется от подлежащих тканей с обнажением дна раны, покрытой некротизированными тканями.



Рис. 1. Динамика изменения показателей заживления гнойной раны у крыс.

У крыс, леченных сорбентом УСВР отек и гиперемия тканей заметно уменьшились. Раневой дефект покрыт плотным тонким струпом коричневого цвета. У большинства животных последний отходит от подлежащих тканей. После удаления струпа обнажается раневая поверхность без признаков наличия гнойных масс с единичными очагами грануляционной ткани темно-розового цвета. Отделяемое скудное серозно-фибринозное.

Через 7 суток с момента начала лечения в контрольной группе животных признаки гнойного воспаления продолжают сохраняться. Края раны утолщены и неподвижны, у многих животных подрыты. Струп плотный, темно-зеленого цвета. После его удаления видны значительные массы некротизированных тканей. Количество отделяемого по сравнению с предыдущим сроком исследования несколько уменьшилось, однако оно все еще носит характер гнойного и имеет ихорозный запах.

В тоже время у крыс, гнойные раны которых лечили сорбентом УСВР, имели незначительный отек и гиперемиию тканей. У всех животных раны покрыты отходящим от подлежащих тканей струпом, под которым располагались очаги грануляционной ткани темно-розового цвета. Отделяемое было незначительным, серозно-фибринозным.

К 10-м суткам лечения в контрольной группе животных отмечалось уменьшение отека и гиперемии тканей вокруг раны. Первичный струп у некоторых животных стал отходить от подлежащих тканей с обнажением раневой поверхности, заполненной некротизированными тканями. Однако на отдельных его участках видны очаги грануляционной ткани бледно-розового цвета. Отделяемое остается гнойным, но его количество незначительно и оно располагается по периферии раны и в боковых карманах. Площадь раны вследствие контракции ее краев уменьшилась до $29,03 \pm 13,7 \text{ мм}^2$ и составляла 73% по отношению к исходной.

В тоже время у крыс, пролеченных сорбентом УСВР, характерным было отсутствие отека и гиперемии тканей вокруг ран. Тонкий светло-коричневого цвета струп на большей своей части отходит от подлежащих тканей с обнажением раневой поверхности, покрытой грануляционной тканью. По периферии раны отмечается хорошо выраженная кайма краевой эпителизации. Кожа вокруг ран имеет звездчатую складчатость и свободно берется в руки. К данному сроку исследования площадь ран крыс опытной группы составляла $198,6 \pm 8,1 \text{ мм}^2$ (48,0% по отношению к исходной).

Появление каймы краевой эпителизации считали показанием для прекращения местной сорбентной терапии гнойных ран. Дальнейшее лечение проводили с применением мазевых повязок.

К 15 суткам лечения в контрольной группе все признаки воспаления исчезали у большинства животных (за исключением 6 крыс). Раневая поверхность значительно уменьшилась в размерах по сравнению с предыдущим сроком исследования и составляла $187,3 \pm 10,2 \text{ мм}^2$ (46,3%).

У животных, леченных сорбентом, площадь раневой поверхности уменьшилась до $95,1 \pm 4,4 \text{ мм}^2$ (20,4%), статистически достоверно отличаясь от показателя контрольной группы ($P < 0,01$). Отчетливо определялась кайма краевой эпителизации у всех животных.

Через 20 суток в контрольной группе раневая поверхность была полностью заполнена грануляционной тканью, определяемое было незначительным и носило серозный характер. По краям ран определялась активная эпителизация. Площадь ран составляла $94,5 \pm 4,2 \text{ мм}^2$ (23,3%).

Раневой процесс в опытной группе животных в эти сроки характеризовался дальнейшим сокращением площади раневой поверхности и составлял $9,2 \pm 0,3 \text{ мм}^2$ (2,3%), достоверно отличаясь от показателей контрольной группы ($P < 0,05$).

Окончательное заживление гнойных ран у животных контрольной группы наблюдалось на $28,3 \pm 0,5$ сутки, а в опытной – $23,2 \pm 0,3$ сутки. Ускорение заживления при этом составило 34,3%.

Таким образом, использование сорбента УСВР при лечении гнойных ран крыс положительно влияет на их заживление. Обладая большой сорбционной емкостью, препарат УСВР уменьшает отек тканей и приводит к раннему очищению раневой поверхности от гнойно-некротических масс, что в свою очередь обеспечивает возможность развития полноценной грануляционной ткани и краевой эпителизации на 5 суток раньше, чем в группе сравнения.

3.1.2. Морфологические испытания биопсийного материала раневых поверхностей гнойных плоскостных полнослойных ран крыс

Для изучения изменений структуры тканей ран проводили морфологические исследования биопсийного материала раневых поверхностей животных контрольной и опытной групп.

Контрольная группа – гнойная рана, пролеченная растворами антисептиков и мазевыми повязками.

3–5 сутки. Раневая поверхность покрыта струпом, прикрывающим тканевой детрит и фибринозный экссудат, инфильтрованный большим количеством разрушенных лейкоцитов. В лейкоцитарно-фибринозном слое и под ним – многочисленные колонии микроорганизмов. Возбудители раневой инфекции активно фагоцитируются нейтрофилами и макрофагами. Дно раневого дефекта представлено отечной и инфильтрованной большим количеством клеточных элементов жировой клетчатки.

Поверхностные слои клетчатки разрушены, о чем свидетельствуют многочисленные свободнолежащие гранулы деформированных липоцитов. Преобладающими клеточными элементами как поверхностных, так и глубоких слоев тканей являются нейтрофильные лейкоциты. При ШИК-реакции только у незначительной части нейтрофильных клеток выявлены гранулы гликогена, что свидетельствует о нарушении процессов внутриклеточного обмена. Не менее 1/3 лейкоцитов находятся в состоянии распада. Прилежащие к жировой ткани мышечные волокна также деструктированы, отечны и инфильтрованы большим количеством лейкоцитов.

Незначительное количество макрофагов представлено как мелкими незрелыми формами, так и крупными клетками. Цитоплазма последних при ШИК богата включениями и вакуолями, что свидетельствует об их функциональной активности. Отмечается тенденция к увеличению фагоцитирующих макрофагов к 5 суткам лечения. Тучные клетки в основном концентрируются вокруг сосудов и при окрашивании толуидиновым синим

характеризуются наличием компактной метахроматичной зернистости. Следует отметить, что большая часть тучных клеток имеет ортохроматическую зернистость и цитоплазму с признаками дегрануляции и вакуолизации, что является признаками их распада. В данные сроки исследования в отдельных участках жировой клетчатки, больше по краям раны, отмечается пролиферация фибробластов и новообразование капилляров путем их почкования. Однако сосудистые элементы не имеют вертикальной направленности. В глубине раны и в жировой клетчатке отмечаются растущие беспорядочными тяжами фибробласты, вблизи которых определяются аргирофильные при серебрении и метахроматичные при окрашивании толуидиновым синим незрелые коллагеновые волокна. Здесь же выявляется метахромазия основного вещества, свидетельствующая о синтезе фибробластами кислых гликозаминогликанов. В сосудах формирующейся новообразованной ткани, выявляются признаки геморрагии, гемостаза, повышенной проницаемости стенок, формирование в их просвете микротромбов, сладж-феномена и диапедезного кровоизлияния.

7–10 сутки. К этому сроку раневой дефект уже заполнен грануляционной тканью, содержащей характерные вертикальные сосуды. По сравнению с предыдущим сроком исследования возрастает степень зрелости ткани, постепенно усиливающаяся к 10-м суткам лечения. В грануляционной ткани четко выделяются следующие характерные слои: лейкоцитарно-фибринозный слой, слой сосудистых аркад, слой нижних сосудов и горизонтальных фибробластов и слой волокон.

Преобладающими клеточными элементами поверхностных слоев являются нейтрофильные лейкоциты. По сравнению с 5 сутками увеличивается содержание макрофагов, причем большая их часть представлена крупными формами в состоянии выраженного фагоцитоза. Чаще всего эти клетки обнаруживаются в слое вертикальных сосудов.

В слое горизонтальных фибробластов последние расположены параллельно поверхности раны. При реакции Браше отмечается

пиронинофилия цитоплазмы и ядрышек, что свидетельствует о синтезе фибробластами РНК и белковых продуктов (коллагена и др.). Метахромазия основного вещества говорит о накоплении кислых гликозаминогликанов. Изменяются и тинкториальные свойства созревающих коллагеновых волокон, о чем свидетельствуют ослабление их метахромазии и аргирофилии при одновременной фуксинофилии. Эти процессы особенно усиливаются к 10-м суткам. В слое вертикальных сосудов фибробласты не имеют четкой ориентации, а основное вещество характеризуется слабой метахромазией. Признаки микроциркуляторного нарушения продолжают сохраняться: просвет сосудов расширен, определяются признаки гемо- и лимфостаза, проницаемость стенок сосудов нарушена, эритроциты сладжированы.

Также как и в предыдущих сроках исследования выявляются признаки плазморрагий и микрокровоизлияний. В различных участках ткани встречаются микроабсцессы и вторичные некрозы грануляционной ткани. В лейкоцитарно-фибринозном слое обнаруживаются многочисленные колонии микроорганизмов, окруженные большим количеством распадающихся нейтрофильных лейкоцитов. Однако толщина этого слоя постепенно истончается. Это свидетельствует о сохраняющихся признаках острой воспалительной реакции. Даже в формирующемся слое горизонтальных фибробластов определяются скопления нейтрофильных лейкоцитов. Фиброзирование этих участков заторможено, что указывает на замедленный процесс созревания коллагеновых волокон. Часто встречаются участки с неправильно ориентированными пучками фибробластов и коллагеновых волокон. Кроме того, как и в предыдущих сроках исследования определяются многочисленные микроабсцессы и очаги вторичного некроза ткани. К 10-м суткам лечения колонии микроорганизмов обнаруживаются реже. Ослабевают и микроциркуляторные нарушения, о чем свидетельствует уменьшение количества микротромбов и признаков сладж-феномена. Однако в поверхностных участках и слое вертикальных сосудов сохраняется выраженная отечность ткани и отдельные микрокровоизлияния, связанные с

повышенной сосудистой проницаемостью. В непосредственной близости от них видны скопления лимфоцитов и плазматических клеток. Края ран характеризуются картиной усиленной регенерации поврежденного эпидермиса. Свободный край последнего на некотором протяжении покрывает грануляционную ткань и частично наползает на фибриновый экссудат. Эпителиальные клетки содержат ШИК-положительные зерна гликогена. В целом эпидермис характеризуется постепенным восстановлением вертикальной анизоморфности.

20 сутки. Созревание грануляционной ткани и ее эпителизация протекают вяло, что подтверждает сохраняющийся слой вертикальных сосудов, многочисленные нейтрофильные лейкоциты. Вместе с тем в глубоких слоях ткани прогрессируют явления фиброобразования горизонтальных фибробластов и увеличивается количество зрелых фуксинофильных коллагеновых волокон. Кроме того, увеличивается содержание малоактивных фибробластов с невыраженной пиронинофилией цитоплазмы. В тоже время в слое вертикальных сосудов видны рыхло расположенные крупные фибробласты. Здесь же определяется выраженная метахромазия основного вещества. Созревание коллагеновых волокон в этом слое заторможено. В грануляционной ткани присутствуют отдельные микроабсцессы и очаги вторичного некроза. В краевых участках раны регенерирующий эпидермис наползает на грануляционную ткань. Однако большая часть последней все еще не эпителизирована.

Только к **30 суткам** с момента начала лечения происходит эпителизация раневой поверхности. Под новообразованным эпидермисом располагается рубцовая ткань, содержащая немногочисленные сосуды и фибробласты, большая часть которых относится к неактивным фиброцитам. У значительной части животных полная эпителизация еще отсутствует. В центре имеется незаживающая раневая поверхность, покрытая вторичным струпом и тонким слоем фибрина. Под ним располагается грануляционно-фиброзная ткань с явлениями очаговой нейтрофильной макрофагальной,

лимфоцитарной и плазмноклеточной инфильтрации. Все это говорит о пролонгации воспалительных и торможении репаративных процессов у животных с экспериментальной моделью гнойной раны.

Опытная группа – лечение ран сорбентом УСВР.

3-5 сутки. Использование при лечении гнойных ран крыс сорбента УСВР в ранние сроки улучшает процессы их заживления. Очищение раневой поверхности от тканевого детрита происходит раньше, чем в контрольной группе животных, что в свою очередь уменьшает бактериальную обсемененность, ослабляет воспаление и усиливает процессы регенерации. Это проявляется в значительном уменьшении признаков расстройства системы микроциркуляции, наблюдаемых в биопрепаратах раневой поверхности животных, леченных сорбентом УСВР, на 3–5 сутки после нанесения травмы и инфицирования. В эти сроки исследования определяется менее выраженная инфильтрация жировой клетчатки и новообразованной ткани. Однако на фоне активизации процессов пролиферации фибробластов и ангиогенеза реже встречаются признаки лимфо- и гемостаза. Уже к 5 суткам формируется полноценная грануляционная ткань, в глубине которой определяется слой горизонтальных фибробластов и вертикальные сосуды. Причем для фибробластов характерным является высокое содержание РНК и относительно высокий фибриллогенез. Грануляционная ткань замещает обширные участки жировой клетчатки, отмечается интенсификация макрофагальной и тучноклеточной реакции.

Поверхность раны покрыта относительно тонким лейкоцитарно-фибринозным слоем. В последнем по сравнению с контролем значительно реже выявляются колонии микроорганизмов, микроабсцессы, геморрагии и участки вторичного некроза ткани.

7–10 сутки. Созревание грануляционной ткани прогрессирует. К 7 суткам она занимает весь объем раневого дефекта, замещая жировую клетчатку. Уже в этот период хорошо выражены все слои ткани. Узкий

фибринозно-лейкоцитарный слой практически лишен колоний микроорганизмов и некротических масс. Количество нейтрофилов в нем уменьшено, особенно разрушенных форм. В глубине грануляционной ткани определяются признаки фиброзирования, усиливающиеся к 10 суткам, а в слое горизонтальных фибробластов выявляются тяжёлые зрелые фуксинофильные коллагеновые волокна.

В этих участках ослабевает метахромазия основного вещества. Цитоплазма и ядрышки фибробластов характеризуются уменьшением пиронинофилии, что свидетельствует о превращении последних в малоактивные фиброциты. В ткани определяются полиморфноядерные лейкоциты. Однако число этих клеток значительно меньше, чем в контроле. В более поверхностных участках – в слое вертикальных сосудов – сохраняются довольно многочисленные нейтрофильные лейкоциты. Однако здесь же располагаются функционально активные фибробласты. По сравнению с предыдущей группой животных отмечается увеличение числа макрофагов с ШИК-положительной пенистой цитоплазмой. Слабее выражены микроциркуляторные расстройства, реже встречаются микроабсцессы и вторичные некрозы ткани. В последнем колонии микроорганизмов почти не обнаруживаются. По сравнению с контролем более активно протекает регенерация эпидермиса, заметная уже к 7 суткам.

15 сутки. Прогрессируют процессы фиброзирования и эпителизации грануляционной ткани. У большинства животных слой вертикальных сосудов почти полностью замещается фиброзирующим слоем горизонтальных фибробластов, т.е. происходит фибринозно-рубцовая трансформация. Функционально активные фибробласты с пиронинофильными цитоплазмой и ядрышками определяются лишь в самых поверхностных участках раны. В основном фибробласты превращаются в функционально малоактивные фиброциты. Между этими клетками выявляются толстые, в отдельных участках извитые, зрелые коллагеновые волокна, окрашиваемые по Ван-Гизону в красный цвет.

По сравнению с предыдущим сроком исследования значительно ослабевает воспалительная реакция в виде нейтрофильной инфильтрации тканей. Однако в эти сроки в глубине ткани и в ее поверхностных участках сохраняются макрофаги. Эти клетки принимают участие в remodelировании соединительно-тканного рубца. В новообразованном эпидермисе постепенно восстанавливается вертикальная анизоморфность. Эпидермис располагается на ШИК-положительной мембране. Часть раневой поверхности эпителизирована.

21–31 сутки. Раны полностью эпителизированы у большинства животных. Эпителий еще не полностью дифференцирован в центре рубца, там сохраняются митозы, гликоген в цитоплазме клеток и сосочки, врастающие в ткань. Под эпителием видна рубцовая ткань, которая на 21 сутки еще относительно богата клетками и сосудами, сохраняет лимфо-плазмноклеточную и макрофагальную инфильтрацию. К 30 суткам рубцовая ткань уплотняется, теряет часть сосудов и клеток, инфильтрация в ней ослабляется. Раны эпителизированы. Эпителиальная выстилка рубца становится тоньше и более дифференцированной.

Таким образом, морфологическое изучение биопсийного материала раневых поверхностей показало, что при лечении экспериментальных гнойных ран у крыс угольным сорбентом УСВР репарационные процессы в тканях активизированы в сравнении с лечением традиционными методами (растворами антисептиков и мазевыми повязками), при которых на 30 сутки после начала лечения ран имеет место пролонгация воспалительных процессов.

3.1.3. Цитологическое исследование мазков-отпечатков раневой поверхности крыс, пролеченных углеродным сорбентом УСВР

Через 48 часов после нанесения и инфицирования раны животных характеризовались развитием острой ассоциированной микрофлоры, в которой преобладающее значение имели стафилококки. Последние располагались как диффузно, так и в виде отдельных скоплений среди волокон фибрина и погибших лейкоцитов. Обращало на себя внимание наличие в раневом экссудате большого количества нейтрофильных лейкоцитов в состоянии незавершенного и дегенеративного фагоцитоза (до 32,7% в большинстве изученных мазках-отпечатках). При этом в их цитоплазме и ядрышках определялись от 10 до 50 стафилококков. Только у некоторых нейтрофильных лейкоцитов обнаруживались от 8 до 25 микробных тел грамотрицательной микрофлоры. О дегенеративном типе воспалительной реакции свидетельствовало и наличие в местах гибели лейкоцитов большого количества (40–70) стафилококков. Характерной была картина активной миграции нейтрофильных лейкоцитов в раневую экссудат. Во всех полях зрения таких клеточных элементов насчитывалось не менее $35,4 \pm 1,2\%$, причем большая их часть находилась в состоянии некроза и дистрофических изменений ($67,9 \pm 1,5\%$ и $27,0 \pm 3,1\%$ соответственно). Относительно сохранных нейтрофилов было мало (в среднем не более $8,2 \pm 0,7\%$). Низкий уровень мононуклеарных клеток также свидетельствовал об остром гнойном воспалении, – во всех изученных мазках-отпечатках ран количество полибластов и макрофагов не превышало $2,5 \pm 0,2\%$.

3 сутки лечения. Цитологическое исследование мазков-отпечатков ран крыс, пролеченных препаратом УСВР, показало снижение количества микроорганизмов в раневом экссудате. В нейтрофильных лейкоцитах обнаруживалось до 30 стафилококков и до 16 грамотрицательных палочек. Значительно меньшим было число лейкоцитов в состоянии незавершенного фагоцитоза и дегенеративных изменений ($8,3 \pm 1,3\%$), а также погибших

нейтрофилов ($50,0 \pm 2,1\%$). В тоже время определялось увеличение числа сохранных нейтрофилов ($28,5 \pm 9,4\%$) и мононуклеарных элементов ($27,9 \pm 1,0\%$). Об уменьшении воспалительных явлений у крыс, пролеченных препаратом УСВР, свидетельствовало уменьшение показателя миграции лейкоцитов в раневой экссудат. Практически во всех изученных мазках-отпечатках этот показатель был достоверно меньше по сравнению с предыдущим сроком исследования ($16,8 \pm 0,9\%$, $P < 0,05$).

В тоже время у животных контрольной группы количество микроорганизмов в раневом экссудате значительно выросло. В межклеточном пространстве микроорганизмы организовали густые скопления в виде отдельных колоний с плотным центром, от которого лучевидно отходили цепочки микробных тел. Следует отметить, что в данный срок исследования у крыс, пролеченных традиционным методом, цитологически определялась смена микробиологического пейзажа: внутри тел нейтрофильных лейкоцитов в большем количестве стали выявляться палочковидные микроорганизмы (60–80 микробных тел) и в меньших – стафилококки (30–45 микробных тел). Количество нейтрофильных лейкоцитов в состоянии незавершенного фагоцитоза и дегенеративного распада сократилось почти в 2 раза. Однако их уровень значительно превышал таковой опытной группы крыс ($15,9 \pm 2,3\%$). Кроме того, некоторое увеличение процента лейкоцитов мигрировавших в экссудат свидетельствовало о сохраняющемся остром гнойном воспалении ($42,3 \pm 1,2\%$). Исследования мазков-отпечатков показали, что в данный срок лечения в контрольной группе увеличение числа сохранных нейтрофилов и пролиферативных клеток соединительной ткани не наблюдается ($8,7 \pm 2,8\%$ и $2,9 \pm 0,4\%$ соответственно).

5 сутки лечения. В мазках-отпечатках ран животных опытной группы количество свободнолежащих и внутриклеточных микроорганизмов снизилось до единичных микробных тел в отдельных полях зрения. Только в

некоторых мазках-отпечатках нейтрофильные лейкоциты содержали до 10-12 грамположительных палочек и 4–6 стафилококков. По сравнению с предыдущим сроком исследования наблюдалось значительное уменьшение и количества нейтрофильных лейкоцитов в состоянии незавершенного фагоцитоза ($3,8 \pm 1,7\%$).

В данный срок исследования число мигрировавших в раневой экссудат нейтрофильных лейкоцитов было $13,2 \pm 2,2\%$ ($P < 0,05$). О купировании воспалительного процесса говорило увеличение процента нормально сегментированных нейтрофильных лейкоцитов до $68,1 \pm 4,7\%$ и мононуклеарных клеток до $31,5 \pm 0,8\%$ ($P < 0,05$). Следует отметить, что уже в эти ранние сроки лечения из всех соединительно-тканых клеток репарации полибласты и профибробласты составляли не менее $26,1 \pm 0,9\%$.

В тоже время у крыс контрольной группы как вне-, так и внутриклеточно расположенных микроорганизмов было значительно больше по сравнению с опытной группой (30–40 и 15–20 соответственно в большинстве изученных мазках-отпечатках). Несмотря на 5 сутки лечения низкими были показатели сохранных нейтрофилов ($2,4 \pm 3,3\%$) и мононуклеарных клеток ($10,1 \pm 0,8\%$, в том числе $7,2 \pm 1,3\%$ полибластов и профибробластов).

10 сутки лечения. К данному сроку исследования в мазках-отпечатках ран крыс опытной группы все еще обнаруживались отдельные микроорганизмы. Однако их количество и качественное состояние коррелировали с общей клинической картиной активной эпителизации раневой поверхности. Только в 3-х мазках-отпечатках было обнаружено несколько нейтрофилов, содержащих в цитоплазме и ядрышках от 4 до 10 микробных тел стафилококков. Количество нейтрофилов в состоянии незавершенного фагоцитоза и дегенеративного изменения составляло не менее $1,9 \pm 0,3\%$. О благотворном влиянии на заживление ран крыс опытной группы препарата УСВР свидетельствовали показатели мигрировавших в

раневой экссудат нейтрофильных лейкоцитов ($12,6 \pm 0,6\%$) и мононуклеарных клеток ($77,4 \pm 2,7\%$).

Цитологическое изучение раневого отделяемого животных контрольной группы особых различий по сравнению с предыдущим сроком исследования не выявили. В большинстве случаев в мазках-отпечатках ран обнаруживались как свободнолежащие, так и расположенные внутриклеточно микроорганизмы (не менее 10–25 микробных тел), нити фибрина и разрушенные нейтрофильные лейкоциты. Причем в состоянии незавершенного фагоцитоза и дегенеративного изменения насчитывалось до $4,2 \pm 1,1\%$, а процент мигрировавших в экссудат составил $36,9 \pm 2,3\%$. Данные факты, а также незначительное количество сегментированных нейтрофилов ($9,6 \pm 3,3\%$) и мононуклеарных клеток ($8,3 \pm 2,1\%$) говорило о замедленном процессе заживления.

Таким образом, цитологическое изучение мазков-отпечатков ран крыс пролеченных препаратом УСВР свидетельствует об эффективном влиянии углеродного сорбента на динамику острого воспаления.

3.1.4. Результаты бактериологических испытаний сорбционного материала УСВР

Испытания велись по следующим направлениям:

1. Действие исследуемого материала на тест-культуру.
2. Изучение влияния УСВР на рост и развитие микробов в кровяном агаре.
3. Изучение микробонепроницаемости материала.
4. Влияние УСВР на динамику микробной обсемененности гнойных и ожоговых ран в эксперименте.

Музейные тест-штаммы *St.aureus*-209, *E.coli*, *Cl.perfringens*-235 (Институт стандартизации и контроля медицинских и биологических препаратов им. Тарасевича) подвергали воздействию как в жидких, так и в твердых питательных средах.

Полученные результаты показали, что сорбент УСВР обладает некоторым бактериостатическим действием на рост и развитие микроорганизмов тест-культуры в кровяном МПА. Однако данный факт, по-видимому, связан не с бактериологическим действием сорбента, а с изменением условий микросреды под ним (табл.2).

Таблица 2

Влияние сорбента УСВР на развитие микроорганизмов тест-культуры в кровяном агаре а кровяном мясо-мептонном агаре

№ п/п	Количество колоний в контроле	Количество колоний в опыте	Разность количества колоний в контроле и опыте	% разности
1	86	80	6	6,98
2	86	69	17	19,77
3	86	73	13	15,12
4	86	76	10	11,63
5	86	78	8	9,3
6	86	77	9	10,47
7	86	68	18	20,93
8	86	66	20	23,26
9	86	74	12	13,95
10	86	77	9	10,47
M±σ	86±0	73,8±4,7	11,9±4,7	14,19±5,48
P			<0.05	

Микробозащитная способность сорбента УСВРР-ВИП изучена на модельных опытах с использованием кровяного агара. Испытания показали, что при закрытии питательного субстрата слоем сорбента толщиной 1–2 мм полностью исключается возможность его инфицирования микробной флорой окружающего воздуха (табл. 3).

Таблица 3

Показатели проницаемости сорбента УСВР
для воздушной микрофлоры

№ п/п	Количество колоний в контроле	Количество колоний в опыте	Разность количества колоний в контроле и опыте	Разность, %
1	40	11	29	72,5
2	40	4	36	90,0
3	40	4	36	90,0
4	40	8	32	80,0
5	40	7	33	82,5
6	40	4	36	90,0
7	40	5	35	87,5
8	40	5	35	87,5
9	40	7	33	82,5
10	40	6	34	85,75
11	40	10	30	82,5
12	40	7	33	82,5
13	40	7	33	82,5
14	40	5	35	87,5
M±σ	40±0	6,43±2,17	33,57±2,17	84,52±4,83
P			<0.05	

Это, по-видимому, связано с наличием в сорбенте микропор и минимальными расстояниями между частицами сорбента, размеры которых обеспечивают свободное прохождение воздуха, но не пропускают микроорганизмы.

Эксперименты *in vivo* провели на 120 беспородных крысах самцах весом 200–220 г.

Через 48 часов после нанесения травмы и инфицирования модельной раны представляла собой очаг острого гнойного воспаления со степенью микробной обсемененности 10^9 КОЕ/мл раневого отделяемого.

На 3 сутки лечения раневая поверхность крыс контрольной группы характеризовалась микробной обсемененностью, значительно превышающей критический уровень (10^{8-9} КОЕ/мл). В тоже время у животных, пролеченных сорбентом УСВР, раневые поверхности имели микробную обсемененность, не превышающую в большинстве случаев 10^7 КОЕ в 1 мл раневого экссудата.

В контрольной группе животных к 5 суткам лечения число колониеобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов снизилось до 10^7 и статистически достоверно отличалось от показателей предыдущего срока исследования ($P < 0.05$). Микробиологические исследования раневой поверхности крыс опытной группы выявили снижение числа микробных тел до критического уровня (10^5 КОЕ/мл, $P < 0.05$).

К 7 суткам лечения у крыс, пролеченных растворами антисептиков, снижения степени микробной обсемененности ран не наблюдалось, и число составляло 10^{7-8} КОЕ/мл. В опытной группе животных степень микробной обсемененности несколько снизилась, и у большинства крыс число КОЕ не превышало 10^4 КОЕ/мл.

На 10 сутки лечения в контрольной группе животных отмечается тенденция к возрастанию степени микробной обсемененности ран, что, по-видимому, связано с возникновением ассоциированной микробной флоры. К данному сроку исследования число микробных тел в 1 мл экссудата было 10^8 . В тоже время в опытной группе микробная обсемененность ран оставалась на прежнем уровне (10^4) и статистически достоверно отличалась от показателей контрольной группы ($P < 0,05$).

К 15 суткам лечения степень микробной обсемененности ран контрольной группы животных достигала критического уровня и составляла у большинства животных 10^5 КОЕ/мл. В опытной группе микробная обсемененность ран была ниже критической ($P < 0,05$), и у всех животных не превышала 10^3 КОЕ в 1 мл раневого отделяемого.

Динамика степени микробной обсемененности гнойных ран крыс в зависимости от применяемого метода лечения

Группа животных	Сутки лечения и степень микробной обсемененности гнойных ран крыс в зависимости от применяемого метода лечения				
	48 ч	3	5	10	15
Контрольная группа	10^9	10^9	10^7	10^8	10^5
Опытная группа	—	10^7	10^5	10^4	10^3

Таким образом, проведенные микробиологические исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что углеродистый сорбент УСВР эффективно влияет на степень микробной обсемененности гнойных ран в эксперименте. Обладая выраженной сорбционной активностью, он обуславливает создание раневой среды, неблагоприятной для активной вегетации микробной флоры. Не исключено, что, относясь к классу угольных сорбционных материалов, препарат УСВР характеризуется наличием специфической микробной сорбции, что является предпосылкой для более глубоких исследований сорбционных свойств данного вещества.

3.2. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УСВР НА ДИНАМИКУ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С ОЖОГОВОЙ РАНой

3.2.1. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖОГОВЫХ РАН У КРЫС УГЛЕРОДНЫМ СОРБЕНТОМ УСВР

Эффективность применения углеродного сорбента УСВР на течение экспериментальных ожоговых ран изучена на 60 лабораторных животных (крыс). Животные в зависимости от применяемого метода лечения были разделены на 2 группы (табл.5).

Таблица 5.

Группы животных с экспериментальными ожоговыми ранами в зависимости от применяемого метода лечения

Группы животных	Применяемый метод лечения	Количество
Контрольная группа	Лечение растворами антисептиков и мазевыми повязками	30
Опытная группа	Лечение сорбентом УСВР и мазевыми повязками	30

Местное лечение ран начинали сразу после нанесения термической травмы. До полного очищения ран перевязки осуществляли ежедневно. А после завершения некролиза и до полного заживления – через сутки.

Течение раневого процесса оценивали по результатам визуальных наблюдений, вычисления степени ускорения очищения и заживления ран по отношению к контролю. Визуальная оценка характера течения раневого процесса основывается на динамическом наблюдении за изменениями состояния раны, что позволяет определить сроки их очищения, выраженность воспалительных явлений, степень и характер экссудации, скорость уменьшения раневого дефекта и сроки его полного заживления. Клиническое изучение процессов репарации позволяет создать полноценную картину особенностей его течения. Однако для выявления более тонких изменений в тканях раны под влиянием тех или иных факторов, недоступных

для дифференциации на визуальном уровне, требуется применять специальные методы исследования. Изучение отечественных и зарубежных литературных источников позволяет считать, что для подобного рода работ достаточным является исследование гистогенеза ран.

Для определения площади термического поражения пользовались формулой, предложенной M.Lee (1929):

$$S = 12,54 \times W^{0,66}$$

где S – поверхность тела крысы, см²

W – вес животного, г

Сравнительная оценка раневого процесса осуществлена по данным степени некролиза и заживления ран под действием используемых средств лечения. Данный показатель определялся по формуле:

$$\frac{T}{T_1} \times 100 \%$$

где T – продолжительность некролиза (заживления) в опытной группе,

T_1 – продолжительность некролиза (заживления) в контрольной группе.

Гистологические и гистохимические исследования проводили после декапитации животных в следующие сроки: 3, 5, 7, 10, 15 и 21 сутки после начала лечения. Путем иссечения из раневой поверхности забирали кусочки тканей размерами 0,5×0,5 см. Биоптаты фиксировали в жидкости Карнуа, после чего заливали в парафин и готовили срезы толщиной 4 микрона.

Срезы окрашивали гематоксилин-эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, импрегнировали серебром по Гомери. Гистохимические исследования основывались на выявлении гликозаминогликанов (окрашиванием толуидиновым синим), нейтральных мукополисахаридов и гликогена (ШИК-реакцией), РНК (пиронинометиловым зеленым по Браше).

Таблица 6.

Результаты лечения экспериментальных ожоговых ран у крыс

Группы животных	Результаты лечения			
	Некролиз		Заживление	
	Средние сроки, сутки	Ускорение по отношению к контролю, %	Средние сроки, сутки	Ускорение по отношению к контролю, %
Контрольная группа	12,5±1,6	—	29,6±1,3	—
Опытная группа	9,4±1,8	24,8	26,2±1,5	11,5

Исследования показали, что использование при лечении экспериментальных ожоговых ран сорбционного углеродного материала УСВР позволяет сократить сроки их лечения на 3–4 суток по сравнению с контрольной группой животных. Следует отметить, что характер клинических изменений в ожоговой ране у крыс принципиально не отличался от таковых у животных с гнойными плоскостными ранами. Отличием являлась только некоторая пролонгация наступления сроков полного очищения и заживления ран по времени (табл. 2). В связи с этим подробное описание состояния ожоговой раны по срокам исследования является нецелесообразным. Поэтому исполнители сочли возможным проанализировать некоторые выявленные в ходе эксперимента некоторые клинические особенности течения ожоговой травмы у крыс под влиянием изучаемого препарата.

Летальность.

В группе контрольных крыс летальность составила 30%. В большинстве случаев гибель животных отмечалась в сроки от 7 до 30 суток после нанесения ожога. Все погибшие крысы характеризовались крайней степенью истощения и имели большие глубокие ожоговые раны, осложненные гнойной инфекцией. В тоже время закрытие ожоговых ран сорбционным углеродистым материалом обуславливало значительное

снижение процента летальности (до 10%). Следует отметить, что гибель крыс наблюдалась в течение 5 дней с момента начала лечения. По-видимому, это было связано с развившимся у них ожоговым шоком.

Динамика массы тела.

Острая ожоговая травма у всех крыс в течение первых 3-х суток после нанесения им термического поражения обусловили снижение массы тела. У животных контрольной группы она составила 5–20% от исходного показателя. При лечении ожоговых ран углеродным сорбентом УСВР снижение веса было 9,0%.

К 7 суткам лечения в контрольной группе крыс потеря в весе составила 3,0%, а в опытной – 8,0–9,0%. Через 20–25 дней животные всех групп прибавили в весе.

Реакция системы крови.

Исследование динамики показателей системы красной крови позволяет выявить статистически достоверное влияние ранозаживляющих средств на течение посттравматической анемии. Результаты проведенного исследования представлены в таблице 7.

Таблица 7.

Динамика показателей красной крови под влиянием различных методов лечения

Исследуемые показатели	Группы животных и сроки исследования					
	Контрольная группа			Опытная группа		
	II неделя	III неделя	IV неделя	II неделя	III неделя	IV неделя
Эритроциты	82±5,0	74±3,5	71±3,0	92±1,0	86±2,0	95±3,0
Гемоглобин	81±3,0	87±2,0	89±1,0	91±2,0	92±1,0	96±1,0
Ретикулоциты	77±3,0	123±2,0	120±1,0	124±2,0	101±1,0	121±3,0
Лейкоциты	150±2,0	110±2,0	116±2,0	123±3,0	107±2,0	104±1,0

Из приведенных в таблице данных видно, что у крыс, лечение которых осуществлялось с применением антисептиков и мазевых повязок, к концу 2-й

недели наблюдений отмечалось выраженное (25% от норм) снижение числа ретикулоцитов. Поскольку это снижение происходило на фоне прогрессирующей анемии (уменьшение числа эритроцитов на 20% к 28–30 суткам) лечения можно предположить об угнетении регенеративных процессов костномозгового кроветворения. В тоже время при закрытии ожоговых ран углеродным сорбентом УСВР отмечается ретикулоцитоз. По-видимому, углеродсодержащие материалы при аппликации их на раневые поверхности за счет высокой сорбционной активности обеспечивают антиоксический эффект.

Характерной была динамика лейкоцитоза. У крыс контрольной группы он был более выражен и длительно сохранялся на высоком уровне. Применение углеродных сорбентов обуславливало нормализацию лейкоцитоза значительно раньше, чем в контрольной группе.

Таким образом, использование углеродистого сорбента УСВР при лечении экспериментальных ожоговых ран у крыс позволяет значительно снизить количество летальных исходов у животных и сократить сроки их лечения.

3.2.2. Результаты морфологического исследования биопсийного материала экспериментальных ожоговых ран у крыс

При изучении изменений структуры тканей раневых поверхностей животных контрольной и опытной групп с помощью морфологических методов исследования получены следующие данные.

Контрольная группа – ожоговые раны, пролеченные по общепринятой методике.

3–5 сутки лечения. Ожоговая рана покрыта гомогенным оксофильным некротическим струпом, распространяющимся на сосочковый и сетчатый слой дермы.

Окружающие ткани дермы и подкожной клетчатки отечны и полнокровны. В них обнаруживаются очаговые и сливающиеся кровоизлияния. Подвергшиеся некрозу ткани отделены от неизмененных участков демаркационным лейкоцитарным валом. В глубоких отделах дермы и подкожной клетчатки определяются островки формирующейся грануляционной ткани. Она представлена беспорядочно расположенными капиллярами и большим количеством клеточных элементов, из которых преобладающими являются нейтрофильные лейкоциты.

Значительно реже выявляются макрофаги, участвующие в резорбции липидных гранул поврежденных липоцитов.

На 5 сутки лечения на поверхности раны обнаруживаются фрагменты термического оксифильного гомогенного струпа, расположенные среди фибрина и многочисленных нейтрофильных лейкоцитов. В прилежащих участках дермы и подкожной клетчатки выявляются полнокровные сосуды, отек, островки формирующейся грануляционной ткани с большим количеством клеточных элементов и новообразующимися сосудами. Преобладающими клеточными элементами являются нейтрофильные лейкоциты и макрофаги, резорбирующие липидные гранулы поврежденных липоцитов.

Фибробласты встречаются значительно реже, по периферии раневого дефекта видны единичные вертикальные сосуды, между петель которых расположены фибробласты с ШИК-положительной цитоплазмой. При окраске толуидиновым синим в этих участках отмечается очаговая метахромазия межучного вещества грануляционной ткани, свидетельствующая о высоком содержании гликозаминогликанов. В сосудах формирующейся грануляционной ткани обнаруживаются явления лейкостаза, плазматического пропитывания стенок, миграции лейкоцитов за пределы сосудов.

Через 10 суток после начала лечения на поверхности раны выявляется фибринозно-лейкоцитарный слой с немногочисленными фрагментами струпа. Под ним обнаруживается не резко выраженный демаркационный лейкоцитарный вал, ограничивающий поверхностные слои раны от сформированной в пределах дермы и подкожной клетчатки грануляционной ткани типичного гистологического строения.

На 15 сутки поверхность раны представлена фибринозно-лейкоцитарным струпом, под который с краем раны наплзает в виде пласта плоский эпителий.

В пределах дермы и подкожной клетчатки сформирована грануляционная ткань, содержащая большое количество новообразованных капилляров и клеточных элементов макрофагального и фибробластического ряда, а так же многочисленные нейтрофилы и лимфоидные клетки.

На 27 сутки имеет место восстановление эпителиального покрова, представленного многослойным плоским эпителием с поверхностным ороговением.

Созревание грануляционной ткани протекает вяло. Хотя в глубоких отделах выявляются пучки фуксинофильных коллагеновых волокон, сохраняется слой вертикально расположенных сосудов, среди которых обнаруживаются нейтрофильные лейкоциты.

Таким образом, раневой процесс при экспериментальных ожогах у крыс развивается в течение 4-х недель и характеризуется постепенным ослаблением воспалительных явлений, нормализацией изменений в системе микроциркуляции, очищением раны от девитализированных тканей. Одновременно появляются островки грануляционной ткани, которая формируется и заполняет весь раневой дефект. Активизируется пролиферативная реакция, идет фиброзирование наиболее зрелых участков грануляционной ткани. К концу 4-й – заканчивается эпителизация раневой поверхности.

При использовании для местного лечения сорбента УСВР на 3-и сутки лечения морфологическая картина биопсийного материала не отличалась от таковой контрольной группы животных.

Однако на 5-е сутки лечения поверхность раны характеризовалась наличием гомогенного оксифильного струпа, распространяющегося на всю толщину дермы. В тоже время прилежащие к ране участки ткани все еще отечны и полнокровны. От подкожной жировой клетчатки зона термического некроза была отделена менее выраженным, чем в контроле, демаркационным лейкоцитарным валом. В меньшем количестве выявляются стазы, периваскулярные диапедезные и очаговые кровоизлияния.

Вместе с тем в подкожной клетчатке и окружающей дерме обнаруживаются островки формирующейся грануляционной ткани, состоящей из большого количества новообразованных капилляров и клеточных элементов, среди которых преобладают нейтрофилы, лимфоидные клетки и немногочисленные макрофаги. Следует отметить, что разрозненные макрофаги и фибробласты распространяются между лейкоцитами и находятся в состоянии пролиферации, что свидетельствует об активации репаративных процессов, а в наиболее зрелых участках новообразованной ткани формируются отдельные вертикальные сосуды.

В большинстве случаев к 10-м суткам лечения раневая поверхность полностью очищалась от термического струпа и представлялась в виде узкого фибринозно-лейкоцитарного слоя, под которым располагалась сформированная грануляционная ткань с сосудами в виде вертикальных петель.

Обращает на себя внимание увеличение количества фибробластов с ШИК-положительной цитоплазмой, расположенных как между слоями, так и – горизонтальными тяжами. В глубоких отделах грануляционная ткань содержит фуксинофильные пучки коллагеновых волокон, что указывало на созревание грануляционной ткани. На поверхности грануляционной ткани располагались нейтрофильные лейкоциты и остатки тканевого детрита. Однако их количество было меньшим по сравнению с предыдущим сроком исследования.

С 15-х суток в биопрепарате отмечается наполнение эпителиальных клеток с краев раны к ее центру.

В поверхностных слоях грануляционной ткани все еще выявлялись фрагменты фибринозно-лейкоцитарного слоя. Наряду с этим в глубинных его слоях отмечается уменьшение количества сосудов и клеточных элементов. Одновременно с этим увеличивается количество коллагеновых волокон. В глубинных слоях раневой поверхности четко определяются вертикально расположенные сосуды и слой горизонтальных фибробластов. В слое вертикальных сосудов уменьшается количество нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов и увеличивается содержание активных фибробластов. Уменьшение количества сосудов в новообразованной ткани связано с их замещением коллагеновыми волокнами. Межуточное вещество дает выраженную метакромазию, свидетельствующую о высоком содержании гликозаминогликанов.

На 23 сутки с момента начала лечения поверхность раны у большинства животных полностью эпителизирована. Грануляционная ткань

представлена большим количеством фуксинофильных пучков коллагеновых волокон, составляющих основу формирующегося рубца.

Эпителиальные клетки хорошо дифференцированы и не содержат зерна гликогена. Под эпидермисом на фоне многочисленных фиброцитов определяются единичные, не имеющие вертикальную ориентацию сосуды, а также единичные нейтрофильные лейкоциты.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать заключение, что сорбент УСВР при местном использовании эффективно влияет на процессы ранозаживления ожоговых ран. Выраженная сорбционная активность сорбента способствует значительному ускорению сроков очищения экспериментальных ожоговых ран.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью испытания являлось изучение ранозаживляющего эффекта УСВР и целесообразности продолжения его доклинического исследования для получения данных по острой токсичности, местнораздражающему и аллергизирующему действию препарата для представления в Фармакологический государственный комитет Минздрава России.

Испытания сорбционного материала УСВР проводились в течение октября–ноября 2000 г. В ходе экспериментальных работ получены следующие данные:

1. Выявлено, что использование сорбента УСВР при лечении гнойных и ожоговых ран крыс положительно влияет на их заживление, позволяет значительно снизить количество летальных исходов у животных.

2. Установлено, что обладая большой сорбционной емкостью, препарат УСВР уменьшает отек тканей и приводит к раннему очищению раневой поверхности от гнойно-некротических масс. Это в свою очередь обеспечивает возможность развития полноценной грануляционной ткани и краевой эпителизации на 5 суток раньше, чем у животных опытной группы, лечение которых проводилось традиционными методами (растворами антисептиков и мазевыми повязками).

3. На основании цитологического изучения мазков-отпечатков ран крыс, пролеченных препаратом УСВР, выявлено эффективное влияние углеродного сорбента на сокращение сроков острого воспаления.

4. Проведение микробиологических исследований *in vitro* и *in vivo* показало, что углеродистый сорбент УСВР эффективно влияет на снижение степени микробной обсемененности гнойных ран у крыс. Обладая выраженной сорбционной активностью, он обуславливает создание раневой среды, неблагоприятной для активной вегетации микробной флоры. Не исключено, что, относясь к классу угольных сорбционных материалов, препарат УСВР характеризуется наличием специфической микробной сорбции.

Выявленные в эксперименте на лабораторных животных лечебные свойства исследуемого препарата, а также возможность иммобилизации биологически-активными веществами при помощи химических методов (вследствие наличия у препарата активных центров), относительная дешевизна производства, вероятность преобразования формы вещества для наибольшей эффективности ранозаживления, — свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения УСВР в интересах военной и экстремальной медицины.

Угольный сорбент УСВР эффективен при лечении гнойных и ожоговых ран. Целесообразно продолжение доклинического исследования для получения данных по острой токсичности, местнораздражающему и алергизирующему действию препарата.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Покровская М.П., Макаров М.С. Цитология раневого экссудата как показатель процесса заживления ран. – М.: Медгиз, 1942.
2. Rotheram E.D. Septic abortion and related infections of pregnancy. (Eds.) Anaerobic Row Diseases. – 1975. – P. 369.
3. Руководство к практическим занятиям по методам лабораторных исследований: Учеб. пособие – 4-е изд., перераб. и доп. / В.С. Ронин, Г.М. Старобинец. – М.: Медицина, 1989. – С. 185.
4. Шин Ф.Е. Лечение гнойных ран мягких тканей кремнийорганическим сорбентом аэрофилом и ультрафиолетовое облучение / Дис. канд. мед. наук. – М., 1995. – 132 с.
5. Парамонов Б.А. Сверхэкономная кожная пластика в лечении тяжело обожженных / Дис. ... докт. мед. наук. – СПб., 1996. – 150 с.