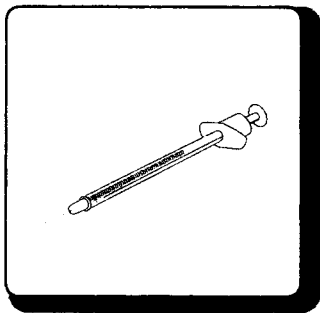




С.В. Якушин, А.А. Полежаев, Н.Н. Беседнова, Т.Н. Обыденникова,
В.В. Усов, Т.Н. Пивненко, Е.Е. Мартыненко

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ ИЗ МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ НА РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ГНОЙНОЙ РАНЕ

*Владивостокский государственный медицинский университет,
г. Владивосток; Научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии СО РАМН, г. Владивосток; ФГУП «Тихоокеанский
научно-исследовательский рыбохозяйственный центр», г. Владивосток*

Несмотря на успехи современной медицины (в том числе внедрение в клиническую практику активной хирургической тактики лечения гнойно-воспалительных заболеваний), проблема лечения гнойных ран далека от своего решения. В настоящее время в общей структуре хирургических заболеваний хирургическая инфекция наблюдается у 35-45% больных и протекает в виде острых и хронических болезней или нагноения послеоперационных и посттравматических ран [8]. В общей структуре летальности в хирургических стационарах количество смертных случаев в связи с инфекционными осложнениями достигает 40-60% [1].

Улучшение результатов лечения больных с гнойно-воспалительными процессами может быть связано с развитием и совершенствованием методов воздействия на местные воспалительно-регенеративные реакции, которые позволяют ускорить очищение ран от гнойно-некротических тканей и повысить регенеративный потенциал. Центральным звеном этого подхода является коррекция иммунных нарушений как на системном, так и на местном уровне [5]. В настоящее время активно изучаются и внедряются в клиническую практику иммуномодулирующие препараты, в том числе и для местного применения, полученные из гидробионтов дальневосточных морей. Имеются данные о положительном влиянии на течение местных иммунных реакций и раневого процесса в целом таких препаратов, как хитозан, митилан, тинростим, получаемые, соответственно, из панциря краба, мидий, оптических ганглиев кальмара. Особое место в этом ряду занимает моллюскам — препарат из мантии двусторчатых моллюсков, содержащий комплекс биологически активных пептидов, аминокислот (в том числе 8% таурина), микроэлементов и обладающий иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами [2].

Целью нашего исследования явилось изучение влияния геля хитозанового с моллюскамом на регенеративные процессы в гнойной ране.

Материалы и методы

Основу работы составили результаты лечения 94 больных в возрасте от 18 до 60 лет (в среднем $33,5 \pm 13,1$ г.), находившихся на стационарном лечении в отделении хирургической инфекции ФГУ «Дальневосточный окружной медицинский центр Росздрав» за период с 2004 по 2007 г. по поводу гнойно-воспалительных процессов мягких тканей (табл. 1).

Резюме

Применение геля хитозанового с моллюскамом в комплексном лечении гнойных ран активизирует бактерицидные системы полиморфно-ядерных лейкоцитов, активность ангиогенеза и эпителизации, сокращает сроки течения I фазы раневого процесса.

S.V. Yakushin, A.A. Polezhaev, N.N. Besednova,
T.N. Obydennikova, V.V. Usov, T.N. Pivnenko,
E.E. Martynenko

INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE POLYPEPTIDES FROM MARINE HYDROBIONTES ON REGENERATIVE PROCESSES IN PURULENT WOUNDS

*Vladivostok State Medical University; Scientific Research
Institute of epidemiology and microbiology Siberian Branch
of the Russian Academy of Medical Science,
Pacific Research Fish-farming Center, Vladivostok*

Summary

The application of chitosan gel with molluscam allows not only to speed up wound debridement from purulent and necrotic tissues, to reduce manifestations of destructive inflammatory reaction, but also considerably to activate regenerative processes in a wound. We think this effect is associated with immediate influence of the remedy under study on cell chain of immunity. Local application allows to normalize phagocytosis and bactericidal activity of neutrophils in a peripheral blood, to decrease an endogenic intoxication, that, in our opinion, can be linked, both with optimization of a wound process, and with resorption of biologically active components of molluscam.

Больным под общим обезболиванием выполняли хирургическую обработку гнойно-воспалительного очага: вскрытие (соблюдая принцип достаточного рассечения), ревизию полости, иссечение явно нежизнеспособных тканей острым путем под контролем зрения, гемостаз (наложение лигатур на кровоточащие сосуды при выраженных артериальных и венозных кровотечениях), обработку раны растворами антисептиков (3% раствор перекиси водорода, 0,02% водный раствор хлоргексидина биглюконата), дренирование полосками перчаточной резины либо полимерными перфорированными трубками.

Таблица 1

Распределение больных по нозологическим формам	
Нозологическая форма	Кол-во наблюдений
Флегмона	41
Абсцесс	25
Острый парапроктит	14
Карбункул	8
Эпителиальный копчиковый ход с нагноением	6
Всего	94

ми, наложение стерильной повязки. Мази в рану на этом этапе не вводили, т.к. образовавшиеся раны находились в периоде сосудистых реакций воспалительной фазы раневого процесса, который характеризуется обильной экссудацией, нестабильным гемостазом. Первую перевязку в послеоперационном периоде выполняли через 12-14 ч (переход раневого процесса в период очищения от гнойно-некротических тканей фазы воспаления): в асептических условиях снимали повязку, окружающие рану ткани обрабатывали 3% раствором перекиси водорода и 0,5% спиртовым раствором хлоргексидина биглюконата, рану обрабатывали 3% раствором перекиси водорода и 0,02% водным раствором хлоргексидина биглюконата; в рану вводили лекарственное вещество (в зависимости от метода лечения), меняли дренажи, накладывали стерильную марлевую повязку. В дальнейшем перевязки выполняли 1 раз в сут. По показаниям выполняли вторичную хирургическую обработку ран.

С первых суток поступления в стационар всем пациентам проводили общее антибактериальное, противовоспалительное, дезинтоксикационное, симптоматическое лечение, терапию сопутствующих заболеваний. Общее лечение проводилось без принципиальных различий в группах больных.

Больные были разделены на группы: контрольная (n=43) — в качестве наносимого на рану лекарственного вещества использовались мази на водорастворимой основе («Левомеколь», «Левосин»); опытная (n= 51) — перевязки выполнялись с применением геля хитозанового с моллюскамом. Объем мази/геля на одну перевязку определяли таким образом, чтобы на поверхности раны толщина образующегося слоя составляла около 1 мм.

Динамику регенеративных процессов в ране оценивали на 1; 3; 5; 7 и 10 сут пребывания больного в стационаре:

1. По клиническим признакам: сроки очищения раны от гнойно-некротических тканей и появления грануляционной ткани; оценка проводилась клинически, полуколичественно (табл. 2) [7], с выделением признаков гнойно-воспалительных явлений в ране (наличие и количество налета, некроза; объем и характер отделяемого; температура в полости раны), воспалительных явлений в окружающих рану тканях (их болезненность, наличие покраснения и отека), регенеративных процессов (количество и цвет грануляций, выраженность эпителизации).

2. По цитологическим признакам активации регенеративных процессов: методом «поверхностной биопсии» [6] (наличие, количество мононуклеаров; выраженность деструктивных процессов в полиморфно-ядерных лейко-

Таблица 2

Критерии клинической оценки состояния ран				
Признаки	Оценка в баллах			
	0	1	2	3
Налет, некроз, детрит	Вся поверхность раны покрыта налетом	Занимает более 50% площади	Занимает менее 50% площади	Отсутствует; рана чистая
Грануляции	Отсутствуют; рана покрыта налетом	Занимает менее 50% площади	Занимает более 50% площади	Рана вся покрыта грануляциями
Ангиогенез (цвет грануляций)	Отсутствует; рана без грануляций	Не выражен: грануляции бледно-розового цвета, плоские	Грануляции розово-красные, плотные, зернистые	Грануляции красные, рыхлые, сочные, легко кровоточат
Эпителизация	Отсутствует; рана без краевого эпителия	Эпителием покрыто менее 50% площади	Эпителием покрыто более 50% площади	Рана вся покрыта эпителием

цитах), при изучении состояния бактерицидных систем полиморфно-ядерных лейкоцитов в ране (активность миелопероксидазы, лизосомально-катионный тест).

Также изучали фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови и состояние системы «перекисное окисление липидов — антиоксидантная защита» методом люминол-индуцированной биохимиллюминесценции на приборе БХЛ-06 с анализом показателей: S — светосуммы за время наблюдения и Imax — максимальной интенсивности свечения. Полученные количественные результаты обрабатывали с применением методов вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

При клиническом исследовании в первые сутки пребывания в стационаре у всех больных отмечали выраженные признаки гнойного воспаления в ранах: вся поверхность ран была представлена гнойно-некротическими тканями, без грануляций, отделяемое обильное, гнойное; окружающие рану ткани на значительной площади отечные, гиперемированные, болезненные, без признаков краевой эпителизации. Температура в ране $37,4 \pm 0,9^\circ\text{C}$.

При цитологическом анализе выявляли большое количество дегенеративно измененных нейтрофилов неправильной формы с нечеткими контурами и клеточного детрита. В межклеточном веществе встречались элементы некротических тканей. В некоторых мазках встречались мононуклеары. Микробная флора наблюдалась во всех полях, внеклеточно, что свидетельствовало о резко нарушенных процессах фагоцитоза. Цитологическая картина соответствовала дегенеративно-воспалительному типу по М.Ф. Камаеву. Клинико-лабораторные исследования выявили значительные различия в наблюдаемых группах уже с 3-5 сут наблюдения. У больных контрольной группы только к 5 сут отмечалось клинически значимое уменьшение воспалительных явлений в окружающих рану тканях. Однако раны по-прежнему были представлены гнойно-некротическим налетом, сохранялось умеренное, преимущественно гнойное, отделяемое. Температура в ране превышала 36°C . У большинства пациентов появлялись плоские бледно-розовые грануляции, занимавшие менее 50% поверхности раны, и признаки краевой эпителизации. В эти же сроки при

цитологическом исследовании отмечали уменьшение количества полиморфно-ядерных лейкоцитов, дегенеративно измененных клеток, детрита.

Клинически на 7-е сут наблюдали начало перехода раневого процесса в фазу регенерации. Цитологическая картина соответствовала регенеративному типу I фазы.

К 10 сут наблюдения у большинства пациентов сохранялись наложения фибрина на поверхности ран, но они занимали не более 50% раневой поверхности. Отделяемое становилось серозно-гнойным, объем его оставался умеренным. Температура дна раны снижалась до $35,5 \pm 1,2^\circ\text{C}$. Сохранялась незначительная болезненность, отек и гиперемия перифокальных тканей. Более 50% поверхности ран представлены грануляциями, которые в большинстве случаев были бледно-розовыми, плоскими. Площадь эпителизированной поверхности ран не изменялась. При цитологическом исследовании регистрировали регенеративный тип I фазы. Только в единичных случаях выявляли клетки с морфологическими признаками макрофагов или фибробластов, волокнистые структуры в межклеточном веществе, то есть признаки регенеративного типа II фазы.

В группе, где применяли гель хитозановый с моллюскамом, полное очищение ран от гнойно-некротических тканей, изменение характера и объема раневого экссудата, купирование воспалительных явлений в перифокальных тканях происходило на 2 сут быстрее, чем в контрольной.

Об активизации процессов регенерации на фоне применения хитозанового геля с моллюскамом свидетельствует выполнение раны грануляциями на 2 сут быстрее по сравнению с контролем, их лучшее «качество» (мелко- и среднезернистые, красные). Клиническая картина раны имела существенное отличие уже с 5 сут наблюдения. Кроме того, с 7 сут наблюдения отмечали более быстрые темпы эпителизации ран в опытной группе.

При иммуноцитохимических исследованиях выявлено, что у больных, которым применяли гель хитозановый с моллюскамом, повышалась активность бактерицидных систем нейтрофилов. Так, в основной группе происходило увеличение активности миелопероксидазы до $1,82 \pm 0,09$ ед. на 10 сут; в контрольной группе этот показатель во все сроки исследования был достоверно ниже. При изучении лизосомально-катионного теста найдено, что у больных опытной группы этот показатель повышался до $2,1 \pm 0,03$ ед. на 3 сут и до $2,44 \pm 0,07$ ед. на 10 сут, что достоверно выше, чем в контрольной ($1,88 \pm 0,05$ и $2,18 \pm 0,08$ ед. соответственно) ($p < 0,05$).

При изучении фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови у больных в 1 сут наблюдения было отмечено резкое снижение как светосуммы, так и максимальной интенсивности свечения в пробах (в 4 и 3 раза соответственно), что отражает угнетение фагоцитарной активности. На фоне лечения у больных в контрольной группе показатели I_{max} и S возрастали, к 10 сут наблюдения достигая уровня здоровых доноров. В то же время, на фоне применения геля хитозанового

с моллюскамом уже на 5 сут наблюдения показатели светосуммы и максимальной интенсивности свечения достигали уровня здоровых доноров, а к 10 сут — статистически значимо ($p < 0,05$) превышали их (в 1,3 и 1,5 раза).

Эндотоксикоз, особенно длительно существующий, является основным фактором угнетения иммунореактивности [3]. В связи с этим были исследованы показатели системы перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты в эритроцитах и сыворотке периферической крови. У пациентов основной группы было отмечено статистически значимое увеличение отношения I_{max}/S , отражающего общую антиоксидантную активность сыворотки и эритроцитов ($0,04678 \pm 0,00013$ и $0,1346 \pm 0,0022$ до $0,05594 \pm 0,00033$ и $0,2005 \pm 0,0026$ соответственно; $p < 0,05$), на фоне снижения максимальной интенсивности свечения и показателя светосуммы, отражающих процессы перекисного окисления липидов. В то же время, в контрольной группе изменения этих показателей не были статистически значимы.

Выводы

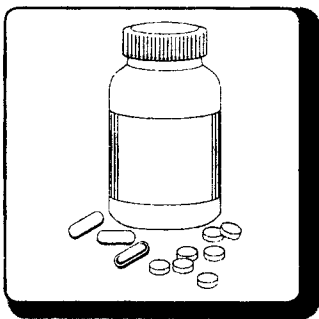
Таким образом, местное применение геля хитозанового с моллюскамом, обладающего иммуномодулирующим действием, позволяет не только ускорить очищение ран от гнойно-некротических тканей, уменьшить выраженность деструктивно-воспалительной реакции, но также значительно активизировать регенеративные процессы в ране.

В процессе местного лечения исследуемым препаратом происходит нормализация фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов периферической крови, уменьшение явлений эндогенной интоксикации, что может быть связано как с оптимизацией течения раневого процесса, так и с резорбтивным действием биологически активных компонентов моллюскама.

Л и т е р а т у р а

1. Абаев Ю.К. Раневая инфекция в хирургии. Минск, 2003. 293 с.
2. Беседнова Н.Н., Эпштейн Л.М. Иммуноактивные пептиды из гидробионтов и наземных животных. Владивосток: ТИНРО-центр, 2004. 240 с.
3. Дибиров М.Д., Черкезов Д.И., Манушарова Р.А. // Рус. мед. журн. 2005. №10. С. 717-719.
4. Избранный курс лекций по гнойной хирургии / Под ред. акад. РАМН В.Д. Федорова, чл.-корр. РАМН А.М. Светухина М.: Миклош, 2005. 365 с.
5. Атауллаханов Р.И., Нурписов А.М., Пичугин А.В. и др. // Рус. мед. журн. 2004. №24. С. 1427-1434.
6. Камаев М.Ф. Инфицированная рана и ее лечение. М.: Медицина, 1970. 159 с.
7. Назаренко Г.И., Сугурова И.Ю., Глянцев С.П. Рана. Понятие. Больной. М.: Медицина, 2002. 472 с.
8. Стандарты диагностики и лечения в гнойной хирургии: Резолюция конф. (Москва, 23-24.10.2001) // Хирургия. 2002. №8. С. 63-68.





УДК 611.428

А.И. Федорова, К.Г. Башарин

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОДКОЛЕННЫХ ЛИМФОУЗЛОВ ПРИ ЭНДОТОКСИКОЗЕ И ЕГО КОРРЕКЦИИ ФИТОМИНЕРАЛЬНЫМ КОМПЛЕКСОМ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

*Медицинский институт Якутского государственного университета,
г. Якутск*

Известно, что лимфатическая система играет важную роль в поддержании гомеостаза внутренней среды организма, активно реагирует на изменения факторов внешней среды. Наиболее подвержены преобразованиям структуры лимфатического узла, являющегося «маркером средового прессинга». В настоящее время недостаточно изученным остается вопрос о влиянии биологически активных добавок, включающих природные минералы (цеолит) и растительные компоненты (бадан толстолостный, красный корень), на структурную организацию лимфатической системы (лимфотропные свойства) и возможности их использования в качестве профилактических и лечебных средств при состояниях, сопровождающихся явлениями эндотоксикоза.

Представляется важным изучение природных цеолитов — минералов, обладающих выраженной ионно-обменной, иммуномодулирующей и адсорбирующей активностью [4, 9, 10, 13, 19]. На основе цеолитов создана пищевая добавка «Литовит», которая представляет собой смесь цеолитов Холинского месторождения, пшеничных и ржаных отрубей [2, 3, 8, 15]. Валеологическое действие растительных составов, используемых в качестве фитовалеологических средств, обусловлено содержанием в них многочисленных биологически активных веществ [17].

Целью исследования было изучение структурно-функциональной организации подколенных лимфоузлов в условиях эндотоксикоза и его коррекция фитоминеральным комплексом.

Материалы и методы

В качестве экспериментальных животных были использованы 80 белых крыс Вистар массой тела 150-180 г в возрасте 3-4 мес. Животные были разделены на три группы: 1 группа — контрольная; 2 группа — животные с экспериментальным токсикозом. Для создания экспериментального циркуляторного токсикоза животным под эфирным наркозом проводили перевязку бедренного лимфовенозного пучка справа с целью моделирования лимфовенозной недостаточности. Животные, получавшие фитоминеральные комплексы («Литовит» + растительные компоненты), составили 3 группу, создавалась экспериментальная модель токсикоза. «Литовит» вводили путем добавления к стандартному пищевому рациону в дозе 0,1-0,2 г/кг ежедневно в течение месяца; раствор полифенольных соединений вводили крысам в дозе 10 мг/кг массы животного ежедневно в течение месяца за один прием перорально с помощью дозатора. Забой животных проводили декапитацией в утреннее время по окончании месячного курса приема фитоминераль-

ных комплексов или спустя 48-72 ч после создания модели токсикоза. В каждой группе объектом исследования были подколенные лимфатические узлы.

Для светооптического исследования материал фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 24 ч, обезжизняли в серии спиртов возрастающей концентрации и заключали в парафин. С помощью санного микротомы готовили парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином Майера и эозином.

Морфометрию [1] проводили методом точечного счета с помощью стандартной сетки (256 точек). При наложении сетки подсчитывали количество точек (пересечений линий сетки) на всю измеряемую зону. В лимфатических узлах определяли площадь всего среза и отдельных структур: капсулы, коркового и мозгового вещества, синусов. Рассчитывали соотношение удельной площади коркового вещества к удельной площади мозгового вещества (индекс К/М), отношение площадей коркового плато к паракортикальной зоне (индекс К/П), отношение площади мятотных тяжей к площади мозговых синусов (индекс МТ/МС). На цитологических препаратах дифференцировали бласты, средние и малые лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги. Все полученные количественные данные обрабатывались методом вариационной статистики с определением средней арифметической, ее ошибки и доверительного интервала с надежностью $p = 95\%$. В таблицах приведены значения $M \pm m$, указана достоверность различий между показателями по t -критерию Стьюдента.

Результаты исследования

Моделирование состояния лимфовенозной недостаточности отражается на структуре подколенного лимфатического узла. Создание циркуляторного токсикоза путем перевязки бедренной вены и лимфатических сосудов, ее сопровождающих, ведет к нарушению венозного и лимфатического дренажа в области конечности и подколенного лимфатического узла. При этом в подколенном лимфатическом узле происходят стадийные изменения, описанные в литературе [6, 16]. В ответ на окклюзионный синдром общая площадь среза правого подколенного лимфоузла увеличилась в 1,2 раза. В структуре коркового вещества отмечено увеличение площади лимфоидных узелков в 1,4 раза. Объемы коркового плато, субкапсулярного и коркового синуса имеют тенденцию к относительному уменьшению по сравнению с контролем. Площадь мозгового вещества возрасла в 1,2 раза. До-