



ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 591.111:599.323.4:615:54-414

ОБЩИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАН

GENERAL MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF RAT BLOOD IN THE TREATMENT OF WOUND

**А.А. Шапошников¹, Ю.А. Косовский¹, Г.Н. Клочкова², У.А. Круть¹,
Е. А. Шенцева¹, Л.Р. Закирова¹**
**A.A. Shaposhnikov¹, Y.A. Kosovsky¹, G.N. Klochkova², U.A. Krut¹,
E.A. Shentseva¹, L.R. Zakirova¹**

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

²Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа
308007, Белгород, ул. Некрасова, д. 8/9

¹Belgorod National Research University
308015, Belgorod, Pobedy St., 85

²Belgorod regional clinical hospital of St Joasaph
308007, Belgorod, Nekrasov St., 8/9

e-mail: shaposhnikov@bsu.edu.ru

Ключевые слова: фитоминералсорбент, морфологический анализ, клетки крови, гнойные раны.
Key words: montmorillonite clay, phytomineralsorbent, morphological analysis, blood cells, purulent wound.

Резюме. Одним из перспективных терапевтических средств по лечению гнойных ран являются сорбционно- и биологически активные соединения. В данной статье рассматриваются результаты исследований терапевтического эффекта фитоминералсорбентов на модельно-инфицированные раны. Приведён анализ морфологических показателей крови крыс на третьей стадии ранозаживления.

Summary. One of the most perspective remedy is sorbtion and biological active substance in the treatment of purulent wound. In the review there are results of the research therapeutic effect of phytomineralsorbents on the purulent wounds. The morphological analysis of the rat blood is presented on third stage of wound heling.

Введение

Лечение ран является преимущественно комплексным и включает использование хирургических, консервативных методов и лекарственных средств, которые направлены на подавление и ликвидацию патогенных возбудителей, дезинтоксикацию и коррекцию нарушений гомеостаза, общую стимуляцию организма и повышение его защитных сил [Луцевич, 2011; Галимзянов, 2012; Loc-Carrillo et al., 2012].

Основным недостатком многих известных лекарственных средств является высокая стоимость и недостаточная антибактериальная активность. При этом у возбудителей раневой инфекции часто развивается резистентность к антибактериальным средствам, что приводит к нарушению микроэкологии в ране [Галимзянов, 2012]. Исследования показали, что сорбенты могут использоваться как кровеостанавливающие гемостатики, принципом действия которых является: насыпать, накрыть, прижать; а также как дренирующее средство, помогающее очистить рану от гнойно-некротического секвестра. При попадании гранул сорбента в рану создаётся сгусток крови - «тромб», который легко удаляется при помощи салфетки, при этом естественный процесс свёртывания не нарушается. [Буханов и др., 2013].

В своем исследовании мы использовали фитоминералсорбенты (ФМС) на основе монтмориллонит содержащей глины (МСГ) и экстрактов лекарственных растений [Патент РФ № 2471549., 2013].



Многие растения широко известны своими лечебными, в частности антисептическими, свойствами. Ранее исследователями были доказаны антисептические свойства экстрактов растений, в том числе ромашки, календулы и чабреца [Володина и др, 2012; Башкатов и др, 2014; Ушанова и др, 2001; Gessner, 2009]. Данные растения произрастают в Белгородской области и являются легкодоступным сырьём для получения ФМС. Также нами были проведены исследования *in vitro*, в ходе которых было доказано, что ФМС обладают антимикробной активностью [Буханов и др., 2014], способностью поглощать биологические жидкости [Везенцев и др., 2011], что позволяет использовать их как профилактическое средство при ожогах и трофических язвах.

Цель работы

Изучить морфологические показатели крови у экспериментальных животных на третьей стадии процесса ранозаживления при использовании МСГ без фитосоставляющих и различных ФМС.

Материалы и методы

Опыт был выполнен на 30 самцах белых не линейных крыс линии Wistar с массой тела 190-200 г. Кожно-мышечные гнойные раны в межлопаточной области у животных моделировали нанесением штамма *Pseudomonas aeruginosa* под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг и золетил 150 мг/кг внутривенно). Определённый ФМС наносили на рану ежедневно в количестве 0,1 г. Все животные были разделены на пять групп: стандартный способ лечения (I), лечение ран МСГ (II), лечение ран ФМС с экстрактом календулы (III), лечение ран ФМС с экстрактом ромашки (IV), лечение ран ФМС с экстрактом чабреца (V). Крысам контрольной группы (I) производили перевязку ран без ФМС, гнойно-некротические ткани удаляли хирургическим путём, рану промывали 0.9% раствором хлорида натрия.

Забор крови для её морфологического анализа проводили на 15 и 22 сутки после нанесения модельной раны из хвостовой вены крыс в пробирки с антикоагулянтом ЭДТА.

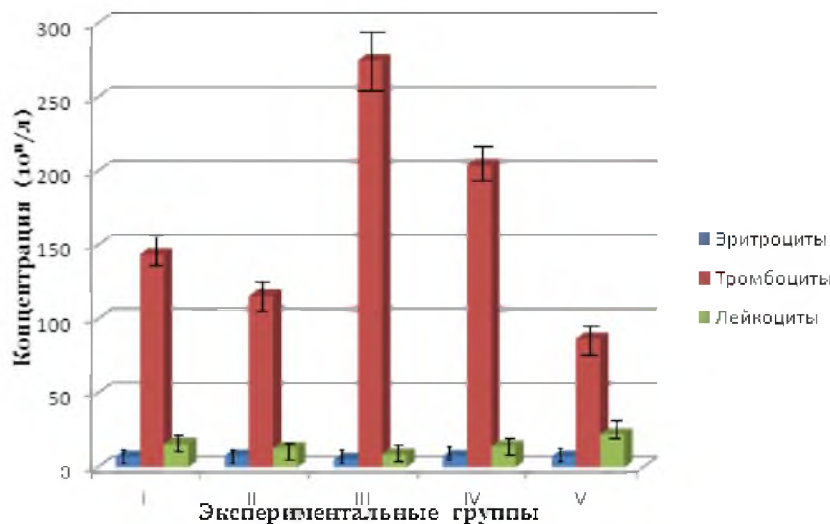
Исследования показателей крови проводили на гематологическом анализаторе Coulter LH-500 в сертифицированной лаборатории.

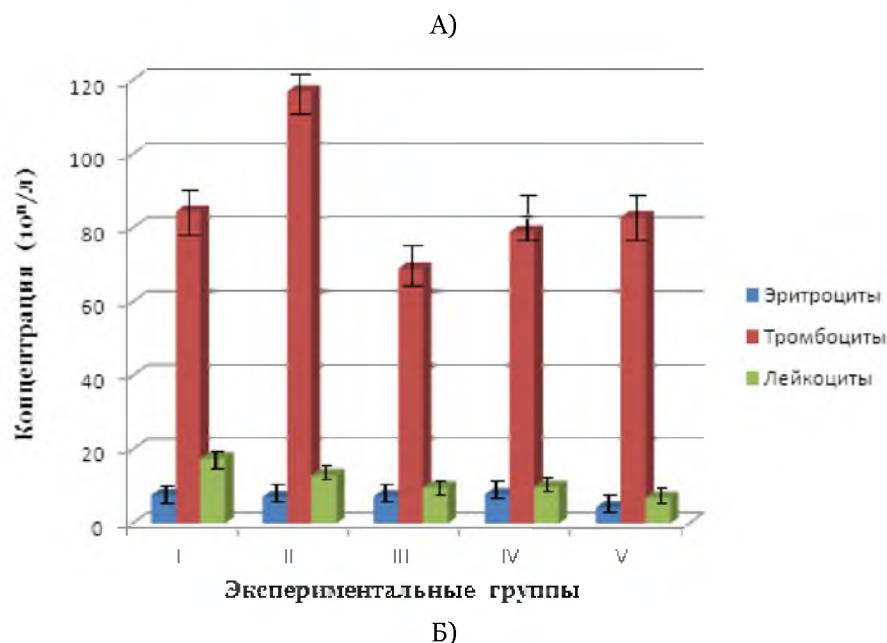
Статистический анализ результатов был произведен с помощью программного обеспечения MS Excel XP. Достоверность различий определяли по критерию t-Стьюдента. Уровень значимости $p < 0.05$ принимался за достоверный.

Результаты и их обсуждение

Морфологический анализ крови является признанным информативным тестом, отражающим общее состояние живогных, позволяет судить и об иммунологической реактивности организма [Бахтурин, 2006].

Изучение реакции системы красной крови экспериментальных живогных показало, что уровень эритроцитов в крови животных III и V групп опыта находились в пределах физиологической нормы. Интерес вызывает понижение концентрации эритроцитов у крыс III группы на 24% (15-е сутки) и в V группе на 42.5% (22-е сутки) по сравнению с животными контрольной группы.





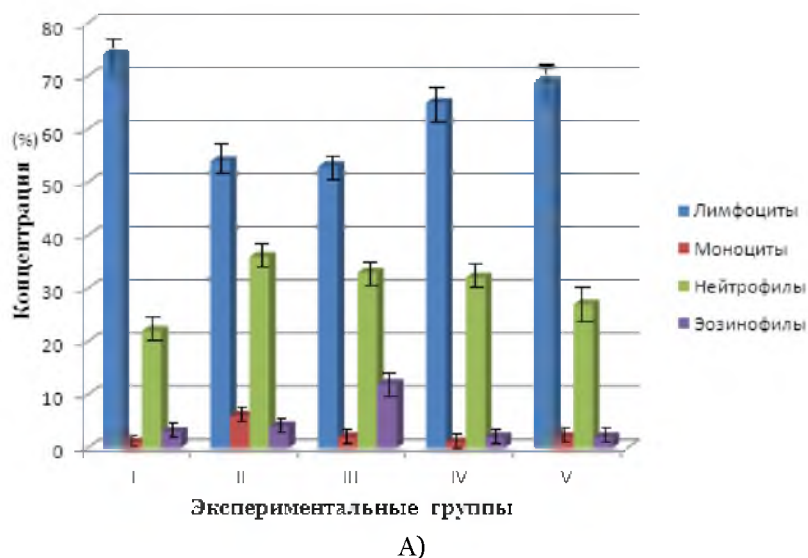
Б)

Рис. 1. Концентрация форменных элементов в крови крыс на 15 (А) и 22 (Б) сутки после нанесения раны (n=6)
 Fig.1. The concentration of formed elements in the blood of rats at 15 (A) and 22 (B) days after wounding (n = 6)

Содержание тромбоцитов на 15 сутки после нанесения модельной раны у животных III и IV групп значительно превышало их уровень в контрольной группе (на 91 и 41.6% соответственно), а у крыс II и V групп было ниже, чем у контрольных животных на 19.4 и 39.6% (рис. 1). На 22 сутки концентрация тромбоцитов в крови крыс II группы была выше на 38.5, а в III и IV группах достоверно ниже на 18.3 и 6.5% соответственно, чем в группе животных со стандартным лечением. Также, наблюдали статистически достоверное снижение числа тромбоцитов у экспериментальных животных III-V групп на 22 сутки, в сравнении с 15-ми, что предполагает прекращение кровопотерь.

Лейкоциты играют главную роль в специфической и неспецифической защите организма от внешних и внутренних патогенных агентов, а также в реализации типичных патологических процессов. Концентрация лейкоцитов в крови крыс на 15 сутки после нанесения модельной раны II и III групп была ниже на 16.6 и 44.9%, а V группы – выше на 42,3%, по сравнению с контролем.

Использование для лечения модельных ран МСГ и ФМС обеспечило снижение количества лейкоцитов в крови крыс при комбинации сорбента с биологически активными компонентами лекарственных растений.



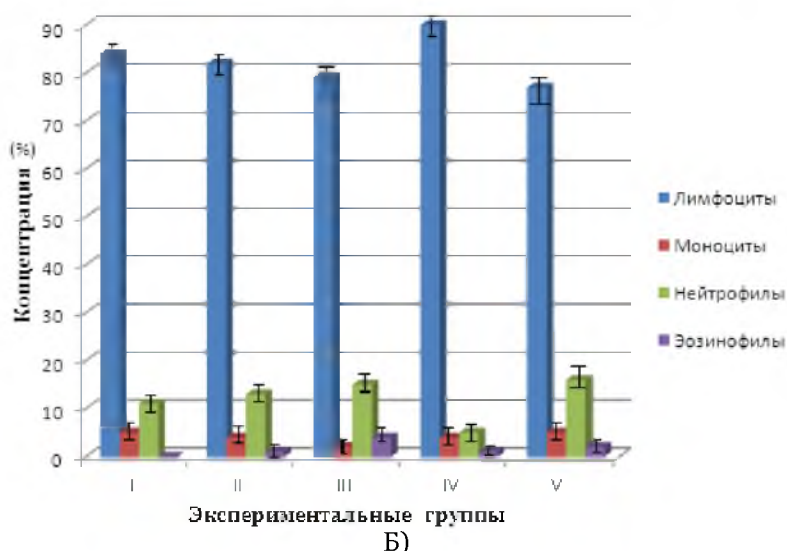


Рис. 2. Лейкограмма крови крыс на 15 (А) и 22 (Б) сутки после нанесения раны (n=6)

Fig.2. Leukogram Rat Blood 15 (A) and 22 (B) days after wounding (n = 6)

Данное обстоятельство даёт основание говорить о лучшем терапевтическом эффекте при лечении ран ФМС, в состав которых входили экстракты чабреца, ромашки и календулы.

В клинической практике исследование морфологического состава и определение лейкоцитарной формулы – процентное соотношение между лимфоцитами, моноцитами, нейтрофилами и эозинофилами – имеет большое значение.

Анализируя полученные данные, отмечаем снижение концентрации лимфоцитов в крови крыс II-V групп по сравнению с контрольными животными на 15-е и 22-е сутки.

Исследования крови крыс на 15-е и 22-е сутки после нанесения раневой поверхности без или с применением аппликаторов, обозначает общую биологическую закономерность восстановления израсходованного пула лимфоцитов к концу эксперимента с преимуществом ФМС в качестве ранозаживляющего средства.

Моноциты, как и нейтрофилы, кроме протеолитических ферментов выделяют, а также адсорбируют на своей поверхности и переносят вещества, обезвреживающие микроорганизмы.

Отмечены значительные колебания в содержании моноцитов: на 15-е сутки они были существенно и достоверно выше в крови крыс II группы по сравнению с контролем, а на 22-е сутки этот показатель у животных в III группе был в 2.5 раза ниже относительно животных группы со стандартным лечением.

Во II, III и IV группах опыта на 15-е сутки после нанесения модельной раны уровень нейтрофилов был выше на 64, 50 и 46% по сравнению с контрольными животными соответственно.

На 22-е сутки у крыс II, III и V групп концентрация нейтрофилов повысилась по сравнению с контрольными животными на 18, 36 и 45% соответственно.

Таким образом, мы наблюдали снижение уровня нейтрофилов на 22-е сутки относительно 15-ти суточного периода после нанесения модельной раны. Данной обстоятельство может свидетельствовать об окончании воспалительного процесса.

Эозинофилы переносят продукты распада белков и полипептидов, участвуют в процессе тканевой регенерации, в окислительно-восстановительных реакциях [Ушанова и др., 2001], отражают степень выраженности аллергических реакций, в том числе воспалительных процессов. Наиболее значимое влияние на увеличение концентрации эозинофилов получено в первые две недели опыта у животных III группы.

Выводы

1. Использование ФМС в качестве ранозаживляющего средства, сдерживало развитие воспалительного процесса у животных в течение первых 15 суток после нанесения модельной раны.

2. Полученные экспериментальные данные позволяют говорить о снижении и прекращении кровопотерь, существенном снижении интенсивности воспалительного процесса, что свидетельствует о лучшем терапевтическом эффекте при лечении ран ФМС по сравнению со стандартным способом.



3. Из трёх вариантов ФМС лучшие результаты получены при включении в его состав экстракта чабреца.

Литература

- Луцевич О.Э. 2011 Современный взгляд на патофизиологию и лечение гнойных ран. Хирургия, 5: 72 – 77.
- Галимзянов Ф.В. 2012 Лечение инфицированных ран и раневой инфекции. Екатеринбург, УГМА, 88.
- Буханов В.Д., Везенцев А.И., Пономарева Н.Ф., Козубова Л.А., Королькова С.В., Воловичева Н.А., Перистый В.А. 2011 Антибактериальные свойства монтмориллонит содержащих сорбентов Научные ведомости БелГУ Серия: Естественные науки, 21 (116): 57-63.
- Буханов В.Д., Везенцев А.И., Козубова Л.А., Королькова С.В., Воловичева Н.А., Скворцов В.Н., Фролов Г.Ф., Панина А.В., Сафонова А.Н. 2013. Сорбент.: Патент РФ № 2471549.
- Володина Т.А. 2012 Исследование репаративных свойств фитогеля, содержащего экстракты чабреца и солодки, Фармацевтические науки, (11): 472-477.
- Башкатов С.А., Новосёлова Е.И. 2014 Биологическая активность водных экстрактов ромашки, малины, корневищ солодки и их сочетаний. Вестник Башкирского университета. Серия: Биология, 19 (4): 1212-1215.
- Ушанова В.М., Воронин В.М. 2001 Исследование влияния компонентов растительного сырья на состав получаемых растений. Химия растительного сырья, (3): 105-110.
- Буханов В. Д., Везенцев А.И., Нгуен Хоай Тъяу, Шапошников А.А., Панькова О.Н., Соколовский П.В., Козубова Л.А., Жеребенко С.В. 2014 Влияние концентрации монтмориллонит содержащего сорбента и pH питательной среды на чувствительность Escherichia coli к антибактериальным препаратам. Научные ведомости БелГУ Серия: Медицина фармация, 11 (182): 181 – 186.
- Везенцев А.И., Буханов В.Д., Перистый В.А. 2011 Технология получения антибактериального препарата на основе монтмориллонитсодержащей глины и его ингибирующая активность по отношению к патогенным микроорганизмам. Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки, 10(153): 279-283.
- Бахтурин А.Я. 2006 Клинико-морфологические изменения в регенеративных процессах инфицированных ран у собак. Современные проблемы ветеринарной медицины и животноводства: Сб. научн. трудов Курской ГСХА: 8-10.
- Loc-Carrillo C., Wu, J.P. Beck 2012 Phage therapy of wounds and related purulent infections Bacteriophages in Health and Disease: 185-202.
- Gessner Andre 2009 Opportunities of plant extracts Nature Medicine (6): 38-42.

Literature

- Lucevich O.Je. 2011 Sovremennyj vzgljad na patofiziologiju i lechenie gnojnyh ran. Hirurgija, 5: 72 – 77 (in Russian).
- Galimzjanov F.V. 2012 Lechenie inficirovannyh ran i ranevoj infekcii. Ekaterinburg, UGMA, 88 (in Russian).
- Buhanov V.D. Vezencev A.I., Ponomareva N.F., Kozubova L.A., Korol'kova S.V., Volovicheva N.A., Peristyj V.A. 2011 Antibakterial'nye svojstva montmorillonit soderzhashhih sorbentov Nauchnye vedomosti BelGU Serija: Estestvennye nauki, 21 (116): 57-63 (in Russian).
- Buhanov V.D., Vezencev A.I., Kozubova L.A., Korol'kova S.V., Volovicheva N.A., Skvorcov V.N., Frolov G.F., Panina A.V., Safonova A.N. 2013. Sorbent.: Patent RF №2471549 (in Russian).
- Volodina T.A. 2012 Issledovanie reпаративnyh svojstv fitogelja, soderzhashhego jekstrakty chabreca i solodki, Farmaceuticheskie nauki, (11): 472-477 (in Russian).
- Bashkatov S.A., Novosjolova E.I. 2014 Biologicheskaja aktivnost' vodnyh jekstraktov romashki, maliny, kornevishh solodki i ih sochetanij. Vestnik Bashkirskogo universiteta. Serija: Biologija, 19 (4): 1212-1215 (in Russian).
- Ushanova V.M., Voronin V.M. 2001 Issledovanie vlijanija komponentov rastitel'nogo syr'ja na sostav poluchaemyh rastenij. Himija rastitel'nogo syr'ja, (3): 105-110 (in Russian).
- Buhanov V. D., Vezencev A.I., Nguen Hoaj T'jau, Shaposhnikov A.A., Pan'kova O.N., Sokolov-skij P.V., Kozubova L.A., Zherebenko S.V. 2014 Vlijanie koncentracii montmorillonit soderzhashhego sorbenta i rh pitatel'noj sredy na chuvstvitel'nost' Escherichia coli k antibakterial'nym preparata-tam. Nauchnye vedomosti BelGU Serija: Medicina farmacija, 11 (182): 181 – 186 (in Russian).
- Vezencev A.I., Buhanov V.D., Peristyj V.A. 2011 Tehnologija poluchenija antibakterial'nogo preparata na osnove montmorilontsoderzhashhej gliny i ego ingibirujushhaja aktivnost' po otnosheniju k patogennym mikroorganizmam. Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Estestvennye nauki, 10(153): 279-283 (in Russian).
- Bahturin A.Ja 2006 Kliniko-morfologicheskie izmenenija v regenerativnyh processah infi-cirovannyh ran u sobak. Sovremennye problemy veterinarnoj mediciny i zhivotnovodstva: Sb. nauchn. trudov Kurskoj GSHA: 8-10 (in Russian).
- Loc-Carrillo C., Wu, J.P. Beck 2012 Phage therapy of wounds and related purulent infections Bacteriophages in Health and Disease: 185-202.
- Gessner Andre 2009 Opportunities of plant extracts Nature Medicine (6): 38-42.