



УДК 591.111:599.323.4:615:54-414

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КРЫС НА ТРЕТЬЕЙ СТАДИИ ПРОЦЕССА РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ФИТОМИНЕРАЛОСОРБЕНТАМИ

**В.Д. БУХАНОВ¹, А.А. ШАПОШНИКОВ¹
А.И. ВЕЗЕНЦЕВ¹, Г.Н. КЛОЧКОВА²
У.А. КРУТЬ¹, Д.П. ОХРИМЧУК¹**

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет

²ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа»

e-mail: bukhanov@bsu.edu.ru

Приведены результаты исследований эффективности терапевтического действия фитоминералосорбентов на модельно-инфицированные раны. Проведён сравнительный анализ биохимических и морфологических показателей крови крыс при лечении стандартным способом и фитоминералосорбентами.

Ключевые слова: фитоминералосорбент, гнойно-воспалительные раны, биохимический анализ, клетки крови.

Гнойные раны представляют серьёзную проблему для современной хирургии. Они имеют разную этиологию, широко распространены и сопровождаются различными осложнениями [1]. Наряду с медикаментозным лечением раны, используют препараты с сорбционными свойствами, которые способствуют повышению жизнестойкости тканей за счёт адсорбции продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, раневого содержимого и токсических продуктов тканевого распада за счёт капиллярного дренирования в поры сорбентов [2].

В своем исследовании мы использовали монтмориллонит, содержащие глины (МСГ), которые обладают высокой адсорбционной способностью, обусловленной их трёхслойной структурой несовершенных кристаллов типа 2:1. Связь между пакетами слаба, межпакетное расстояние велико и в него могут внедряться молекулы воды или другие полярные молекулы, а также обменные катионы и анионы [3]. МСГ, модифицированные БАДами оказывают угнетающее воздействие на патогенную микрофлору, но, в отличие от классических лекарств, сама глина остаётся химически инертной, а, следовательно, безвредной для организма [4].

На основе монтмориллонит содержащей глины месторождения Белгородской области и экстрактов ромашки, календулы и чабреца были приготовлены сухие микродисперсные фитоминералосорбенты (ФМС), которые прошли широкий спектр физико-химических и микробиологических исследований, были испытаны в животноводстве и ветеринарии.

Данная работа посвящена оценке уместности лечения гнойной раны с помощью ФМС, для чего была рассмотрена именно третья стадия процесса ранозаживления, как финальная и позволяющая судить об эффективности метода.

Исходя из обозначенной цели, были поставлены следующие задачи:

Изучение биохимических и морфологических показателей крови у экспериментальных животных на третьей стадии процесса ранозаживления.

Проведение сравнительного анализа эффективности лечения гнойных ран у экспериментальных животных стандартным способом лечения, с помощью обогащенного сорбента, который представляет собой глину, обогащенную монтмориллонитом и ФМС.

Материалы и методы. Работа выполнена на 30 самцах крыс линии Wistar. Масса тела экспериментальных животных составляла 190-200 г. Гнойные раны у крыс вызывали штаммом *Pseudomonas aeruginosa*. На смоделированную кожно-мышечную рану в межлопаточной области наносили фиксированную заражающую дозу 2108 микробных тел. Все животные были разделены на пять групп: стандартный способ лечения (I), лечение ран обогащенным сорбентом (II), лечение ран ФМС с календулой (III), лечение ран ФМС с ромашкой (IV), лечение ран ФМС с чабрецом (V). В группах II – V на 2-е сутки в раневую поверхность вносили определённый сорбент в количестве 0,1 г.

Забор крови для общего и биохимического анализа проводили на 15 и 22 сутки после нанесения модельной раны из хвоста в пробирки с антикоагулянтом ЭДТА.

Исследования крови производили на автоматическом биохимическом анализаторе «Beckman Coulter Аи5800» и анализаторе гематологическом «Actdiff 2».



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. Защитные силы организма при травмах у животных зависят от функционального состояния клеточного и гуморального звеньев иммунной системы, соединительной ткани и многих других систем, работа которых направлена на борьбу с инфекцией раневого дефекта в тканях, интоксикацией и т.д. [5].

Биохимический анализ крови, приведённый в таблицах 1 и 2, является признанным информативным тестом, отражающим общее состояние животных, позволяет судить об иммунологической реактивности организма.

Таблица 1

Биохимические параметры крови у групп экспериментальных животных на 15 сутки после нанесения раны (n=3)

Условия опыта / Показатель	Стандартное лечение I группа	Лечение обогащенным сорбентом II группа	Лечение ФМС с календулой III группа	Лечение ФМС с ромашкой IV группа	Лечение ФМС с чабрецом V группа
Общий белок (г/л)	63,2±0,55	67,8±0,55*	63,1±0,56	56,9±0,63*	61,5±0,13*
Мочевина (ммоль/л)	5,9±0,77	4±0,77	4,4±0,56	2,9±0,55*	2,9±0,65*
Креатинин (моль/л)	36,7±0,58	46,6±0,63*	44,7±0,52*	38,5±0,46	24,9±0,7
Глюкоза (моль/л)	2,8±0,6	2,8±0,57	4,8±0,05*	3,2±0,77	2,4±0,68

Примечание: * – достоверные отличия от соответствующих показателей у животных со стандартным лечением, $p < 0,05$.

Таблица 2

Биохимические параметры крови у групп экспериментальных животных на 22 сутки после нанесения раны (n=3)

Условия опыта / Показатель	Стандартное лечение I группа	Лечение обогащенным сорбентом II группа	Лечение ФМС с календулой III группа	Лечение ФМС с ромашкой IV группа	Лечение ФМС с чабрецом V группа
Общий белок (г/л)	64,9±0,58	64,8±0,54 ⁰	56,7±0,57* ⁰	65,1±0,61 ⁰	60±0,55*
Мочевина (ммоль/л)	4,5±0,15	4,5±0,69	2,9±0,13*	3,7±0,13*	3,7±0,2*
Креатинин (мкмоль/л)	54,3±0,55	33,6±0,6* ⁰	30,4±0,21* ⁰	28,4±0,49* ⁰	27,3±0,25* ⁰
Глюкоза (ммоль/л)	7,9±0,6	5,4±0,55* ⁰	8,4±0,55 ⁰	6,2±0,25* ⁰	8,9±0,63 ⁰

Примечание: * – достоверные отличия от соответствующих показателей у животных со стандартным лечением, $p < 0,05$; ⁰ – достоверные отличия от соответствующих показателей у животных на 15 сутки после нанесения раны, $p < 0,05$.

На 15 сутки в группах крыс, леченных ФМС, показатель общего белка достоверно ниже относительно группы со стандартным лечением. На 22 сутки данный показатель у животных III и V группы достоверно ниже на 12,6 и 7,5%, чем у группы со стандартным лечением. Мы предполагаем, что такие изменения белка связаны с образованием новых тканей, образующих рубец.

Рассматривая показатели мочевины и креатинина, как факторы азотистого обмена, отметим, что данные показатели были достоверно ниже в группах с ФМС относительно группы крыс со стандартным лечением. На 15 сутки в IV и V группах крыс мочевина ниже на 50,8%, а на 22 сутки в этих группах наблюдается снижение на 17,7%.

Концентрация креатинина во II и III группах на 15 сутки было выше на 30% и 21,8%, чем в I группе. Однако, на 22 сутки данный показатель был ниже на 38% и 44% относительно I группы. В IV и V группах на эти же сутки показатель креатинина достоверно ниже на 47,7% и 49,7%, чем в I группе, т.е. на 22 сутки можно наблюдать общую тенденцию уменьшения уровня креатинина в крови у животных с лечением ФМС, что может указывать на нормализацию обмена веществ и снижение кровопотерь в данных группах.

Концентрация глюкозы в крови на 15 сутки в III группе достоверно выше на 71,4% относительно I группы. Низкое содержание глюкозы в группе со стандартным лечением может свидетельствовать о нарушениях функций печени и почек, что может быть связано с токсической нагрузкой, вызванной инфицированием. На 22 сутки содержание глюкозы в III группе выше на 6,3%, а IV группе ниже на 21,5% относительно показателя I группы. Также можем наблюдать к



22 суткам общую тенденцию увеличения концентрации глюкозы в крови как при стандартном лечении, так и при лечении ФМС.

На протяжении третьей стадии процесса ранозаживления нами также изучались морфологические показатели периферической крови крыс (табл. 3 и 4).

Таблица 3

Концентрация форменных элементов в крови крыс на 15 сут. после нанесения раны (n=3)

Условия опыта / Показатель	Стандартное лечение I группа	Лечение обогащенным сорбентом II группа	Лечение ФМС с календулой III группа	Лечение ФМС с ромашкой IV группа	Лечение ФМС с чабрецом V группа
Эритроциты (10 ¹² /л)	7,30±0,37	7,80±0,15	5,53±0,55*	7,40±0,62	7,30±0,40
Тромбоциты (10 ⁹ /л)	144,00±1,40	116,00±2,40*	275,00±1,40*	204,00±1,40*	87,00±2,40*
Лейкоциты (10 ⁹ /л)	15,60±0,63	13,00±0,55*	8,60±0,66*	14,10±0,71	22,20±1,4*
Лимфоциты (%)	74,00±2,40	54,00±3,70*	53,00±2,80*	65,00±2,40	69,00±1,40
Моноциты (%)	1,00±0,55	6,00±1,40*	2,00±1,40	1,00±0,55	2,00±1,40
Нейтрофилы (%)	22,00±2,80	36,00±3,70*	33,00±1,40*	32,00±1,40*	27,00±2,40
Эозинофилы (%)	3,00±1,40	4,00±1,4	12,00±2,80*	2,00±0,40	2,00±1,40

Примечание: * достоверные отличия от соответствующих показателей у животных со стандартным лечением, p<0,05.

Таблица 4

Концентрация форменных элементов в крови крыс на 22 сут. после нанесения раны (n=3)

Условия опыта / Показатель	Стандартное лечение I группа	Лечение обогащенным сорбентом II группа	Лечение ФМС с календулой III группа	Лечение ФМС с ромашкой IV группа	Лечение ФМС с чабрецом V группа
Эритроциты (10 ¹² /л)	7,70±0,37	7,20±0,45	7,40±0,55	7,90±0,66	4,43±0,66*
Тромбоциты (10 ⁹ /л)	84,50±0,79	117,00±0,71*	69,00±0,74* ^o	79,00±0,48* ^o	83,00±0,15 ^o
Лейкоциты (10 ⁹ /л)	17,60±0,4	13,10±0,55*	9,80±0,66*	9,90±0,15*	7,00±0,71*
Лимфоциты (%)	84,00±0,55	82,00±0,45* ^o	79,00±0,71* ^o	90,00±2,40 ^o	77,00±1,40* ^o
Моноциты (%)	5,00±0,50	4,00±1,40	2,00±0,71*	4,00±2,8	5,00±3,70
Нейтрофилы (%)	11,00±0,65	13,00±0,15* ^o	15,00±0,81* ^o	5,00±2,80 ^o	16,00±1,40* ^o
Эозинофилы (%)	-	1,00±0,35*	4,00±2,40*	1,00±0,25*	2,00±0,71*

Примечание: * – достоверные отличия от соответствующих показателей у животных со стандартным лечением, p<0,05; ^o – достоверные отличия от соответствующих показателей у животных на 15 сутки после нанесения раны, p<0,05.

Изучение реакции системы красной крови раненых животных показало, что уровень эритроцитов в крови животных опытных групп находился в пределах физиологической нормы. Однако, остаётся не ясным, почему на 15 сутки в III группе показатель эритроцитов ниже на 24%, а на 22 сутки в V группе данный показатель ниже на 42,5% в сравнении с I группой.

Наблюдалось общее достоверное понижение числа тромбоцитов во всех группах крыс на 22 сутки (за исключением II), в сравнении с 15 сутками, что может указывать на 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. Общее количество лейкоцитов у экспериментальных животных на 15 сутки во II и III группах ниже на 16,6% и 44,9%, а в V группе выше на 42,3%, чем в I группе. На 22 сутки во всех опытных группах наблюдалось низкое содержание количества лейкоцитов от 25% до 60% по сравнению с группой со стандартным лечением. Также необходимо отметить, что в группах крыс с лечением ФМС общее количество лейкоцитов ниже, чем в группе II, что может свидетельствовать о лучшем терапевтическом эффекте при лечении ран ФМС.

В клинической практике исследование морфологического состава и определение лейкоцитарной формулы имеет большое значение. Лейкограмма определяется как процентное соотношение между различными формами лейкоцитов крови.

Анализируя данные по содержанию лимфоцитов можно отметить их снижение во всех опытных группах животных относительно I группы. Достоверные различия на 15 сутки во II и III группах составили 27 и 28,4%. На 22 сутки во II, III и V группах показатели лимфоцитов были достоверно ниже на 2,4%, 6% и 8,3% соответственно.

Необходимо отметить, что на 22 сутки у крыс наблюдалось достоверное повышение лимфоцитов относительно 15 суток, что может указывать на восстановление израсходованного пула лимфоцитов к концу эксперимента.



Моноциты и нейтрофилы, кроме протеолитических ферментов выделяют, адсорбируют на своей поверхности и переносят вещества, обезвреживающие микробы. Во II группе крыс на 15 сутки содержание моноцитов достоверно превышало в 6 раз показатель I группы, на 22 сутки в III группе показатель был достоверно ниже в 2,5 раза относительно группы животных со стандартным лечением.

Во II, III и IV экспериментальных группах на 15 сутки уровень нейтрофилов был выше на 63,6%, 50% и 45,5%, на 22 сутки во II, III и V группах показатель повысился на 18,2%, 36,4% и 45%. Следует отметить, общее снижение уровня нейтрофилов на 22 сутки относительно 15 суток, что может говорить об окончании воспалительного процесса.

Эозинофилы переносят продукты распада белков, участвуют в процессе тканевой регенерации и в окислительных процессах [6]. На 15 сутки в III группе крыс показатель $12,00 \pm 2,80$ превышал в 4 раза количество эозинофилов в I группе животных. На 22 сутки показатель эозинофилов находился пределах физиологической нормы во всех опытных группах, что коррелируется с показателями мочевины и креатинина на данном этапе процесса ранозаживления.

Таким образом, в ходе эксперимента было показано преимущество лечения гнойных ран с помощью ФМС.

Выводы:

1. Доказано, что на 15 сутки концентрация глюкозы в крови в группе с ФМС (III группа) достоверно выше на 71,4% относительно I группы. Такое низкое содержание глюкозы в группе со стандартным лечением может свидетельствовать о нарушениях функций печени и почек, что может быть связано с токсической нагрузкой, вызванной инфицированием.

2. Установлено, что к 22 суткам в группах с ФМС (III и IV группы) наблюдалось достоверное понижение количества тромбоцитов на 18,3% и 6,5%, что указывает на прекращение кровопотерь.

3. Экспериментально выявлено, что на 22 сутки во всех опытных группах наблюдается низкое содержание количества лейкоцитов от 25% до 60% по сравнению с группой со стандартным лечением. А в группах с лечением ФМС общее количество лейкоцитов ниже, чем в группе II, что может свидетельствовать о лучшем терапевтическом эффекте при лечении ран ФМС.

НИР проведена в рамках реализации гранта РФФИ № 12-04-97584-р_центр_а.

Литература

1. Луцевич, О.Э. Современный взгляд на патофизиологию и лечение гнойных ран / О.Э. Луцевич, О.Б. Тамразова, А.Ю. Шикунова, А.С. Плешков, Г.И. Исмаилов, Ю.В. Воротилов, П.И. Толстых // Хирургия. - 2011. - №5. - С.72-77.
2. Блатун Л.А. Местное медикаментозное лечение ран. Проблемы и новые возможности их решения / Л.А. Блатун // Consilium Medicum - 2007. - Т.9, №1. - С. 9-16.
3. Везентцев А.И. Технология получения антибактериального препарата на основе монтмориллонтодержавшей глины и его ингибирующая активность по отношению к патогенным микроорганизмам / А.И. Везентцев, В.Д. Буханов, В.А. Перистый и др. - Белгород.: БелГУ. - С. 279-283.
4. Шапошников А.А. Способ приготовления фитоминералосорбентов и физиолого-биохимическая оценка их использования в животноводстве и ветеринарии / А.А. Шапошников, В.Д. Буханов, В.Ю. Ковалёва // Научные ведомости БелГУ - Белгород, 2003 - С.184-189.
5. Медведев, Н.П. Нарушение гомеостаза у хирургически больных и возможности их коррекции / Н.П. Медведев, Г.А. Билич. - Казань, 1982. - 272 с.
6. Бахтурин, А.Я. Клинико-морфологические изменения в регенеративных процессах инфицированных ран у собак / А.Я. Бахтурин, Г.А. Колганова, Т.М. Емельянова, О.В. Карпухно // Современные проблемы ветеринарной медицины и животноводства: Сб. научн. трудов Курской ГСХА. - Курск, 2006. - С. 8-10.

COMPARATIVE ANALYSIS OF BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF BLOOD OF RATS AT THE THIRD STAGE OF THE WOUND HEALING PROCESS WITH THE AID OF FITOMINERALOSORBENT

**V.D. BUKHANOV¹, A.A. SHAPOSHNIKOV¹
A.I. VEZENTSEV¹, G.N. KLOCHKOVA²
U.A. KRUT¹, D.P. OKHRIMCHUK¹**

¹Belgorod National Research University

²Belgorod Regional Hospital of St. Joasaph
e-mail: bukhanov@bsu.edu.ru

The results of studies on the efficacy of therapeutic action of fitomineralosorbent on the model-infected wounds. A comparative analysis of the biochemical and morphological parameters of rat blood in the treatment of the standard method and fitomineralosorbent.

Keywords: fitomineralosorbent, wound, biochemical analysis, blood cells.