

УДК 616-001.17-08:615.322.035.4]-092.6:612.112.91

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИЦИДНЫХ СИСТЕМ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ЛЕЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖОГОВЫХ РАН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ 5 % ГЕЛЯ ПЕКТИНА В КОМПЛЕКСЕ С АМИНОФТАЛГИДРАЗИДОМ

¹Хуранов А.А., ¹Евглевский А.А., ²Павленко С.Г.¹ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар, e-mail: aues757757@yandex.ru;²НОЧУ ВПО «Кубанский медицинский институт» Минобразования и науки России, Краснодар, e-mail: drpaulson@mail.ru

Проведена оценка состояния микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов периферической крови и раневого экссудата на модели экспериментальной ожоговой раны у 20 крыс в сроки на 3-и, 5-е, 7-е и 10-е сутки после отторжения ожогового струпа. В основной группе лечение ран проведено 5%-м гелем пектина с аминоталгидразидом. Отмечено, что в основной группе животных содержание катионного белка гранулоцитов периферической крови с третьих суток достигло уровня 87% от исходного и 71% от уровня контроля ($P < 0,01$). Катионный белок гранулоцитов раневого экссудата в основной группе к третьим суткам снизился до уровня $1,11 \pm 0,12$ усл. ед. ($P < 0,01$). Уровень миелопероксидазы гранулоцитов периферической крови на третьи сутки снизился на 18% ($P < 0,05$) по отношению к исходному уровню и на 31% ($P < 0,01$) по отношению к контролю. Колебания уровней миелопероксидазы гранулоцитов раневого экссудата статистически значимы не были.

Ключевые слова: крысы, экспериментальная ожоговая рана, 5%-й гель пектина, аминоталгидразид, раневой экссудат, катионный белок, миелопероксидаза

FEATURES OF THE MICROBICIDAL SYSTEMS OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN THE TREATMENT OF EXPERIMENTAL BURN WOUNDS USING A 5 % GEL PECTIN COMPLEX WITH AMINOPHTALGIDRAZID

¹Huranov A.A., ¹Evglevsky A.A., ²Pavlenko S.G.¹State budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Kuban state medical university», Krasnodar, e-mail: aues757757@yandex.ru;²Private Educational Institution of Higher Professional Education «Kuban medical Institution», Krasnodar, e-mail: drpaulson@mail.ru

Evaluation of the state of microbicidal systems of neutrophilic granulocytes in peripheral blood and wound exudate on the experimental model of burn wounds in 20 rats in terms on the third, 5th, 7th and 10th day after the rejection of burn eschar. In the study group treated wounds were 5% pectin gel with aminophthalgildrazid. It was noted that in the basic group of animals cationic protein content of peripheral blood granulocytes on the third day reached a level of 87% of baseline and 71% of control levels ($P < 0,01$). Cationic protein granulocyte wound exudate in the study group on the third day fell to $1,11 \pm 0,12$ conv. u ($P < 0,01$). Myeloperoxidase levels in peripheral blood granulocytes on the third day dropped by 18% decreased ($p < 0,05$) with respect to its initial level and 31% ($P < 0,01$) compared to control. Fluctuations in the level of myeloperoxidase granulocytes wound exudate were not statistically significant.

Keywords: rats, experimental burn wound, 5% gel pectin, aminophthalgildrazid, wound exudates, cationic protein, myeloperoxidase

Ожоговые раны в настоящее время являются проблемой здравоохранения как часто встречающиеся и имеющие отягчающий характер при комбинированной травме (Будкевич Л.И. и соавт., 2013). При лечении ожогов применяется комплексная терапия, включающая использование антибиотиков и местных перевязочных средств. Массированное применение антибиотиков привело к возникновению антибиотикорезистентной микрофлоры, что затрудняет лечение ран (Lansdown A.B.G., 2007). Побочным эффектом антибиотикотерапии является воздействие на иммунную систему, что приводит к хронизации инфекции или ее рецидивированию, в свою очередь это дик-

тует необходимость использования средств иммуноориентированной терапии (Булыгин Г.В. и соавт., 2010). Для местного лечения ожоговых ран предложено множество раневых покрытий и различных препаратов, среди них хорошо зарекомендовал себя обогащенный цеолит в сочетании с иммунным препаратом ронколейкин (Паничев А.М. и соавт., 2004; Крюкова В.В., 2005). В настоящее время предпочтение в лечении ран различного генеза отдается биологическим покрытиям (Guthrie K.M., et al. 2012), среди которых в эксперименте и клинике успешно используется препарат Пепидол-ПЭГ, представляющий собой 3%-й раствор пектина (Чумаков П.А., 2006).

Контроль за течением раневого процесса осуществляется исследованием раневого экссудата как одного из важных элементов течения раневого процесса и, по мнению авторов, являющегося недостаточно используемым ресурсом (Widgerow A.D. et al., 2014). Клеточный состав экссудата и цитохимическая характеристика его компонентов отражают интегральную динамику гнойного воспаления и могут быть использованы для контроля за его течением. Не менее важным критерием для оценки тяжести раневого процесса является состояние микроцидных систем периферической крови, в частности, ее неспецифического звена в виде системы нейтрофильных гранулоцитов, которые, мигрируя в ткани, принимают непосредственное участие в «килинге» бактерий, а также выполняют сложные регуляторные функции на клеточном и тканевом уровне. Значимость данной проблемы существенно возрастает в условиях лечения ожоговых ран.

Материалом для нашего исследования послужили мазки венозной крови и отпечатки раневого экссудата, полученные от 20 крыс-самцов линии «Вистар» весом 180–200 г, у которых в области мягких тканей спины создавалась модель ожоговой раны глубиной IIIA степени. Лечение ожоговой раны после отторжения ожогового струпа выполнялось 5%-м гелем свекловичного пектина с аминофталгидразидом. Группу сравнения составили также 20 крыс-самцов линии «Вистар» весом 180–200 г, которым после отторжения струпа рану лечили мазью левомеколь. В цитоплазме нейтрофильных гранулоцитов определяли содержание катионного белка по В.М. Пигаревскому (1979) и активность миелопероксидазы по Sato и Sekla в модификации И.В. Нестеровой (1996). Учет результатов осуществляли полуколичественным методом Астальди и Верга (1957). Результаты обрабатывали методами вариационной статистики на ЭВМ с помощью программы «Статистика 6».

Исследование содержания катионного белка в цитоплазме нейтрофильных гранулоцитов периферической крови экспериментальных животных до создания модели ожоговой раны показало, что оно колеблется от 2,04 до 2,4 усл. ед., составляя в среднем $2,22 \pm 0,18$ усл. ед.

Содержание катионного белка в нейтрофильных гранулоцитах периферической крови животных с моделью ожоговой раны в первые сутки лечения было несколько снижено по сравнению с аналогичными данными, характерными для животных контрольной группы. При этом оно составило в группе сравнения $1,87 \pm 0,13$ усл.

ед. и $1,78 \pm 0,14$ усл. ед. у животных, леченых с использованием 5%-го геля пектина в комплексе с аминофталгидразидом. Следует отметить, что эти показатели не имели статистически значимых отличий, как между собой, так и по сравнению с нейтрофильными гранулоцитами здоровых животных ($P > 0,05$).

Через трое суток после отторжения струпа и появления выраженных гнойно-воспалительных проявлений содержание катионного белка у контрольных животных составило 87% от исходного уровня и 71% от уровня контроля, при этом отличие от контроля являлось статистически значимым ($P < 0,01$).

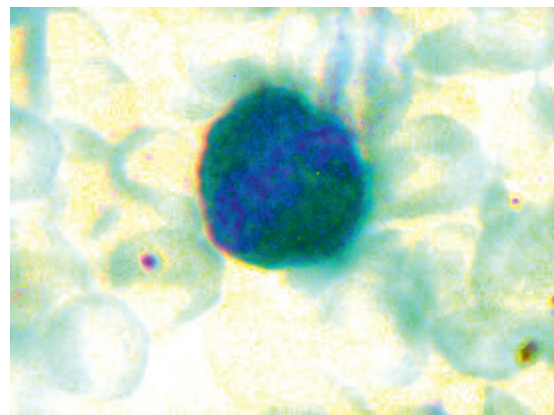


Рис. 1. Типичное распределение катионного белка в цитоплазме НГ (окраска по Пигаревскому. 100х10)

При использовании 5%-го геля пектина в комплексе с аминофталгидразидом снижение содержания катионного белка было более существенным. Так, по сравнению с контролем его содержание составило 42% ($P < 0,001$), а по сравнению с исходным уровнем его количество снизилось до 72% ($P < 0,01$).

На пятые сутки лечения содержание катионного белка нейтрофилов периферической крови в контрольной группе практически вернулось к исходному уровню и составило $1,79 \pm 0,16$ усл. ед. В условиях применения 5%-го геля пектина в комплексе с аминофталгидразидом содержание катионного белка нейтрофилов продолжало оставаться пониженным, как относительно контроля, так и относительно исходного уровня, хотя и несколько возросло относительно предыдущего срока исследования.

На десятые сутки лечения наблюдался рост содержания катионного белка нейтрофильных гранулоцитов периферической крови, который в контрольной группе практически достиг уровня контроля, а при

использовании 5%-го геля пектина в комплексе с аминофталгидразидом оставалось лишь незначительно сниженным.

Аналогичное исследование, проведенное в отношении нейтрофильных гранулоцитов раневого экссудата, показало, что в первые сутки после отторжения ожогового струпа в экспериментальной ране лабораторных животных содержание катионного белка нейтрофильных лейкоцитов контрольной группы составило $1,66 \pm 0,14$ усл. ед., к концу третьих суток оно умеренно снизилось до уровня $1,41 \pm 0,14$ усл. ед., а к седьмым суткам оказалось на уровне $1,33 \pm 0,13$ усл. ед. Отсутствие достаточного числа нейтрофильных гранулоцитов в экссудате, полученном из раны на 10-е сутки, не позволило проследить дальнейшую динамику содержания катионного белка.

У животных, получавших лечение с использованием 5%-го геля пектина в комплексе с аминофталгидразидом, содержание катионного белка нейтрофильных гранулоцитов раневого экссудата в первые сутки после начала лечения составило $1,46 \pm 0,12$ усл. ед., к третьим суткам оно достоверно снизилось до уровня $1,11 \pm 0,12$ усл. ед. ($P < 0,05$), а к седьмым суткам от начала эксперимента содержание катионного белка практически не изменилось.

Анализ уровня активности миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов периферической крови экспериментальных животных до создания модели ожоговой раны показал, что она регистрируется в пределах от 1,9 усл. ед. до 2,26 усл. ед., составляя в среднем $2,03 \pm 0,13$ усл. ед. В цитоплазме нейтрофильных гранулоцитов животных контрольной группы с моделью ожоговой раны в первые сутки после отторжения струпа средняя активность миелопероксидазы составляла $2,45 \pm 0,19$ усл. ед., что на 21 % превышало аналогичные значения, характерные для контрольной группы животных. Следует отметить, что данное увеличение не являлось статистически значимым ($P > 0,05$). В группе лабораторных животных, получавших лечение с использованием 5%-го геля пектина в комплексе с аминофталгидразидом, уровень активности миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов в первые сутки после отторжения ожогового струпа практически не отличался от зарегистрированного для животных контрольной группы и равнялся в среднем $2,22 \pm 0,15$ усл. ед. ($P > 0,05$).

Через трое суток после отторжения ожогового струпа у животных контрольной группы активность миелопероксидазы снизилась на 18 % по отношению к уровню

активности данного фермента, характерного для здоровых животных, и на 31 % по отношению к исходному уровню. В обоих случаях данное снижение являлось статистически значимым ($P < 0,05$ и $P < 0,001$ соответственно). Животные, леченные с использованием 5%-го геля пектина в комплексе с аминофталгидразидом, обнаружили аналогичную динамику активности миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов. Ее уровень снизился на 24 % по отношению к контролю и на 31 % – по отношению к исходному уровню ($P < 0,01$ и $P < 0,001$ соответственно). В дальнейшем в обеих группах обследованных животных наблюдался постепенный рост активности миелопероксидазы нейтрофильных лейкоцитов, который к седьмым суткам лечения достиг значений, практически не отличающихся от значений, характерных для здоровых животных.

Нейтрофильные гранулоциты экссудата в обеих группах лабораторных животных обнаружили динамику активности миелопероксидазы, характеризующуюся тенденцией к постепенному снижению при весьма низком ее исходном уровне. Следует отметить, что статистически значимых различий в активности миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов экссудата как между группами лабораторных животных, так и между сроками исследования, зарегистрировано не было ($P > 0,05$).

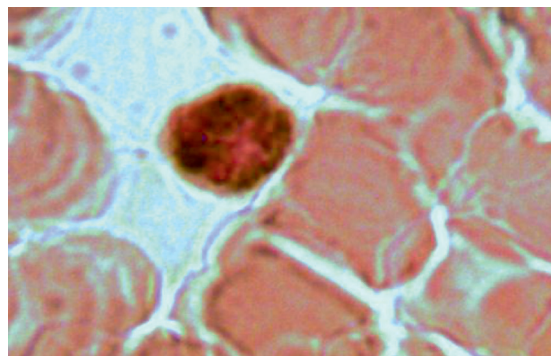


Рис. 2. Типичное распределение миелопероксидазы в цитоплазме НГ (окраска по Сато 100х10)

Таким образом, цитохимические исследования кислородзависимой и кислород-независимой микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов периферической крови и раневого экссудата экспериментальных ожоговых ран позволяют строго количественно оценить биологическую активность этих клеток и послужить основой для разработки методов диагностики и контроля за течением раневого процесса. При-

менение 5%-го геля пектина в комплексе с аминоксидгидразидом при лечении экспериментальной ожоговой раны создает условия для активации неспецифического звена иммунной системы и оказывает благоприятное влияние на течение раневого процесса.

Список литературы

1. Барабой В.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. — К.: Черныбылнтеринформ, 1997. — 422 с.
2. Будкевич Л.И. Оценка эффективности применения новых первязочных средств у детей с ожоговыми ранами / Л.И. Будкевич, В.В. Сошкина, Т.С. Астамирова, Т.А. Королева // Хирургия, 2013. — № 6. — С. 65–68.
3. Булыгин Г.В. Возможности повышения эффективности терапии ожоговой хирургической инфекции / Г.В. Булыгин, Н.И. Камзалакова, Ю.Р. Солончук // Хирургия, 2010. — № 5. — С. 65–71.
4. Казимирко В.К. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В.К. Казимирко, В.И. Мальцев, В.Ю. Бутылин, Н.И. Горобец. — К.: Морион, 2004. — 159 с.
5. Кремнева Л.В. Нарушения функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов при гиперлипидемии у больных ИБС и возможность их коррекции фенофибратом / Л.В. Кремнева, О.В. Абатурова, С.В. Шалаев // Кардиология. — 1998. — Т. 38, № 5. — С. 42–44.
6. Крюкова В.В. Патогенетическое обоснование Сорбционно-аппликационной терапии гнойных ран : дис. канд. мед. наук: 14.00.16, 14.00.27 / Крюкова Виктория Викторовна. — Чита, 2005. — 151 с.
7. Маянский А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. Новосибирск.: Наука, 1983. — 256 с.
8. Нестерова И.В. Комплексное трехуровневое исследование системы нейтрофильных гранулоцитов с возможной диагностикой ИДС при различной патологии / И.В. Нестерова, Н. В. Колесникова, Г.А. Чудилова // Метод. рекомендации. — Краснодар, 1996.
9. Пигаревский В.Е. Лизосомально-катионный тест: Метод. Рекомендации / В.Е. Пигаревский — М., 1979, дело 1982; 5: 263–265.16.
10. Чумаков П.А. Применение препаратов пектина в комплексном лечении гнойных заболеваний мягких тканей: дис. канд. мед. наук: 14.00.27 / Павел Александрович Чумаков. — Омск, 2006. — 120 с.
11. Паничев А.М. Цеолиты в хирургии / А.М. Паничев, Н.И. Богомолов, Н.П. Богатова и др. — Владивосток: Изд-во ДВГТУ, 2004. — 120 с.
12. Astaldi G. The Glycogen Content of the Cells of Lymphatic Leukaemia. / G. Astaldi, L. Verga // Acta Haematol 1957; 17:129–135.
13. Lansdown A.B.G. Critical observations on the neurotoxicity of silver / A.B.G. Lansdown // Crit Rev Toxicol 2007; 37:237–250.
14. Widgerow A.D. The burn wound exudate-An under-utilized resource / A.D. Widgerow et al. // Burns. 2015 Feb;41(1):11–7.

References

1. Baraboj V.A. Okislitelno-antioksidantnyj gomeostaz v norme i patologii / V.A. Baraboj, D.A. Sutkovoj. K.: Chernobylynterinform, 1997. 422 p.
2. Budkevich L.I. Ocenka jeffektivnosti primeneniya novykh pervjazochnykh sredstv u detej s ozhogovymi ranami / L.I. Budkevich, V.V. Soshkina, T.S. Astamirova, T.A. Koroleva // Hirurgija, 2013. no. 6. pp. 65–68.
3. Bulygin G.V. Vozmozhnosti povysheniya jeffektivnosti terapii ozhogovoj hirurgicheskoy infekcii / G.V. Bulygin, N.I. Kamzalakova, Ju.R. Solonchuk // Hirurgija, 2010. no. 5. pp. 65–71.
4. Kazimirko V.K. Svobodnoradikalnoe okislenie i antioksidantnaja terapija / V.K. Kazimirko, V.I. Malcev, V.Ju. Butylin, N.I. Gorobec. K.: Morion, 2004. 159 p.
5. Kremneva L.V. Narusheniya funkcionalnoj aktivnosti polimorfnojadernykh lejkocitov pri giperlipidemii u bolnykh IBS i vozmozhnost ih korrekcii fenofibratom / L.V. Kremneva, O.V. Abaturova, S.V. Shalaev // Kardiologija. 1998. T. 38, no. 5. pp. 42–44.
6. Krjukova V.V. Patogeneticheskoe obosnovanie Sorbicionno-applikacionnoj terapii gnojnykh ran : dis. kand. med. nauk: 14.00.16, 14.00.27 / Krjukova Viktorija Viktorovna. Chita, 2005. 151 p.
7. Majanskij A.N. Ocherki o nejtrofile i makrofage / A.N. Majanskij, D.N. Majanskij. Novosibirsk.: Nauka, 1983. 256 p.
8. Nesterova I.V. Kompleksnoe trehurovnevoe issledovanie sistemy nejtrofilnykh granulocitov s vozmozhnoj diagnostikoj IDS pri razlichnoj patologii / I.V. Nesterova, N. V. Kolesnikova, G.A. Chudilova // Metod. rekomendacii. Krasnodar, 1996.
9. Pigarevskij V.E. Lizosomalno-kationnyj test: Metod. Rekomendacii / V.E. Pigarevskij M., 1979, delo 1982; 5: 263–265.16.
10. Chumakov P.A. Primenenie preparatov pektina v kompleksnom lechenii gnojnykh zabolevanij mjagkih tkanej: dis. kand. med. nauk: 14.00.27 / Pavel Aleksandrovich Chumakov. Omsk, 2006. 120 p.
11. Panichev A.M. Ceolity v hirurgii / A.M. Panichev, N.I. Bogomolov, N.P. Bogatova i dr. Vladivostok: Izd-vo DVG TU, 2004. 120 p.
12. Astaldi G. The Glycogen Content of the Cells of Lymphatic Leukaemia. / G. Astaldi, L. Verga // Acta Haematol 1957; 17:129–135.
13. Lansdown A.B.G. Critical observations on the neurotoxicity of silver / A.B.G. Lansdown // Crit Rev Toxicol 2007; 37:237–250.
14. Widgerow A.D. The burn wound exudate-An under-utilized resource / A.D. Widgerow et al. // Burns. 2015 Feb;41(1):11–7.

Рецензенты:

Курзанов А.Н., д.м.н., профессор, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар;

Артюшкова Е.Б., д.б.н., директор НИИ экологической медицины, ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар.