

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Klinichna khirurgiia. 2020 July/August; 87(7-8):58-62.
DOI: 10.26779/2522-1396.2020.7-8.58

Комплексне лікування експериментальної гнійної рани м'яких тканин

О. В. Лігоненко, О. В. Стороженко, А. Б. Зубаха, І. А. Шумейко, І. О. Чорна

Українська медична стоматологічна академія МОЗ України, м. Полтава

Complex treatment of experimental purulent wound of soft tissues

O. V. Lihonenko, O. V. Storozhenko, A. B. Zubakha, I. A. Shumeiko, I. O. Chorna

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

Реферат

Мета. Вивчити вплив естрогенів та ліпосом на перебіг процесу загоювання гнійних ран м'яких тканин в експерименті.
Матеріали і методи. Експериментальне дослідження проведено на 21 вівці. У тварин моделювали гнійно-запальний процес. Тварини були розподілені на дві групи: контрольну – 6 тварин та дослідну – 15 тварин. Усі тварини отримували загальноприйнятту терапію. Тваринам дослідної групи до комплексу загальноприйнятих лікувальних заходів додавали естрогени та ліпосоми. Контролювали перебіг процесу загоювання ран шляхом використання цитологічного, біохімічного, планіметричного та математико-статистичного методів дослідження.

Результати. Використання комбінованої естрогеноліпосомальної терапії в комплексному лікуванні експериментальної гнійної рани м'яких тканин збільшувало рівні оксипроліну, рибонуклеїнової та дезоксирибонуклеїнової кислоти в ділянці рани, підвищувало значення естрадіол/тестостеронового індексу, прискорювало очищення рани, утворення грануляцій та скорочувало процес загоювання рани на $(2,12 \pm 0,24)$ доби.

Висновки. Включення в комплексне лікування експериментальної гнійної рани м'яких тканин естрогенів та ліпосом збільшує біосинтетичну активність клітин та активність репаративних процесів у ділянці рани, прискорює очищення рани, утворення грануляцій та скорочує тривалість процесу загоювання рани і може бути використаним для покращення лікування гнійних ран у пацієнтів похилого та старечого віку.

Ключові слова: естрогени; ліпосоми; гнійна рана.

Abstract

Objective. To study the impact of estrogens and liposomes on course of healing process in purulent wounds of soft tissues in experiment.

Materials and methods. Experimental investigation was done on 21 sheep. In the laboratory animals purulent-inflammatory process was simulated. The laboratory animals were distributed into two groups: a control – 6 sheep and investigated – 15. All the animals obtained conventional therapy. In laboratory animals of the investigated group estrogens and liposomes were added to complex of the conventional treatment measures. The healing process course was controlled, using cytological, biochemical, planimetric and mathematic-statistical methods of investigation.

Results. Application of combined estrogen-liposomal therapy in complex treatment of experimental purulent wound of soft tissues have enhanced the levels of oxyprolene, ribonucleic and deoxyribonucleic acids in the wound area, raised a value of estradiol/testosterone index, accelerated the wound cleansing, the granulations creation and shortened the wound healing process by (2.12 ± 0.24) days.

Conclusion. Including of estrogens and liposomes into the treatment complex for experimental purulent wound of soft tissues enhances cellular biosynthetic activity, activity of reparative processes in the wound area, accelerates the wound cleansing and the granulation creation, shortens the wound healing process and may be applied for improvement of the purulent wounds treatment in elderly and senile patients.

Keywords: estrogens; liposomes; purulent wound.

У хворих похилого та старечого віку процес загоювання ран відбувається повільніше, ніж у молодих хворих, через затримку реепітелізації та неоваскуляризації, зниження функції фібробластів та уповільнення матриксного переміщення [1]. Це пов'язано із впливом на перебіг раннього процесу статевих гормонів, особливо естрогенів [2

– 5], рівень яких у літніх людей знижений, а також з уповільненням значної частини фізіологічних та біохімічних процесів, що супроводжує старіння організму та виникає внаслідок оксидативного стресу та послабленого функціонування клітинних мембран [6]. Тому використання в комплексі лікувальних заходів естрогенів та фосфоліпі-

дів (основних структурних компонентів клітинних мембран) може бути перспективним доповненням до лікування ран різного генезу у пацієнтів похилого віку [2, 3, 7, 8].

Естрогени позитивно впливають на всі фази ранового процесу: пригнічують міграцію нейтрофільних гранулоцитів у рану у разі збільшення їх фагоцитарної функції, зменшують синтез прозапальних цитокінів інтерлейкіну-6, фактора некрозу пухлини альфа, фактора інгібування міграції макрофагів та експресію протеаз, покращують ангіогенез, збільшують синтез колагену, прискорюють реепітелізацію, ретракцію рани та підвищують її міцність [3, 4].

Фосфатидилхолінові ліпосоми також позитивно впливають на процес загоювання ран: зменшують набряк та пошкодження м'яких тканин, нормалізують тканинне дихання, відновлюють активність клітин ендотелію, синтез та виділення ендотеліального фактора розслаблення (оксиду азоту), покращують мікроциркуляцію та реологічні властивості крові, уповільнюють перекисне окислення ліпідів, підтримують активність антиоксидантних систем, мають мембранопротекторну дію, підвищують неспецифічний імунітет, швидкість дифузії кисню з крові в тканини, пригнічують ріст умовно-патогенних мікроорганізмів [7, 8]. Проте вплив естрогенів та ліпосом на процес загоювання ран при гнійно-запальних ураженнях м'яких тканин у хворих похилого та старечого віку вивчено недостатньо.

Мета дослідження: дослідити вплив естрогенів та ліпосом на перебіг процесу загоювання гнійних ран м'яких тканин в експерименті.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальне дослідження проведено на 21 вівці сокольської породи, нерепродуктивного віку, маса тіла 40 – 50 кг. Під місцевою анестезією 0,5% розчином новокаїну моделювали гнійно-запальний процес шляхом створення дозованого дефекту шкіри у ділянці стегна розмірами 10 × 2 × 1 см із розчавлюванням м'язової тканини зажимом Кохера та введенням у рану 1 мл суспензії штаму золотистого стафілококу, що містила 10¹⁰ мікробних тіл [9]. На 3-тю добу експерименту були наявні чіткі ознаки гнійно-запального процесу.

Тварини були розподілені на дві групи: контрольну – 6 тварин та дослідну – 15 тварин. Усі тварини отримували

загальноприйнятту терапію з урахуванням фаз ранового процесу. Тваринам дослідної групи до комплексу загальноприйнятих лікувальних заходів у першу фазу ранового процесу додавали препарат синтетичного естрадіолу в гелевій формі «Дівігель» («Orion Corporation», Швейцарія, реєстраційне посвідчення №UA/7892/01/01 від 04.10.2018 р.), який застосовували трансдермально паравульнарно в дозі 1 мг естрадіолу, та фосфатидилхоліновий ліпосомальний препарат вітчизняного виробництва «Ліпін-Біолік» (реєстраційне посвідчення № UA/3528/01/01 від 23.04.2020 р.), який вводили внутрішньовенно крапельно в дозі 500 мг на 50 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. Обидва препарати застосовували 1 раз на добу протягом 5 діб. У другу та третю фази ранового процесу в рану додатково вводили на 5 – 6 год серветки, змочені в естрогеноліпосомальній суміші, яку виготовляли безпосередньо перед її застосуванням шляхом змішування та інтенсивного збовтування протягом 3 – 5 хв 1 мл 0,1% розчину фолікуліну та 500 мг ліпосомального препарату ліпін в 50 мл 0,9% розчину натрію хлориду до утворення однорідної суспензії.

Результати лікування оцінювали шляхом визначення характеру та кількості ранових виділень, вираженості епітелізації та грануляції. Для об'єктивізації контролю за перебігом ранового процесу використовували цитологічні дослідження – методом мазків-відбитків за оригінальною методикою М. П. Покровської та М. С. Макарова з визначенням кількісного та якісного складу клітинних елементів, фагоцитарної активності та фагоцитарного індексу, біохімічні дослідження – визначали рівень 17-естрадіолу та тестостерону в сироватці крові та у біоптатах ділянки ран методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою тест-систем Estradiol ELISA KIT DRG (США) та ТЕСТОСТЕРОН-ІФА Хема-Медіка [10] з визначенням естрадіол/тестостеронового індексу (ЕТИ), в біоптатах ран також визначали рівень вільного оксипроліну та рівень рибонуклеїнової (РНК) і дезоксирибонуклеїнової (ДНК) кислоти у субклітинних фракціях клітин з обчисленням індексу РНК/ДНК за стандартними методиками [10]. Планіметричний контроль за перебігом ранового процесу здійснювали шляхом вимірювання площі рани за допомогою тесту Л. М. Попової (1942).

Таблиця 1. Показники цитограм ($\bar{x} \pm \sigma$)

Групи тварин	Доба експерименту	Показники						
		НГ, %	ДФНГ, %	Л, %	М, %	Ф, %	ФА, %	ФІ
Дослідна	1-ша	95,08±3,54	76,46±3,01	2,41±1,74	2,5±1,81	-	23,51±2,99	1,3±0,51
	3-тя	83,3±2,31**	57,87±5,38*	7±1,44*	6,83±1,47*	1,5±0,22**	42,11±5,38*	3,33±0,5**
	7-ма	66,75±4,4**	31,63±4,26**	5,75±0,93**	9,33±1,88	9±1,54**	68,35±4,26**	3,83±0,4**
	14-та	45,91±2,8***	4,86±1,69**	4,58±0,73	11,75±1,75	19,7±1,91**	64,82±5,44*	4±0*
Контрольна	1-ша	94,83±0,76	77,51±2,94	2,66±0,76	2,5±0,5	-	22,47±3,95	1,33±0,67
	3-тя	91,5±3,49	67,49±4,57	3,83±1,25	3,66±1,75	0,5±0,12	32,49±4,57	2±0
	7-ма	82,33±4,93	45,5±4,27	5,33±0,28	3,66±1,89	4,5±1,32	54,49±4,27	2,66±0,57
	14-та	59,5±0,99	10,56±1,58	3,5±0,49	9,5±1	13,8±0,57	56,01±2,06	3,66±0,57
Примітка.	* - p < 0,05; ** - p < 0,01; *** - p < 0,001 в порівнянні з відповідним показником у тварин контрольної групи. Те саме в табл. 2, 4.							

Таблиця 2. Рівні оксипроліну, РНК, ДНК та значення індексу РНК/ДНК у ділянці рани ($\bar{x} \pm \sigma$)

Групи тварин	Показники	Вихідний рівень	Доба експерименту		
			1-ша	7-ма	14-та
Дослідна	РНК, мг/г	0,36±0,01	0,27±0,03	0,52±0,02***	0,92±0,02***
Контрольна		0,36±0,01	0,28±0,01	0,4±0,01	0,5±0,006
Дослідна	ДНК, мг/г	0,54±0,08	0,46±0,06	0,84±0,09	0,87±0,03***
Контрольна		0,69±0,02	0,47±0,03	0,74±0,03	0,72±0,02
Дослідна	Індекс РНК/ДНК	0,67±0,11	0,58±0,05	0,63±0,07	1,05±0,06***
Контрольна		0,52±0,03	0,6±0,06	0,54±0,03	0,68±0,01
Дослідна	Оксипролін, мг/кг	5,43±1,57	5,25±2,5	21,26± 4,3**	22,58±3,05*
Контрольна		5,63±1,31	4,58±0,36	9,51±5,1	14,7±3,67

Результати

Аналіз цитограм у тварин дослідної групи показав достовірне зменшення кількості нейтрофільних гранулоцитів (НГ) та їх деструктивних форм (ДФНГ) на 3–тю, 7–му, 14–ту добу, збільшення кількості лімфоцитів (Л) та макрофагів (М) на 3–тю, 7–му добу, кількості фібробластів (Ф), фагоцитарної активності (ФА) та фагоцитарного індексу (ФІ) на 3–тю, 7–му та 14–ту добу в порівнянні з відповідними показниками у тварин контрольної групи (табл. 1).

У процесі загоювання ран у тварин дослідної групи нами зафіксовано достовірне збільшення в ділянці рани рівнів оксипроліну та РНК на 7–му та 14–ту добу, достовірне збільшення рівня ДНК та підвищення індексу РНК/ДНК на 14–ту добу у порівнянні з аналогічними показниками у тварин контрольної групи, що свідчило про посилення синтезу колагену, збільшення біосинтетичної активності клітин та репаративних процесів у другу та третю фази ранового процесу у разі використання естрогеноліпосомальної терапії (табл. 2).

Проаналізувавши динаміку рівня 17-β естрадіолу та тестостерону в сироватці крові, ми встановили, що при розвитку гнійно-запального процесу м'яких тканин (1-ша доба) достовірно збільшується рівень тестостерону, зменшуються рівень 17-β естрадіолу та ЕТІ, що може свідчити про прозапальну функцію андрогенів та протизапальну функцію естрогенів. У міру стихання запальних процесів у рані та її загоюванні (7-ма – 14-та доба) поступово зменшується рівень тестостерону, збільшується

рівень 17-β естрадіолу та підвищується ЕТІ до їх вихідних значень. Слід відмітити, що динаміка нормалізації цих показників у тварин, які додатково отримували естрогеноліпосомальну терапію, була достовірно швидшою, ніж у тварин контрольної групи (рис. 1 – 3).

Аналіз рівня 17-β естрадіолу та тестостерону в ділянці рани показав динаміку, як і в сироватці крові, але у тварин, які отримували в комплексному лікуванні замісну естрогеноліпосомальну терапію, місцевий рівень 17-β естрадіолу на 3–тю, 7–му та 14–ту добу був вірогідно вищим його вихідного рівня та вірогідно вищим у порівнянні з відповідним показником у тварин, які отримували лише стандартне лікування (табл. 3).

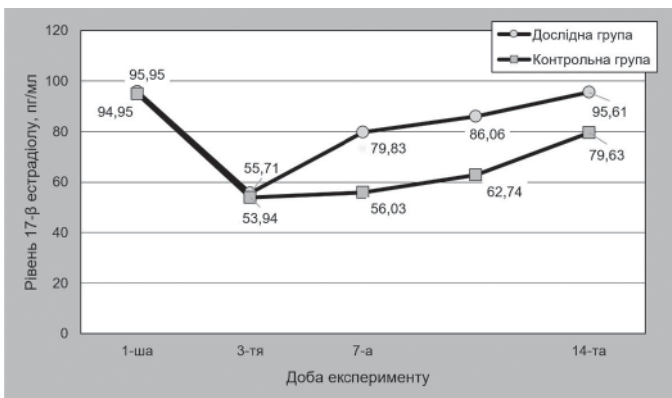


Рис. 2. Динаміка змін рівня 17-β естрадіолу в сироватці крові.

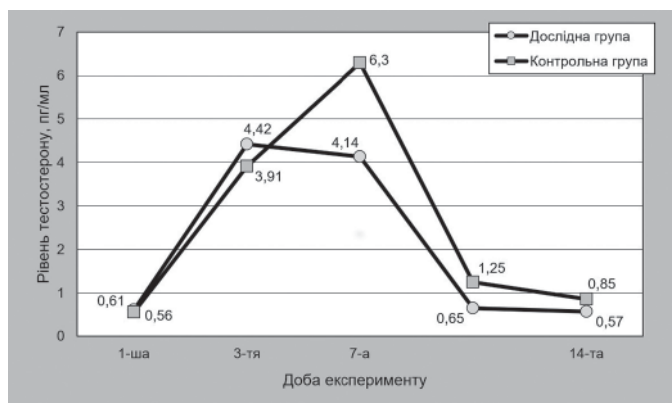


Рис. 1. Динаміка змін рівня тестостерону в сироватці крові.

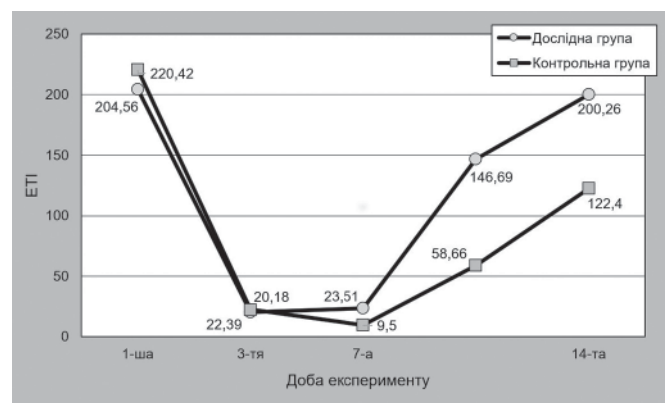


Рис. 3. Динаміка змін ЕТІ.

Таблиця 3. Рівні 17-β естрадіолу, тестостерону та значення ЕТІ в ділянці рани ($\bar{x} \pm \sigma$)

Групи тварин	Показники	Вихідний рівень	Доба експерименту			
			1-ша	3-тя	7-ма	14-та
Дослідна	17-β естрадіол, пг/мл	69,48±6,34	41,3±6,8*	178,73±23,85***###	124,17±5,72***#	102,85±8,58***#
Контрольна		71,53±9,9	46,3±18,33*	95,93±27,82	78,13±6,17	76,5±4,38
Дослідна	Тестостерон, пг/мл	0,48±0,17	3,48±1,23***	1,71±0,66***#	0,87±0,23***#	0,42±0,11#
Контрольна		0,46±0,15	3,12±1,17***	2,43±0,17***	1,56±0,17**	0,68±0,17*
Дослідна	ЕТІ	143,75±23,15	11,78±2,17***	104,7±22,23***###	142,17±18,2***#	242,23±23,21***#
Контрольна		154,17±21,34	14,12±2,78***	39,58±11,3***	53,12±7,34***	116,12±17,32*
Примітка.	* - p < 0,05; ** - p < 0,01; *** - p < 0,001 в порівнянні з показниками вихідного рівня; # - p < 0,05; ## - p < 0,01; ### - p < 0,001 в порівнянні з відповідним показником у тварин контрольної групи.					

Таблиця 4. Динаміка змін індексу Попової ($\bar{x} \pm \sigma$)

Групи тварин	Доба експерименту			
	3-тя	7-ма	10-та	14-та
Дослідна	5,2±0,66	8,4±0,88***	8,4±0,88***	8,6±1,02***
Контрольна	4,8±0,52	5,1±0,62	5,1±0,62	6,2±0,86

Повне очищення ран у дослідній групі тварин відмічено на (3,4 ± 0,67) доби (p < 0,05), тоді як у контрольній групі – на (4,76 ± 0,58) доби, активне виповнення ранової поверхні грануляціями – відповідно на (5,8 ± 0,75) доби (p < 0,001) та на (7,13 ± 0,79) доби, а повне закриття ранового дефекту – відповідно на (16,08 ± 1,24) доби (p < 0,001) та на (18,22 ± 1,79) доби.

Результати планіметричного контролю за перебігом процесу загоювання ран наведені в *табл. 4*.

Обговорення

Перебіг процесу загоювання ран у хворих похилого та старечого віку довготриваліший, ніж у хворих молодого віку. Це, зокрема, можна пояснити зниженням активності статевих гормонів, особливо естрогенів, та неповноцінним функціонуванням клітинних мембран, що супроводжують старіння організму. Дефіцит естрогенів спричиняє зміну структури шкіри, що призводить до її сухості, стоншення, слабкості, появи зморшок, атрофії та відповідно до погіршеного загоювання ран.

У нормальній непошкодженій шкірі місцеве застосування естрогенів змінює такі її вікові стани: атрофію (стимулюючи проліферацію кератиноцитів, збільшуючи вироблення колагену та інгібування експресії матричних металопротеаз); сухість (покращуючи функцію кератиноцитів, збільшуючи вміст води у шкірі та вироблення шкірного сала); зморщування (збільшуючи вміст води у шкірі, кількість та орієнтацію еластичних волокон).

Фосфатидилхолінові ліпосоми дедалі частіше використовуються як носії лікарських препаратів. Вони нетоксичні, характеризуються повною біодеградацією та біосумісністю, не викликають імунних реакцій, придатні для включення в них багатьох фармакологічних агентів, у тому числі ферментів, гормонів, вітамінів, антибіотиків, імуномодуляторів, цитостатиків, вакцин, генетичного матеріалу. Завдяки ліпосомам з'являється новий спо-

сіб спрямованого впливу на клітину, який можна назвати “мембранною інженерією”.

Отримані нами результати доводять, що використання в комплексному лікуванні експериментальної гнійної рани м'яких тканин комбінованої естрогеноліпосомальної терапії позитивно впливає на перебіг ранового процесу та прискорює загоювання ран (за рахунок збільшення рівнів оксипроліну, РНК та ДНК у ділянці рани, підвищення ЕТІ, прискорення очищення рани та утворення грануляцій) і може бути перспективним напрямком для удосконалення лікування ран у пацієнтів похилого та старечого віку.

Збільшення геріатричного населення та проблеми загоювання ран у пацієнтів похилого та старечого віку спонукають дослідників до подальшого вивчення впливу статевих гормонів та ліпосом на перебіг процесу загоювання ран та удосконалення способів лікування гнійних ран у цій віковій групі.

Висновки

Комбіноване використання в комплексному лікуванні експериментальної гнійної рани м'яких тканин естрогенів та ліпосом збільшує біосинтетичну активність клітин та активність репаративних процесів у ділянці рани, прискорює очищення рани, утворення грануляцій та скорочує тривалість процесу загоювання рани, а отже, може бути рекомендованим для покращення лікування гнійних ран у хворих похилого та старечого віку.

Підтвердження

Фінансування. Джерело фінансування – власні кошти авторів.

Участь авторів. Усі автори зробили однаковий внесок у цю роботу. Всі автори прочитали та схвалили остаточний варіант рукопису.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що вони не мають конфлікту інтересів.

Згода на публікацію. Всі автори дали згоду на публікацію цього рукопису.

References

1. Gerstein AD, Phillips TJ, Rogers GS, Gilchrest BA. Wound healing and aging. *Dermatol Clin.* 1993;11(4):749–57. doi: 10.1016/S0733-8635(18)30227-4. PMID: 8222358.
2. Ashcroft GS, Ashworth JJ. Potential role of estrogens in wound healing. *Am J Clin Dermatol.* 2003;4(11):737–43. doi: 10.2165/00128071-200304110-00002. PMID: 14572296.
3. Calvin M. Oestrogens and wound healing. *Maturitas.* 2000;34(3):195–210. doi: 10.1016/s0378-5122(99)00079-1. PMID: 10717485.
4. Gilliver SC, Ashcroft GS. Sex steroids and cutaneous wound healing: the contrasting influences of estrogens and androgens. *Climacteric.* 2007;10(4):276–88. doi: 10.1080/13697130701456630. PMID: 17653954.
5. Hardman MJ, Ashcroft GS. Estrogen, not intrinsic aging, is the major regulator of delayed human wound healing in the elderly. *Genome Biol.* 2008;9(5):R80. doi: 10.1186/gb-2008-9-5-r80. Epub 2008 May 13. PMID: 18477406; PMCID: PMC2441466.
6. Briskin BS, Puzina SN, Kostyuchenko LN, editors. *Surgical diseases in geriatrics.* Moscow: BINOM-Press; 2006. 336 p. [In Russian]. ISBN 5-9518-0122-2.
7. Dudnichenko AS, Krasnopolskiy YM, Shvets VI. *Liposomal drugs in the expert and clinic.* Kharkiv: RA-Caravel; 2001. 143 p. [In Russian].
8. Kreines VM, Melnikova VM, Margolin YM, Melyantseva LP. Anti-inflammatory effects of liposomes. *Vestnik AMN SSSR.* 1990;(6): 44–7. [In Russian].
9. Abaev YUK, *Surgeon's Handbook: Wounds and wound infection.* Rostov on Don: Phoenix; 2006. 427 p. [In Russian]. ISBN 5-222-07691-1.
10. Kaydashev IP, editor. *Methods of clinical and experimental research in medicine.* Poltava: Polimet; 2003. 320 s. [In Ukrainian].

Надійшла 17.05.20