

Рисунок 46 - Строение надпочечника взрослых косуль (окраска гематоксилин-эозином, $\times 100$)

Заключение. Следовательно, капсула надпочечника европейской косули однослойная и образована плотной неоформленной соединительной тканью с толстыми коллагеновыми волокнами. В клубочковой зоне на протяжении всего постнатального развития косуль находится основной запас липидов надпочечника, используемых в стероидогенезе. Ей свойственен арочный тип строения. Между клубочковой и пучковой зонами выявляется переходная зона компрессии или суданофобная зона, которая с возрастом исчезает. Пучковая зона по своим размерам является преобладающей в коре надпочечника. Самые малые размеры характерны для сетчатой зоны, которая практически не имеет типичного сетчатого вида, так как тяжи ее клеток теряют свою радиальную ориентацию. Во все исследуемые возрастные периоды толщина коры преобладает над медуллой, за исключением взрослых косуль. При этом темп роста коры значительно меньше темпа роста медуллы надпочечника.

Литература. 1. Организация гистологических исследований, техника изготовления и окраски гистопрепаратов : учеб.-метод. пособие / В.С. Прудников, И.М. Луппова, А.И. Жуков, Д.Н. Федотов. – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 28 с. 2. Решетников, И.С. Методы извлечения эндокринных органов северного оленя как эндокринного сырья / И.С. Решетников // Актуальные вопросы морфологии и хирургии XXI века : Материалы Международной научной конференции / гл. ред. С.А. Соловьев. – Оренбург : Изд-во ОГАУ, 2001. – Т. 1 : Морфология. – С. 236–240. 3. Руководство по гистологии : учебник в 2 т. / ред. И.Г. Акмаев, В.Л. Быков [и др.]. – СПб. : «СпецЛит», 2001. – Т. II. – 735 с. 4. Сидорова, О.Г. Возрастные и сезонные особенности морфологии надпочечников благородного оленя (*Cervus elaphus L.*) в условиях паркового содержания : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16, 16.00.02 / О.Г. Сидорова ; Алтайский ГАУ. – Барнаул, 2001. – 16 с. 5. Тельцов, Л.П. Органогенез млекопитающих (закономерности развития, периодизация, критические фазы) / Л.П. Тельцов // Материалы Всероссийской научно-методической конференции патологоанатомов ветеринарной медицины, Омск, 20–22 сентября 2000 г. / ОмГАВМ. – Омск, 2000. – С. 284–286. 6. Федотов, Д.Н. Становление компонентов надпочечников у человека и животных (гистофизиологические фундаментальные и экспериментальные аспекты) : монография / Д.Н. Федотов, В.А. Косинец. – Витебск : ВГМУ, 2012. – 130 с. 7. Федотов, Д.Н. Морфология семенников и надпочечников у сеголеток лося европейского (*Alces alces L.*) / Д.Н. Федотов // Зоологические чтения 2012: Материалы Республиканской научно-практической конференции, г. Гродно, 2–4 марта 2012 г.; отв. ред. О.В. Янчуревич. – Гродно: ГрГМУ, 2012. – С. 164–166. 8. Junqueira, L.C. Basic histology: text & atlas (eleventh edition) / L.C. Junqueira, J. Carneiro. – New York: McGraw-Hill, 2005. – 502 p.

Статья передана в печать 15.11.2012 г.

УДК 615.322.616.9:616-089

ЛАБОРАТОРНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ РАЗРАБОТКИ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ СРЕДСТВ С НАНОПОКРЫТИЕМ

*Фролова А.В., **Дубина И.Н.

*УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск,

** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

В статье приводятся результаты лабораторного изучения и экспериментального исследования на модели гнойной раны у крыс фармакологической активности разрабатываемых перевязочных средств с нанопокрывтием. Дана микробиологическая оценка целесообразности использования наночастиц металлов для нанесения на материал. *In vitro* и *in vivo* отражена зависимость выраженности антимикробного эффекта от используемого металла и структуры ткани. Полученные в эксперименте морфологические и клинические параметры убедительно свидетельствуют о высокой

эффективности предлагаемых образцов разрабатываемых перевязочных средств при лечении гнойных ран.

The results of laboratory and experimental studying on model of a purulent wound at rats of pharmacological activity of dressing remedies with nanocoating are represented in this work. The microbiological assessment of practicability of using metal nanoparticles for coating on materials is given. In vitro and in vivo the dependency of antimicrobial activity from using metal and structure of fabrics is reflected. The received morphological and clinical parameters are indicative persuasively of high efficiency of proposed samples for treatment of purulent wounds.

Введение. Принципы лечения ран строятся с учетом сложных биохимических процессов, происходящих в них. Поэтому для улучшения результатов лечения, помимо хирургической обработки гнойного очага, местно применяются разные виды повязок. Ведение ран под повязками предупреждает их высыхание и инфицирование, обеспечивает анальгезирующий и антибактериальный эффект, что приводит к ускорению заживления.

На протяжении многих веков повязки применялись главным образом для остановки кровотечения и защиты раны. В настоящее время благодаря достижениям науки появились новые возможности целенаправленного и дифференцированного использования свойств современных перевязочных средств на разных этапах протекания раневого процесса.

Для обеспечения оптимального заживления раны должны выполняться следующие условия: сохранение влажности раневой поверхности при отсутствии избыточного количества экссудата, достаточное напряжение кислорода в тканях раны, защита от избыточных тепловых потерь и внешних травмирующих воздействий, предотвращение вторичного инфицирования.

Поэтому разрабатываемое перевязочное средство должно соответствовать ряду требований: эффективно удалять избыток раневого экссудата и его токсических компонентов, способствовать созданию оптимальной влажности раневой поверхности, обеспечивать адекватный газообмен между раной и атмосферой, препятствовать потерям тепла, предотвращать вторичное инфицирование раны и контаминацию объектов окружающей среды, не содержать токсических соединений, обладать антиадгезивными свойствами по отношению к раневой поверхности, хорошо драпироваться, иметь достаточные механическую прочность и сроки хранения, не быть легко воспламеняемым.

Хорошо известно, что в случае длительно не заживающей раны на первичные этиологические механизмы наслаиваются такие патогенетические факторы, как нарушение иммунного ответа организма, развитие антибиотикорезистентности у возбудителей, возникновение микробной и медикаментозной аллергии, фиброзных изменений в краях и дне раны, приводящих к нарушению микроциркуляции в ее зоне. Это и обуславливает торможение репаративных процессов и увеличивает сроки эпителизации поверхности.

В процессе очищения раны большое значение придается антибактериальным агентам, наносимым непосредственно на нее под повязку, или иммобилизованным в перевязочное средство [1–2]. В раневых повязках новейших разработок в качестве антимикробного агента встречаются нанопокртия различных металлов, что обеспечивает их длительное высвобождение в рану и проявление высокой эффективности в отношении даже устойчивых к метициллину и ванкомицину возбудителей хирургической инфекции. В отдельных случаях металлическое нанопокртие позволяет добиваться атравматичности повязок, при проведении необходимого механического, физического и медикаментозного воздействия на рану и кожный лоскут [3–4].

В изучаемые в данной работе перевязочные средства при их разработке были заложены оптимальные свойства, а именно, сорбционная способность, защитная функция, биологическая активность, атравматичность.

Материал и методы исследований. Целью данной работы явилось провести сравнительный лабораторный и экспериментальный анализ фармакологической активности разрабатываемых перевязочных средств с нанесением металлических наноразмерных покрытий.

Изначально при разработке перевязочных средств для сравнительного изучения антимикробной активности использовано 78 образцов натуральных и синтетических текстильных материалов, трикотажных полотен, имеющих в составе вискозу, лен, полиамид, полиэфир, хлопок, предоставленных сотрудниками УО ВГТУ. На ткани были нанесены различные металлические наноразмерные покрытия меди, серебра, алюминия, цинка, титана ионно-дуговым и вакуумно-магнетронным методами, а также использовано пропитывание коллоидным раствором серебра.

Определение антимикробной активности образцов в эксперименте *in vitro* проведено методом диффузии в агар. С этой целью на чашку Петри с мясопептонным агаром вносились взвесь 10^9 колониеобразующих единиц (КОЕ) суточной культуры исследуемого стандартного штамма микроорганизма (*S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 026, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. mirabilis* ATCC 25933, *C. albicans* ATCC 10231) или его клинического изолята. Наверх накладывались диски из фрагментов металлизированных материалов и после суточной инкубации в термостате при $t = 37^\circ\text{C}$ или через 48 часов при $t = 28^\circ\text{C}$ (для *C. albicans*) измерялись диаметры зон ингибирования роста микроорганизмов. О выраженности антимикробной активности позволяло судить размер зоны задержки роста.

Проведенные *in vitro* микробиологические исследования позволили из 78 образцов выделить 36 наиболее перспективных для последующего использования при разработке перевязочных средств. В данной работе отражена эффективность 8 образцов, 2 из которых имели напыление металлических наноразмерных частиц, 1 – углеродный сорбент, а остальные были пропитаны коллоидным раствором

серебра. С учетом предполагаемых свойств они были скомбинированы в предварительные составы и изучены *in vivo* на модели гнойной раны у крыс.

In vivo моделирование гнойной раны по методу Ю.В. Стручкова (1982) проводили у крыс-самцов линии *Wistar* массой 230–250 г. Крысы находились на полноценном стандартном пищевом рационе и перед экспериментом проходили двухнедельный карантин.

Каждому животному в рану вводили 2 мл суточной культуры штамма *S. aureus* ATCC 25923, содержащей 1 млрд. микробных тел в 1 мл. В каждой опытной группе лечение ран проводили ежедневными перевязками с испытуемым образцом разрабатываемого перевязочного средства или его компонентом, в контрольной группе использовали стерильные марлевые салфетки. Повязки фиксировались с помощью пластыря. Всего в группах проведено 13 серий эксперимента. В 1-й опытной серии использовано перевязочное средство (ПС) «30+71», компонентами которого служили образцы № 30 и 71, во 2-й опытной – ПС «30», в 3-ей – ПС «71», в 4-й – ПС «30+72», в 5-й – ПС «72», в 6-й – ПС «30+73», в 7-й – ПС «77», в 8-й – ПС «12+71», в 9-й – ПС «70», в 10-й – ПС «70+72», в 11-й – ПС «70+73», в 12-й – ПС «30+77», в 13-й – ПС «30+78».

In vivo антимикробная активность разработанных перевязочных средств изучена в ходе бактериологического исследования раневого содержимого и количественного контроля за его микрофлорой. Для оценки антимикробной активности использован метод количественного определения содержания микроорганизмов в 1 г ткани (В.Е. Радоман, 1979), которому подвергалось раневое отделяемое до лечения и на 3, 5, 7, 9-е сутки с момента начала лечения.

Критериями заживления раны служили сроки ее очищения от гнойно-некротических масс, появления грануляций, эпителизации и уменьшение площади раны. Цитологические исследования проводились на 3, 5, 7, 9, 11, 15 и 20-е сутки с момента начала лечения. Цитологические мазки-отпечатки окрашивали азу-розиновым красителем по Романовскому-Гимзе при pH 6,7 и изучали в световом микроскопе с иммерсионной системой.

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с действующими нормативно-техническими методическими документами и требованиями Фармакологического комитета МЗ РБ, предъявляемыми к проведению доклинического изучения новых лекарственных средств и препаратов с модифицированной лекарственной формой [5–6]. Наблюдения за внешним видом и поведением животных проводили ежедневно, а углубленное изучение, включающее физиологические, гематологические и биохимические исследования, выполняли в установленные сроки.

Полученные данные статистически обрабатывали с помощью программы Statistica 7.0, MS Excel 2002 с использованием методов описательной статистики, теста Mann-Whitney (Wilcoxon).

Результаты исследований. Проведенные бактериологические исследования *in vitro* явно продемонстрировали, что антимикробная активность металлизированных тканей находится в прямой зависимости от использованного металла для нанопокртия. Полученные лабораторные данные доказали отсутствие выраженного антимикробного эффекта у тканей с напылением алюминия, цинка и титана независимо от структуры материала.

Достоверно наиболее выраженный антимикробный эффект в отношении всех исследованных штаммов возбудителей раневой инфекции присущ образцам тканей с нанопокртием из серебра. При этом наиболее чувствительными к металлизированным образцам оказались штаммы *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*. Материалы, пропитанные коллоидным раствором серебра, уступали по антимикробной активности металлизированным образцам, что, вероятно, обусловлено недостаточно высокой концентрацией антисептика (рисунок 47).

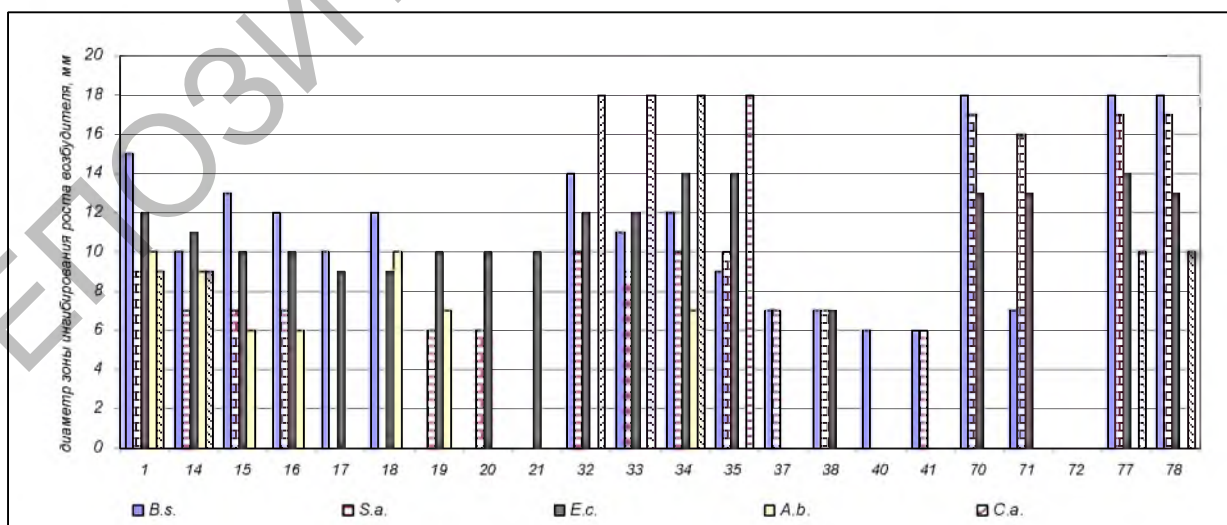


Рисунок 47 - Чувствительность штаммов возбудителей раневой инфекции к образцам тканей с наночастицами серебра (1–35) и к пропитанным коллоидным раствором (37, 38, 40, 41, 70, 71, 77, 78)

О высокой эффективности образцов тканей с нанесением металлических наноразмерных покрытий меди в отношении стандартного штамма *S. aureus* 25925 говорит рисунок 48. С помощью инвертированного микроскопа удалось получить изображение, подтверждающее, что, например, образец

№ 30 с нанонапылением частиц меди проявляет выраженный антимикробный эффект в отношении грамположительного возбудителя раневой инфекции, десорбируя металл не только локально, на место наложения на засеянный агар, но и в окружающее пространство, что приводит к образованию прозрачной зоны ингибирования роста микроорганизма (рисунок 49). Это дало возможность сделать предположение о высокой эффективности данного образца при использовании *in vivo* и о его перспективности при разработке перевязочных средств.



Рисунок 48 - Антимикробная активность образцов металлизированных тканей с напылением наночастиц меди



Рисунок 49 - Зона ингибирования роста грамположительного возбудителя (изображение под инверсионным микроскопом)

Полученные в эксперименте на животных результаты полностью коррелировали с лабораторными данными о выраженности антимикробного эффекта исследуемых образцов и ее зависимости от выбранного материала.

Спустя сутки после моделирования гнойной раны у всех животных наблюдалось умеренно выраженное воспаление, сопровождавшееся уплотнением краев, их отечностью, гиперемией и болезненностью при пальпации околораневой области. На 2-3 сутки имелись все признаки местной хирургической инфекции: гнойное отделяемое из раны, прогрессировали локальные отечность, гиперемия кожи, гипертермия. Стенки и дно раневого дефекта были покрыты фибринозно-гнойным налетом, наблюдалась инфильтрация окружающих тканей. Изменялось и общее состояние животных, они становились вялыми, заторможенными, отказывались от пищи.

В ходе лечения у крыс из всех исследуемых групп выявлялись однонаправленные изменения в *status localis*: исчезновение местных и регионарных признаков воспаления наравне с очищением раневой поверхности от гнойного экссудата и некротических масс. Однако динамика течения раневого процесса зависела от перевязочного средства, используемого в лечении. При сравнительном наблюдении за животными четко прослеживались различия между группами в проявлении фармакологических эффектов образцов.

Так, если крысы из групп № 1, 6, 7, 8, 12, 13 становились более активными к $2,09 \pm 0,29$ суткам с начала лечения, а на 3-и сутки практически не отличались от здоровых животных, то в контрольной группе нормализация общего состояния отмечена только на $5,20 \pm 0,42$ сутки.

У крыс в группах № 1, 6, 7, 8, 12, 13 происходило быстрое снижение микробной обсемененности ран и исчезновение микрофлоры. В день моделирования гнойной раны уровень микробной обсемененности составлял 10^3 - 10^4 в 1 г тканей, а в течение последующих двух суток возрастал до 10^7 - 10^9 микробных тел в 1 г тканей. Через сутки после лечения в перечисленных опытных группах воспалительная реакция была уже слабо выраженной, при визуальном осмотре раны отмечались незначительная отечность и гиперемия краев. Отделяемое становилось скудным, а микробная обсемененность составляла 10^{4-6} или $\lg_{10} = 4,0$, $\lg_{10} = 4,38 \pm 0,51$, $\lg_{10} = 4,15 \pm 0,38$, $\lg_{10} = 5,62 \pm 0,51$, $\lg_{10} = 4,31 \pm 0,48$, $\lg_{10} = 4,23 \pm 0,44$ соответственно. В то же время, например, во 2-й и 4-й группах, где также для перевязки применялся в качестве компонента образец № 30, микробная обсемененность равнялась 10^6 . Не стихала воспалительная реакция и во всех остальных группах, а в контрольной наблюдалось бурное развитие гнойно-воспалительного процесса, микробная обсемененность достигала 10^{7-8} ($\lg_{10} = 7,4 \pm 0,52$).

На 3-й день лечения при использовании ПС «30+71» отмечено отсутствие отечности, гиперемии, значительное уменьшение площади раневой поверхности, ее очищение от патологического содержимого и активное созревание грануляционной ткани. Микробная обсемененность составила 10^{2-3} ($\lg_{10} = 2,15 \pm 0,38$) микробных тел на 1 г ткани. В 6-й, 7-й, 8-й, 12-й, 14-й группах животных также наблюдалось снижение микробной обсемененности и уменьшение площади раневой поверхности. Однако нами не отмечено выраженной положительной динамики во 2-й и 4-й группах. Раны у крыс не уменьшались в размере, были покрыты обильным гнойным экссудатом, к тому же во 2-й группе наблюдалась выраженная болевая реакция при перевязке.

Полное очищение ран в опытных 1-й, 6-й, 7-й, 8-й, 12-й, 14-й группах происходило к $3,96 \pm 0,96$ суткам после начала лечения, в то же время в контрольной группе уровень микробной обсемененности оставался высоким, а от гнойно-некротических участков раны полностью очистились лишь на $7,90 \pm 0,57$ сутки.

Рост грануляционной ткани и краевая эпителизация в опытных группах определялись к $3,05 \pm 0,45$ суткам с начала лечения. На 5-е сутки лечения в 1-й, 7-й, 8-й группах отмечены 50% эпителизация ран, в 6-й, 12-й, 14-й – значительное уменьшение площади и краевая эпителизация. Поскольку в 9-й, 10-й, 11-й группах раны не уменьшались в размере, были покрыты обильным гнойным экссудатом, отсутствовала положительная динамика, лечение в них было прекращено.

В контрольной группе характерным для 7–8-х суток после начала лечения было исчезновение воспалительных явлений, снижение уровня микробной обсемененности до 10^{1-2} микробных тел на 1 г тканей, появление вялых, бледно-розовых грануляций.

Результаты цитологического исследования ран животных коррелировали с данными микробиологического мониторинга раневого содержимого и свидетельствовали, что разработанным образцам, применяемым в 1, 6, 7, 8, 12, 13-й группах, присуща высокая фармакологическая активность, обуславливающая быстрое очищение ран от гнойно-некротического содержимого, сокращение продолжительности воспалительной и ускорение наступления пролиферативной фазы раневого процесса. Если до начала лечения в цитограммах содержимого гнойных ран животных во всех группах определялся некротический тип, то в перечисленных выше опытных группах он сменялся на воспалительный тип на $3,05 \pm 0,45$ сутки, а в контрольной группе – на $7,70 \pm 0,48$ сутки.

Полное очищение ран от гнойного содержимого сопровождалось выявлением воспалительно-регенеративного типа цитограмм уже на $3,96 \pm 0,96$ сутки в 1, 6, 7, 8, 12, 13-й группах, на $7,90 \pm 0,57$ сутки – в контрольной. Цитологическая картина характеризовалась уменьшением количества нейтрофильных лейкоцитов наряду с нарастанием числа макрофагов, лимфоцитов, фибробластов, ретикулярных клеток. Незавершенный фагоцитоз продолжал оставаться в активном состоянии.

Регенеративный тип цитограмм в 1, 6, 7, 8, 12, 13-й группах животных фиксировался на $5,21 \pm 0,44$ сутки, что было статистически значительно раньше по сравнению с контролем – $8,8 \pm 0,42$ сутки.

Цитологическая картина соскобов из полностью эпителизованных ран, характеризовалась наличием клеток эпидермиса, фибробластов, единичных коллагеновых волокон, при этом макрофаги практически отсутствовали. Полное заживление раневого дефекта в 1, 6, 7, 8, 12, 13-й группах животных наступало на $12,33 \pm 2,66$ сутки, в контрольной группе – на $18,6 \pm 0,52$ сутки.

Заключение. 1. Бактериологические исследования подтвердили целесообразность использования наночастиц металлов (Ag и Cu) для нанесения на материал с целью достижения антимикробного эффекта. 2. Благодаря заложенным в перевязочное средство оптимальным свойствам (сорбционная способность, защитная функция, биологическая активность, атравматичность) можно добиться полного заживления гнойной раны в короткие сроки. 3. Наличие сырьевой базы и нормативно-технической документации дают возможность для разработки в Беларуси аналогов и альтернативных зарубежным перевязочных средств и материалов с антимикробным эффектом.

Литература. 1. Абаев, Ю.К. *Современные особенности хирургической инфекции* / Ю.К. Абаев // Вестник хирургии. 2. Блатун, Л.А. *Некоторые аспекты госпитальной инфекции* / Л.А. Блатун // Врач. 3. Rapp, R.P. *Overview of resistant gram-positive pathogens in the surgical patient* / R.P. Rapp // Surgery Infection. 4. Samra, Z. *Susceptibility of methicillin-resistant Staphylococcus aureus to vancomycin, teicoplanin, linezolid, pristinamycin and other antibiotics* / Z. Samra, O. Ofer, H. Shmueli // Israel Medical Association Journal. 5. *Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств* (РД 64-126-91). 6. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ* / Под ред. Р.Х. Хабриева.

Статья передана в печать 03.09.2012 г.

УДК 615.322:616.9:616-089

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ «ФИТОМП» В ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Фролова А.В., **Петров В.В., ***Хулуп Г.Я., *Мяделец О.Д.

*УО «Витебский государственный медицинский университет»,

** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,

***Центральная научно-исследовательская лаборатория УО ВГМУ, Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,
г. Витебск, Республика Беларусь

Изучены токсичность и опасность лекарственного средства растительного происхождения «ФитоМП» для местного лечения раневой инфекции. Показано, что «ФитоМП» может быть отнесен к IV классу опасности (мало опасных) лекарственных средств при хроническом пероральном введении. При хроническом введении «ФитоМП» не вызывает изменений поведения и общего состояния животных, отклонений весового прироста, проявлений нейротоксичности, нарушений гемопоза, свертывания крови, функций печени, почек, не влияет на биохимические показатели крови, характеризующие функциональное состояние внутренних органов, не вызывает изменений