

В.П. Рауцкіс, С.Д. Хіміч

Морфофункціональні особливості ранового процесу під час лікування гнійно-некротичних ран у щурів сучасними антисептичними засобами та колагеназою

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, Україна

Paediatric Surgery(Ukraine).2024.3(84):22-30; doi 10.15574/PS.2024.3(84).2230

For citation: Rautskis VP, Khimich SD. (2024). Morphofunctional characteristics of the wound process during the treatment of purulous-necrotic wounds in rats with modern antiseptic means and collagenase. Paediatric Surgery (Ukraine). 3(84): 22-30. doi: 10.15574/PS.2024.3(84).2230.

Інфіковані та гнійні рани є як медичним, так і економічним викликом для системи охорони здоров'я. Науковий і практичний інтерес спричиняє застосування ферменту колагенази у препаратах для санації рани.

Мета: вивчити та оцінити морфологічні зміни ранового процесу під час лікування гнійно-некротичних ран у щурів препаратами на основі сучасних антисептичних засобів та колагенази.

Матеріали та методи. Об'єкт дослідження: гнійно-некротичні рани. Експериментальне дослідження проведено на 64 білих лабораторних щурах. Модельовану рану контаміновано патогенним штамом *S. aureus* у комбінації із *P. aeruginosa*. Щурів було розподілено на 4 групи по 16 тварин у кожній: I – контрольна група (без лікування); II – для лікування рани використано гель на основі колагенази з мірамистином; III – мазь на основі левоміцетину та метилурацилу; IV – мазь на основі мірамистину. Через 2 дні від початку експерименту на ранову поверхню тваринам II, III та IV-ї групи було нанесено препарат і асептичну марлеву пов'язку, у групі контролю – лише асептичну пов'язку. Заміну пов'язки виконували щодня впродовж 14 днів у всіх тварин. Проведено забір тканин для гістологічного і морфометричного дослідження шляхом висічення фрагмента шкіри з підлеглими тканинами з місця розташування ранового дефекту з подальшою фіксацією в 10% розчині нейтрального буферизованого формаліну. Приготовані гістологічні зрізи товщиною 4 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином.

Результати. Встановлено, що у II групі, де застосовувалася колагеназа, у дні ранового дефекту кількість лейкоцитарних елементів уже з 3-ої доби була значно нижчою, ніж в інших групах. Водночас судинний компонент прогресивно збільшувався. Отримані дані корелюють із результатами гістологічного дослідження: швидше зменшення запального процесу і розвиток епітелізації. Повне покриття ранової поверхні новоутвореним епітелієм відбулося уже на 10-ту добу.

Висновки. Отримані дані свідчать про доцільність застосування колагенази в лікуванні гнійних ран не лише як ферментативного дебридменту, а як препарату впливу на важливі аспекти в першій і другій фазі ранового процесу.

Під час проведення експериментів із лабораторними тваринами всі біоетичні норми та рекомендації дотримано.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Ключові слова: гнійна рана, рановий процес, колагеназа, морфологічні зміни, грануляційна тканина, кровоносні судини, лейкоцити.

Morphofunctional characteristics of the wound process during the treatment of purulous-necrotic wounds in rats with modern antiseptic means and collagenase

V.P. Rautskis, S.D. Khimich

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

Infected and purulent wounds remain both a medical and economic challenge for the healthcare system today. Scientific and practical interest leads to the use of collagenase enzyme in wound care products.

Aim: to study and evaluate morphological changes in the wound process during the treatment of purulent-necrotic wounds in rats with drugs based on modern antiseptics and collagenase.

Materials and methods. The object of study: purulent-necrotic wounds. The experimental study was performed on 64 white laboratory rats. The simulated wound was contaminated with a pathogenic strain of *S. aureus* in combination with *P. aeruginosa*. Rats were divided into 4 groups of 16 animals each: I – control group (without treatment); II – collagenase-based gel with myramistin was used to treat the wound; III – ointment based on chloramphenicol and methyluracil; IV – myramistin-based ointment. 2 days after the start of the experiment, the drug and an aseptic gauze bandage were applied to the wound surface of animals of the II, III and IV groups, in the control group – only an aseptic bandage was applied. The dressing was changed daily for 14 days in all animals. Tissues were collected for histological and morphometric examination by excision of a fragment of skin with underlying tissues from the location of the wound defect followed by fixation in a 10% solution of neutral buffered formalin. The prepared histological sections with a thickness of 4 μ m were stained with hematoxylin and eosin.

Results. It was found that in the II group, where collagenase was used, the number of leukocyte elements at the bottom of the wound defect from the 3rd day was significantly lower than in other groups. At the same time, the vascular component progressively increased. The obtained data correlate with the results of a histological examination: a faster reduction of the inflammatory process and the development of epithelialization. Complete coverage of the wound surface with the newly formed epithelium occurred already on the 10th day.

Conclusion. The obtained data indicate the appropriateness of collagenase in the treatment of purulent wounds not only as an enzymatic debridement, but as a substance affecting important aspects in the first and second phases of the wound process.

The experiments with laboratory animals were provided in accordance with all bioethical norms and guidelines.

No conflict of interests was declared by the authors.

Keywords: purulent wound, wound process, collagenase, morphological changes, granulation tissue, blood vessels, leukocytes.

Вступ

На сучасному етапі розвитку медицини актуальною проблемою хірургії залишаються рани, що є суттєвим як медичним, так і економічним викликом для системи охорони здоров'я в різних країнах світу. Так, наприклад, за даними Національної служби здоров'я Великої Британії у 2017–2018 рр. показник щорічної кількості пацієнтів із діагностованими ранами за п'ятирічний період зріс на 71%. До того ж за той самий час на 48% збільшились витрати на обстеження та лікування такої категорії хворих [5,6]. Відомо, що більшість пацієнтів хірургічного профілю мають рани різного походження, з-поміж яких, окрім післяопераційних ран, спостерігаються і спричинені механічною травмою, хімічними чи термічними чинниками, а також хронічні рани в пацієнтів із коморбідними захворюваннями [2,10,14].

Водночас при контамінованих ранах частота виникнення гнійно-запальних післяопераційних ускладнень суттєво зростає порівняно з умовно-чистими, а тривалість перебування пацієнтів у стаціонарі є втричі довшою, ніж у тих оперованих, у яких післяопераційні рани не були інфіковані [4].

Загоєння рани – це один із найскладніших біологічних процесів, які відбуваються в організмі людини упродовж її життя. У відповідь на пошкоджен-

ня цілісності покривних тканин негайно активується комплекс численних взаємопов'язаних біологічних механізмів, що спрямований на відновлення нормального фізіологічного стану шкіри та відновлення її захисної функції, який називається рановим процесом [11,17,19]. Знання клітинних і молекулярних механізмів ранового процесу дає змогу розуміти закономірності тих фізіологічних змін, які відбуваються у тканинах у процесі загоєння рани, що водночас є підґрунтям для визначення адекватної тактики лікування рани. І хоча усі рани вимагають дещо різного лікування залежно від їхнього характеру, етіології, наявності інфікування тощо, все ж таки спільними є принципи забезпечення життєздатності ранового ложа, що сприятиме загоєнню [3]. Зокрема обов'язковим і ключовим етапом лікування є адекватний дебридмент рани, який фактично є підґрунтям для процесу реепітелізації й відновлення тканин [9,13]. Одним із видів дебридменту є ферментативний, при якому відбувається лізис некротичних тканин у рановому ложі нанесених на дно рани препаратів протеаз різного походження. На даний час лише колагеназа є одним препаратом із протеолітичних ферментів, який схвалений до застосування Управлінням із контролю за якістю харчових продуктів і медикаментів

Original articles. General surgery

США (FDA) для очищення від некротичних тканин як гострих, так і хронічних ран [16]. Її перевагою, яка вигідно вирізняє колагеназу з-поміж інших протеаз є те, що колагеназа є щадною до життєздатних тканин, тобто володіє селективною дією [8]. Як свідчать клінічні дані, окрім ефективної ролі в дебридменті рани, колагеназа також здатна збільшувати міграцію кератиноцитів через грануляційну тканину [12]. Наведені дані свідчать про те, що колагеназа володіє широкою дією на процес загоєння ран різного генезу і може застосовуватися з метою впливу на різні аспекти ранового процесу в першій та другій фазі загоєння рани. Це спонукало нас до вивчення терапевтичної можливості використання колагенази в лікуванні гнійних ран.

Мета дослідження: вивчити та оцінити морфологічні зміни ранового процесу під час лікування гнійно-некротичних ран у щурів препаратами на основі сучасних антисептичних засобів та колагенази.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконували на базі кафедри загальної хірургії та експериментальної клініки (віварію) Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (ВНМУ ім. М.І. Пирогова).

Експериментальне дослідження проводили на 64 білих лабораторних щурах (самцях) із масою тіла від 200 г до 250 г. Щури перебували в однакових умовах та утримувались відповідно до загальноприйнятих норм. Перед проведенням дослідження відібрані для експерименту тварини перебували на карантині протягом двох тижнів на стандартній дієті, воду не обмежували. У день проведення дослідів тварин не годували. Після проведення премедикації виконували анестезію шляхом внутрішньом'язового введення кетаміну. У міжлопатковій ділянці моделювали стандартизовану рану розміром 1,5×1,5 см із висіченням шкіри, підшкірної клітковини та поверхневої фасції. Для відтворення ранової інфекції рану контамінували патогенним штамом *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) у комбінації з *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) в концентрації 1 млрд. мікробних тіл в 1 мл рідини. У дослідженні використовували 6 клінічних штамів бактерій (3 штами *S. aureus* і 3 штами *P. aeruginosa*), що зберігаються в музеї живих культур кафедри мікробіології ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Потім рану закривали асептичною марлевою пов'язкою. За щурами проводили динамічне спостереження протягом 2 днів. Через 2 дні від моменту створення експериментальної рани та її контамінації макроскопічно проводили оцінку місцевих змін і контроль бактеріального

спектра рани щодо контамінації досліджуваною флорою.

Щурів було розподілено на 4 групи по 16 тварин у кожній наступним чином: I – контрольна група (без лікування); II – для лікування використовувалася гель на основі колагенази з мірамистином; III – мазь на основі левоміцетину та метилурацилу; IV – мазь на основі мірамистину. На ранову поверхню тваринам II, III та IV-ї групи наносили препарат та асептичну марлеву пов'язку, у групі контролю виконували лише заміну асептичної пов'язки. Щоденні перев'язки проводили впродовж наступних 14 днів у всіх тварин. Після зняття пов'язки оцінювали місцеві зміни в рані та в навколишніх тканинах, проводили поетапну фотофіксацію досліджуваних ран. Виведення з експерименту по 4 щури з кожної групи відбувалось на 3-тю, 7-му, 10-ту та 14-ту добу. Евтаназію проводили шляхом передозованого внутрішньом'язового кетамінового наркозу.

Для оцінки морфологічних змін проводили забір тканин для гістологічного дослідження шляхом висічення фрагмента шкіри з підлеглими тканинами з місця розташування ранового дефекту (2,0×2,0 см глибиною до 4 мм), відступаючи від його країв на відстань не менше ніж 0,5 см, із подальшою фіксацією у 10% розчині нейтрального буферизованого формаліну не менше ніж 48 год. Препарати готували з подальшою обробкою в автоматичному тканинному процесорі Diapath Donatello TM Series 2 (виробництва Італії), заливкою в парафін із використанням заливочної дозуючої консолі Amos scientific TEC 2800-M (виробництва Італії). Приготовані на автоматичному роторному мікромомі Diapath Galileo AUTO Series 2 (виробництва Італії) гістологічні зрізи товщиною 4 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином. Мікроскопію гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 (МОЗ України, Свідоцтво про державну реєстрацію № 8120/2008, код 9011800000) із застосуванням збільшень у 40, 100, 200 та 400 разів. Візуалізацію зображення та морфометрію здійснювали за допомогою морфометричної програми Quickphoto micro 2.5 (ліцензійна згода № 925113924). При мікроскопії проводили оцінку морфологічного стану та складу тканин шкіри у краях і дні ранового дефекту, наявність патологічних і репаративних змін, їх характер.

Статистичний аналіз даних проведено за допомогою програми STATISTICA 64 v12. Stat Soft. Inc. та Microsoft Office Excel 2016. Рівень статистичної достовірності (p) дорівнював ≤0,05.

Для кількісних параметрів розраховували середню арифметичну – (M). Варіабельність даних визна-

Таблиця 1

Щільність (кількість в 1 мм²) кровоносних судин та лейкоцитарних елементів запальної клітинної інфільтрації у тканинах дна ранового дефекту

Термін спостереження (доба)	Група							
	I (контроль) M±m/Me (Q25-Q75)		II M±m/Me (Q25-Q75)		III M±m/Me (Q25-Q75)		IV M±m/Me (Q25-Q75)	
	суд.	лейк.	суд.	лейк.	суд.	лейк.	суд.	лейк.
3	376±40/373 (356–404)	616±76/632 (553–672)	526±64/550 (486–566)	358±51/362 (312–405)	436±76/405 (375–515)	946±95/966 (870–1021)	471±72/491 (418–511)	522±80/522 (467–569)
7	528±99/532 (451–609)	368±47/369 (322–393)	824±85/843 (757–887)	148±48/143 (111–191)	962±80/974 (909–1025)	644±100/640 (580–708)	667±62/642 (633–711)	179±36/174 (152–201)
10	284±42/292 (254–314)	629±78/624 (570–689)	*	*	433±73/420 (373–494)	445±57/447 (403–487)	422±120/398 (341–503)	149±41/149 (115–184)

Примітки: суд. – кровоносні судини; лейк. – лейкоцитарні елементи; * – рана загоїлась, вимірювання не проводилось.

Таблиця 2

Порівняння статистичної значущості (p) щільності кровоносних судин та лейкоцитарних елементів у тканинах дна ранового дефекту між II та іншими групами

Ознака	Рівень статистичної значущості (p)		
	II та I група	II та III група	II та IV група
3 доба експерименту			
Кровоносні судини	0,001	0,015	0,105
Лейкоцитарні елементи	0,000	0,000	0,000
7 доба експерименту			
Кровоносні судини	0,000	0,007	0,002
Лейкоцитарні елементи	0,000	0,000	0,161

чали через середнє квадратичне відхилення (SD), медіану – (Me), інтерквартильний діапазон – (IQR).

Комітетом із біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова після проведеної експертизи відповідно до положень комітету встановлено, що матеріали дослідження не суперечують основним біоетичним нормам Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиві ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. (протокол № 6 від 3 жовтня 2022 р.). Протокол дослідження схвалено комісією з біомедичної етики ВНМУ ім. М.І. Пирогова № 3 від 03 квітня 2023 р.

Результати досліджень і їх обговорення

У процесі морфологічного дослідження препаратів із тканин дна ранового дефекту у тварин усіх груп досліджувались такі морфометричні показники: щільність (кількість на 1 мм²) кровоносних судин і щільність (кількість на 1 мм²) елементів запальноклітинного інфільтрату (сегментоядерних лейкоцитів, плазматичних клітин, макрофагальних елементів). Для більшої об'єктивності отриманих

результатів проводили по два виміри в кожного піддослідного щура в різних ділянках. Аналіз кількісних результатів цих досліджень, представлених у таблиці 1, свідчить, що на 3-тю добу кількість кровоносних судин у дні ранового дефекту у II групі становить (526±64) і вона достовірно вища, ніж у I групі – (376±40) (p=0,001) та III групі – (436±76) (p=0,015). Водночас достовірної різниці при порівнянні даних II та IV груп не виявлено (табл. 2).

Підрахунок лейкоцитарних елементів на 3-тю добу виявив їхню найнижчу щільність у II групі (358±51) порівняно з іншими (p<0,001), що повністю корелюється з даними гістологічного дослідження.

На 7-му добу експерименту отримані морфометричні показники відповідали перебігу ранового процесу, коли зменшується виразність запальної клітинної інфільтрації. Найбільший судинний компонент визначався у III групі (962±80), що можливо було пов'язано з вираженою місцевою реакцією тканин на перенесене бактеріальне запалення. У II групі кількість нових судин у дні рани зберігалася вищою порівняно з I та IV групами (824±85) проти (528±99) та (667±62) відповідно (p<0,001). Формування нових кровоносних судин є одним із важли-

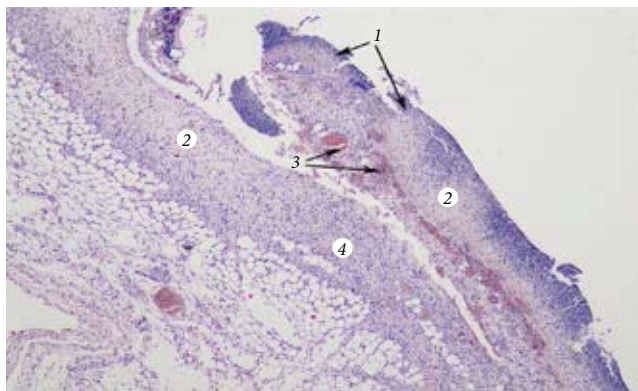


Рис 1. Морфологічні зміни тканин у зоні ранового дефекту. Контрольна група. 3-тя доба: лейкоцитарно-некротичний шар (1), набряк тканин (2), судини (3), зона гемомікроциркуляції з різнонаправленими судинами (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10. Об. 4

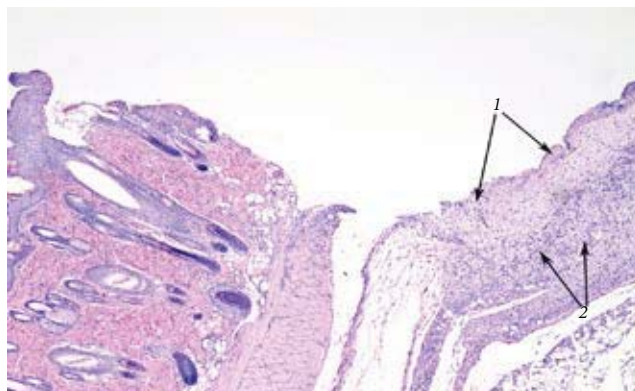


Рис 2. Морфологічні зміни тканин у крайовій зоні ранового дефекту. III група. 3-тя доба: виражений набряк (1), шар різноспрямованих кровоносних судин (2) у тканинах дна рани. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10. Об. 4

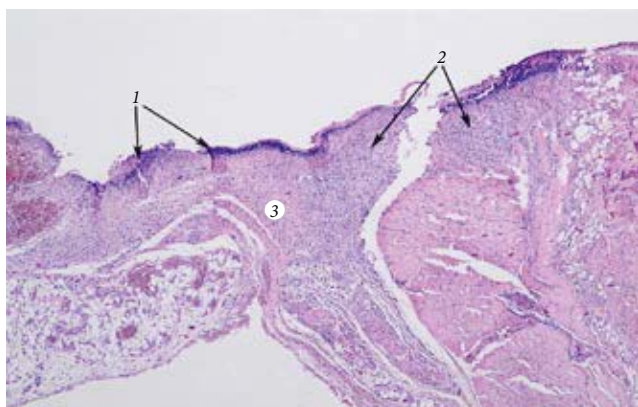


Рис 3. Морфологічні зміни тканин у зоні ранового дефекту. IV група. 3-тя доба: виражений лейкоцитарний демаркаційний вал (1), різноспрямовані судини гемомікроциркуляції у краях рани (2), нерівномірно виражений набряк тканин (3) дна рани. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10. Об. 4

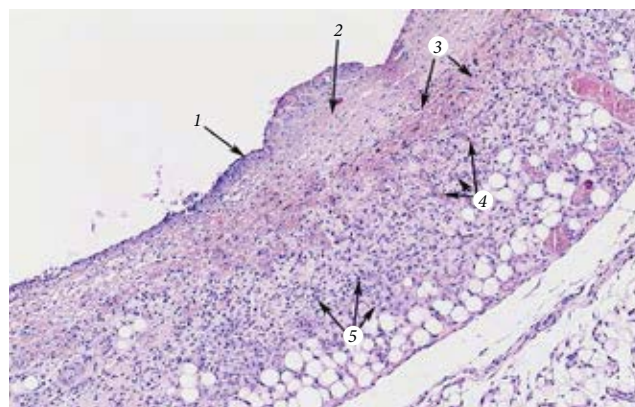


Рис 4. Морфологічні зміни тканин у зоні ранового дефекту. II група. 3-тя доба: слабо виражений лейкоцитарно-некротичний шар (1), локальний набряк тканин (2), діapedезний крововилив (3), шар вертикальних кровоносних судин (4), запальні клітинні елементи та активні фібробласти (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10. Об. 10

вих компонентів нормального загоєння рани. Процес репарації судинної системи є досить складним послідовним набором клітинних і гуморальних реакцій, які відбуваються у дні рани. Завдяки васкуляризації грануляційної тканини відбувається перфузія рани та міграція імунних клітин, забезпечуються метаболічні потреби проліферуючої тканини.

На 7-му добу дослідження продовжувалася тенденція до зменшення щільності лейкоцитів у II групі (148 ± 48) порівняно з I і III групами ($p < 0,001$). Під час порівняння з IV групою достовірної різниці не простежувалось ($p = 0,161$). На нашу думку, значне зменшення кількості лейкоцитів, а отже і виразності бактеріального запалення в рані в IV групі пов'язане з використанням антисептика мірамистину в концентрації 5000 мкг/мл у складі мазі, який є досить ефективним для бактеріальної санації. Водночас важливо зазначити, що результати II і IV групи співставні, попри те, що концентрація мі-

рамістину у складі препарату на основі колагенази (2000 мкг/мл), що використовувався у II групі, значно менша, ніж у мазі з мірамистином. Очевидно в санації рани при використанні препарату з протеолітичним ферментом вагому роль відіграє саме колагеназа, яка підсилює ефект антисептика.

На 10-ту добу дослідження у II групі спостерігалась повна епітелізація ранового дефекту, що відповідає фінальному етапу загоєння рани. З огляду на наявність повного закриття ранового дефекту із формуванням молодого рубця подальше визначення щільності лейкоцитарних та судинних компонентів у рані не було доцільним. Варто зазначити, що подібний результат простежувався проспективно в IV групі, але із запізненням на декілька днів, що підтверджується наявністю лейкоцитарних елементів у дні ранового дефекту на 10 добу дослідження.

Результати гістологічних досліджень показали, що на 3-тю добу у групі контролю (рис. 1) визнача-

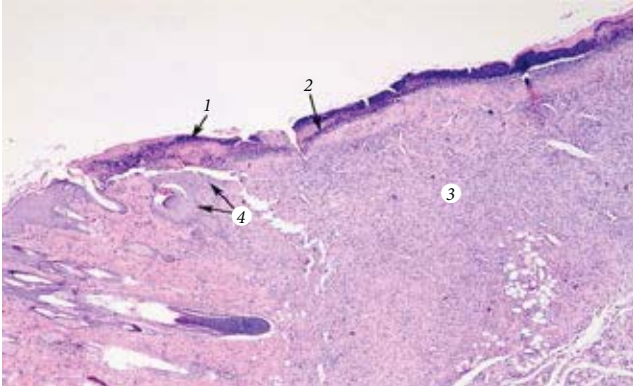


Рис 5. Морфологічні зміни тканин у крайовій зоні ранового дефекту. Контрольна група. 7-ма доба: поверхневий лейкоцитарно-некротичний шар (1), лейкоцитарний демаркаційний вал (2) грануляційної тканини у дні рани (3), новоутворений епітелій (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10. Об 4

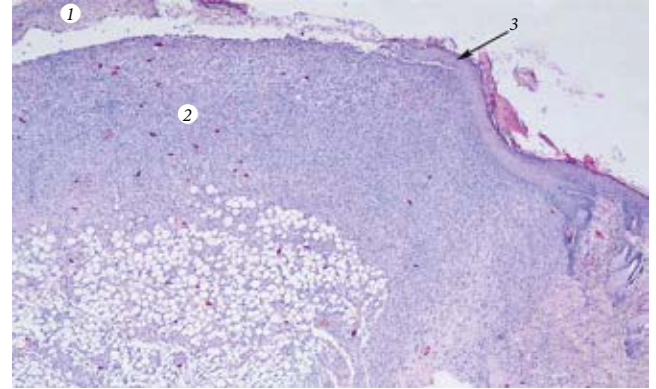


Рис 6. Морфологічні зміни тканин у крайовій зоні ранового дефекту. III група. 7-ма доба: поверхневий лейкоцитарно-некротичний шар (1) зрілої грануляційної тканини у дні рани (2), утворений із боку країв рани епітелій (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10. Об 4.

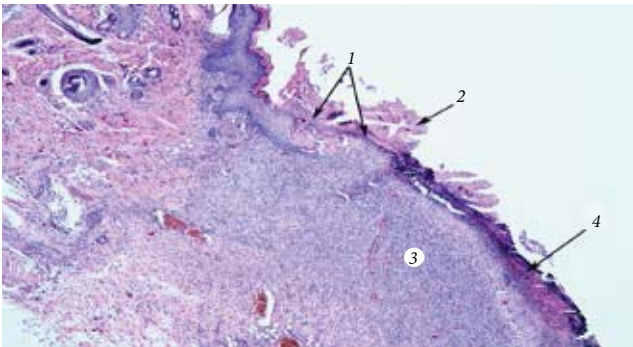


Рис 7. Морфологічні зміни тканин у крайовій зоні ранового дефекту. IV група. 7-ма доба: новоутворений із боку країв рани епітелій (1) під струпом (2), зріла грануляційна тканина у дні рани (3), виражений її поверхневий лейкоцитарно-некротичний шар (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10. Об 4

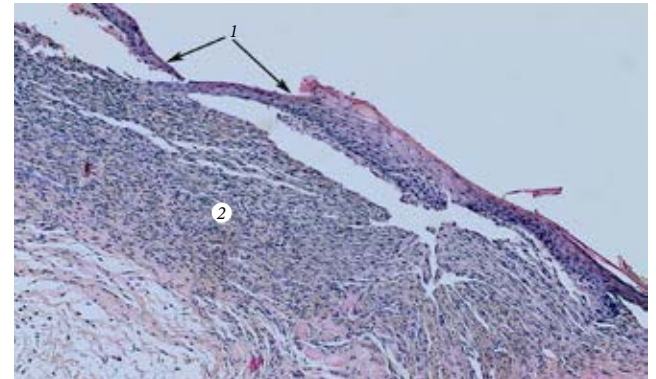


Рис 8. Морфологічні зміни тканин у зоні наявного ранового дефекту. II група. 7-ма доба: новоутворений епітелій (1) на поверхні зрілої грануляційної тканини (2), що трансформується в рубцеву. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10. Об 4

лась типова для фази запалення картина: запальна клітинна інфільтрація у вигляді значного лейкоцитарно-некротичного шару, виразного набряку тканин, повнокров'я паретично розширених судин у краях та дні рани, спостерігалася зона гемомікроциркуляції у дні рани з різнонаправленими судинами. Водночас морфологічні зміни тканин у III (рис. 2) і IV (рис. 3) дослідних групах мали аналогічні ознаки.

У II групі (рис. 4) морфологічна картина тканин ранового дефекту на 3-тю добу відрізнялася менше вираженим лейкоцитарно-некротичним шаром і локальним набряком тканин, спостерігалися вертикально розташовані судини, що свідчить про розвинений ангиогенез. У межах тканин дна рани виявлялися запальні клітини і активні фібробласти, останні відіграють основну роль у синтезі грануляційної тканини. Слід підкреслити, що отримані гістологічні дані повністю узгоджувалися з наведеними

ми вище результатами морфометрії. У II групі вже на цьому етапі загоєння гнійної рани зменшилася кількість лейкоцитарних клітин у рані, що свідчить про процес пригнічення запалення і швидше очищення рани. На нашу думку, це може пояснюватись ферментативним впливом колагенази на некротичні тканини та клітинну стінку мікроорганізмів, що сприяє механічному очищенню ранової поверхні. Аналогічну думку щодо ефективності колагенази при її використанні в ранах із високим бактеріальним навантаженням висловили W.G. Payne і співавт. [15], які у своєму дослідженні встановили, що в ранах, оброблених колагеназою, зменшення кількості бактерій у грамі тканини та, як наслідок, загоєння відбувалося за коротший проміжок часу.

Гістологічні дослідження зразків тканин, взятих на 7-му добу експерименту, продемонстрували в контрольній групі (рис. 5) типові для цього часового етапу зміни: визначалась грануляційна тканина, ко-

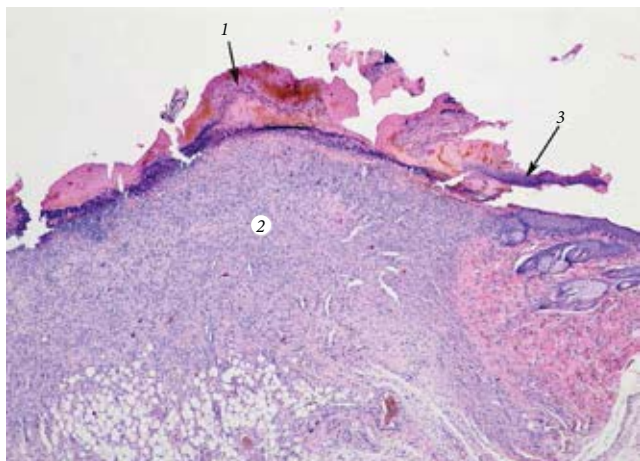


Рис 9. Морфологічні зміни тканин у крайовій зоні ранового дефекту. Контрольна група. 10-та доба: масивні нашарування некротизованих тканин (1), зріла грануляційна тканина у дні рани (2), відшарований новоутворений із боку країв рани епітелій (3). Забарвлення гематоксином та еозином. Ок. 10. Об 4

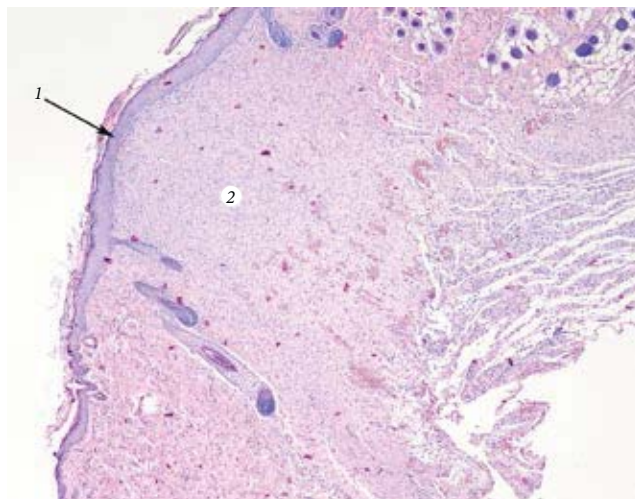


Рис 10. Морфологічні зміни тканин у зоні наявного ранового дефекту. II група. 10-та доба: новоутворений епідерміс (1) на поверхні «молодого» рубця (2). Забарвлення гематоксином та еозином. Ок. 10. Об 4

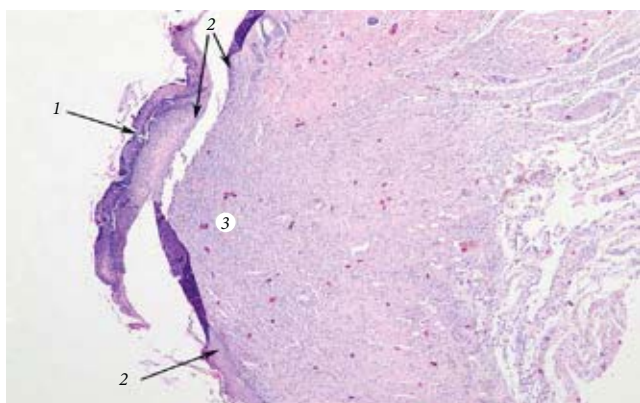


Рис 11. Морфологічні зміни тканин у зоні ранового дефекту. III група. 10-та доба: «кірочка» з лейкоцитарно-детритних мас (1), новоутворений епітелій (2), зріла грануляційна тканина (3) з розсіяною запальною клітинною інфільтрацією. Забарвлення гематоксином та еозином. Ок. 10. Об 4

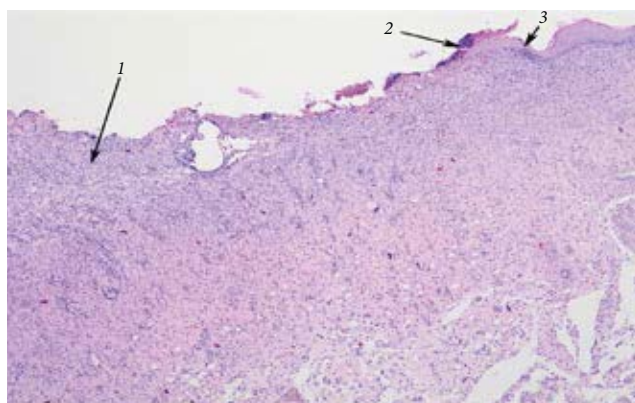


Рис 12. Морфологічні зміни тканин у крайовій зоні ранового дефекту. IV група. 10-та доба: зріла грануляційна тканина у дні рани (1), залишки струпу (2), під який підрастає з боку країв рани новоутворений епітелій (3). Забарвлення гематоксином та еозином. Ок. 10. Об 4

тра утворювала дно ранового дефекту. Ця тканина, окрім кровоносних судин, містила тонкі колагенові волокна, клітини запального та проліферативного ряду. З боку країв рани на поверхні грануляцій спостерігалася утворення тонкого епітеліального пласта. Подібні зміни спостерігалися також у двох дослідних групах – III і IV групах (рис. 6 і 7 відповідно). Морфологічна картина відповідала фазі репарації ранового процесу.

У II групі на 7-му добу (рис. 8) морфологічна картина суттєво відрізнялася не лише від контрольної групи, але також і від результатів III і IV дослідних груп. Основні відмінності полягали в тому, що в рановому дефекті тварин II групи, у лікуванні яких використовувалася колагеназа, спостерігалася швидша епітелізація, оскільки епітеліальний шар більше покривав поверхню грануляційної тканини,

а не розташовувався лише з боку країв рани. Відомо, що процес реепітелізації розпочинається з країв ранового дефекту: активовані кератиноцити починають мігрувати латерально через рану для відновлення епідермального шару. У новому епідермісі вони продукують матриксні металопротеїнази (до сімейства яких відноситься колагеназа), що є вкрай важливими для здійснення їхньої міграції, а за допомогою інтегринових рецепторів кератиноцити взаємодіють зі структурними білками попереднього фібринового матриксу у дні рани [19]. Крім того, виявлено ознаки трансформації зрілої грануляційної тканини в рубцеву, що характеризує фінальну стадію фази репарації та водночас перехід до фази ремоделювання.

На 10-ту добу експерименту результати дослідження морфологічних змін тканин контрольної

групи (рис. 9) і II-IV дослідних груп (рис. 10, 11, 12 відповідно) виявили, що тільки у II групі відбулася повна епітелізація ранової поверхні (рис. 10). На наш погляд, такий результат пов'язаний зі здатністю колагенази не лише швидше і ефективніше очищати рану від некротичних тканин, а й з її позитивним впливом на процес міграції кератиноцитів і ангиогенезу. Аналогічну думку висловлювали інші дослідники за результатами експериментальних досліджень [1,7].

Отримані нами результати досліджень демонструють певні відмінності у процесі загоєння модельованих гнійних ран у щурів контрольної та дослідних груп, а також під час порівняння дослідних груп між собою. Це дає нам змогу робити висновки щодо використаних топічних засобів для лікування гнійних ран, тим паче з огляду на той факт, що контамінація ран в експериментальних тварин проводилася штамами збудників, які є типовими етіологічними агентами ранової інфекції [18]. За результатами морфометричних досліджень виявлено, що як комбінований препарат на основі колагенази, так і препарат на основі мірамістину ефективно впливають на зменшення виразності запальної інфільтрації, про що свідчить швидке зменшення щільності лейкоцитарних елементів. Водночас дані гістологічних досліджень засвідчують швидшу динаміку загоєння рани і досягнення повного закриття ранового дефекту саме при використанні препарату з ферментом колагеназою, на відміну від груп тварин, яких лікували іншими засобами без колагенази. Це підтверджує нашу думку про переваги і ефективність застосування колагенази в лікуванні гнійних ран не лише як ферментативного дебридменту, а як препарату впливу на важливі аспекти в першій і другій фазі ранового процесу. Адже для своєчасного загоєння рани, особливо гнійної, у якій наявність бактеріальної інфекції передусім продовжує фазу запалення і перешкоджає нормальному перебігу ранового процесу, необхідно досягти балансу між його різними компонентами.

Висновки

1. У межах проведеного дослідження з лікування в щурів експериментальних ран, контамінованих стійкими до антибіотиків штамами *S. aureus* і *P. aeruginosa*, за морфометричними показниками виявлено аналогічний швидкий і ефективний вплив на зменшення щільності лейкоцитів, а отже і виразності бактеріального запалення в рані, двох препаратів – комбінованого препарату колагенази з мірамістином і мазі на основі виключно мірамістину.

Комбінований засіб містить нижчу концентрацію антисептика мірамістину (2000 мкг/мл), ніж другий препарат, в якому концентрація мірамістину становить 5000 мкг/мл. Однак очевидним є той факт, що інша діюча речовина у складі комбінованого засобу – протеолітичний фермент колагеназа – посилює ефект антисептика шляхом лізису некротичних елементів і бактеріальних клітин, сприяючи механічному очищенню ранової поверхні.

2. Результати гістологічних досліджень продемонстрували значно швидшу динаміку загоєння рани і досягнення повної епітелізації ранового дефекту на 10-ту добу експерименту в щурів, пролікованих препаратом із колагеназою, на відміну від груп тварин, яких лікували іншими засобами. Це свідчить про переваги і ефективність застосування колагенази в лікуванні гнійних ран не лише як ферментативного дебридменту, а і як препарату впливу на важливі аспекти в першій і другій фазі ранового процесу.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

References/Література

1. Alipour H, Raz A, Zakeri S, Djadid ND. (2016). Therapeutic applications of collagenase (metalloproteases): A review. *Asian pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6: 975–981.
2. Andersen BM. (2018). Prevention of Postoperative Wound Infections. *Prevention and Control of Infections in Hospitals: Practice and Theory*. 453–489. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99921-0_33.
3. Brocke T, Barr J. (2020). The History of Wound Healing. *The Surgical clinics of North America*. 100(4): 787–806. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2020.04.004>.
4. Global Surg Collaborative. (2018). Surgical site infection after gastrointestinal surgery in high-income, middle-income, and low-income countries: a prospective, international, multicentre cohort study. *The Lancet. Infectious diseases*. 18(5): 516–525. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30101-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30101-4).
5. Guest JF, Fuller GW, Vowden P. (2020). Cohort study evaluating the burden of wounds to the UK's National Health Service in 2017/2018: update from 2012/2013. *BMJ open*. 10(12): e045253. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-045253>.
6. Guest JF, Vowden K, Vowden P. (2017). The health economic burden that acute and chronic wounds impose on an average clinical commissioning group/health board in the UK. *Journal of wound care*. 26(6): 292–303. <https://doi.org/10.12968/jowc.2017.26.6.292>.
7. Gushiken LFS, Beserra FP, Bastos JK, Jackson CJ, Pellizzon CH. (2021). Cutaneous Wound Healing: An Update from Physiopathology to Current Therapies. *Life (Basel, Switzerland)*. 11(7): 665. <https://doi.org/10.3390/life11070665>.
8. Halim AS, Khoo TL, Saad AZ. (2012). Wound bed preparation from a clinical perspective. *Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India*. 45(2): 193–202. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.101277>.
9. Han G, Ceilley R. (2017). Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Advances in therapy*. 34(3): 599–610. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0478-y>.
10. Hrynshyn A, Simões M, Borges A. (2022). Biofilms in Surgical Site Infections: Recent Advances and Novel Prevention and

Original articles. General surgery

- Eradication Strategies. Antibiotics (Basel, Switzerland). 11(1): 69. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010069>.
11. Karppinen SM, Heljasvaara R, Gullberg D, Tasanen K, Pihlajaniemi T. (2019). Toward understanding scarless skin wound healing and pathological scarring. F1000Research. 8: F1000. Faculty Rev-787. <https://doi.org/10.12688/f1000research.18293.1>.
 12. McCallon SK, Weir D, Lantis JC 2nd. (2015). Optimizing Wound Bed Preparation With Collagenase Enzymatic Debridement. The journal of the American College of Clinical Wound Specialists. 6(1–2): 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.jccw.2015.08.003>.
 13. Niederstätter IM, Schiefer JL, Fuchs PC. (2021). Surgical Strategies to Promote Cutaneous Healing. Medical sciences (Basel, Switzerland). 9(2): 45. <https://doi.org/10.3390/medsci9020045>.
 14. Olsson M, Järbrink K, Divakar U, Bajpai R, Upton Z, Schmidten A, Car J. (2019). The humanistic and economic burden of chronic wounds: A systematic review. Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society. 27(1): 114–125. <https://doi.org/10.1111/wrr.12683>.
 15. Payne WG, Salas RE, Ko F, Naidu DK, Donate G, Wright TE, Robson MC. (2008). Enzymatic debriding agents are safe in wounds with high bacterial bioburdens and stimulate healing. Eplasty. 8: e17.
 16. Ramundo J, Gray M. (2009). Collagenase for enzymatic debridement: a systematic review. Journal of wound, ostomy, and continence nursing: official publication of The Wound, Ostomy and Continence Nurses Society. 36; 6 Suppl: S4–S11. <https://doi.org/10.1097/WON.0b013e3181bfd83>.
 17. Reinke JM, Sorg H. (2012). Wound repair and regeneration. European surgical research. Europäische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales europeennes. 49(1): 35–43. <https://doi.org/10.1159/000339613>.
 18. Sen CK. (2021). Human Wound and Its Burden: Updated 2020 Compendium of Estimates. Advances in wound care. 10(5): 281–292. <https://doi.org/10.1089/wound.2021.0026>.
 19. Wilkinson HN, Hardman MJ. (2020). Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. Open biology. 10(9): 200223. <https://doi.org/10.1098/rsob.200223>.

Відомості про авторів:

Рауцкіс Віктор Повіласович – аспірант каф. загальної хірургії ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Адреса: м. Вінниця, вул. Пирогова, 56. <https://orcid.org/0000-0002-1715-0318>.

Хіміч Сергій Дмитрович – д.мед.н., проф., зав. каф. загальної хірургії ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Адреса: м. Вінниця, вул. Пирогова, 56. <https://orcid.org/0000-0002-8643-2140>.

Стаття надійшла до редакції 31.05.2024 р., прийнята до друку 09.09.2024 р.