РАЗДЕЛ I. МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

Мельников В.В., Концевая С.Ю.

Разработка методов лечения ожоговой болезни III степени у животных (экспериментальная часть)

ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет им. В.Я.
Горина»
(Россия, Белгород)

doi: 10.18411/sr-05-12-2021-01

Аннотация

Применение секрета мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), в результате проведенных доклинических испытаний, показало статистически достоверный терапевтически значимый эффект в лечении ожоговых ран III степени у лабораторных животных (крыс), в сравнении с традиционной терапией (мазь Левомеколь).

Ключевые слова: комбустиология, раневой процесс, лабораторные животные, термические ожоги, ожоговый шок, септикотоксемия, острая ожоговая токсемия, крысы, реконвалесценция, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК).

Введение

В ветеринарной комбустиологии ожоговая болезнь у домашних и сельскохозяйственных животных является серьезной проблемой. Чаще всего термическим ожогам животные подвергаются в результате пожаров, раскаленных металлических предметов, воздействия кипятка, пара или других горячих жидкостей, а также горячего воздуха. Последствия ожоговой болезни проявляются не только местными патологическими изменениями, но и общими системными нарушениями организма [4].

Применяемые в современной ветеринарной хирургии и медицине способы лечения ожоговых травм имеют ряд своих недостатков.

- 1) Лечение и профилактика раневой инфекции – очень сложный и трудоемкий процесс, поэтому всегда непросто снизить уровень раневой интоксикации.
- 2) Из-за невозможности быстрой транспортировки пациента в ветеринарную клинику (мелкие домашние животные) вызывают затруднения профилактика нарушения и восстановления кровоснабжения тканей, прилежащих к зонам глубокого поражения.
- 3) Не всегда удается быстро освободить ожоговую рану от нежизнеспособных тканей.
- 4) На данный момент в ветеринарной оперативной хирургии имеются большие сложности в восстановлении целостности кожного покрова у животных путем хирургического пластического закрытия раневых дефектов.
- 5) Длительное лечение и последующее восстановление.

Поэтому в настоящее время по-прежнему остается актуальным консервативное лечение ожоговых ран.

Ожоговую болезнь условно можно разделить на четыре стадии течения в зависимости от характера преобладания патологических изменений в организме животного.

- 1) Ожоговый шок трех степеней: легкая степень (общая площадь поражения до 20 – 40%); тяжелая степень (общая площадь поражения 41 – 60%); крайне тяжелая степень (площадь ожога более 60%).
- 2) Острая ожоговая токсемия.
- 3) Септикотоксемия (инфекционные осложнения).
- 4) Реконвалесценция.

Ожоговый шок является ответной реакцией организма на очень сильный болевой раздражитель (термическая травма). Как следствие он приводит к расстройству центральной, местной и периферической гемодинамики с нарушением микроциркуляции и обменных процессов. Функция эндокринных желез, центральной нервной системы и других систем организма при длительном болевом раздражении нарушается. При ожоговом шоке наиболее выраженной симптоматикой является олигурия, вплоть до анурии, и гемоконцентрация [1].

При стадии токсемии, попадающие в кровь токсины, продукты распада и недоокисленные продукты, нарушают процессы всасывания жидкости из тканей. Так наступает вторая фаза ожоговой болезни. Острая ожоговая токсемия наступает на 3-4 сутки после травмы и длится до 10-15 дней с характерными признаками общей интоксикации. Общая интоксикация приводит к гипертермии, анемии, гипо- и диспротеинемии, а также к метаболическому ацидозу. Характерны иммунологические изменения по типу аутосенсibilизации [1].

Септикотоксемия наблюдается при обширных и глубоких ожогах IIIA степени и проявляется через 10-14 дней после ожога. При этом наблюдается интоксикация, нарастает анемия, диспротеинемия, усиливается плазмопотеря. При этом часто возникают инфекционные осложнения (вторичные инфекции), потеря белка. Снижается иммунологическая реактивность пациентов, процесс регенерации замедляется. Возникает ожоговое истощение, которое проявляется в виде общей ареактивности, деструктивных изменений пищеварительного канала, печени и других органов. Вероятна возможность распространения инфекции и возникновения ожогового сепсиса. Во время активного воспаления в ране и очищения ее от некроза возникает ранний ожоговый сепсис. Когда рана очистилась от омертвевших тканей (спустя 5-6 недель после травмы), возникает поздний ожоговый сепсис [1].

В период восстановления общих и местных изменений наступает стадия реконвалесценции. Часто после перенесенных глубоких и обширных ожогов у пациентов отмечаются рубцовые контрактуры, остаются стойкие изменения функции печени и почек [1].

Теория и практика лечения ожоговых травм у домашних и сельскохозяйственных животных свидетельствует, что на сегодняшний день эффективных и современных методов лечения в ветеринарной комбустологии недостаточно.

Материалы и методы исследований

Для проведения исследований виварием института фармакологии живых систем (ИФЖС) НИУ «БелГУ» были выделены опытная и контрольные группы лабораторных крыс в количестве 14 голов. Экспериментальные исследования проводились на кафедре незаразной патологии ФГБОУ ВО «Белгородский аграрный университет им. В.Я.Горина», в виварии ФГБОУ ВО «Белгородский аграрный университет им. В.Я.Горина». Работы с животными проводились в соответствии с современными стандартами Этического комитета и требованиями биоэтических норм (Н.Н.Каркищенко, 2010).

Для проведения лабораторных исследований были задействованы независимая ветеринарная лаборатория «АртВет» (гематологические и биохимические исследования), ФГБУ «Белгородская МВЛ» (гистологические и патоморфологические исследования). Осуществлялось сотрудничество с международной фармацевтической

компанией «NoviStem» (мазь с секретомом мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК)).

Объектом экспериментальных исследований являлись белые беспородные крысы в возрасте 4-9 месяцев с массой 300-350 г в количестве 14 особей ($n = 14$). Все животные находились на стандартном рационе питания в виварии со свободным доступом к пище и воде.

До начала эксперимента все крысы были выдержаны на карантине в течение 14 суток. За трое суток до начала эксперимента осуществлялось мечение групп крыс без установки на их теле особых меток. Все крысы содержались в индивидуальных клетках с установленными на них карточками экспериментальной группы. Перед проведением опытов лабораторные животные взвешивались, проводились общий осмотр и термометрия.

У экспериментальных животных ожоговые раны были смоделированы на спине по отработанной методике. С этой целью за несколько часов до нанесения ожогов проводили выбривание шерсти на спине крысы латеральное позвоночного столба размером 3 x 0,5 см. Для миорелаксации, седации и обезболивания был использован 2% раствор Ксилазина гидрохлорида внутримышечно в дозе 0,1 мл на голову. В дальнейшем использовался эфирный наркоз (диэтиловый эфир). Под эфирным наркозом наносили ожоги прибором для выжигания, который прислоняли рабочей частью к выбритой области на спине крысы при температуре 200⁰С с экспозицией 10 секунд.

С помощью секундомера измеряли время. Измерения ожоговой площади проводились на 1-е, 5-е, 12-е и 21-е сутки эксперимента.

В начале опыта крыс разделили на три группы: контрольная (4 крысы), опытная группа №1 (5 крыс) и опытная группа №2 (5 крыс). Со вторых суток эксперимента крысам контрольной группы ожоговую рану не обрабатывали. Крысам опытной группы №1 обрабатывали рану 1 раз в сутки утром мазью Левомеколь, а крысам опытной группы №2 - бальзамом Гамабиол плюс с секретомом ММСК с концентрацией в 0,5 и 5% (3 крысы - 5% концентрация и 2 крысы - 0,5% концентрация препарата).

Систематические наблюдения велись для сравнительной характеристики эффективности терапии.

Чтобы изучить степень влияния различных лекарственных препаратов на процесс заживления ожоговых ран были проведены следующие исследования:

- 1) оценка клинического состояния животных, которая включает в себя измерение температуры и наблюдение за общим состоянием;
- 2) изучение регенеративных процессов поврежденных тканей у крыс с помощью визуальной оценки и планиметрического исследования, а также гистологического исследования ожоговых ран;
- 3) изучение динамики морфологических и некоторых общеклинических и биохимических показателей крови у крыс контрольной и опытных групп до постановки опыта, а затем на 2-е, 8-е, 15-е и 21-е сутки эксперимента [3].

Порядок исследования и описания ожоговой раневой поверхности: визуально оценивалась стадия раневого процесса, степень ожога, клинические признаки, состояние ожоговой раны под струпом. С помощью измерительной линейки выполнялось исследование раневой поверхности [4].

С целью выявления морфологических изменений в обожженных тканях было проведено гистологическое и патоморфологическое вскрытие.

Исследование усыпленных лабораторных животных проводились на базе патологоанатомического отдела ФГБУ «Белгородской МВЛ». Там были проведены все необходимые исследования по вскрытию животных с установлением патологоанатомического диагноза с фотографиями. Для последующего гистологического исследования была взята биопсия мягких тканей раневой области.

У лабораторных животных кровь для исследований брали интракардиально (внутрисердечно), а также из ретро-бульбарного синуса в утреннее время, перед кормлением. Помещали в вакуумные пробирки с антикоагулянтом EDTA K3 для проведения общеклинического анализа и в сухие вакуумные пробирки (для получения сыворотки) для биохимического исследования. При проведении общеклинического исследования крови учитывали основные показатели, а также, развернутую лейкограмму, эритроцитарные индексы и СОЭ. При проведении биохимического исследования учитывались такие показатели как альбумин, мочеви́на, креатинин, ГГТ, АСТ, АЛТ, щелочная фосфатаза (ЩФ), общий билирубин, общий белок, триглицериды [3].

Животные выводились из опыта путем умерщвления под эфирным наркозом.

Результаты эксперимента и их обсуждение

Всего в эксперименте приняло участие 14 лабораторных крыс.

У крыс всех групп сформировался ожог III степени размером $2,5 \pm 0,5 \times 1 \pm 0,5$ см. Размер ожоговой раны на 1-е, 5-е, 12-е, 21-е сутки лечения представлен в таблице 1.

Таблица 1

Размер ожоговой раны у крыс на 1-е, 5-е, 12-е, 21-е сутки лечения

Экспериментальные группы	1-е сутки лечения	5-е сутки лечения	12-е сутки лечения	21-е сутки лечения
Контрольная группа - 4 головы	от 2,5x1,2 см до 2,0x1,0 см	от 2,0x0,7 см до 1,0x0,5 см	от 1,9x0,4 см до 1,0x0,4 см	от 1,5x0,2 см до 1,0x0,2 см
Опытная группа №1 (мазь Левомеколь) - 5 голов	от 3,0x1,5 см до 2,0x1,4 см	от 1,9x0,5 см до 1,5x0,5 см	от 1,7x0,4 см до 1,3x0,4 см	от 1,2x0,4 см до 1,1x0,2 см
Опытная группа №2 (секретом ММСК 5%) – 3 головы, с 5-х суток – 1 голова	от 2,5x1,2 см до 1,8x1,2 см	1,5x0,5 см	1,4x0,4 см	0,4x0,2 см
Опытная группа №2 (секретом ММСК 0,5%) - 2 головы	от 2,5x 1,2 см до 2,0x1,0 см	от 1,3x0,5 см до 1,0x0,5 см	от 1,1x0,4 см до 0,9x0,3 см	от 0,6x0,2 см до 0,4x0,2 см

О развитии ожоговой болезни свидетельствуют изменения внутренних органов у крыс всех групп, обнаруженные при патологоанатомическом вскрытии животных, которое проводилось на 21 сутки. В таблице 2 представлены патологоанатомические диагнозы крыс контрольной, опытной 1-й и опытной 2-й групп (21 сутки эксперимента).

Таблица 2

Патологоанатомические диагнозы крыс контрольной, опытной 1-й и опытной 2-й групп (21 сутки эксперимента)

Вид терапии	Патологоанатомический диагноз
Крыса, получавшая терапию мазью Левомеколь	Кровоизлияния в легкие и печень, дистрофия печени, венозная гиперемия печени и почек, отек головного мозга, ожог области спины в стадии регенерации.
Крыса, получавшая терапию 5% секретомом ММСК	Рубцовые изменения в миокарде, гемоперикард, венозная гиперемия печени и почек, дистрофия печени, отек головного мозга, ожог области спины в стадии регенерации.
Крыса, получавшая терапию 0,5% секретомом ММСК	Кровоизлияния в легкие, венозная гиперемия печени и почек, дистрофия печени, отек головного мозга, ожог области спины в стадии регенерации.
Крыса контрольной группы	Венозная гиперемия легких, печени и почек, дистрофия печени, отек головного мозга, ожог области спины в стадии регенерации.

Выводы

В результате проведенных исследований статистически достоверный эффект в лечении ожоговых ран у лабораторных животных показало применение секретомы

мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани крупного рогатого скота (ММСК) в сравнении с традиционной терапией (мазь Левомеколь),

За счет дифференциации в те или иные виды клеток мезенхимные стволовые клетки способны к регенерации тканей. ММСК продуцируют биоактивные протеины, такие, как различные факторы роста, факторы, прекращающие нежелательный апоптоз и обеспечивающие хемотаксис. При этом в месте повреждения создается метаболический эффект, неоваскуляризация, привлечение дополнительных ММСК, которые, в свою очередь, дифференцируются и/или продуцируют дополнительные биологически активные пептиды [2].

Данный метод лечения показал свое преимущество в восстановлении целостности структур кожи при ожогах за счет способности мезенхимных стволовых клеток усиливать регенераторные и противовоспалительные процессы. Это обусловлено тем, что клетки моноклеарной фракции под влиянием ММСК из жировой ткани продуцируют ряд цитокинов и факторов роста, стимулирующих образование грануляционной ткани и регенерацию придатков кожи [1].

В результате проведенных исследований были сделаны следующие выводы.

- На первом этапе раневого процесса (фаза гидратации) во избежание инфекционных осложнений необходимы антибактериальные средства. Данный вывод был сделан в результате лечения мазью Левомеколь: крысы, получавшие мазь Левомеколь, имели наименьшую способность к гнойной экссудации в отличие от контрольной и опытной группы №2, в особенности на ранних этапах лечения (до 7 суток лечения).
- После 7-8 суток, во вторую фазу (фазу дегидратации), для лечения ожоговых ран предпочтительнее использовать мазь с секретом ММСК, которая показала высокую способность к регенерации ткани и значительно уменьшила сроки выздоровления (с 21 до 15-16 суток лечения).

1. Петров С.В. Общая хирургия / Петров С.В. – Москва : ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 768 с. – ISBN 978-5-9704-1572-6. – Текст : электронный // URL : <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970415726.html> (дата обращения: 14.02.2021).
2. Н.В. Богачева, М.Э. Колман. Кондиционная среда мезенхимальных стромальных клеток: новый класс терапевтических средств.//Биохимия. 2019.- том 84- вып. №11.- с. 1701 – 1717.
3. Шнякина Т.Н. Гематологические и клинические исследования при лечении экспериментальной ожоговой раны у собак / Т.Н.Шнякина, Н.М. Безина, П.Н. Щербаков// Вестник Алтайского государственного университета, 2017. - №4. – С.127-131.
4. Безина Н.М. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по теме «Клинико-экспериментальное обоснование способа лечения ожоговой травмы у животных, Троицк, 2018г.

Мехралиев О.Ш.

Сравнительная оценка качества жизни пациентов с метастатическими поражениями лимфоузлов при раке молочной железы

*Научно-исследовательский центр Азербайджанского медицинского университета
(Азербайджан, Баку)*

doi: 10.18411/sr-05-12-2021-02

Аннотация

В последнее десятилетие значительный рост заболеваемости, большое количество осложнений, прогрессирующий характер течения, низкий процент реабилитации в современном обществе обуславливают необходимость не только