

на 1 дозу синтетической среды.

Библиографический список

1. Сердюк, С.И. Среда для спермы хряков / С.И.Сердюк // Доклады советских ученых к 6-му Международному конгрессу по размножению и искусственному осеменению животных. – М. ,1968. – С. 138-141.
2. Среда для разбавления и хранения спермы хряков. Инструкция по использованию.- М. :Колос, 1991.- 5 с.
3. Милованов, Виктор Константинович. Биология воспроизведения и искусственного осеменения животноводства: монография / В.К. Милованов. – М., 1962. – 696 с.
4. Балашов, Н.Г. Среды для разбавления и хранения спермы сельскохозяйственных животных / Н.Г.Балашов, М.Е.Евсюков. – Все-российский государственный научно-контрольный институт ветпрепаратов, 1977. – 6 с.
5. Вишневский, Е.П. Влияние влажности воздуха на свойства материалов / Е.П.Вишневский, Г.В.Чепурин // Журнал С.О.К. – 2010.-№ 3-4. -С.32-35.
6. Анисимов, А.Г. Влияние различной влажности компонентов синтетической среды для разбавления спермы и сроков ее хранения на показатели воспроизводства свиноматок / А.Г. Анисимов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – №2 (22). – С.48-51.
7. Сажин, Б. С. Основы техники сушки / Б.С.Сажин. - М.: Колос. – 1984. - 150 с.
8. ГОСТ 17637-72. Среда глюкозо-цитратно-сульфатная для хранения спермы хряков. Инструкция по использованию. М. – бс
9. Джамалдинов, Абдулазиз Чупанович. Интенсификация репродуктивной функции хряков-производителей с использованием биотехнологических методов: дис. ... д-ра биологических наук: 03.00.13 /А.Ч. Джамалдинов. – Дубровицы, 2006. -318 с.
10. Савин, О. Влияние технологических и биологических факторов на результативность осеменения свиней охлажденной спермой: автореф. дис. ... канд. биологических наук / О.Савин. – Дубровицы, 1999. – 21 с.
11. Нарижный, А.Г. Биологическая полноценность разбавителя для спермы хряков в зависимости от сроков хранения и упаковочного материала / А.Г.Нарижный, А.Г.Анисимов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. - №2 (26). – С.89-92.
12. Кольцов, С.И. Силикагель, его строение и химические свойства / С.И. Кольцов, В.Б. Алексовский.– Л., – 1963.- 120 с.

УДК 619:616-085.36+615

DOI 10.18286/1816-4501-2015-2-124-131

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У БЫЧКОВ С ГНОЙНЫМИ КОЖНО-МЫШЕЧНЫМИ РАНАМИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПРЕПАРАТОМ «РАНИНОН»

Раксина Иванна Семеновна, кандидат ветеринарных наук

Ермолаев Валерий Аркадьевич, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой «Хирургия, акушерство, фармакология и терапия»

Ляшенко Павел Михайлович, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Хирургия, акушерство, фармакология и терапия»

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

432017, г. Ульяновск, бульвар Венец, 1; тел.: (8422) 55-95-98

e-mail: ivanna.sukhina@mail.ru

Ключевые слова: инфицированные, гнойные, кожно-мышечные раны, гистологическое исследование, биопсия, воспаление, заживление

Рассмотрена морфология раневого процесса у бычков с экспериментально воспроизведёнными кожно-мышечными гнойными ранами в области бедра задних конечностей. Проведено сравнительное изучение ранозаживляющих свойств мазей «Левомиколь» и «Ранинон». В основу изучения взято гистологическое исследование биопсийного материала в основные фазы течения раневого процесса.

Введение

В настоящее время специалистами всего мира ведётся разработка новых и усовершенствование существующих препаратов для лечения ран, так как имеющиеся средства и способы не всегда отвечают требованиям лечебно-профилактической работы в условиях современного и интенсивного ведения животноводства [1, 2, 3].

Одной из важных проблем ветеринарной медицины на протяжении многих лет является поиск эффективных методов лечения инфицированных раневых процессов мягких тканей. Обусловлено это тем, что протекание раневого процесса и наличие анаэробной, аэробной микрофлоры в очагах гноиного воспаления приводит к нарушению тканевого дыхания в участках заражения, выживая нарушения, которые в конечном итоге ведут к развитию ацидоза, гипоксии и метаболической интоксикации организма и, как следствие, к ранней выбраковке животных [3].

На сегодняшний день медицинской и ветеринарной наукой разработано и предложено множество антимикробных препаратов. Однако явление резистентности у микробов к используемым лекарственным препаратам, снижение общей и местной иммунологической реактивности животных требуют совершенствования уже имеющихся и поиска новых средств лечения [4].

Они в свою очередь должны оказывать комплексное антибактериальное, противовоспалительное и репаративное воздействие с восстановлением анатомической структуры при условии минимальных функциональных потерь [5].

В комплексной терапии и профилактике дерматологических патологий и лечении ран различной этиологии уже на протяжении многих лет используют мази, интерес к которым сильно возрос в связи с переходом от гидрофобной, приготовленной на жиро-

вой ланолин-вазелиновой основе, к новой, водорастворимой, на основе комбинации полиэтиленоксидов с разной молекулярной массой [6].

Целью данной работы является сравнительное морфологическое исследование раневого процесса экспериментальных инфицированных кожно-мышечных ран у бычков, с использованием в лечении мазей на полиэтиленоксидной основе «Левомиколь» и «Ранинон» [7].

Объекты и методы исследований

Экспериментальное исследование было выполнено на телятах чёрно-пёстрой породы в возрасте 12 месяцев, живой массой 200 ± 20 кг, содержащихся в течение всего периода эксперимента в одинаковых условиях, на стандартном пищевом рационе. Моделирование гноиных ран в области бедра задних конечностей латеральной стороны воспроизводили в соответствии с руководством [8]. Лечение всех животных начинали с проведения вторичной хирургической обработки раны стерильными ватно-марлевыми тампонами, смоченными стерильным физиологическим раствором, далее наносили лекарственное вещество в соответствии с группой. Раны у животных контрольной группы лечили мазью «Левомиколь», а у животных подопытной группы – мазью «Ранинон». Обработку проводили один раз в сутки до полного восстановления анатомической целостности кожного дефекта.

Для гистологических исследований проводили биопсию тканей, последующую консервацию и изготовление биоптатов по методике [9]. Гистологическое изучение раневых биоптатов осуществляли до лечения, на четвёртые, девятые, восемнадцатые, тридцатые сутки от начала лечения.

Все гистологические и морфометрические исследования проводились с при-

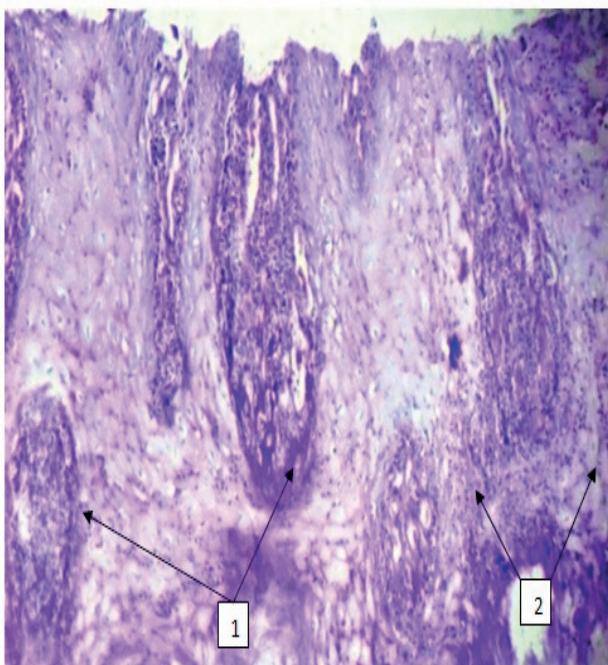


Рис. 1 – Некроз на уровне сосочкового слоя дермы кожно-мышечной раны у бычка № 93. 1 – формирование микроабсцессов; 2 – краевое стояние лейкоцитов. Ув. об. 10/0,25 х ок.10. окраска гематоксилином и эозином

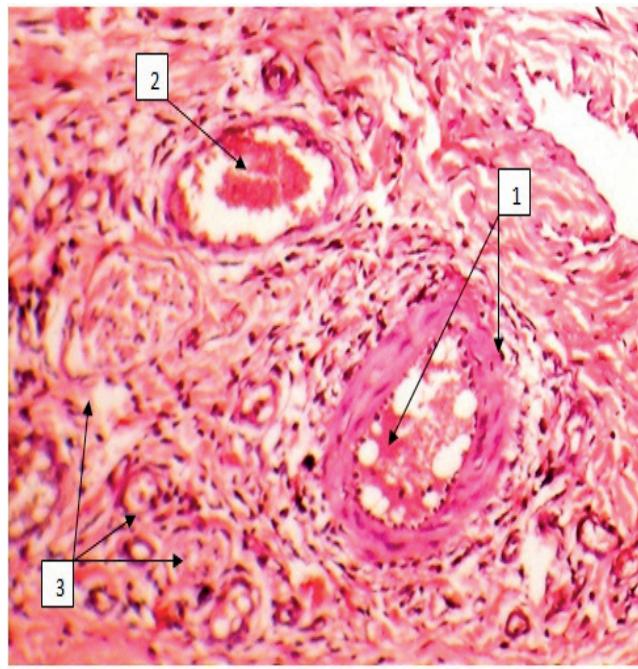


Рис. 2 – Раневой дефект на уровне ретикулярного слоя дермы у бычка № 91. 1 – краевое стояние лейкоцитов; 2 – эритроцитарный стаз; 3 – фибриновые тромбы. Ув. об. 10/0,25 х ок.10. окраска гематоксилином и эозином

менением исследовательского микроскопа «БИОМЕД-6» с набором объективов «ACHRO»-4/0,1, 10/0,25, 40/0,65 с окуляром WF 10Х. Фотографирование производили на фотоаппарат «SONY» Cyber-shot DSC-W550, 12-megapixels.

Анализ осуществляли исходя из биологии раневого процесса, присущего данному виду животных, ориентируясь на критерии гнойно-фибринозного типа воспалительной реакции; степень выраженности и продолжительности воспалительных проявлений в области раны (отёк, гиперемия, раневой экссудат), учитывали состояние краёв и дна раны, также фиксировали сроки появления грануляций, начало эпителиализации и заживление раневых дефектов.

Результаты исследований

В результате проведённых исследований были получены следующие данные: до лечения, на четвёртые сутки исследования, гистологическая картина была типичной для гнойной кожно-мышечной раны. Морфологические изменения повреждённой

ткани в этом периоде представляли собой сложный дегенеративно-воспалительный процесс, распространяющийся от поверхности эпидермиса и доходящий до скелетной мускулатуры. Фрагментарное и сегментарное изучение биоптатов выявило некроз эпидермиса, сосочкового и верхних частей ретикулярного слоя, а также большей части волосяных фолликулов и сальных желёз. Некротизированная ткань окрашивалась гомогенно, клеточные границы были не различимы, ядра отсутствовали. Внешние и внутренние слои содержали окрашенные в розовые тона зернистые массы, что свидетельствовало о наличии в его составе фибрина (рис. 1, 2).

Местами такие лейкоциты без выраженных признаков лейкоплазии формировали микроабсцессы, особенно это заметно со стороны сосочкового слоя дермы, что свидетельствовало об их выраженной протеолитической активности (рис.1). В ряде случаев они располагались диффузно, по типу флегмонозных участков, по периферии

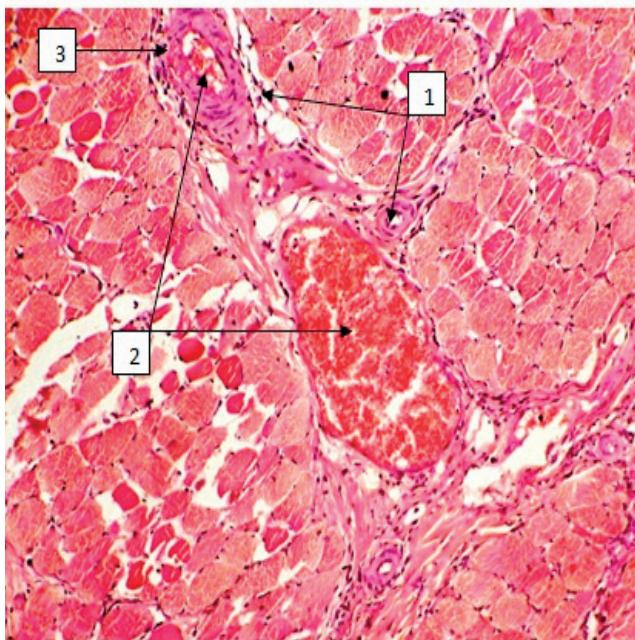


Рис. 3 – Раневой дефект в более глубоких слоях скелетной мускулатуры кожно-мышечной раны № 50. 1 – паретическое расширение сосудов по гиперемическому типу; 2 – стаз эритроцитов; 3 – утолщение базальной мембранны. Ув. об. 10/0,25 х ок.10. Окраска гематоксилином и эозином

которых в просвете сосудов микрогемоциркуляторного русла выявлялись конглютинационные и агглютинационные обтурирующие тромбы, что, по нашему мнению, способствовало формированию микронекрозов и дальнейшему распространению воспалительного процесса.

В таких сосудах отмечали значительные гемодинамические расстройства – просветы сосудов были резко расширены, заполнены эритроцитами, стенки утолщены. Повышенная проницаемость сосудистой стенки приводила к плазматическому пропитыванию экстравазального пространства и развитию отека как в самой повреждённой ткани, так и в тканях, прилегающих к ране. В зоне воспаления со стороны неповреждённых сосудов усиливалась сосудистая проницаемость. В связи с местным расширением сосудов возникал стаз клеток крови с характерным краевым стоянием лейкоцитов (маргинация) и выходом их из кровеносного русла (рис. 2).

В эндотелиальных клетках происходил

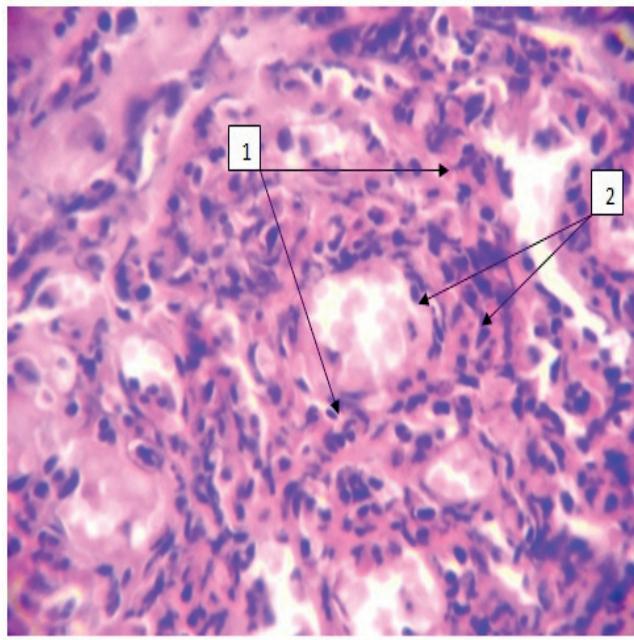


Рис. 4. – Фрагмент грануляционной ткани гнойной кожно-мышечной раны у бычка № 91 на девятое сутки лечения. 1 – отёк новообразованных сосудов, пропитывание плазмой крови; 2 – стаз эритроцитов с лейкоцитарными клетками. Ув. об. 40/0,65 х ок.10. Окраска гематоксилином и эозином

ряд изменений: изменялся цитологический скелет клеток и межклеточные контакты, повреждался эндотелий с лизисом и отслойкой или происходила отслойка эндотелия без лизиса. Перечисленные расстройства микрогемоциркуляторного русла, обусловленные внутрисосудистыми и внесосудистыми изменениями, послужили причиной местной пролонгированной циркуляторной гипоксии тканей до начала лечения.

При изучении биоптатов подретикулярного слоя дермы и подкожно жировой клетчатки, непосредственно примыкающих к мышечным волокнам, показали нам, что наряду с инфильтрацией тканей выявлялись очаги полного и частичного лизиса мышечных волокон (рис. 3).

Данные патологические изменения носили характер полной и частичной дефрагментации скелетной мускулатуры. В зоне инфильтрационного отёка, который затрагивал скелетную мускулатуру, в более глубоких слоях регистрировали нарушения гемодинамики, которые развивались по ги-

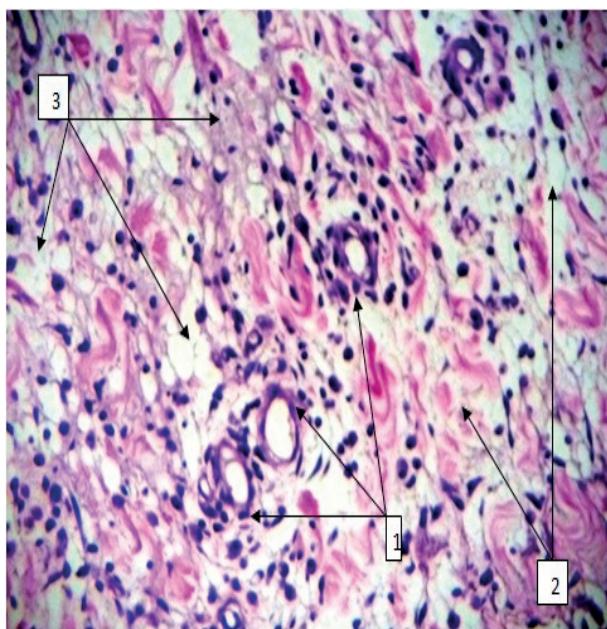


Рис. 5. – Дисрегенерация формирования неполноценной грануляционной ткани в кожно-мышечной ране у бычка № 67 на восемнадцатые сутки (контрольная группа мазь «Левомиколь»). 1 – лейкоцитарные муфты; 2 – диспропорция в формировании фибробластов и коллагеновых волокон; 3 – периваскулярный отёк и пропитывание тканей плазмой. Ув. об. 10/0,25 х ок.10. Окраска гематоксилином и эозином

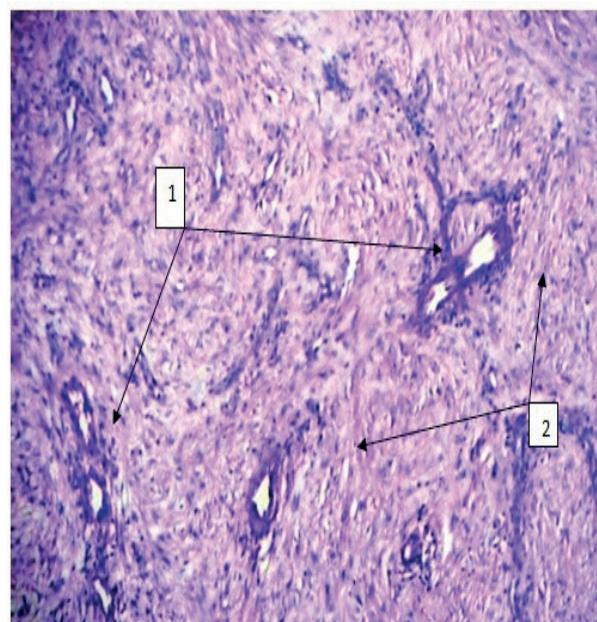


Рис. 6. – Фрагмент раневого дефекта грануляционной ткани кожно-мышечной раны у бычка № 94 на восемнадцатые сутки (подопытная группа мазь «Ранилон»). 1 – образование сосудистых петель из сосудов неокапилляргенеза (продуктивный митоз); 2 – формирование эластичных коллагеновых волокон. Ув. об. 10/0,25 х ок.10. Окраска гематоксилином и эозином

перемическому типу, в частности, сопровождались паретическим расширением крупных сосудов, стазом крови, нарушением венозного оттока из-за утолщения базальной мембранны вен и снижением вазомоторной активности артерий.

Результаты морфометрического анализа на девятые сутки лечения не выявили отличных от описанных в литературе признаков заживления в обеих группах, заявленных в эксперименте.

При исследовании более глубоких слоев раны в этот срок отмечали формирование молодой грануляционной ткани. Однако стенки новообразованных сосудов грануляционной ткани были утолщены, отёчны, пропитаны плазмой крови. Несмотря на выраженную перифокальную сосудистую реакцию, в эндотелиальных просветах сосудов содержатся преимущественно эри-

троциты и единичные лейкоциты. Этот факт свидетельствует о сохраняющейся серозно-фиброзной экссудации, соответствующей фазе травматического воспаления (рис. 4).

К восемнадцатым суткам в обеих группах нейтрофильная инфильтрация стабилизируется, имеет место увеличение числа макрофагов и молодых фибропластических элементов. Но при более тщательном изучении биоптатов именно в эти сроки исследования мы начали констатировать значительные изменения, касающиеся клеточной пролиферации и миграции между группами.

В контрольной группе при использовании мази «Левомиколь» в участках созревания грануляционной ткани нами отмечено несоответствие между достаточно высоким удельным объёмом вновь образованных сосудов, а также фибробластов и формированием коллагеновых волокон.

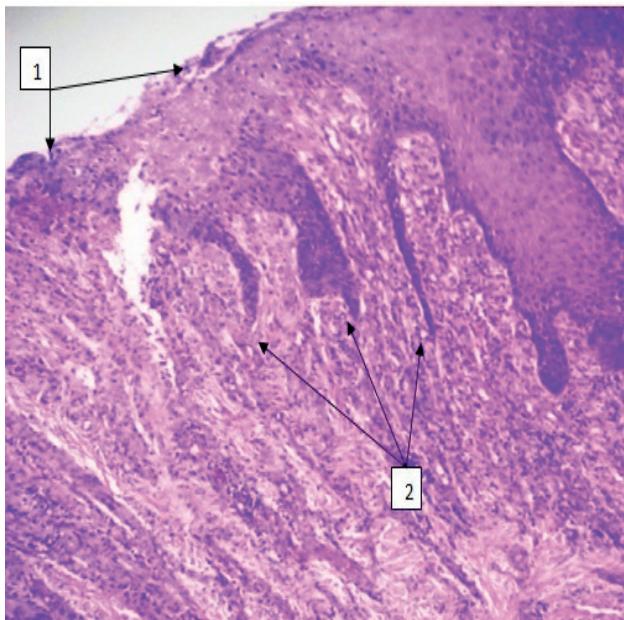


Рис. 7 – Фрагмент раневого дефекта кожно-мышечной раны у бычка № 89 на тридцатые сутки (контрольная группа, мазь «Левомиколь»). 1 – наполнение эпителиальных клеток на грануляционную ткань; 2 – частичная эпителиализация в образованную грануляционную ткань. Ув. об. 10/0,25 х ок.10. Окраска гематоксилином и эозином

Даже несмотря на значительное уменьшение количества полиморфоядерных лейкоцитов, вокруг отдельных сосудов мы выявляли лейкоцитарные муфты, свидетельствующие о сохранении лейкоцитарной активности. В условиях плазматического пропитывания и лимфостаза в части биоптатов этой группы обнаруживали локальное и сегментарное наличие неполноценной персистирующей грануляционной ткани с особой ячеистой структурой, с рыхлой коллагенезацией стромы (рис. 5).

В это же время при исследовании биоптатов подопытной группы при использовании мази «Ранинон» обнаружили, что раневые дефекты были заполнены зрелой грануляционной тканью, хотя на поверхности сохранялся тонкий слой наложений фибрина с незначительным количеством нейтрофильных лейкоцитов. С уменьшением признаков воспаления уменьшалось и количество макрофагов. В подлежащей ткани

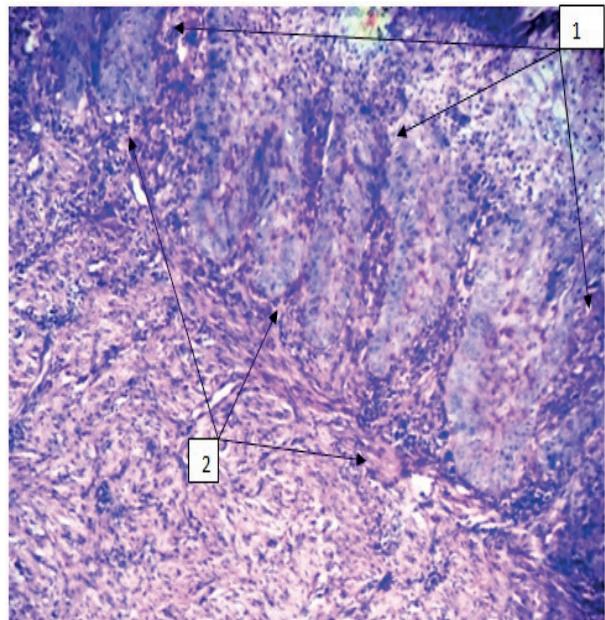


Рис. 8 – Фрагмент раневого дефекта кожно-мышечной раны у бычка № 98 на тридцатые сутки (подопытная группа, мазь «Ранинон»). 1 – локальная и сегментарная эпителизация; 2 – эпителиальные выросты в грануляционную ткань. Ув. об. 10/0,25 х ок.10. Окраска гематоксилином и эозином

имелось большое количество волокнистых структур, состоящих из тонких коллагеновых волокон. В зрелой грануляционной ткани было много фибробластов крупных размеров с чёткой ориентацией относительно поверхности раны. Такие же положительные сдвиги регистрировали и в отношении сосудов микроциркуляции. Нами был отмечен заметный неокапиллярогенез (образование капиллярных почек), а также сосудистых петель, которые по мере созревания занимали чёткую вертикальную ориентацию по отношению к поверхности раны и находились среди волокон коллагена и фибробластов (рис. 6).

Формирование полноценной грануляционной ткани является важной и во многом предопределяющей, однако процесс формирования эпителия представляет наибольший интерес, т.к. именно он формирует заживление кожного дефекта. Гистологическое исследование биоптатов на тридцатые

сутки в обеих группах выявили, что структура формирующегося неоэпидермиса была обусловлена закономерной эволюцией процессов пролиферации и дифференцировки клеток покровного эпителия.

Независимо от схемы лечения, как в контрольной, так и в опытной группе регенерация эпидермиса происходила как с краёв раневой поверхности, со стороны неизменённой кожи, так и из наружных частей сохранившихся волосяных фолликулов. Однако, несмотря на схожесть и закономерность выше обозначенных процессов, мы зарегистрировали ряд различий в fazу эпителизации. Так, в частности, во всех биоптатах контрольной группы при использовании мази «Левомиколь» на тридцатые сутки полной эпителизации дефекта кожи не наблюдалось. Созревание грануляционной ткани, образование фибробластов было замедлено, и эпителизация дефекта кожи только начиналась. Дефект кожи состоял из клеток гематогенного происхождения и фибробластов. По краю дефекта кожи начиналась сегментарная эпителизация, пласт эпидермиса наползал на грануляционную ткань (рис. 7).

В группе животных с применением мази «Ранинон» заживление дефекта происходило интенсивнее. В указанный срок наблюдалась локальная эпителизация поверхности дефекта кожи. В грануляционной ткани в это время отмечалось, помимо большого количества фибробластов, появление волокнистых структур. Регенерирующий эпидермис полностью покрывал дефект и образовывал значительные выросты в подлежащую грануляционную ткань, благоприятствующие быстрому заживлению и формированию типичных структур кожи. При анализе биоптатов также установили, что на тридцатые сутки в биоптатах из зоны краевой эпителизации в опытной группе вновь образованный эпидермис содержал большое число слоёв клеток и был в большей степени дифференцирован. Этот эпидермис выглядел как более зрелый (рис. 8).

Анализируя полученные данные, можно сказать, что процесс пролиферации в опытной группе шел без каких-либо патоло-

гических изменений. Стимуляция раневого процесса, по нашему мнению, реализовалась в значительной степени благодаря активации макрофагальной реакции и усилинию роста фибробластов. Активная пролиферация и дифференцирование последних от начала лечения до восемнадцатых суток лечения стимулировалась прямой доставкой кислорода и питательных веществ через сосуды микрогемоциркуляторного русла, как вновь образованных, так и трансформирующихся в более зрелые с вертикальным стоянием. Наличие такой грануляционной ткани подтверждалось и визуально. Именно в эти сроки в ранах начали появляться мелкозернистые, сочно оранжево-красные влажные блестящие грануляции. Таким образом, качественное образование экстрацеллюлярного матрикса «ложа», в комплексе с коллагеном и миофибробластами, создавало хорошие условия для фазы эпителизации. Однако повторная воспалительная реакция в этот скрытый незащищённый период (lag-fasa), по нашему мнению, вызванная действием ассоциативной полимикробной фло-ры, привела к выраженным расстройствам со стороны микроциркуляторного русла. Как следствие, мы выявляли нарушения в процессах васкуляризации во вновь образованных тканях, которые микроскопически имели вид персестирующей рыхлой грануляционной ткани, разбитой на отдельные сегменты. Визуально в этот период времени обнаруживали наличие грануляций, покрытых серым налётом и имеющих бледно-синеватую окраску, что в свою очередь свидетельствовало о патологическом и затяжном течении процесса раневого заживления.

Достоверно известно, что полноценно формирующийся клеточный фибро-коллагеновый матрикс грануляционной ткани напрямую через факторы роста влияет на переход раневого процесса в следующую fazу – эпителизацию. Структура новообразованного эпидермиса у представителей основной группы животных имела больше признаков зрелости, чем в контрольной группе. В группе животных, где использовали мазь «Ранинон», эпидермис в части биоптатов

содержал большое количество слоёв клеток и был в большей степени дифференцирован, в нём также было отмечено в эти сроки наличие формирующегося рогового слоя.

Выводы

Таким образом, в биоптатах из гнойных кожно-мышечных ран при местном лечении мазью «Ранинон» отмечена более благоприятная динамика репаративных процессов с несомненным их доминированием над альтеративно-воспалительными процессами в ранах, где использовали мазь «Левомиколь». Благоприятная динамика выражалась в более быстром увеличении фибробластов, функционально активных макрофагов, более раннем формировании грануляционной ткани, ранней эпителизации, что в конечном итоге сказалось на более ранних сроках закрытия раневого дефекта – на 4-5 суток раньше по сравнению с контролем.

Библиографический список

1. Влияние экзогенных факторов на состояние здоровья и продуктивность коров / Э.И. Веремей, В.М. Руколь, В.А. Журба, А.П. Волков, А.А. Стекольников, Б.С. Семенов // Актуальные проблемы ветеринарной хирургии. Материалы Международной научной конференции. 6-7 октября. - Ульяновск: ГСХА, 2011. - С. 20-30.
2. Гимранов, В.В. Обоснование и разработка комплексных методов диагностики, лечения и профилактики гнойно-некротических поражений в области пальцев у крупного рогатого скота: дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.05 / В.В. Гимранов. - Казань, 2006. - 300 с.
3. Динамика показателей белкового обмена крови у коров, больных гнойным пододерматитом / Е.М.Марьин, В.А. Ермолов, О.Н. Марьина, В.В. Идогов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.-2013.-№ 3 (23).-С. 86-89.
4. Ермолов, В.А. Доклинические исследования препарата «Ранинон»/ В.А. Ермолов, И.С. Сухина // Вестник Ульяновской сельскохозяйственной академии. - 2010. -№1. - С.93-96.
5. Сапожников, А.В. Клинико-морфологические показатели крови при лечении ран светодиодным излучением красного диапазона / А.В. Сапожников, И.С. Сухина, В.А. Ермолов // Материалы II Открытой Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Молодёжь и наука XXI века». - Ульяновск: УГСХА, 2007. -Часть 1. -С.148-151.
6. Клиническая хирургия в ветеринарной медицине: учебное пособие / Э.И. Веремей, А.А. Стекольников, Б.С. Семенов, О.К. Суховольский, В.М. Руколь, В.А. Журба, В.А. Ходас, А.А. Мацинович - Минск: ИВЦ Минфина, 2010. - 598 с.
7. Патент на изобретение № 2 473 328 Российской Федерации, МПК: A61K 9/06 (2006.01), A61K 36/06 (2006.01), A61P 17/02 (2006.01). Препарат для лечения гнойных ран у животных / В. А. Ермолов, И.С. Раксина; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. - № 2012101295/15, заявл. 13.01.2012; опубл. 27.01.2013 Бюл. № 3.
8. Шалимов, С.А. Руководство по экспериментальной хирургии / С.А. Шалимов, А.П. Радзиховский Л.В. Кейсевич. - М.: Медицина, 1989. - 272 с.
9. Судебно-медицинская гистология. Руководство для врачей. -2-е изд., перераб. и доп. / А.В. Пермяков, В.И. Витер, Н.И. Неволин. – Ижевск – Екатеринбург: Экспертиза, 2003. – 214 с.