

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2024-28(2)-03

УДК: 616-001.4-039.22-089:615.331+615.28:612.08

МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА ДИНАМІКИ ЗМІН РАНОВОГО ПРОЦЕСУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ БЛАСТОМУНІЛУ ТА ДЕКАМЕТОКСИНУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Хіміч О. С., Король А. П., Хіміч С. Д., Піторак В. І.

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: s-khimich@ukr.net

Статтю отримано 11 березня 2024 р.; прийнято до друку 15 квітня 2024 р.

Анотація. Мета дослідження - провести морфологічну оцінку ефективності застосування імуномодулятора Бластомуніл в комбінації з декаметоксином при лікуванні інфікованих ран в експерименті. Актуальність теми зумовлена пошуком нових лікарських форм для лікування інфікованих ран. При цьому морфологічна оцінка перебігу ранового процесу є надзвичайно важливою. Проведено дослідження на 40 щурах (4 групи тварин, по 10 у кожній). Усім тваринам під наркозом робили інфіковану рану на спині. 1-шу групу не лікували. 2-гу групу тварин лікували шляхом місцевого застосування 0,02% декаметоксину з накладанням стерильної марлевої пов'язки; 3-тю групу тварин лікували шляхом місцевого застосування 0,075 мг бластомунілу в 1 мл 0,02% розчину декаметоксину і також з накладанням стерильної марлевої пов'язки; 4-ту групу тварин лікували шляхом однократного введення внутрішньом'язово 0,12 мг бластомунілу на початку експерименту з наступним щоденним місцевим лікуванням комбінації 0,075 мг бластомунілу в 1 мл 0,02% розчину декаметоксину та накладанням стерильної марлевої пов'язки. Для оцінювання морфологічних змін ранового процесу тварин на 3, 7, 10 та 14-ту добу тварин під наркозом виводили з експерименту. Використання комбінованої суміші 0,02% декаметоксину з бластомунілом дозволило використати позитивний імуномодулюючий ефект бластомунілу та протимікробні властивості декаметоксину, що в цілому дало кращий результат завдяки швидкому очищенню рани, яка почала очищатись вже з 3-го дня і повністю була очищена на 7-й день. Під час лікування спостерігалось "лімфоцитарне та макрофагальне насичення" регенеративних тканин. Лікування комбінованою сумішшю 0,02% декаметоксину з бластомунілом на тлі додаткового внутрішньом'язового введення бластомунілу у тварин 4-ї групи не покращило (і навіть дещо погіршило) результати лікування тварин 3-ї групи. Морфологічні дані показують, що місцеве застосування з лікувальною метою комбінованої суміші 0,02% декаметоксину з бластомунілом є доцільним та ефективним завдяки протимікробним, імуномодулюючим та регенеративним властивостям вказаної суміші.

Ключові слова: щури, експериментальні тварини, лімфоцити, локальний імунітет, грануляційна тканина, епітелій, судини, морфологія, бластомуніл, імуномодуляція.

Вступ

Гостра і хронічна ранова інфекція стала серйозним тягарем для охорони здоров'я в усьому світі, що призводить до достатньо високої захворюваності та смертності. На гострі та хронічні рани щороку стражають тільки у США понад 6 мільйонів людей з вартістю лікування понад 25 мільярдів доларів США [2, 23].

Відомо, що нормальний процес загоєння ран має три фази: запалення, формування і ремоделювання тканин, водночас рана може набути хронічного характеру, що призводить до зупинки фази хронічного запалення [24]. Звісно, що однією з причин порушення нормального процесу загоєння ран є ранова інфекція.

У цілому основний механізм ранових інфекцій був широко досліджений науковцями, а стандартне лікування ран регулярно використовується в загальній практиці. Однак стратегії діагностики та лікування залишаються великою проблемою [2, 6]. Загальними збудниками інфекцій травматичних ран є надзвичайно широкий спектр мікроорганізмів, хоча основними є грампозитивні *S. aureus* і грамнегативні *P. aeruginosa*. Як правило, грамнегативні бактерії є звичайними мікроорганізмами, що колонізують хронічні рани, на них припадає 61% усіх мікробних ізолятів. *S. aureus* є збудником, який найчастіше зустрічається при хронічних інфекціях, за

яким слідує *P. Aeruginosa*. Іншими патогенними мікроорганізмами є *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *A. Baumannii* і *Klebsiella pneumoniae* [5, 6].

Лікування ж інфікованих та гнійних ран є комплексним [7], що передбачає видалення нежиттєздатних тканин, [16], застосування антисептиків та ультразвукового дебридменту, використання плазми, збагаченої тромбоцитами [1], апікаційних сорбентів [2], мазей з протимікробною та лізуючою дією [12] тощо. Деякі автори вказують на можливе використання для місцевого лікування деяких імуномодуляторів [18], що сприяє неспецифічній резистентності до експериментальної інфекції та підвищує, наприклад, кількість лейкоцитів в периферичній крові [22].

Враховуючи актуальність питання та різноманітний підхід до лікування інфікованих ран, нами була сформована наукова думка щодо можливого ефективного застосування в експерименті при лікуванні інфікованих ран імуномодулятора Бластомуніл в комбінації з антисептиком декаметоксин.

Мета дослідження - провести морфологічну оцінку ефективності застосування імуномодулятора Бластомуніл в комбінації з декаметоксином при лікуванні інфікованих ран в експерименті.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на базах кафедр клінічної анатомії та оперативної хірургії, мікробіології, віварію Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова з дотриманням усіх біоетичних норм [13] та погодженням з Комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету ім.М.І. Пирогова (протокол № 3 від 3 квітня 2023 р.).

Для оцінки ефективності застосування комбінації бластомунілу з декаметоксином було сформовано 4 дослідницьких групи, по 10 щурів у кожній. Усім тваринам I-IV груп на початку експерименту готували операційне поле шляхом вистригання та вибривання шерсті на спині в міжлопатковій ділянці розміром близько 2?2 см та виконували їх маркування. Після цього проводили "кетаміновий наркоз", процес якого відбувався так: спочатку тваринам проводили премедикацію дімедролом з розрахунку 1,5 мг на кг/маси тіла та аміназину 0,02 мг/кг, які вводили внутрішньом'язово. Наркоз проводили шляхом внутрішньом'язового введення кетаміну з розрахунку 15 мг/кг маси тіла щура. Після введення кетаміну в середньому через 10 хвилин тварини засинали і не реагували на зовнішні подразники. Сон продовжувався протягом 40-60 хв. Упродовж цього часу в міжлопатковій ділянці у тварин видаляли тканини (1,5?1,5 см) до фасції. Після нанесення рани тваринам усіх груп в ділянку рани вводили 0,2 мл мікробної суміші, що включала *S. Aureus* та *P. Aureginosa* (оскільки вони є загальними збудниками інфекцій травматичних ран, а також модельними для побудови дизайну експерименту) [3, 4] та витримували період очікування 30 с.

1-шу групу тварин (контроль) не лікували; 2-гу групу тварин лікували шляхом місцевого застосування 0,02% декаметоксину (ДКМ) з накладанням стерильної марлевої пов'язки; 3-тю групу тварин лікували шляхом місцевого застосування 0,075 мг бластомунілу в 1 мл 0,02% розчину декаметоксину і також з накладанням стерильної марлевої пов'язки; 4 групу тварин лікували шляхом однократного введення внутрішньом'язово 0,12 мг бластомунілу на початку експерименту з наступним щоденним місцевим лікуванням комбінації 0,075 мг бластомунілу в 1 мл 0,02% розчину декаметоксину та накладанням стерильної марлевої пов'язки.

Для оцінювання морфологічних змін ранового процесу на 3, 7, 10 та 14 добу тварин під наркозом виводили з експерименту. Проводили забір тканин, зокрема видалення усієї рани, частину здорової стінки та здорової частини дна рани. Отриманий препарат поміщали для фіксації в 10% розчин нейтрального формаліну. Препарати для патогістологічного дослідження готували за допомогою заливки матеріалу в парафін у лабораторії CSD LAB (03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45 www.csdlab.ua), яка є учасником європейської системи контролю якості NordiQC. Гістологічні зрізи товщиною 5-7 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином.

Мікроскопію і фотографування проводили за допо-

могою світлового мікроскопа EUROMEX microscopes Holland IScore 1153-PLI. Після мікроскопії під збільшенням у 50, 10 та 400 разів проводили фотографування мікропрепарата, після чого знімки обробляли за допомогою програми "Image Focus Alpha", а результати занесли до протоколів дослідження.

Результати. Обговорення

При морфологічній характеристиці 1-ї групи тварин отримали такі дані. На 3-й день у цієї групи щурів спостерігається початок появи регенераторної тканини, адже під нею спостерігається розташування шару жирової тканини з її клітинами (1), що є джерелом регенерації. Судини (2) повнокровні, у рані - лейкоцитарна інфільтрація (3), тканина інфільтрована мікроорганізмами (4) (рис. 1).

При поглибленому дослідженні грануляційної тканини відмічається повнокров'я, діapedез еритроцитів, лейкоцитів, велика кількість мікроорганізмів. Лейкоцити в основному представлені нейтрофілами.

На 7-й день експериментального дослідження у щурів 1 групи вже виявляється сформована сполучна

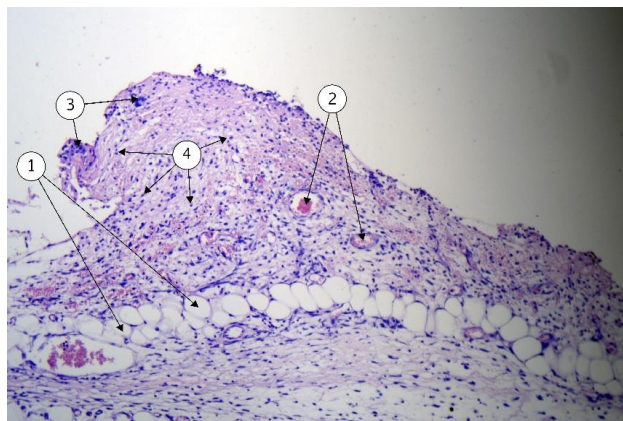


Рис. 1. 1-ша група, 3-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 100. Поява регенераторної тканини.

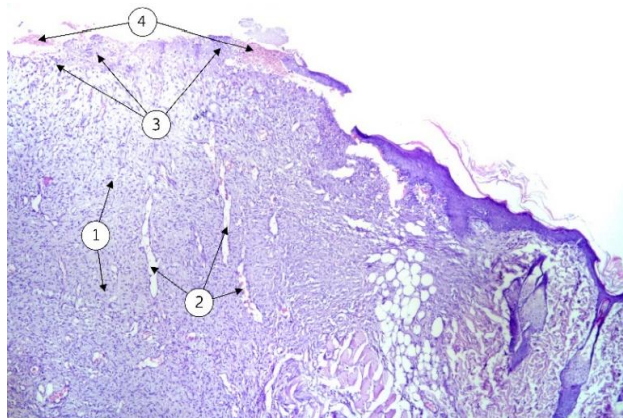


Рис. 2. 1-ша група, 7-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 50. Сформована сполучна тканина (1) з лейкоцитарною інфільтрацією та вертикально розташованими судинами (2), яка покрита шаром гною (3), з крововиливами (4).

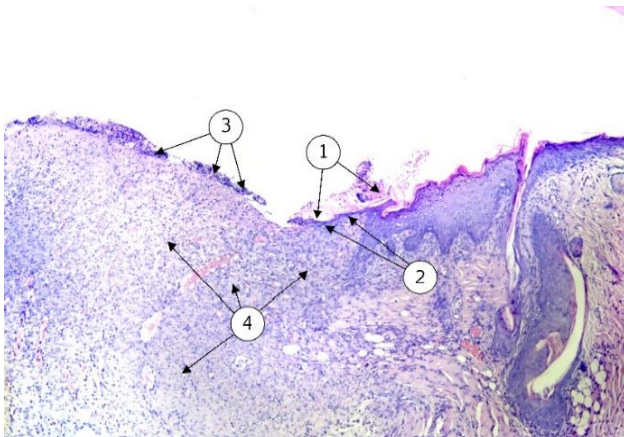


Рис. 3. 1-ша група, 10-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 50. На мікрознімку визначається струпу (1), епітелій під струпом (2), гній (3), лейкоцитарна інфільтрація (4).

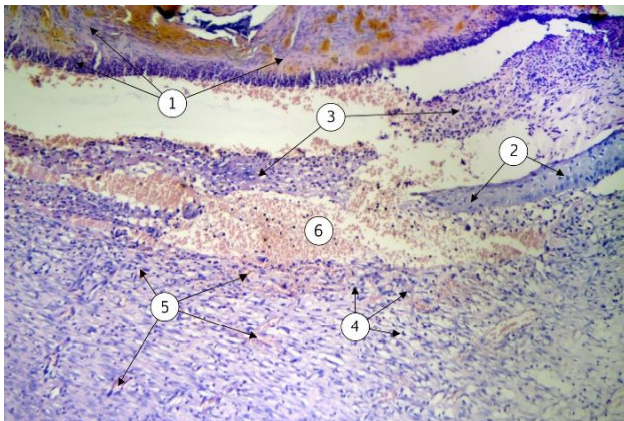


Рис. 4. 1-ша група, 14-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 100. На мікрознімку визначається рана, що покрита струпом (1) з крайовим епітелієм (2). Новоутворена тканина з лейкоцитарною інфільтрацією (4), вертикальними та горизонтальними судинами (5). У центрі рани є гнійний вміст (3), крововиливи (6).

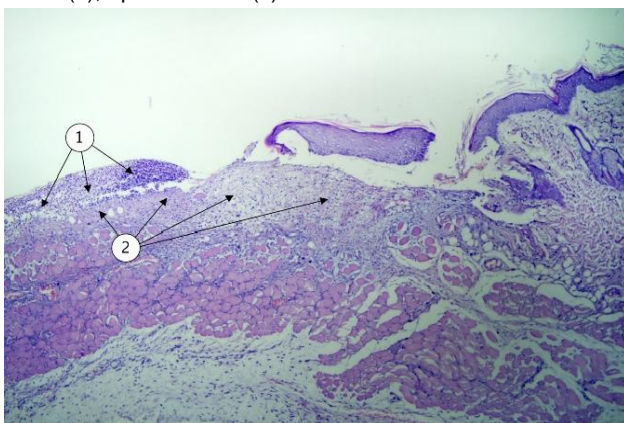


Рис. 5. 2-га група, 3-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 50. Рана покрита шаром з мікробного вмісту (1). Початок розвитку регенераційної тканини (2).

тканина (1) з лейкоцитарною інфільтрацією, яка покрита шаром гною (3). Водночас в регенераторній тканині

спостерігаються судини (2), що розташовані вертикально, та крововиливи (4) (рис. 2).

На 10-й день тварин 1-ї групи встановлено, що рана вже заповнена сполучною тканиною (рис. 3), хоча з вираженою лейкоцитарною інфільтрацією, що свідчить про активний запальний процес. Спостерігаються вертикально розташовані судини. Місцями візуалізовано тонкий епітелій (до 0,07 мм), який розвивається під струпом.

Слід звернути увагу на те, що навіть на 10-й день експерименту в рані домінували гнійні процеси, хоча паралельно розвивалась грануляційна тканина з переважно вертикально розміщеними новими судинами та дещо запізним розвитком горизонтальних судин.

На 14-й день експерименту у тварин 1-ї групи розміри рани зменшились, однак рана так і не очистилась, а новоутворена тканина не повністю закриває рановий дефект. Рана покрита струпом, під яким є гнійний вміст з крововиливами. І хоча в новоутвореній тканині є розвинуті вертикально та горизонтально розташовані судини, що свідчить про розвиток судинної сітки, у цій тканині спостерігається активна лейкоцитарна інфільтрація, а наявність гнійно-запального процесу очевидно не дав можливості повністю очиститись рані та розвитку епітелізації (рис. 4).

Характеризуючи 2-гу групу, слід зауважити, що на 3-й день експерименту рани у тварин характеризувались активним інфекційним процесом та були покрите шаром з мікробного вмісту (1). Водночас відмічається початок розвитку регенераційної тканини (2) (рис. 5).

При більш детальному розгляді встановлено, що гній, який покриває товстим шаром рану, містить багато лейкоцитів (зокрема й еозинофіли) та мікроорганізмів.

На 7-й день експерименту у тварин 2-ї групи ситуація дещо змінилася. Спостерігається ріст грануляційної тканини (2), рана очищається, відносно мало лімфоцитів. Епітелій покриває рану тільки скраю (1) (рис. 6).

Рана продовжує очищуватись, покривається епітелієм під струпом (1). На дні рани в грануляційній тканині спостерігаються судини з вертикальним напрям-

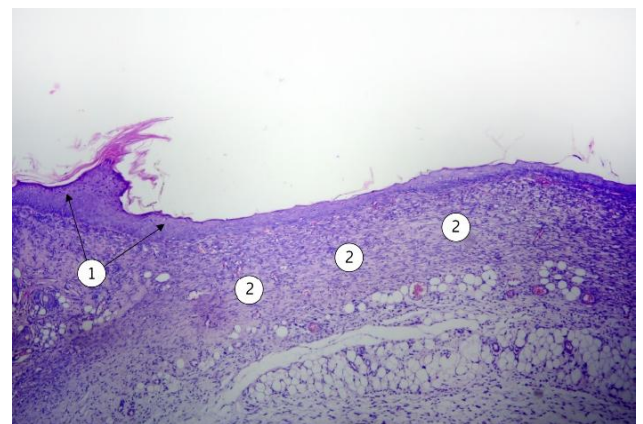


Рис. 6. 2-га група, 7-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 50 Епітелій покриває край рани (1), є грануляційна (2) тканина з малою кількістю лімфоцитів.

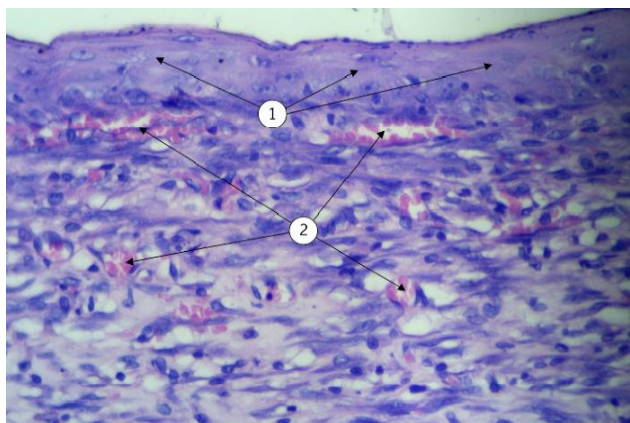


Рис. 7. 2-га група, 7-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 400. Рана покрита епітелієм під струпом (1). Грануляційна тканина (2) (судини на дні рани з вертикальним напрямком, а на поверхні - з горизонтальним).

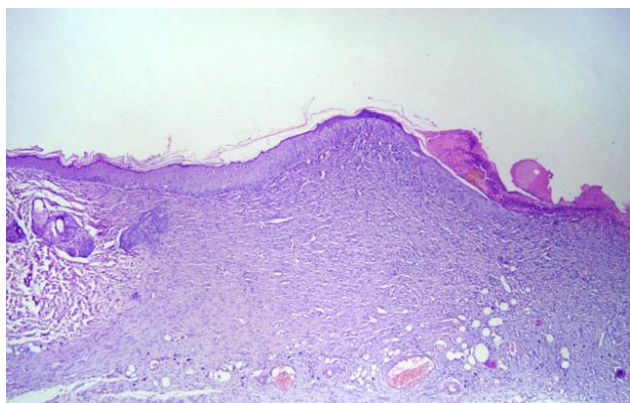


Рис. 8. 2-га група, 10-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 50. Рана дещо надмірно виповнилась грануляційною тканиною. Частково покрита епітелієм. Інша частина рани - під струпом.

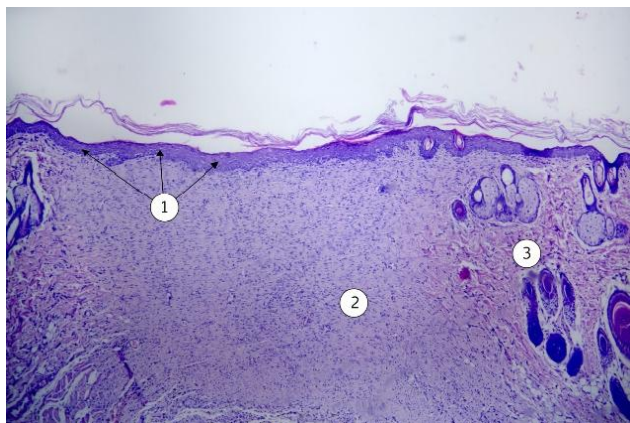


Рис. 9. 2-га група, 14-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 50. Рана закрита та покрита епітелієм (1). Нова регенераторна тканина (2). "Стара тканина" (3) з елементами шкіри (залоза, волос).

ком, а на поверхні - з горизонтальним (2) (рис. 7).

На 10-й день експерименту у тварин 2-ї групи рани практично очистились. Грануляційна тканина розви-

вається активно, навіть з деяким горбовидним явищем. Епітелій покриває не повністю. Інша частина регенераторної тканини покрита струпом (рис. 8).

На 14-й день експерименту виявилось, що рана повністю заповнилась новою регенераторною тканиною та покрилась сформованим епітелієм (рис. 9).

У 3-й групі тварин вже на 3-й день спостерігається процес утворення грануляційної тканини під струпом. Мікроорганізмів відносно небагато. Багато лімфоцитів. Дно рани покриває грануляційна тканина з лейкоцитарним валом. З'являється регенераторна тканина, лейкоцитарний вал. По краю рани - епітелій, що відірваний від дерми і "заповзає" під струп. Одночасно під струпом розвивається нова регенераторна тканина зі значною кількістю лейкоцитів та лімфоцитів (рис. 10).

3-тя група, 7-й день. Рана очистилась. Сполучна тканина закрила рану з невеликою кількістю лейкоцитарно-інфекційного ексудату. Нова тканина інфільтрована великою кількістю лімфоцитів та макрофагів. З боку починає наростати епітелій. Спостерігається наявність судин, які розташовані вертикально (рис. 11).

На 10-й день у тварин 3-ї групи рана заповнилась повністю новою тканиною з великою кількістю лімфоцитів. Спостерігається навіть надлишкова сполучна тканина (2), що формує горб над поверхнею. Хоча епітелій ще не повністю покриває нову тканину, усе ж рана чиста та покрита зверху лейкоцитарним валом. Спостерігається наявність сформованого росткового шару епітелію (базальний та остистий). Епітелій же частково покриває з однієї сторони та "врізається" з іншої (рис. 12).

На 14-й день експерименту у тварин 3-ї групи рана повністю закрита сполучною тканиною. Епітелій цілком покриває рану (рис. 13), який повністю сформований зі всіма шарами (рис. 13).

Оцінюючи результати дослідження у тварин 4-ї групи на 3-й день експерименту слід сказати, що спостерігається розвиток грануляційної тканини, яка покрита лейкоцитарним валом та частково струпом і повністю закриває дно рани (рис. 14). Грануляційна тканина по-

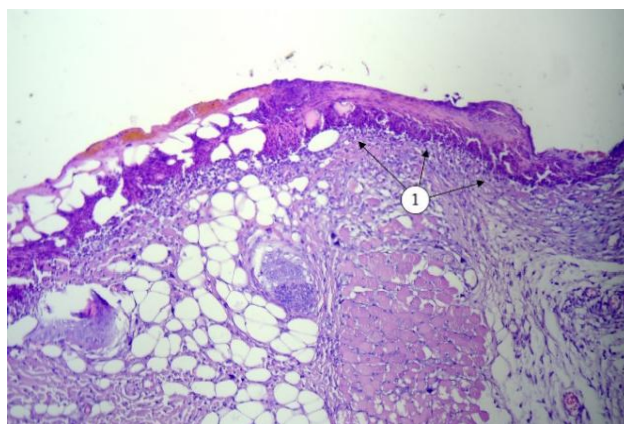


Рис. 10. 3-тя група, 3-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 100. З'явилися грануляції під струпом. У новій тканині є багато лейкоцитів та лімфоцитів (1).

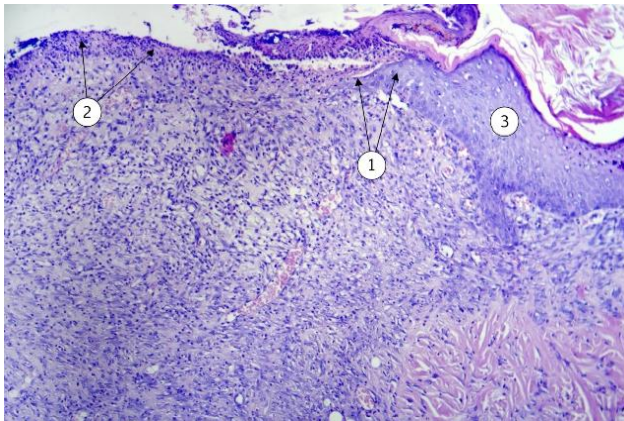


Рис. 11. 3-тя група, 7-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x100. Початок вrostання нового епітелію (1) зі здорової частини (3). Рана покрита тонким лейкоцитарно-інфекційним ексудатом (2). У регенераторній тканині багато лімфоцитів та макрофагів.

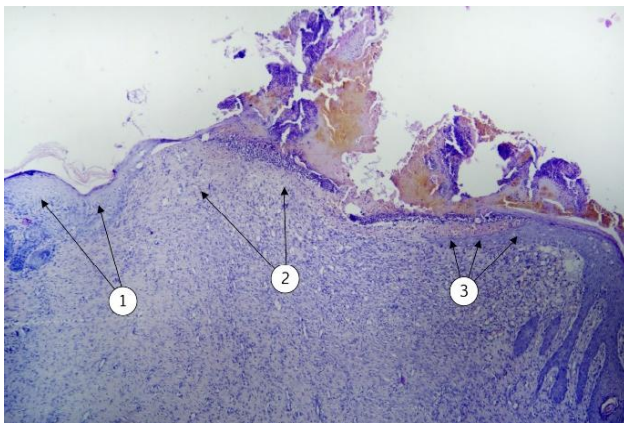


Рис. 12. 3-тя група, 10-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 50. Надлишкова сполучна тканина (2) з лейкоцитарним валом зверху, що формує горб над поверхнею. Епітелій (1) частково покриває рану з однієї сторони та "врізається" з іншої (3), який має вигляд "кінця списа".

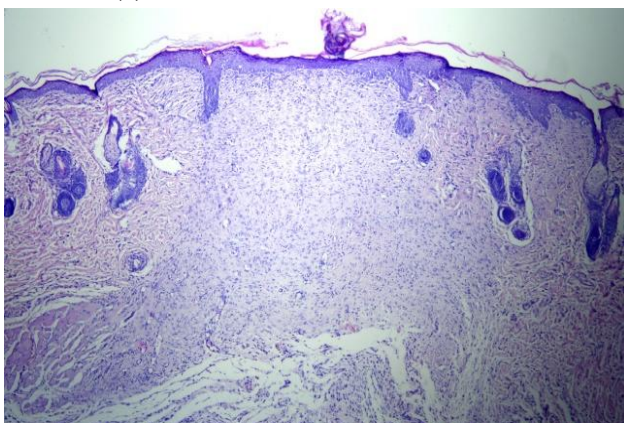


Рис. 13. 3-тя група, 14-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 50. Рана повністю зажила та епітелізувалась.

крита шаром мікробів та нейтрофілів, причому по краю рани лейкоцитарна інфільтрація менш виражена і є початок до вrostання епітелію.

На 7-й день спостерігається активний розвиток грануляційної тканини. Відмічається ріст судин, в т.ч. їх вертикальне розташування, причому у верхніх шарах спостерігаються і горизонтальні судини, що свідчить про перебудову сполучної тканини. Привертає увагу наявність великої кількості лімфоцитів. Мікроорганізмів практично не видно. Тонким шаром вrostає епітелій (рис. 15). У регенераторній тканині спостерігається наявність значної кількості нейтрофілів, макрофагів та лімфоцитів.

На 10-й день спостереження у тварин 4-ї групи відмічалось продовження розвитку регенераторної тканини. Рана повністю закрита грануляційною тканиною рід струпом з лейкоцитарною інфільтрацією. По краях рана очищена. Причому слід зазначити, що розвиток грануляційної тканини також формувалась у вигляді горба (рис. 16).

Варто зауважити, що в одному випадку спостерігали ситуацію, коли регенераторна тканина не формувала горб, при цьому епітелій ще не повністю закриває рану з лейкоцитарною інфільтрацією.

На 14-й день відмічається повне виповнення рани грануляційною тканиною. Вона практично зажила. Є вертикальні і горизонтальні судини. Рана покрита епітелієм, за виключенням не великої ділянки, де епітелізація завершилась не повністю (рис. 17), причому епітелій сформований товстим шаром, під яким спостерігається велика кількість лімфоцитів та макрофагів.

Отже, як видно із проведеної морфологічної оцінки ранового процесу, найгірші показники спостерігались у щурів 1-ї групи, адже на 14-й день експерименту у тварин 1 групи хоча розміри рани і зменшились, однак рана так і не очистилась, а новоутворена тканина не повністю закриває рановий дефект. Рана покрита струпом, під яким є гнійний вміст з крововиливами.

При мікроскопії препаратів у 2-й групі тварин на 14-й день виявилось, що рана повністю закрита та покривалась епітелієм. Нова регенераторна тканина повністю

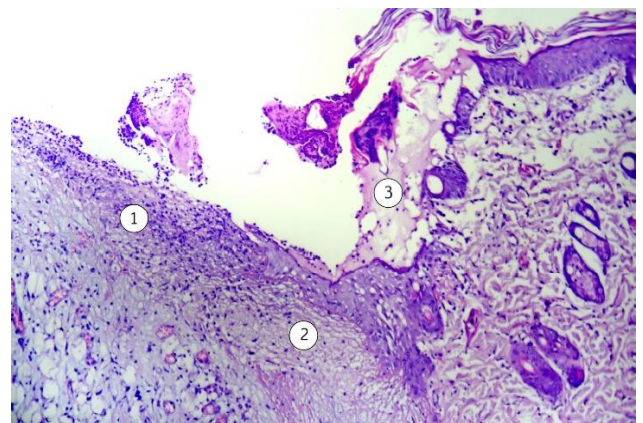


Рис. 14. 4-та група, 3-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 100. Лейкоцитарний вал (1) над грануляційною тканиною (2), яка закриває дно рани та частково покрита струпом (3).

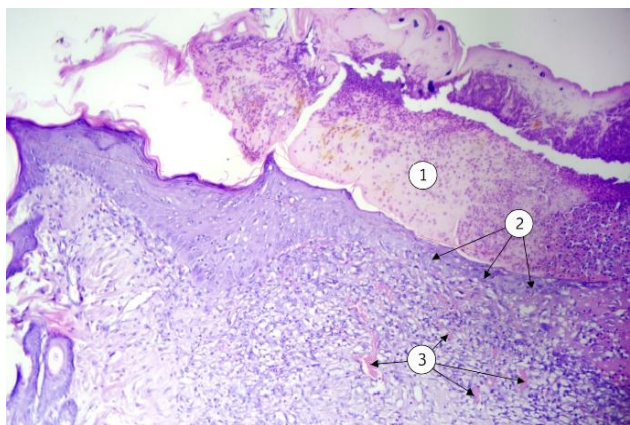


Рис. 15. 4-та група, 7-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 100. Струп (1). Вростання епітелію під струпом (2). Грануляційна тканина та судини (3).

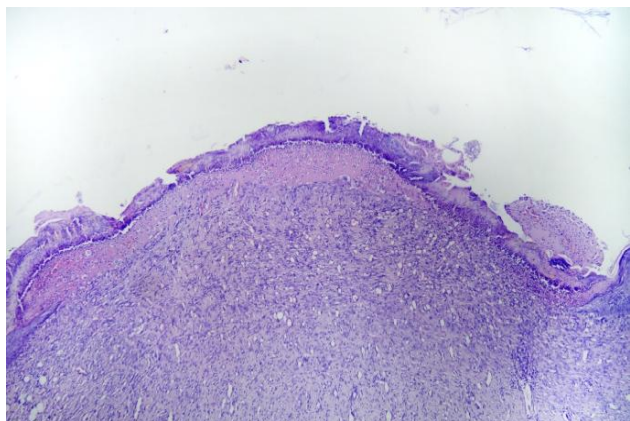


Рис. 16. 4-та група, 10-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 50. Формування грануляційної тканини у формі горба.

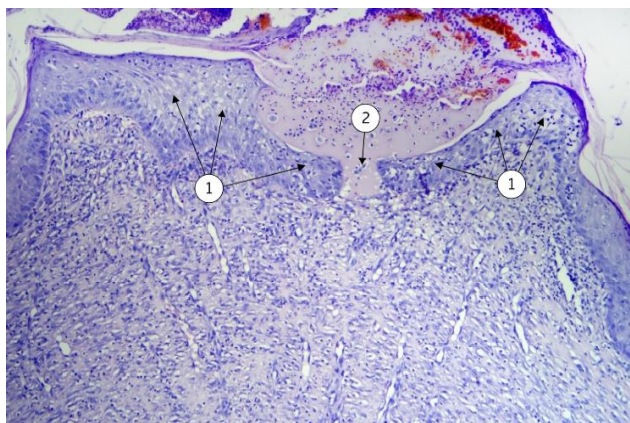


Рис. 17. 4-та група, 14-й день. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення x 100. Грануляційна тканина повністю закрила рану. Епітелій (1) частково не закрився. 2 - незначний дефект, де під струпом не завершилась епітелізація.

заповнила рановий дефект, хоча без "лімфоцитарного насичення". Декаметоксин проявляв свою протимікробну дію, полегшуючи очищення рани та покращуючи репаративні процеси.

На 14-й день експерименту, у тварин 3-ї групи, рана повністю закрита сполучною тканиною. Сформувався епітелій, що повністю покрив рану, причому епітелій повністю сформований зі всіма шарами.

На 14-й день у тварин 4-ї групи грануляційна тканина в рані виповнена повністю. Вона практично зажила. Є вертикальні і горизонтальні судини. Рана покрита епітелієм, за винятком невеликої ділянки, де епітелізація завершилась не повністю.

Отже, використання комбінованої суміші 0,02% декаметоксину з бластомунілом дозволило використати позитивний імуномодуючий ефект бластомунілу та протимікробні властивості декаметоксину, що в цілому дало кращий результат завдяки швидкому очищенню рани, яка почала очищатись вже з 3-го дня і повністю була очищена на 7-й день. Під час лікування спостерігалось "лімфоцитарне та макрофагальне насичення" регенеративних тканин, тобто покращення локального імунітету. Лікування комбінованою сумішшю 0,02% декаметоксину з бластомунілом на тлі додаткового внутрішньом'язового введення бластомунілу у тварин 4-ї групи не покращило (і навіть дещо погіршило) результати лікування тварин 3-ї групи.

Загоєння ран - це складний динамічний процес, що підтримується безліччю клітинних подій, які необхідно чітко координувати для ефективного відновлення пошкодженої тканини [29], причому імунна система відіграє вирішальну роль у загоєнні ран [25]. Відомо, що існує дві основні категорії - первинне і вторинне загоєння ран. Для первинного загоєння рани потрібні прямі асептичні межі рани, які щільно прилягають одна до одної. Навпаки, під час вторинного загоєння рани межі рани віддалені один від одного, тому рану потрібно закрити грануляційною тканиною [11]. Крім того, класично загоєння рани поділяється на чотири основні фази: гемостаз, запалення, проліферація та ремоделювання шкіри [4], що призводить до архітектурного та фізіологічного відновлення після пошкодження.

Відразу після травми пошкоджені кровоносні судини швидко скорочуються і утворюється тромб, що запобігає знекровленню внаслідок пошкодження судин [26]. Втрата крові та ризик інфікування зменшуються завдяки механізму згортання, при якому фібриноген, що утворюється в ексудаті, стимулює утворення фібринового згустку та ущільнює місце рани. Отже, гемостаз забезпечує захисний бар'єр і сприяє успішному загоєнню ран [20]. Хемокіни, що утворюються під час гемостазу, приваблюють запальні клітини та стимулюють резидентні імунні клітини. Усі ці клітини разом починають запальну фазу загоєння рани протягом кількох хвилин після травми [14, 27]. По-перше, розширюються судини і підвищується проникність капілярів. Потім виникає локальний набряк і лейкоцити, зокрема макрофаги та нейтрофіли гранулоцити, мігрують у рану. Залишки клітин видаляються шляхом фагоцитозу для очищення рани шкіри [8].

Запальна реакція є складною, модулюється безліччю внутрішніх і зовнішніх факторів. Неконтрольоване та надмірне запалення сприяє травмуванню тканин і затримує загоєння (як у діабетичних мишей) [3]. Однак недостатнє залучення імунних клітин, наприклад, у мишей з нокаутом TLR3, також перешкоджає репарації [17]. Таким чином, відповіді імунних клітин повинні бути ситуативними, посилюватися, щоб відповідно реагувати на інфекцію, але водночас ефективно очищатися, щоб дозволити загоєнню рани. За відсутності інфекції кількість нейтрофілів у рані знижується протягом кількох днів після початку травми [15]. Більшість нейтрофілів екструдуються з місця рани, оскільки вони прилипають до фібринового струпа, тоді як інші видаляються вродженими механізмами очищення, такими як ефецитоз макрофагів [19].

Коли запалення припиняється, рана прогресує до ангіогенезу, утворення матриці та ремоделювання. Активовані резидентні фіброласти, ендотеліальні клітини та кератиноцити є вирішальними клітинними гравцями, що сприяють повторній епітелізації та утворенню грануляційної тканини. Це два основних процеси, що відбуваються одночасно під час фази проліферації [28].

Грануляційна тканина та кровоносні судини утворюються шляхом вrostання кровоносних капілярів і лімфатичних судин у місце рани, життєздатні ендотеліальні клітини на кордонах рани починають проліферацію, а кровоносні судини починають рости в рану, утворюючи організовану мікросудинну мережу. Ці процеси мають важливе значення, оскільки рана має бути забезпечена киснем і поживними речовинами [9, 22], а також щоб

задовольнити метаболічні потреби високопроліферативної загоювальної тканини [10].

Макрофаги відіграють значну роль в ангіогенезі, а також вирішальну роль на всіх етапах загоєння ран, включаючи запалення, проліферацію та ремоделювання, забезпечують вроджені імунні процеси [30], виділяючи в тому числі ключові прозапальні та протизапальні цитокіни та відіграючи вирішальну роль у фазах регенерації та загоєння ран [21].

Звісно, що на природні процеси загоєння ран впливає безліч факторів, зокрема фізичні, хімічні та біологічні. Серед біологічних факторів на рановий процес, мабуть, найбільше впливають мікроорганізми з одного боку, а також здатність імунної системи до регенеративних функцій - з іншого. Проведена нами робота - це спроба перевірити гіпотезу про позитивну імуномодулюючу і одночасно протимікробну дію бластомунілу та декаметоксину (як імуномодулятора з антисептиком) при лікуванні інфікованих ран, коли гостра рана може переходити в хронічну.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Морфологічні дані показують, що місцеве застосування з лікувальною метою комбінованої суміші 0,02% декаметоксину з бластомунілом є доцільним та ефективним завдяки протимікробним, імуномодулюючим та регенеративним властивостям вказаної суміші.

Отримані результати дають підстави для подальших досліджень щодо використання зазначеної лікувальної суміші в клінічних умовах.

Список посилань - References

- [1] Al Jehani Naif Abdulela, M. (2024). Особливості морфології хронічних ран за умов використання різних методик впливу на рановий процес [Peculiarities of the morphology of chronic wounds under the conditions of using different methods of influencing the wound process]. *Журнал "Перспективи та інновації науки" (Серія "Педагогіка", Серія "Психологія", Серія "Медицина") - Magazine "Perspectives and Innovations of Science" ("Pedagogy" Series, "Psychology" Series, "Medicine" Series)*, 2(36), 953-962. DOI: [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-2\(36\)-953-962](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-2(36)-953-962)
- [2] Bilyaeva, O. O., Dyadyk, O. O., Zaritska, V. I., & Kryzhevskiy, E. E. (2020). Морфологічні ознаки ефективності використання в лікуванні гнійних ран апікаційного сорбенту (експериментальне дослідження) [Morphological signs of the effectiveness of application sorbent in the treatment of purulent wounds (experimental study)]. *Morphologia*, 14(4), 7-15. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.4.7-15>
- [3] Boniakowski, A. E., Kimball, A. S., Jacobs, B. N., Kunkel, S. L., & Gallagher, K. A. (2017). Macrophage-mediated inflammation in normal and diabetic wound healing. *J. Immunol.*, (199), 17-24. doi:10.4049/jimmunol.1700223
- [4] Broughton, G. I., Janis, J. E., & Attinger, C. E. (2006). Wound healing: an overview. *Plast. Reconstruct. Surg.*, (117), 1e-S-32e-S. doi:10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9
- [5] Dai, T., Kharkwal, G. B., Tanaka, M., Huang, Y. Y., Bil de Arce, V. J., & Hamblin, M. R. (2011). Animal models of external traumatic wound infections. *Virulence*, (2), 296-315. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21701256/>
- [6] Di Domenico, E. G., Farulla, I., Prignano, G., Gallo, M. T., Vespaziani, M., Cavallo, I., ... & Ensoli, F. (2017). Biofilm is a major virulence determinant in bacterial colonization of chronic skin ulcers independently from the multidrug resistant phenotype. *Int J Mol Sci.*, (18), 1077. Doi: 10.3390/ijms18051077
- [7] Ding X., Tang G., Xu Z., Xu Y., Zhang H., Zheng D., ... & Chen J. (2022) Challenges and innovations in treating chronic and acute wound infections: from basic science to clinical practice. *Burns Trauma*. 2022; 10: tkac014. PMID: 35611318 Published online 2022 May 21. doi: 10.1093/burnst/tkac014 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9123597/>
- [8] Gilmore, M. A. (1991). Phases of wound healing. *Dimens Oncol. Nurs.*, (5), 32-34. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1823567>
- [9] Gordillo, G. M., & Sen, C. K. Revisiting the essential role of oxygen in wound healing. (2003). *Am. J. Surg.*, (186), 259-263. doi: 10.1016/S0002-9610(03)00211-3
- [10] Huang, S-P., Wu, M-S., Shun, C-T., Wang, H-P., Hsieh, C-Y., Kuo, M-L., & Lin J-T. (2005). Cyclooxygenase-2 increases hypoxia-inducible factor-1 and vascular endothelial growth factor to promote angiogenesis in gastric carcinoma. *J. Biomed. Sci.*, (12), 229-241. doi: 10.1007/s11373-004-8177-5
- [11] Kaser, S. A., Zengaffinen, R., Uhlmann, M., Glaser, C., & Maurer, C. A. (2014). Primary wound closure with a Limberg flap vs. secondary wound healing after excision of a pilonidal sinus: A multicentre randomised controlled study. *Int. J. Colorectal Dis.*, (30), 97-103. doi: 10.1007/s00384-014-2057-x

- [12] Khimich, S. D., & Rautskis, V. P. (2023). Morphological reasoning of the efficiency of application "Iruksan" in the experiment. *Reports of Morphology*, 29(3), 32-38. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(3\)-05](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(3)-05)
- [13] Khimich, O. S., Rautskis, V. P., & Krivonos, M. I. (2023). Санітарно-гігієнічні, деонтологічні та медико-правові засади успішної організації проведення експериментальної роботи на тваринах [Sanitary, hygienic, deontological and medico-legal principles of successful organization of experimental work on animals]. *Public Health Journal*, (4), 77-84. <https://doi.org/10.32782/pub.health.2023.4.11>
- [14] Kloc, M., Ghobrial, R. M., Wosik, J., Lewicka, A., Lewicki, S., & Kubiak, J. Z. (2019). Macrophage functions in wound healing. *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, (3), 99-109. doi: 10.1002/term.2772
- [15] Kim, M. H., Liu, W., Borjesson, D. L., Curry, F. R. E., Miller, L. S., Cheung, A. L., ... & Simon, S. I. (2008). Dynamics of neutrophil infiltration during cutaneous wound healing and infection using fluorescence imaging. *J. Invest. Dermatol.*, (128), 1812-1820. doi:10.1038/sj.jid.5701223
- [16] Lazaro, J. L., Izzo, V., Meaume, S., Davies A. H., Lobmann, R., & Uccioli, L. (2016). Elevated levels of matrix metalloproteinases and chronic wound healing: an updated review of clinical evidence. *Journal of wound care*, 25(5), 277-287. doi: 10.12968/jowc.2016.25.5.277
- [17] Lin, Q., Fang, D., Fang, J., Ren, X., Yang, X., Wen, F., & Su, S. B. (2011). Impaired wound healing with defective expression of chemokines and recruitment of myeloid cells in TLR3-deficient mice. *J. Immunol.*, (186), 3710-3717. doi:10.4049/jimmunol.1003007
- [18] Mahmud, F., Roy, R., Mohamed, M. F., Aboonabi, A., Moric, M., Ghoreishi, K., ... & Shafikhani, S. H. (2022). Therapeutic evaluation of immunomodulators in reducing surgical wound infection. *FASEB J.*, (36), 22090. <https://doi.org/10.1096/fj.202101019R>
- [19] Martin, P., & Leibovich, S. J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol.*, (15), 599-607. doi:10.1016/j.tcb.2005.09.002
- [20] Martin, P. (1997). Wound Healing-Aiming for Perfect Skin Regeneration. *Science*, (276), 75-81. doi: 10.1126/science.276.5309.75
- [21] Martinez, F. O., & Gordon, S. (2014). The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: Time for reassessment. *F1000Prime Rep.*, 6, 13. doi: 10.12703/P6-13
- [22] Nelson, E. A. (2003). Nutrition for optimum wound healing. *Nurs. Stand.*, 18(6), 55-58. PMID: 14618895
- [23] O'Reilly, T., & Zak, O. (1992). Enhancement of the Effectiveness of Antimicrobial Therapy by Muramyl Peptide Immunomodulators. *Clinical Infectious Diseases*, 14(5), 1100-1109. <https://doi.org/10.1093/clinids/14.5.1100>
- [24] Smit, H. J. (2018). A five-level model for wound analysis and treatment. Wounds UK. *Omnia Med Communications Ltd.*, 14(4), 41-46.
- [25] Tavakoli, S., Kisiel, M. A., Biedermann, T., & Klar, A. S. (2022). Immunomodulation of Skin Repair: Cell-Based Therapeutic Strategies for Skin Replacement (A Comprehensive Review). *Biomedicines*, 10(1), 118. doi: 10.3390/biomedicines10010118
- [26] Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J. Int. Med. Res.*, (37), 1528-1542. doi:10.1177/147323000903700531
- [27] Wallace, H., Basehore, B., & Zito, P. (2020). Wound Healing Phases. Stat Pearls Publishing, Treasure Island (FL). URL: <https://europepmc.org/books/n/statpearls/article-34001/>
- [28] Werner, S., Krieg, T., & Smola, H. (2007). Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. *J Invest Dermatol.*, 127(5), 998-1008. doi: 10.1038/sj.jid.5700786
- [29] Wilkinson, H. N., & Hardman, M. J. (2020). Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open biology*, 10(9), 200223. doi: 10.1098/rsob.200223
- [30] Wynn, T. A., & Vannella, K. M. (2016). Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity*, 44(3), 450-462. doi: 10.1016/j.immuni.2016.02.015

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF THE DYNAMICS OF CHANGES IN THE WOUND PROCESS WHEN USING BLASTOMUNIL AND DECAMETHOXINE IN AN EXPERIMENT

Khimich O. S., Korol A. P., Khimich S. D., Pivtorak V. I.

Annotation. The purpose of the study: to carry out a morphological assessment of the effectiveness of the use of the immunomodulator Blastomunil in combination with Decamethoxine in the treatment of infected wounds in an experiment. The topicality of the topic is determined by the search for new medicinal forms for the treatment of infected wounds. At the same time, morphological assessment of the course of the wound process is extremely important. A study was conducted on 40 rats (4 groups of animals, 10 in each). An infected wound was made on the back of all animals under anesthesia. 1 group - was not treated. The 2nd group of animals was treated by local application of 0.02% Decamethoxine with application of a sterile gauze bandage; the 3rd group of animals was treated by local application of 0.075 mg of Blastomunil in 1 ml of 0.02% Decamethoxine solution and also by applying a sterile gauze bandage; the 4th group of animals was treated by a single intramuscular injection of 0.12 mg of Blastomunil at the beginning of the experiment, followed by daily local treatment of a combination of 0.075 mg of Blastomunil in 1 ml of 0.02% Decamethoxine solution and application of a sterile gauze bandage. To evaluate the morphological changes of the wound process, the animals were taken out of the experiment under anesthesia on the 3rd, 7th, 10th, and 14th day. The results. the use of a combined mixture of 0.02% Decamethoxine with Blastomunil made it possible to use the positive immunomodulatory effect of Blastomunil and the antimicrobial properties of Decamethoxine, which generally gave a better result due to the rapid cleansing of the wound, which began to cleanse already on the 3rd day and was completely cleansed on the 7th day. During treatment, "lymphocyte and macrophage saturation" of regenerative tissues was observed. Treatment with a combined mixture of 0.02% Decamethoxine and Blastomunil against the background of additional intramuscular injection of Blastomunil in animals of the 4th group did not improve (and even slightly worsened) the results of the treatment of the animals of the 3rd group. Morphological data show that the local application for therapeutic purposes of a combined mixture of 0.02% Decamethoxine with Blastomunil is appropriate and effective, due to the antimicrobial, immunomodulatory and regenerative properties of this mixture.

Keywords: rats, experimental animals, lymphocytes, local immunity, granulation tissue, epithelium, blood vessels, morphology, Blastomunil, immunomodulation.