



УКРАЇНА

(19) UA (11) 3855 (13) U
(51) 7 G01N33/48МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ РАН В ЕКСПЕРИМЕНТІ

1

2

(21) 2004032311

(22) 30.03.2004

(24) 15.12.2004

(46) 15.12.2004, Бюл. №12, 2004р.

(72) Жадінський Андрій Миколайович

(73) ДОНЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ ІМ. М.ГОРЬКОГО(57) Спосіб лікування ран, який включає нанесення
на поверхню рани лейкоцитарної завісі, який від-

різняється тим, що збирають рановий екссудат, ранову поверхню періодично зрошують живильним середовищем для культивування клітин, одночасно проводять культивування аутоклітин ранового екссудату *in vitro* і отриману клітинну завісь вводять у рану після появи перших ознак регенерації в ній.

Спосіб відноситься до медицини, зокрема, до хірургії.

Відомим є спосіб [1] лікування ран, який полягає у тому, що порожнину рани, що утворилася після скресання гнійника періодично заповнюють середовищем для культур клітин з альвеолярними макрофагами свині в концентрації 10^6 - 10^7 клітин у 1мл.

Проте даний спосіб трудомісткий, його впровадженню заважають технічні труднощі, пов'язані з одержанням, підготуванням і збереженням лейкоцитарної завісі.

Відомий також спосіб лікування ран, узятий нами в якості прототипу [2]. По цьому способу на рану наносять аутолейкоцитарну завісь, попередньо стимульовану імуностимулятором протягом 25-30 хвилин при 37°C, у суміші з 10% гелем полівінілпіролідону у співвідношенні 1:4.

До недоліків засобу треба віднести те, що необхідні попередні дослідження з вивчення імунологічного статусу кожного конкретного хворого і підбору індивідуальних стимуляторів клітин крові. Це не дозволяє лікарю відразу ж включитися в процес лікування хворого, тому що на виконання вищевказаних досліджень необхідний час (1-2 доби). Потребуються також додаткові матеріальні і трудові витрати.

В основу винаходу поставлена задача удосконалення способу лікування ран, в якому забезпечується скорочення термінів лікування при низьких матеріальних і трудових витратах.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі лікування ран, який включає нанесення на поверхню рани лейкоцитарної завісі, відповідно до

винаходу збирають раневої екссудат, раневу поверхню періодично зрошують живильним середовищем для культивування клітин, одночасно проводять культивування клітин раневої екссудату *in vitro* і отриману культуру аутоклітин вводять у рану після появи перших ознак регенерації в ній. Відомо, що клітини регенерату у рані утворюються в основному з клітин екссудату шляхом трансформації частини з них у молоді гістіоцити, вакуолінізовані гістіоцити-макрофаги, профібробласти і фібробласти [3].

Спосіб здійснюють таким чином. Раневої екссудат збирають у центрифужну пробірку, і клітини, що утримуються в ньому, двічі відмивають розчином Хенкса шляхом центрифугування при 800об/хв. протягом 10 хвилин. До осадку додають розчин Хенкса із сумішшю антибіотиків широкого спектра дії, наприклад, цефалоспорин(цефазолін)+аміноглікозид(гентаміцин) у концентрації 100мкг/мл кожного, витримують протягом 1 години, центрифугують. До осадку додають ростове живильне середовище для культивування клітин, наприклад, середовище 199 із сумішшю тих же антибіотиків, але в концентрації 10мкг/мл із 20% бичачої сироватки. Осадок зважують у середовищі. Вмістом центрифужної пробірки заповнюють на 1/2 об'єму одноразовий шприц (20,0), 1/2 об'єму шприца, що залишився, заповнюють повітрям. Шприц вміщують у термостат при 37°C для вигодування суспензованої культури клітин.

Рану промивають розчином Хенкса і раневу поверхню періодично (2-3 рази на добу) зрошують середовищем для культивування клітин (середовище 199 або гідролізат лактальбуміну) із

(13) U

(11) 3855

(19) UA

сумішшю антибіотиків у концентрації 100мкг/мл. Зазначені концентрації даних антибіотиків не надають токсичної дії клітинам.

Щодня під час перев'язки беруть мазок-відбиток із раневої поверхні, фарбують його за методом Романовського, мікроскопують. При появі перших ознак регенерації в рану починають вводити культуру клітин ексудату. Обсяг (1-5мл) клітинної завісі, що вводиться на одну перев'язку залежить від розмірів рани. При цьому не використана культура клітин залишається в термостаті для подальшого культивування. Введення в рану клітин раневого ексудату, що культивуються, продовжують до заповнення раневого дефекту грануляційною тканиною.

Приклад. Пацюку під ефірним наркозом нанесли рану шляхом висічення в міжлопаточній області шкіри з підшкірною клітковиною площею 300мм². Тканини рани додатково травмували шляхом накладання на раневий дефект серветки, просоченої 10% розчином CaCl₂ із наступним, через 12 годин, інфікуванням *S.aureus* (10⁵). Через 1 добу ексудат вимили з рани 1мл розчину Хенкса і перенесли в центрифужну пробірку. Клітини ексудату двічі промили шляхом центрифугування у 10мл розчину Хенкса. До осадку додали розчин Хенкса із сумішшю антибіотиків (цефазолін+гентаміцин) у концентрації 100мкг/мл кожного, витримали протягом 1 години, процентрифугували. До осадку додали середовище 199 із 20% бичачої сироватки й антибіотиків (по 10мкг/мл). Осадок підняли у середовищі. Клітинною завіссю заповнили одноразовий на 20,0мл шприц на 1/2 зазначеного об'єму. Об'єм, що залишився, заповнили повітрям. Просвіток голки герметизували. Шприц помістили у термостат при 37°C.

На рану поклали серветку, просочену середовищем для культивування клітин (гідролізат лактальбуміну) із зазначеними вище антибіотиками у концентрації 100мкг/мл. Через кожні 12 годин стан рани вивчали візуально на підставі ряду клінічних показників, таких, як очищення рани від гною, припинення гідратації, зменшення набрякості тканин, гіперемії, а також за допомогою цитологічних досліджень раневої поверхні. Рану зрошували гідролізатом лактальбуміну кожні 12 годин.

Очищення рани відбулося до 48 години лікування. До цього терміну зменшилася набрякстість тканин і гіперемія, що залишалася вираженою лише по краях рани. У мазках-відбитках із рани мікроби виявлялися в основному усередині клітин, кількість їх незначна (++) . Поряд із помірною кількістю поліморфно ядерних лейкоцитів, що

знаходяться у стані дезінтеграції, виявлялася добре виражена зернистість різного розміру (від 1 до 8мкм), а також одиничні молоді гістіоцити, вакуолізовані гістіоцити, що вказувало на початок регенеративних процесів у рані.

З цього моменту в рану вносили кожні 12 годин завісь культури аутоклітин раневого ексудату по 0,5мл. Заповнення дефекту грануляційною тканиною відбулося до 108 години спостереження.

Експерименти проведені на трьох групах тварин (по 12 пацюків у кожній). Рани тварин першої групи зволожували фізіологічним розчином; рани тварин другої групи лікували маззю «Левосин»; рани тварин третьої групи лікували розробленим способом.

Терміни заповнення раневого дефекту грануляційною тканиною у пацюків (у годинах): першої групи - 252,67±3,54; другої групи - 186,0±3,33; третьої групи - 124,33±2,83.

Переваги запропонованого способу перед відомими складаються у тому, що він дозволяє скоротити терміни загоєння ран завдяки тому, що, поки в рані йдуть процеси ферментативного очищення її від загинувших клітин і мікробів, при яких неможлива або утруднена трансформація клітин ексудату в клітини регенерату, клітини ексудату «підрошують» в умовах *in vitro* і переносять у рану в той момент, коли умови в ній будуть належними для їхньої подальшої трансформації у фібробласти. Періодичне зрошення раневої поверхні середовищем для культивування клітин з антибіотиками призводить до зниження мікробного обсім'янення рани, підвищення життєздатності ушкоджених тканин і стимулює регенеративні процеси.

Спосіб простий у здійсненні, не потребує дефіцитних і дорогих реактивів, препаратів і може бути застосований у будь-якому відділенні хірургічного профілю.

Джерела інформації, прийняті до уваги

1. Способ лечения абсцессов мягких тканей. Н.В. Жадинский, Г.П. Кондратенко, В.А. Харабейрош, В.М. Лобас, П.Г. Кондратенко. Авт. свид. СРСР №1572542, кл. А61В17/00 23.06.90. Бюл. №23.

2. Способ лечения гнилых ран. Т.Г. Робустова, Р.В. Ушаков. Авт. свид. СРСР №1724246, кл. А61Д031/79, 35/16 07.04.92. Бюл. №13.

3. Жадинский Н.В. Построение и анализ системы «Воспалительный процесс и регенерация в гнойной ране» /Медико-соціальні проблеми сім'ї. - 2000. - Т.5, №2, 3. - С.52-56.