

Вплив гіпертонічного мінерального розчину на репаративно-відновлювальні процеси у рановому дефекті шкіри в експерименті

Цимбалюк В.І.¹, Страфун С.С.², Богдан С.В.²✉, Савосько С.І.³

Резюме. Актуальність. Загоєння шкірних ран є серйозною медичною проблемою, що ускладнюється бактеріальними інфекціями і потребує відповідного догляду та лікування. **Мета роботи.** Дослідити вплив високомінералізованого розчину в формі спрею на відновлювальні процеси шкіри при рановому дефекті в експерименті. **Матеріали і методи.** Дослідження проведено в умовах віварію на 5 дорослих статевозрілих кроляч породини шиншила (вага 3,2-3,8 кг). Тваринам вистригали ділянку шкіри на спині площею 10×10 см. Вирізали фрагменти шкіри 2×2,5 см симетрично по обидва боки від хребта на рівні X-XII ребер. На рани наносили 0,5 мл розчину концентрату культури стафілококу (*Staphylococcus aureus*), приготованого на базі лабораторії мікробіології ДУ "ІТО НАМНУ" (в 1 мл 1×10^5 КУО). На 2-гу добу та у наступні дні експерименту на досліджувану рану наносили високомінералізований розчин у вигляді спрею, а на контрольну рану – фізіологічний розчин. На 3-ю та 7-му добу здійснювали мікробіологічний посів із кожної рани. Через 7 діб рановий дефект шкіри був взятий для гістологічного дослідження. **Результати.** Макроскопічно у перші 3 доби експерименту спостерігали істотне зменшення площі ранового дефекту за рахунок стягування з тенденцією до пришивидшення у досліджуваних дефектах. Повного закриття рани на 7-му добу не відбулось. Результати посівів підтвердили ріст мікробних колоній *Staphylococcus aureus*, які візуально (динаміка росту, кількості та розмір колоній) не відрізнялись від біологічних зразків, отриманих із контрольних та досліджуваних дефектів шкіри. Незважаючи на контамінацію, гнійних виділень із рани не спостерігали. **Висновки.** В експерименті показано, що вплив на загоєння рани засобу на основі високомінералізованого розчину потенційно може сприяти відновним процесам у шкірі, зокрема ангиогенезу та відновленню дерми, але інші впливи, такі як протизапальний та антибактеріальний, потребують подальших досліджень.

Ключові слова: високомінералізований розчин; ангиогенез; шкірна рана.

Вступ

Загоєння шкірних ран є серйозною медичною проблемою, яка ускладнюється бактеріальною інфекцією і потребує відповідного догляду та лікування [1]. Відновлення шкірного бар'єра є складним фізіологічним процесом, що передбачає проліферацію та міграцію клітин, ремоделювання колагену та ангиогенез [2]. Інфекційний контроль відіграє важливу роль у лікуванні уражень шкіри і потребує використання специфічних протимікробних засобів. Метою дезінфікуючих препаратів є зменшення кількості мікроорганізмів на забрудненій поверхні

та запобігання їхнього розповсюдження [3-5]. На практиці різноманітні вогнепальні поранення, які з самого початку є інфікованими, потребують застосування як місцевих, так і загальних антибактеріальних препаратів [6, 7]. Технічна проблема загоєння ран, яка має бути розв'язана, полягає у виборі засобів, які були б простими у застосуванні, чинили протинабрякову, дезінфікуючу дію, сприяли загоєнню ран і не мали побічних ефектів та обмежень у використанні щодо типу рани.

Серед доступних агентів місцевого лікування надають перевагу антибіотикам, але інші антисептичні засоби можуть мати більш широкий спектр дії, включно з дією на бактерії, гриби, віруси, і додатково чинити гемостатичний ефект. Потенційно розглядаються гіпотонічні (0,05% гіпохлорид натрію) [8] та гіпертонічні (7% хлорид натрію) електролітні розчини [9], глинисті мінерали (каолін, бентоніт) [10], полі-

✉ Богдан С.В., www.sergey-mena@ukr.net

¹ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України", м. Київ

²ДУ "Інститут травматології та ортопедії НАМН України", м. Київ

³Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

лактат із кальцієвмісними наночастинками [11], ацетат хітозану з карбонатом кальцію [12], кремнезем і біоскло [13], інші високомініералізовані продукти [14] та багатокомпонентні мінеральні композиції [15]. Раніше було показано, що застосування композитних матеріалів, які вивільняють кальцій і фосфор, сприяє регенерації шкіри і стимулює ангиогенез [16, 17]. Висунуто припущення, що високомініеральний розчин у формі спрею може локально сприяти загоєнню рани і мати протиінфекційну дію. Для підтвердження цієї гіпотези проведена оцінка дії високомініерального розчину на регенерацію шкіри на експериментальній моделі контамінованого ранового дефекту шкіри.

Мета роботи: дослідити вплив високомініералізованого розчину у формі спрею на відновлювальні процеси шкіри при рановому дефекті в експерименті.

Матеріали і методи

Дослідження проведено в умовах віварію на 5 дорослих статевозрілих кролях породи шиншила (вага 3,2-3,8 кг). Тваринам вистригали ділянку шкіри на спині площею 10×10 см. Вирізали фрагменти шкіри 2×2,5 см симетрично по обидва боки від хребта на рівні X-XII ребер (рис. 1). На рани наносили 0,5 мл розчину концентрату культури стафілококу (*Staphylococcus aureus*), приготованого на базі лабораторії мікробіології ДУ "ІТО НАМНУ" (в 1 мл 1×10^5 КУО) [5-7] (рис. 1). На 2-гу добу та у наступні дні експерименту на досліджувану рану наносили високомініералізований розчин ("Намгіфор") у вигляді спрею, а на контрольну рану – фізіологічний розчин. На 3-ю та 7-му добу здійснювали мікробіологічний посів із ран. Через 7 діб рановий дефект шкіри було взято для гістологічного дослідження.



Рис. 1. Інфікування ранового дефекту шкіри суспензією стафілококу

На 7-му добу після моделювання рани фрагменти шкіри видаляли під місцевою анестезією, фіксували у 10% розчині формаліну (рН 7,4), зневоднювали в ізопропанолі та ущільнювали у парафіні (Leica Surgipath Paraplast Regular). Парафінові зрізи виготовляли на мікротомі Thermo Microm НМ 360. Зрізи депарафінували і забарвлювали гематоксиліном та еозинном. Мікропрепарати досліджували за допомогою мікроскопу Olympus ВХ51.

Результати та їх обговорення

Макроскопічно у перші 3 доби експерименту спостерігали істотне зменшення площі ранового дефекту за рахунок стягування тканин із тенденцією до пришвидшення у досліджуваних дефектах (рис. 2). Повного закриття ран як досліджуваної, так і контрольної груп на 7-му добу не відбулось.

Результати мікробіологічних досліджень засвідчили контамінацію рани стафілококом у всіх випадках (рис. 3). Результати посівів підтвердили ріст мікробних колоній *Staphylococcus aureus*, які візуально (динаміка росту, кількості та розмір колоній) не відрізнялись від біологічних зразків, отриманих із контрольних та досліджуваних дефектів шкіри. Незважаючи на контамінацію, гнійних виділень із рани не спостерігали.

Мікроскопічно в обох групах ранових дефектів виявлено структурні ознаки регенерації епідермісу та дерми (рис. 4). Поверхня ранового дефекту містила струпу, у якому виявлено некротизовані тканини. Під струпом виявлено ділянки епідермісу в фазі регенерації, який вкривав сполучну тканину дерми. Повної реепітелізації дефекту не відбулось у жодному з досліджуваних зразків, виявлено регенеруючий епітелій під струпом без чіткої стратифікації на шари з деякими морфологічними ознаками формування базального шару. У дермі встановлено значне ремоделювання сполучної тканини, щільність новоутвореного колагену істотно відрізнялась від перифокальної дерми. Новоутворений колаген у вигляді тонких волокон пронизував дерму під регенеруючим епітелієм, що у поєднанні зі збільшеною щільністю фібробластів було свідченням регенеративних та рубцевих змін. Дрібні крововиливи та нейтрофільну інфільтрацію під регенеруючим епідермісом виявлено в обох групах порівняння. Водночас у контрольних дефектах у дермі виявлено дрібні крововиливи, тоді як у досліджуваних зразках регенерація судин була більш активною. Також у всіх зразках ран встановлено атрофію м'язової тканини (шар тонких, невеликих кластерів поперечно посмугованих м'язових волокон виявлено у всіх зразках шкіри), яка розділяла дерму і навколишні тканини.



2-га доба:

а)



б)



3-я доба:

а)



б)



6-та доба:

а)



б)



7-ма доба:

а)

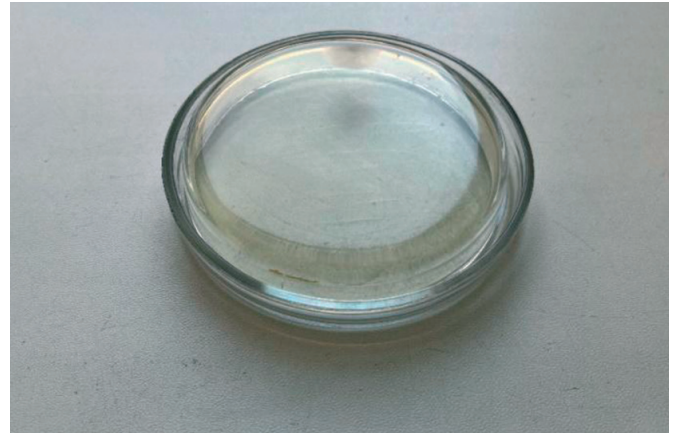


б)

Рис. 2. Загоєння рани після моделювання ранового дефекту шкіри:
а) досліджувана рана; б) контрольна рана

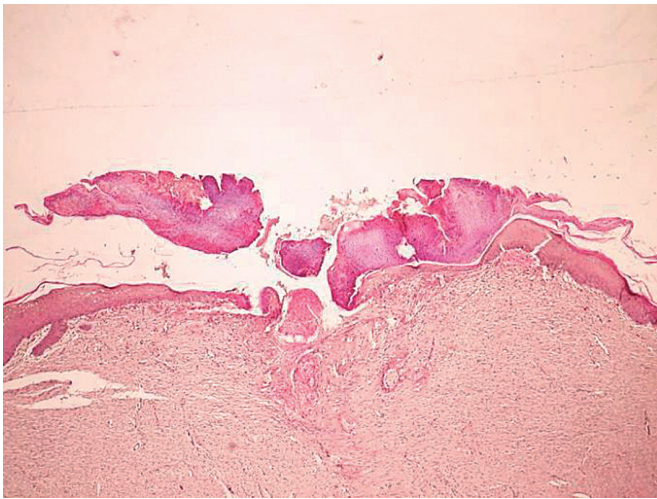


а)

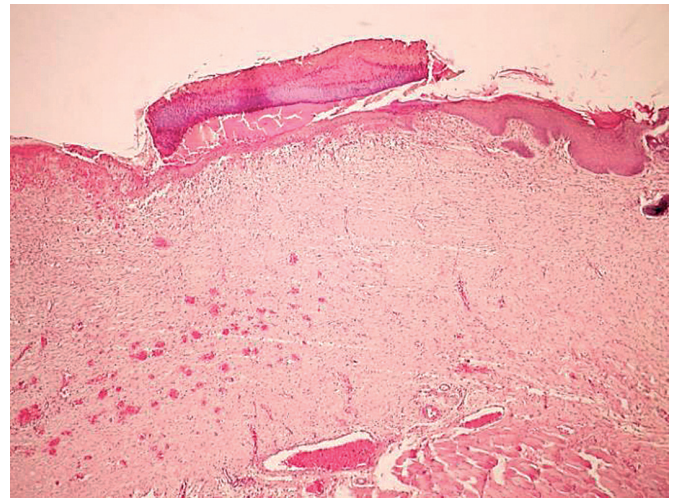


б)

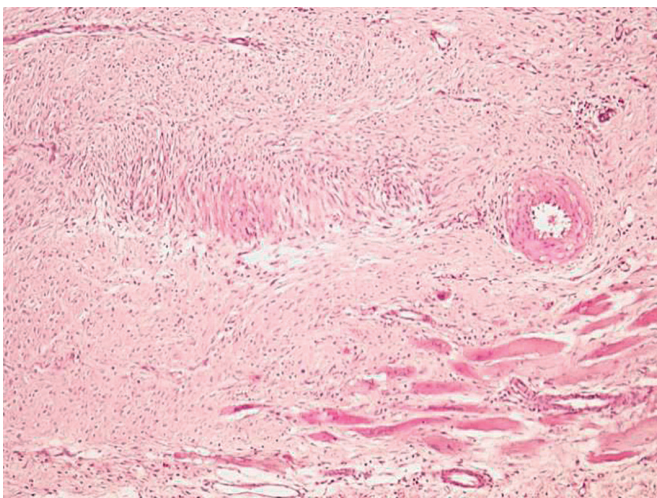
Рис. 3. Вигляд чашок Петрі після посіву з досліджуваної рани:
а) на 3-ю; б) на 7-му добу експерименту



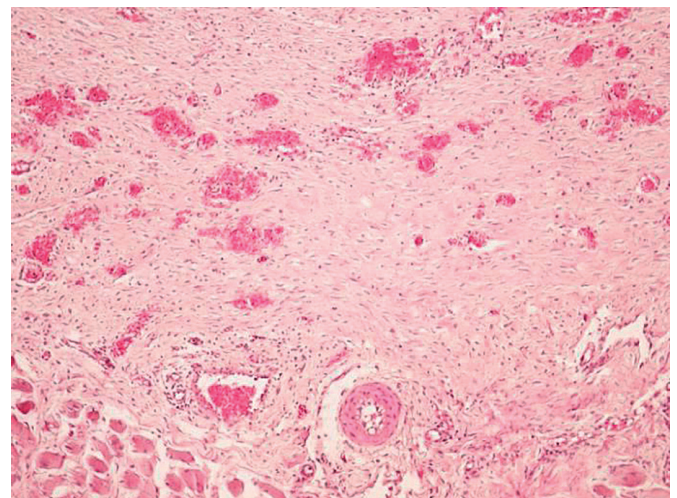
а)



б)



а)



б)

Рис. 4. Гістологічні дослідження ранового дефекту шкіри: а) досліджувана рана;
б) контрольна рана. У контрольній групі відмічено більшу щільність кровоносних (стазованих) судин
на рівні дерми, локальні крововиливи. Гематоксилін-еозин, зб. $\times 100$ та $\times 200$

Таким чином, регенерація шкіри в обох групах ранових дефектів мала подібні морфологічні прояви, хоча у контрольній групі щільність стазованих кровоносних судин та крововиливів візуально була більшою, тоді як чисельних крововиливів у дерму в досліджуваній групі не спостерігали, що гіпотетично може бути морфологічним проявом впливу досліджуваного засобу на ангиогенез у відновленні дерми.

Обговорення

Передбачається, що інноваційні високомінералізовані засоби, які включають цілу низку солей та мікроелементів у високих концентраціях, створюють у рані високий осмотичний тиск, чим забезпечується видалення з рани гнійного вмісту, та мають помірні протимікробні властивості. В експериментах [9, 10] та в медичній практиці [17] показано ефективну дію концентрованих водних розчинів натрію хлориду. Створений високий осмотичний тиск дає можливість отримати більший за гіпертонічний розчин осмотичний градієнт між шкірою та препаратом. Це в свою чергу дає можливість руху рідини зі шкіри до високомінералізованого продукту, що забезпечує зменшення набряку тканин та запалення. Перевагою у застосуванні гемостатичних та гіпертонічних розчинів у формі спрею над формою просякнutoї розчином серветки є простота у нанесенні та відсутність необхідності їхньої частої заміни.

Препарат “Намгіфор” є розчином природного полімінералу, який включає цілу низку солей та мікроелементів у високих концентраціях, за рахунок чого створюється високий осмотичний тиск, який суттєво вищий за осмотичний тиск плазми крові. Також протизапальні властивості препарату “Намгіфор” реалізуються шляхом супресивного впливу деяких компонентів розчину на лейкоцити (нейтрофіли та лімфоцити).

Висновки

В експерименті показано, що вплив на загоєння рани засобу на основі високомінералізованого розчину сприяє відновним процесам у шкірі, зокрема ангиогенезу та відновленню дерми, але інші впливи, такі як протизапальний та антибактеріальний, потребують проведення подальших досліджень.

Конфлікт інтересів. Автори декларують відсутність конфлікту інтересів. Ця публікація не була, не є і не буде предметом комерційної зацікавленості в будь-якій формі.

References

- Zegadło K, Gieroń M, Żarnowiec P, Durlik-Popińska K, Kręciś B, Kaca W, Czerwonka G. Bacterial Motility and Its Role in Skin and Wound Infections. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 15;24(2):1707. doi: 10.3390/ijms24021707. PMID: 36675220; PMCID: PMC9864740.
- Benito-Martínez S, Pérez-Köhler B, Rodríguez M, Izco JM, Recalde JI, Pascual G. Wound Healing Modulation through the Local Application of Powder Collagen-Derived Treatments in an Excisional Cutaneous Murine Model. *Biomedicines* 2022, 10, 960. doi: 10.3390/biomedicines10050960.
- Russotto V, Cortegiani A, Fasciana T, Iozzo P, Raineri SM, Gregoretti C, Giammanco A, Giarratano A. What healthcare workers should know about environmental bacterial contamination in the intensive care unit. *Biomed. Res. Int.* 2017. doi: 10.1155/2017/6905450.
- Suleyman G, Alangaden G, Bardossy AC. The Role of Environmental Contamination in the Transmission of Nosocomial Pathogens and Healthcare-Associated Infections. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2018, 20, 12. doi: 10.1007/s11908-018-0620-2.
- Wesgate R, Robertson A, Barrell M, Teska P, Maillard JY. Impact of test protocols and material binding on the efficacy of antimicrobial wipes. *J. Hosp. Infect.* 2019, 103, e25-e32. doi: 10.1016/j.jhin.2018.09.016.
- Gemein S, Gebel J, Christiansen B, Martiny H, Vossebein L, Brill FHH, Decius M, Eggers M, Koburger-Janssen T, Meckel M, et al. Interlaboratory reproducibility of a test method following 4-field test methodology to evaluate the susceptibility of *Clostridium difficile* spores. *J. Hosp. Infect.* 2019, 103, 78-84. doi: 10.1016/j.jhin.2019.04.011.
- Becker B, Henningsen L, Paulmann D, Bischoff B, Todt D, Steinmann E, Steinmann J, Brill FHH, Steinmann J. Evaluation of the virucidal efficacy of disinfectant wipes with a test method simulating practical conditions. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 2019. doi: 10.1186/s13756-019-0569-4.
- Scalise A. The new formulation of the 0,05% sodium hypochlorite electrolytic solution for cutaneous use: reasons and advantages. *AboutOpen Dermatology.* 2021;8(1):14-22. doi: 10.33393/ao.2021.2221.
- Samidah S, Prihantono, Ahmad M, Jompa J, Rafiah S, Usman AN. The effectiveness of 7% table salt concentration test to increase collagen in the healing process of wound. *Gac Sanit.* 2021;35 Suppl 2:S199-S201. doi: 10.1016/j.gaceta.2021.07.015.
- Diegelmann RE, Ward KR, Carr ME, Bowlin GL. Hemostasis of wound having high pressure blood flow using kaolin and bentonite. Patent U.S. Ser. No. 11/884,363 filed Sep. 12, 2008.
- Perez-Amodio S, Rubio N, Vila OF, Navarro-Requena C, Castaño O, Sanchez-Ferrero A, Marti-Munoz J, Alsina-Giber M, Blanco J, Engel E. Polymeric Composite Dressings Containing Calcium-Releasing Nanoparticles Accelerate Wound Healing in Diabetic Mice. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2021 Jun;10(6):301-316. doi: 10.1089/wound.2020.1206.
- Yaping Zhou, Hongyu Li, Jiwei Liu, Yan Xu, Yonglu Wang, Hao Ren, Xueming Li. Acetate chitosan with CaCO₃ doping form tough hydrogel for hemostasis and wound healing. *Polymers for Advanced Technologies.* 2019; 30, Issue1:143-152. doi: 10.1002/pat.4452.
- Yi Zheng, Jinfu Wu, Yufang Zhu, Chengtie Wu. Inorganic-based biomaterials for rapid hemostasis and wound healing. *Chem. Sci.,* 2023;14:29-53 doi: 10.1039/D2SC04962G.
- Муравейник ВС, Мальцев ДВ, Муравейник АВ,

Тарасевич ОМ. Результаты апробации высокоминерализованных продуктов в клинической практике. Иммунология та алергологія: наука і практика. 2020;1:17-24. doi: 10.37321/immunology.2020.01-03.

Muraveinyk V.S, Maltsev DV, Muraveinyk AV, Tarasevych OM. Rezultaty aprobatsii vysokomineralizovanykh produktiv v klinichnii praktitsi. Imunolohiia ta alerholohiia: nauka i praktyka. 2020;1:17-24. doi: 10.37321/immunology.2020.01-03.

15. Patent KR102022671B1. Composition for skin wound healing and regeneration comprising mineral ion complex. <https://patents.google.com/patent/KR102022671B1/en>.

16. Oliveira H, Catros S, Boiziau C, Siadous R, Marti-Munoz J, Bareille R, Rey S, Castano O, Planell J, Amédée J, Engel E. The proangiogenic potential of a novel calcium releasing biomaterial: Impact on cell recruitment. *Acta Biomater.* 2016 Jan;29:435-445. doi: 10.1016/j.actbio.2015.10.003. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26441126.

17. Tanaka H, Arai K, Fujino A, Takeda N, Watanabe T, Fuchimoto Y, Kanamori Y. Treatment for hypergranulation at gastrostomy sites with sprinkling salt in paediatric patients. *J Wound Care.* 2013 Jan;22(1):17-8, 20. doi: 10.12968/jowc.2013.22.1.17

The Effect of Hypertonic Mineral Solutions on Reparative-Regenerative Processes in a Skin Wound Defect in an Experiment

Tsymbaliuk V.I.¹, Strafun S.S.², Bobdan S.V.², Savosko S.I.³

¹SI "Romodanov Neurosurgery Institute of NAMS of Ukraine", Kyiv

²SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv

³Bogomolets National Medical University, Kyiv

Summary. Background. Skin wound healing is a serious medical problem that is complicated by bacterial infections and requires appropriate care and treatment.

Objective: to study the effect of a highly mineralized spray solution on the regenerative processes of the skin in a wound defect in an experiment. **Materials and Methods.** The study was conducted under laboratory conditions on 5 adult Chinchilla rabbits (weight 3.2-3.8 kg). A 10x10 cm area of skin on the back was shaved, and skin fragments measuring 2x2.5 cm were symmetrically excised on both sides of the spine at the level of X-XII ribs. A 0.5 ml solution of *Staphylococcus aureus* culture concentrate prepared in the laboratory of microbiology of the SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine" was applied to the wounds. On the second and subsequent days of the experiment, a highly mineralized spray solution was applied to the experimental wound, while a physiological saline solution was applied to the control wound. On the 3rd and 7th days, a microbiological culture was taken from the wounds. After 7 days, the skin wound defect was taken for histological examination. **Results.** Macroscopically, there was a significant reduction in the area of the wound defect during the first three days of the experiment due to contraction, with a tendency to accelerate in the experimental defects. However, complete closure of the wound did not occur on the 7th day. The results of the cultures confirmed the growth of microbial colonies of *Staphylococcus aureus*, which visually (growth dynamics, number and size of colonies) did not differ from the biological samples obtained from control and experimental skin defects. Despite the contamination, purulent discharge from the wound was not observed. **Conclusions.** The experiment showed that the use of a high-mineralized solution-based agent potentially contributes to regenerative processes in the skin, including angiogenesis and dermal restoration, but other effects, such as anti-inflammatory and antibacterial, require further research.

Key words: highly mineralized solution; angiogenesis; skin wound.