

СТИМУЛИРАНЕ НА ГРАНУЛАЦИОННИЯ ПРОЦЕС ПОД ДЕЙСТВИЕТО НА ПРЕПАРАТА PHASEOLOSAXIN

(Експериментални проучвания)

М. Т. Цонева-Манева, П. Б. Мишев, П. Червенков

През 1959 г. бе наблюдавано *in vitro* от D. A. Kungerford и сътр. развитие на митози в левкоцити от периферна кръв на човека, предизвикани от действието на фитоаглютинина, изолиран от *Phaseolus vulgaris* (6). Тази митогенна способност на ФХА от *Phaseolus vulgaris* бе напълно доказана от P. Nowell през 1960 г. и събуди голям интерес (9).

Относно биологичната същност на това явление бе изказана хипотеза от G. Reagrain и сътр. (10), че митотичната активност, проявена от левкоцитите под действието на ФХА, е своеобразен имунен отговор на неговите силни антигенни качества. Предизвикването на митотична активност *in vitro* в левкоцитите от периферна кръв на човек бе наблюдавано от ред автори при въздействието и на други антигени от бактериален или растителен произход (5, 7, 8, 10). Техните резултати потвърждават хипотезата на G. Reagrain. Подобен ефект на ФХА бе установен и върху някои животински организми — морско свинче и др. (7).

Тези данни сочат, че развитието на митотичната активност в левкоцитите на периферната кръв под действието на различни антигенни дразнителни е общобиологично явление.

Общобиологичният характер на това явление даде основание на един от авторите да създаде хипотеза, че под действието на ФХА на *Ph. vulgaris* може да се предизвика митогенна активност не само в левкоцитите от периферната кръв на човек и някои животни, но и в клетките на някои други тъкани в последните, които също така са способни към имунна реактивност.

Тези свойства на ФХА биха имали ценно практическо приложение в хирургията за стимулиране на грануляционния процес в редица случаи, където е забавен. Тази работна хипотеза бе основата за поставяне на експериментални проучвания, целящи да проверят стимулиращото действие на ФХА от *Phaseolus vulgaris* върху грануляционния процес и заздравяването на раните. Резултатите от тези проучвания са представени в настоящата работа.

Методика

Използвахме фитохемоаглютиници от *Phaseolus vulgaris* от сорта сакса (*Phaseolus* *loquax*), получени и проучени от един от авторите (2, 3, 4). Проучванията проведохме върху 22 морски свинчета, при левкоцитите на които е доказана митогенната активност на ФХА, в два опита (7). При първия имахме за цел да проследим влиянието на ФХА върху раневия процес при масивна инфекция, а при втория — протичането на целия оздравителен процес — характера и сроковете както на ексудативната и пролиферативната фаза, така и тези на грануляцията и епителизацията.

След избръсване на кожата, стандартно маркиране и местна новокаинова анестезия изрязвахме кожата, апоневрозата и част от сакро-спиналните мускули на гърба в лумбо-сакралната област на морските свинчета. Така получавахме кръгли кожно-мускулни рани на сравнително удобно за манипулиране място. Всички рани заразявахме с по две капки стафилококова и стрептококова култура. Прилагахме върху раните стерилна марля и лека гипсова превръзка. В първия опит използвахме дванадесет морски свинчета, които бяха разделени в 2 групи: при едната прилагаме ФХА, а при другата суха превръзка. Третирането на раните с ФХА започнахме на 36-ия час, като използвахме разтворен във физиологичен серум ФХА в концентрация 30 μ мг. С този разтвор в продължение на 15 минути обливахме на капки раните, след което ги покривахме с напоена в същия разтвор марля, която намазвахме отгоре с вазелин. Следващите три превръзки направихме през ден, а останалите през 2 дни.

Резултати

При първата превръзка след нараняването, анатомичните елементи (мускули, фасции, съединителна тъкан и др.) на раните личаха, тъканите изглеждаха като сварени, със слаба гнойна секреция. При втората превръзка (5-ия ден) вече се установиха известни различия. Кожните ръбове на всички рани бяха заоблени, оточни, болезнени и леко неравни. При третираните рани с ФХА анатомичните елементи вече слабо личаха, секрецията беше оскъдна, гъста, миризлива, тъканите бяха оточни, хиперемирани, сочни, докато у контролната група анатомичните елементи все още ясно личаха, секрецията беше по-обилна, рядка, миризлива, тъканите с по-слаб оток, кафеникаво-сивкави и имаха вид на сварени. На третата превръзка (7-ия ден) в третираната група анатомичните елементи на раните бяха заличени, имаше видими грануляции, розови, кървящи, които покриваха цялото дъно. Секрецията беше гъста, оскъдна и слабо миришеше, докато у контролната анатомичните елементи все още личаха, на места имаше грануляции, но не по цялата рана и секрецията беше обилна, рядка със силна и неприятна миризма. Общо взето, раните на третираната група бяха свежи, розови, а на контролната — кафеникаво-ливидни. Тъканите изглеждаха еднакво оточни. На четвъртата превръзка (9-ия ден) третираните рани имаха богати грануляции, дъното изглеждаше плитко, отокът на тъканите почти изчезнал, секрецията гъста, оскъдна, почти не миришеше, а у контролните — грануляциите бяха ливидни, секрецията обилна, миризлива, тъканите с по-голям оток и раните изглеждаха по-дълбоки. На петата превръзка (11-ия ден) раните в третираната група вече плитки, без оток в околните тъкани, неболезнени, а контролните животни още имаха оток около раните, болезненост и раните изглеждаха по-дълбоки. На шестата превръзка (13-ия ден) раните в третираната група бяха вече изравнени с нивото на кожата, с гладка грануляционна повърхност, а в контролната — с плитко дъно, неравна грануляционна повърхност, обилна гнойна секреция, болезнени при пипане. Епителизационният вал

намаляваше почти равномерно и в двете групи. Наблюдението прекъснахме на деветата превръзка (24-ия ден при силно намалени размери на раните).

На деветия ден от раните взехме материал за биопсия. Микроскопското изследване даде следния резултат: в третираната с ФХА група се установява добре изразен слой от възпалителен ексудат, представен

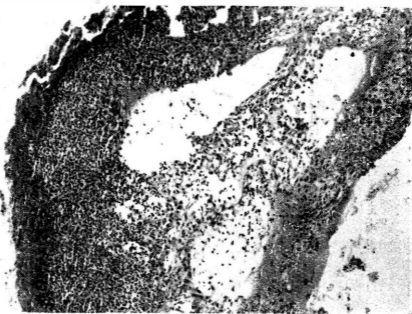


Фиг. 1. Резултат от биопсияното изследване на третиран с ФХА рани

предимно от левкоцити (гноенно възпаление) в различни стадии на дегенерация — пикноза, карнорексис и карнолиза. В подлежащата част има ивица от хомогенизирана, оточна и безядрена тъкан (фибриноидно набъбване). В дълбочина — грануляционна тъкан, богата на фибробласти, малко фиброцити, с поява на колагенини влакна, пролифериращи ендотелни клетки, млади капилляри и единични хистиоцити. Фибробластите са с хиперхромни ядра, с известна полихромазия и чести митози, което е израз на буюн растеж. В контролната група биопсията показва също добре изразен възпалителен слой, но границата между него и грануляционната тъкан не е ясно представена. Сред грануляционната тъкан, представена от фибробласти, повече фиброцити, колагенини влакна и единични капилляри, има много левкоцити и лимфоидни клетки. Междуклетъчното вещество е оточно. Прави впечатление, че тук фибробластите са по-малко, с по-малко митози, а ядрата не са интензивно обогрени (фиг. 1, 2).

Вторият опит проведохме с 10 морски свинчета, 5 третиран с ФХА и 5 контролни. Постановянето на този опит имаше за цел както да потвърди наблюденията ни от първия опит, така също и да проследи по-точно процесите на грануляция и епителизация при третираните и контролните

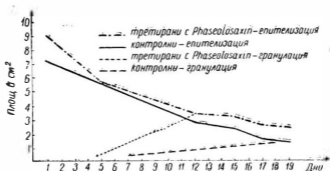
групи. Методиката на възпроизвеждане на раните беше както при първия опит. Контролната група третирахме с физиологичен разтвор, който считаме, че най-добре уеднаквява условията на експеримента, а освен това самият той представлява един стимулатор на раневия процес. При този опит не заразахме раните с микробни култури. Във връзка с поставената



Фиг. 2. Резултат от бионичното изследване на контролни рани

задача още с нараняването започнахме измерване на всички рани, което правехме при всяка превръзка до края на наблюдението. Третирането с ФХА започнахме веднага с нараняването. На втората превръзка, т. е. на третия ден от нараняването, кожните ръбове и при двете групи бяха заоблени, гладки, леко оточни и болезнени. Анатомичните елементи на раните личаха още ясно в контролната група и бяха слабо оточни, докато в третираната бяха леко заличени, сочни и набъбнали. Секрецията беше гноевидна, общо взето, слаба, но по-оскъдна в третираната група. На третата превръзка (5-ия ден) анатомичните елементи в контролната група още личаха, нямаше гранулации, секрецията беше слаба, докато при третираната — анатомичните елементи почти бяха заличени, имаше видими гранулации, розови, кървящи, неравномерно покриващи дъното на раните, със слаба секреция. На четвъртата превръзка (7-ия ден) в контролната група имаше вече гранулации, отокът на кожния вал бе намалял, но още болезнен. При третираната група гранулациите бяха буйни, дребнозърнести, кървящи, а кожният вал беше почти без оток и безболезнен. На петата превръзка (10-ия ден) дъното на контролните рани изглеждаше дълбоко, с умерена гнойна секреция, докато в третираните — бе плитко, с по-слаба секреция. На следващата — шеста, превръзка (12-ия ден) гра-

нуляционната повърхност при третираните рани беше изравнена с кожата повърхност, докато при контролните беше още дълбока. Това изравняване в контролната група настъпи постепенно и успоредно с епители-



Фиг. 3. Характер на процесите на грануляция и скорост на епителизация в третиран с ФХА и в контролни рани

зацията. При третираната група след изравняването се получи изглаждане, полиране на грануляционната повърхност, върху която пълзеше епителят.

Раните наблюдавахме до 19-ия ден, когато размерите им много намаляха и бяха почти пред пълно заздравяване.

Резултатите от намалението на раневата площ, респективно процесът на епителизация, както и този на грануляцията в третираната и контролната група са представени на фиг. 3.

От фиг. 3 се вижда, че средната площ на раните в контролната група е била с 1,72 кв. см по-малка в началото от тази на третираната, а в края на наблюдението тази разлика е намаляла на 1,07 кв. см. Или в третираната група имаме заздравяла площ по 0,65 кв. см в повече средно за всяка рана. За отбелязване е, както личи на графичната крива, фактът, че най-бързо са намалявали раните от третираната група през първата седмица, когато и обективно разликата в раневия процес беше най-очевидна, което се изрази в бърза реакция на раната с интензивна и ранна ексудативна и пролиферативна реакция. Като резултат на тази бърза реакция на третираните с ФХА рани се получиха отчетливи, свежи грануляции по цялата рана на петия ден, а в контролната група това настъпи с два дена закъснение. Растежът на гранулациите, както и при първия опит, в третираната група се разви бързо и на дванадесетия ден дъното на раните се изпълни и изравни с кожата повърхност, а в контролната това стана бавно, постепенно и успоредно с епителизацията. Графично това изпълване на раните с грануляции и изравняването им с кожата повърхност изразихме с права, ограничена с две точки — началото на поява на гранулациите и момента на изравняването им с кожата повърхност. Стръмнината на тази линия нагледно отразява бързината на грануляционния процес.

На седмия ден вземахме материал за биопсия от двете групи. Микроскопското изследване на препаратите показва в общи линии същите закономерности, както и при първия опит. Разликата при втория опит беше тази, че възпалителният процес тук беше малко по-слабо изразен. Както в първия опит, така и във втория границата между възпалителния повърхностен слой и грануляционната тъкан в дълбочина е добре изразена в третираната с ФХА група и гранулациите също показват буен растеж с повече митози, с хиперхромни и с известна полихромазия ядра на клетките. От друга страна, известно по-ранно зреене на грануляционната тъкан в контролната група личи и във втория опит.

Обсъждане

При разглеждането на получените резултати и в двата опита се установява разлика в развитието на раневия процес при контролните животни и тези, при които раните са третирани с ФХА.

Получените различия недвусмислено сочат значителното благоприятно протичане на процеса на оздравяване на раните при третирането им с ФХА. Това се изразява в по-ранна реакция на раните към ограничаване на възпалителния процес, което се проявява именно в характера на ексудативната фаза при третираните с ФХА животни. Последната започва рано, протича с подчертана интензивност и трае кратко време. Същата фаза при нетретираните с ФХА животни започва по-късно, протича с по-слаба интензивност и трае продължително време. Тази особеност се потвърждава и от биопсичното изследване, където възпалителният процес е рязко ограничен в третираните животни и дифузен в контролните. Тези резултати показват, че ФХА стимулират хистоиммунитета. Този факт може да се дължи, от една страна, на нахлуването на антитела в раневата тъкан от кръвния ток, което се получава вследствие силните антигенни свойства на ФХА, а, от друга страна, стимулирането на фагоцитозата. Предварителни резултати от проучванията ни (М. Цонева-Манева, К. Бошнакова) на стимулиращото действие на ФХА върху фагоцитозата *in vitro* са в подкрепа на тази възможност.

Фитохемоаглютининът оказва подчертан стимулиращ ефект върху развитието на гранулациите, както се вижда от графика и от данните на биопсичното изследване. Богатството на фибробласти, честите митози, хиперхромният характер на ядрата с белези на полихромазия в клетките на грануляционната тъкан при третираните с ФХА животни подчертават буйния растеж. Това показва, че благоприятното развитие на оздравителния процес се проявява и в пролиферативната му фаза, която настъпва по-рано и протича по-буйно в третираните с ФХА животни, както се вижда ясно на фиг. 3.

Не можем да кажем обаче, че същата интензивност се наблюдава и в процеса на епителизацията на раните. Както се вижда от фиг. 3, епителизацията на раните, третирани с ФХА, е относително по-слабо проявена в сравнение с развитието на гранулациите, макар че, сравнена с епителизацията на контролните животни, е изразена по-добре.

Важно значение за практическото приложение на препарата Phaseoloxaphin при лечението на раните е наблюдаваното от нас по-бавно узря-

ване на грануляционната тъкан (по-малко фиброцити и колагенни влакна и повече фибробласти) при третиранията с ФХА животни.

От обсъждането на получените резултати ние виждаме, че митогенната способност на ФХА се проявява и спрямо клетките на грануляционната тъкан. Това обстоятелство потвърждава нашата хипотеза за общобиологичния характер на митогенната способност на ФХА, доказването на което бе цел на настоящите изследвания. То потвърждава и схващането на М. Попов за общоклетъчните стимуляционни агенти, между които може да бъде поставен и ФХА (1).

Заклучение

Фитохемоаглютининът от *Phaseolus vulgaris* стимулира зарастването на раните, като съкращава ексудативната фаза на оздравителния процес чрез повишаване на хистоимунитета и ускорява пролиферативната фаза, като предизвиква буен растеж на грануляциите. Последното е резултат на митогенната способност на ФХА, която има общобиологичен характер.

При наличните резултати считаме, че фитохемоаглютининът е подходящ да бъде използван като стимулатор при лечението на всички видове рани и особено при трофичните и инфектираните.

При това му използване е необходимо известна диференцираност в начина на прилагането му при различните видове рани.

При обикновените рани е достатъчно приложението му в продължение на една седмица до появата на хубави грануляции, а при трофичните и инфектираните рани в по-дълъг срок в зависимост от развитието на оздравителния процес.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попов, М. Клетъчната стимулация и приложението ѝ в растениевъдството и медицината. изд. БАН. — 2. Цонева-Манева, М. Т. — *Год. Науч. Трудове ВМН—Варна*, 1963, т. 11, св. 1, 76. — 3. Цонева-Манева, М. Т., Р. С. Незлин. — *Цитология*, 1963, 4, 458. — 4. Цонева-Манева, М. Т., Е. П. Угрюмов. — *Бюл. Эксп. Биол. и Мед.*, 1963, 2, 73. — 5. Hirschhorn, K. R. L., Kolodny, N., Hashem — *Lancet*, 1963, 11, 305. — 6. Hungerford, D. A., A. I. Donnelly, P. C. Nonell and al. — *Am. J. Human Genetics*, 1959, 11, 215. — 7. Lycette, R. R., G. E. Pearmain. — *Lancet*, ii., 1963, 386. — 8. Marschall, W. H., K. B. Roberts. — *Lancet*, i, 1963, 773. — 9. Nowell, P. C. — *Cancer Res.*, 1960, 20, 462. — 10. Pearmain, G. E., R. R. Lycette. — *Lancet*, ii, 1963, 1072.

СТИМУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССА ГРАНУЛЯЦИИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПРЕПАРАТА PHASEOLOXIN

М. Т. Цонева-Манева, П. В. Мишев, П. Червенков

РЕЗЮМЕ

Исходя из гипотезы об общебиологической природе митогенной способности фитогемоагглютинина *Phaseolus vulgaris*, авторы поставили перед собой задачу установить стимулирующие развитие грануляционной ткани свойства фитогемоагглютинина (препарата Phaseoloxin).

На основании проведенных опытов на 22 морских свинках с искусственно вызванными ранами, половина которых лечилась ФГА, а половина была оставлена в виде контрольных, было установлено, что фитогемоагглютинин из *Phaseolus vulgaris* стимулирует заращение ран, сокращая экссудативную и ускоряя пролиферативную фазу процесса выздоровления.

Основываясь на полученных результатах, рекомендуется использовать фитогемоагглютинин в виде стимулятора, при лечении всех видов ран и в особенности трофических и инфицированных.

STIMULATING THE GRANULATION PROCESS UNDER THE EFFECT OF THE PREPARATION PHASEOLOGANIN (EXPERIMENTAL STUDIES)

M. T. Tzoneva-Maneva, P. B. Mishev and P. Chervenkov

SUMMARY

Proceeding from the hypothesis for the general biological characteristic feature of the mythogenic capacity of the phytohemagglutinin from *Phaseolus vulgaris*, the authors make an attempt to establish the properties of the phytohemagglutinin (preparation Phaseologin) stimulating the development of granulation tissue. The experiments carried out on 22 guinea-pigs with intentionally produced wounds, one half of them treated with PNA and the other used as a control group, show that the phytohemagglutinin of *Phaseolus vulgaris* stimulates the wound healing process, bringing about a reduction of the exudative and enhancement of the proliferative phase of the healing process. Against the background of the results obtained the use is recommended of phytohemagglutinins as stimulators in the management of all types of wounds and more particularly trophic and infected wounds.