

На правах рукописи

Шаблин Дмитрий Валерьевич

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕКТИНОВЫХ ПЛЕНОК С ИММУНОМОДУЛЯТОРОМ

АМИНОФТАЛГИДРАЗИДОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН

(экспериментальное исследование)

14.01.17 – хирургия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Нальчик – 2015

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Кубанский государственный медицинский университет» министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России).

Научный руководитель: Павленко Сергей Георгиевич,

доктор медицинских наук, профессор

Научный консультант: Евглевский Андрей Александрович,

кандидат медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты: Маскин Сергей Сергеевич,

доктор медицинских наук, профессор,

заведующий кафедрой госпитальной хирургии

ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный
медицинский университет»

Айдемиров Артур Насирович,

доктор медицинских наук, профессор,

заведующий кафедрой госпитальной хирургии

ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный
медицинский университет»

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «15» мая 2015г. в 15-00 на заседании диссертационного совета Д.212.076.10 по защите диссертаций на соискание ученой степени при ФГБОУ ВПО «Кабардино-Балкарском государственном университете им. Х.М. Бербекова» по адресу: 360004, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173, корп. №11, ауд.602.

Факс: +7(495)3379955, e-mail: bsk@kbsu.ru

С [диссертацией](#) можно ознакомиться в библиотеке Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х.М. Бербекова и на официальном сайте университета ([http:// www.kbsu. ru](http://www.kbsu.ru))

[Автореферат](#) разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь [диссертационного](#) совета
кандидат медицинских наук, доцент

Захохов Р.М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Длительно существующие раны остаются одной из существенных проблем здравоохранения. К разновидности таких ран относят и трофические язвы венозной этиологии. Чаще всего трофическими язвами страдают представители экономически развитых стран, частота заболевания в России и Западной Европе составляет от 1% до 4% населения и остается неизменной многие годы [А.И. Кириенко и др., 1999; М.М. Магомедов, 2001; В.С. Савельев, 2001; С.И. Тимофеева, 2002; А.И. Кириенко и др., 2005; Д.Ю. Андреев, 2007; А.В. Гавриленко и др., 2008, 2009; В.Н. Оболенский и др., 2009; В.М. Седов, 2009; LP Abbade, etal, 2005; S. Sasanka, 2012]. Перед практическими врачами встают большие трудности в лечении данного вида ран. Течение этих ран отличается торпидностью, длительностью и сменяемостью фаз раневого процесса, что приводит к большому расходу медикаментов и перевязочного материала. К сожалению, несмотря на то, что раны были известны ещё врачам древности, до настоящего времени имеется неудовлетворённость результатами лечения больных с данной патологией [Г.Д. Никитин и др., 2001; П.Г. Швальб, 2002] и требует дальнейшего поиска наиболее оптимальных лекарственных воздействий. Учитывая вышеизложенное, целью настоящей работы явилось совершенствование местного лечения ран и ожогов на основе применения пектиновых пленок с иммуномодулятором аминоксидом в эксперименте.

Цели и задачи исследования

- 1) Обосновать в эксперименте применение пектиновой пленки с аминоксидом для лечения полнослойных кожных и ожоговых ран.
- 2) Провести гистологическую, цитохимическую оценку лечебного действия пектиновых пленок для ожоговых ран в эксперименте.
- 3) Изучить влияние пектиновых пленок с иммуномодулятором аминоксидом на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови лабораторных животных с полнослойными кожными ранами.
- 4) Оценить показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса раневого экссудата у лабораторных животных с моделированными полнослойными кожными ранами, подвергшихся лечению пектиновыми пленками.

Новизна результатов исследования

1. Изучена цитологическая и иммунохимическая динамика раневого процесса при использовании пектиновых пленок с иммуномодулятором аминоксидом при лечении экспериментальных ожоговых и полнослойных кожных ран в эксперименте.

2. Получены новые данные о биохимических процессах в раневом отделяемом при использовании пектиновых пленок с аминофтальгидразидом при лечении полнослойных кожных ран в эксперименте на примере про - и антиоксидантной активности.

3. Экспериментально определена лечебная эффективность пектиновых пленок с аминофтальгидразидом для лечения экспериментальных ожоговых и полнослойных кожных ран у лабораторных животных.

Теоретическая значимость исследования. Результаты исследования расширяют представление о возможностях применения современных природных раневых покрытий с иммуномодуляторами при лечении ран различного генеза.

Практическая значимость исследования

1. В эксперименте обоснован и предложен способ лечения ожоговых ран с применением пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофтальгидразидом, который способствует стимуляции регенерации ран.

2. Данные экспериментов позволят подготовить основу для планирования клинических испытаний пектиновых пленок с аминофтальгидразидом в хирургической клинике.

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре факультетской хирургии с курсом анестезиологии и реаниматологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, на кафедре хирургических болезней НОЧУ ВПО «Кубанский медицинский институт», кафедре госпитальной хирургии ГБОУ ВПО СГМА, имеются акты внедрения.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Свекловичные пектиновые пленки с иммуномодулятором аминофтальгидразидом являются перспективными раневыми покрытиями, стимулирующими репаративные процессы в экспериментальных ранах и требующие дальнейшего изучения в клинических условиях.

2. Использование свекловичных пектиновых пленок с аминофтальгидразидом способствует быстрому переходу 2-й фазы раневого процесса в 3-ю в экспериментах на лабораторных крысах.

Апробация работы. Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались: на XII Международной научной конференции и III Международной научной онкологической конференции (2008, Эйлат - Пермь); на IX итоговой научно-практической конференции молодых ученых (2011, Челябинск); на XVI Международной конференции «Новые

информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» (5–15 июня 2008, Украина, Крым, Ялта–Гурзуф); на XI съезде хирургов Российской федерации (2011, Волгоград); на IX Международной научно-практической конференции (2012/2013, Прага). По результатам исследования опубликовано 16 печатных работ, из них – журналах, рекомендованных ВАК – 3, получен патент РФ №2342955 на изобретение.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Список литературы включает 141 отечественных и 72 зарубежных источника. Диссертация изложена на 157 страницах, иллюстрирована 42 рисунками (в том числе 8 фотографиями), 19 таблицами, четырьмя графиками, представлено 2 клинических примера.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа базируется на данных экспериментальных, морфологических, цитоиммунохимических, биохимических и иммунологических методах исследования. В исследованиях применяли пектиновые пленки из высокоочищенного низкометоксилированного свекловичного пектина, полученного на базе Майкопского технологического университета доцентом, д.т.н. З.Н. Хатко. Субстанция аминофталгидразида любезно предоставлена для проведения экспериментальных исследований директором «Абидофарма» профессором Абидовым М.Т. Дизайн экспериментальных исследований приведен на рисунке 1.

Рисунок 1. Дизайн проведенных экспериментальных исследований

Для проведения 3-х серий экспериментов были сформированы 3 группы исследований, для каждой серии свой набор групп.

I серия эксперимента – полнослойные кожные раны:

I группа – контрольная (самостоятельное заживление ран);

II группа – опытная 1 (пектиновые пленки без иммуномодулятора аминофталгидразида);

III группа – опытная 2 (пектиновые пленки с иммуномодулятором аминофталгидразидом).

II серия экспериментов – полнослойные кожные раны:

I группа – животные у которых раны заживали самостоятельно (без лечения);

II группа - пектиновые пленки с иммуномодулятором аминофталгидразидом;

III группа – интактный контроль.

III серия эксперимента – ожоговые раны:

I группа – без лечения;

II группа – мазь «левомеколь»;

III группа – пектиновые пленки с иммуномодулятором аминофталгидразидом

Опыты на животных проведены с использованием общего обезболивания, регламентируемого приложением №8 («Правила гуманного обращения с лабораторными животными») «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клеток (вивариев)» (№ 1045-73), а также приказом № 724 от 1984 г. Министерства высшего образования СССР «Правила проведения работ с экспериментальными животными». Исследования проводились в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к лабораторным животным (2000г.), директивы Европейского сообщества (86/609 ЕС) и Правил лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

Обезболивание лабораторных крыс осуществляли по схеме: 3 мг золетила, 0,8 мг ксиланита, 0,02 мл - 0,1 % раствора атропина на 100 г веса животных. Операционное поле последовательно обрабатывали однократно 5% спиртовым раствором йода и 70% этиловым спиртом, после чего закрывали стерильными салфетками. Моделирование полнослойных кожных ран осуществляли следующим способом: у крыс в асептических условиях под наркозом после сбривания шерсти в области спины паравертебрально ножницами формировали полнослойную кожную рану круглой формы до фасции 2 см в диаметре площадью 314 мм². При этом циркулярно иссекали кожу и фасцию, покрывающую мышцы и осуществляли гемостаз, после чего, с целью предотвращения ранней контракции раны, к ее краям прикладывали тонкие пластиковые кольца, которые подшивали к краю кожной раны и фасции узловатыми швами или обшивали края раны непрерывным швом мононитью. На рану путем аппликации наносили пектиновые пленки на основе свекловичного пектина с аминофталгидразидом (патент РФ на изобретение №2342955). На контрольную рану накладывали стерильную салфетку с мазью «левомеколь». Макроскопическую оценку давали на 1, 4, 7, 10 и 14-е сутки, проводили планиметрическое исследование. Забор венозной крови для иммунологических исследований производили из кончика хвоста путем отсечения его части.

Для выполнения ожога нагретый до 100°С латунный цилиндр площадью контактной поверхности 706 мм² и массой 300 г с силой давления на ткани 3 Ньютона помещали на кожу спины лабораторного животного (рис. 7) на 15 секунд, таким образом моделируется ожог IIIА степени и на 30 секунд (модель ожога IIIБ степени). У каждого животного моделировали две ожоговых раны – IIIА и IIIБ степени. Смену препаратов делали через день, отмечали динамику эпителизации. На 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35-е сутки производили планиметрические исследования, брали мазки-отпечатки с раны и периферическую кровь из кончика хвоста животного.

Планиметрические исследования производили путем накладывания на рану стерильного листа полиэтиленовой пленки и переноса на нее контура кожного дефекта. Затем полученное изображение раны накладывали на лист миллиметровой бумаги, после чего подсчитывали количество квадратных миллиметров, заключенных внутри границ контура. Повторное измерение площади ран осуществляли на 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35-е сутки проводимого местного лечения. Динамику уменьшения площади раны в ходе заживления оценивали в процентах по формуле: $Y = 100 \times S_0 - St / S_0$ (метод Навакатиняна О.А., Фенчина К.М., 1979), где S_0 – начальная площадь раны, St – площадь на день t .

Гистохимические исследования: мазки и отпечатки, фиксированные ацетон-этаноловой смесью подвергали гидролизу в 5 N HCl при 37°С в течение 8 минут (Евглевский А.А., 1985), а затем окрашивали в стандартизованных условиях реактивом Шиффа по Фельгену на ДНК, окрашенные таким образом мазки и отпечатки, подвергали абсорбционной фотометрии на установке ФЭМЛ-1а методом двух площадей по Гарсиа (1969) при длине волны 530 нм. Материал, фиксированный параами формалина, окрашивали на катионный белок прочным зеленым FCF при pH-8,2 по В.М. Пигаревскому (1979). Миелопероксидазу выявляли методом Sato и Sekla (1928), а гликоген по Mac Manus в модификации А. Пирса (1961). Учет результатов осуществляли полуколичественным методом Астальди и Верга (1957). В отпечатках, окрашенных по Май-Грюнвальду, подсчитывали количество клеточных форм, наблюдаемых в 10 произвольно выбранных полях зрения микроскопа при его увеличении x200. Для уточнения морфологического типа клеток использовали иммерсионные микроскопические системы с увеличением x1000. Документирование результатов исследования осуществляли методом цифровой микрофотографии при увеличении x630.

Для определения показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса биоматериал из раны забирался по методике А.Р. Ромм и соавт. (1986) в модификации М.И. Быков и соавт. (2007), которая предусматривает забор жидкого биоматериала с поверхности раны путем сорбции и забор плотного биоматериала с поверхности раны путем отпечатывания. Определение антиокислительной активности (АОА) экссудата раны амперометрическим способом проводилось на анализаторе антиоксидантной активности “Яуза-01-ААА”, производства ОАО НПО “Химавтоматика” по методу А.Я. Яшина и соавт. (2003) в модификации А.А. Басова и соавт. (2007). Активность КАТ

исследовали в раневом экссудате по методу R.Beers et I. Sizer, (1952) в модификации И.И. Павлюченко и соавт., (2006). Для определения активности супероксиддисмутазы (СОД) использовали методику В.А. Костюк и соавт. (1990) в модификации И.И. Павлюченко и соавт. (2006). Метод основан на способности СОД ингибировать реакцию аутоокисления кверцетина в связи с тем, что одним из промежуточных продуктов этой реакции является супероксидный анион-радикал.

Определение бактериального фагоцитоза с оценкой степени завершенности производили по методике И.В. Нестеровой и соавт., (1996). Оценку кислородзависимых микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов (НГ) оценивали в NBT-тесте (Нестерова И.В. и соавт., 1996).

Результаты исследований обрабатывали методами вариационной статистики на компьютере с помощью программы Micro-Stat фирмы “Borland-Corporations”

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенное комплексное планиметрическое, иммунологическое, биохимическое и цитохимическое исследование с использованием компьютерного анализа изображения клеток позволило ответить на ряд вопросов, связанных с особенностью влияния пектиновых пленок с аминофталгидразидом на течение раневого процесса.

В ходе проведенных планиметрических исследований в 3-х сериях экспериментов оценена скорость эпителизации раневых дефектов на модели полнослойной кожной раны и ожоговых ран IIIA и IIIB ст. В наших исследованиях у животных с 4-х суток в группе «пектиновая пленка с аминофталгидразидом» отмечалось значительное достоверное уменьшение площади раневых дефектов в сравнении с контрольной за счет раневой контракции и краевой эпителизации: $136,80 \pm 7,21 \text{ мм}^2$ – при использовании пленки с аминофталгидразидом против $253,20 \pm 9,9 \text{ мм}^2$ в контроле. Такая тенденция сохраняется до 14-х суток, что видно из таблицы 1.

Таблица 1

Динамика изменения площади полнослойных ран в зависимости от способа лечения ($M \pm m, p$)

Раневое покрытие	Площадь ран (мм^2) в различные сроки лечения					
	Исходная	1-е сутки	4-е сутки	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки
Пектиновая пленка с аминофталгидразидом (n=5)	$313,40 \pm 0,68$	$307,40 \pm 3,16$	$136,80 \pm 7,21^* \#$	$84,60 \pm 6,05^* \#$	$15,40 \pm 5,17^* \#$	$3,00 \pm 1,36^*$

Пектиновая пленка без иммуномодулятора (n=5)	313,20±0,73	308,00±1,52	246,00±11,1	135,60±6,00*	31,00±4,52*	7,80±1,50*
Контроль (n=5)	314,00±0,00	313,40±0,4	253,20±9,9	177,00±5,50	75,20±6,04	15,20±2,2

Примечание: * достоверность отличий от контроля ($p < 0,01$; $p < 0,001$), # достоверность межгрупповых отличий ($p < 0,01$; $p < 0,001$)

Пектиновая пленка без действующего агента приводила к достоверному уменьшению площади раны только с 7-х суток: $84,60 \pm 6,05 \text{ мм}^2$ против $177 \pm 5,50 \text{ мм}^2$ контрольной группы. Полоска новообразованного эпителия в краях раны достигала 1 мм. В контрольной же группе к 7-м суткам отмечалось образование сухого струпа с формированием краевого эпителия под ним, сохранялась умеренно выраженная экссудация под струпом. Межгрупповые различия между пленками были статистически достоверны с 4-х суток наблюдения и сохранялись вплоть до полного заживления ран.

Уже на 4-е сутки у животных 2 группы (пектиновая пленка, ассоциированная с аминофталгидразидом) намечается статистически значимая тенденция к сокращению площади раны в 2,7 раза в сравнении с контрольной группой и в 2,6 раза в сравнении с 1-й группой (пектиновая пленка без иммуномодулятора). В дальнейшие сроки наблюдения отмечался сходный характер изменений 2-й группы в сравнении с контролем: происходило достоверное уменьшение площади ран у животных получавших лечение пленками, ассоциированными с аминофталгидразидом. Также отмечались достоверные межгрупповые отличия с 4-х суток на протяжении всего срока лечения.

В ходе проведенного эксперимента были определены сроки заживления ожоговых ран, представленных на рисунках № 2 и № 3. Как видно из представленных ниже рисунках, у животных, получавших лечение пектиновыми пленками (3-я группа), на 5-е сутки лечения происходило достоверное уменьшение площади ожоговой раны обеих степеней в 2 раза в сравнении с контрольной группой, и сохранялась вплоть до полного заживления до 30-х суток.

Рисунок 2. Динамика изменения площади ожоговых ран IIIa ст. (мм²)

Рисунок 3. Динамика изменения площади ожоговых ран IIIб ст. (мм²)

Примечание: * достоверность отличий от контроля ($p < 0,001$), # достоверность межгрупповых отличий ($p < 0,001$)

Таким образом, применение пектиновых пленок в лечении полнослойных кожных и ожоговых ран по данным планиметрии демонстрирует хороший результат. Особенно выражен клинический эффект от пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом.

Анализируя динамику активности основных ферментов системы антиоксидантной защиты, нельзя не отметить, что наиболее благоприятное комплексное действие на них оказали пектиновые пленки с аминофталгидразидом, которые замедляли рост активности супероксиддисмутазы (СОД) в первые сутки раневого процесса (таблица 2), ускоряли ее снижение в дальнейшем, что в сочетании с умеренным снижением активности каталазы (КАТ) отражает выраженное снижение оксидативных процессов в ране как проявление купирования воспалительной реакции. Использование препаратов пектина без действующего агента оказывало значительно меньшее влияние на активность указанных выше ферментов.

Таблица 2

Динамика активности супероксиддисмутазы раневого экссудата у животных различных групп в эксперименте (ед. акт.)

Временной интервал (сутки)	Пектиновая пленка без иммуномодулятора 2 группа	Пектин с аминофталгидразидом 3 группа	Контрольная группа 1 группа
3-е	0.1322 0.0178	0.1360 0.0106	0.1378 0.0096
7-е	0.2132 0.0211*^	0.1884 0.0117^	0.3038 0.0167
10-е	0.1852 0.0123*^	0.1000 0.0096^	0.1280 0.0146
14-е	0.1138 0.0111*^	0.0568 0.0141^	0.0856 0.0156

* - статистически значимые различия при сравнении с группой «пектин с аминофталгидразидом» (критерий Вилкоксона, $p < 0,05$).

^ - статистически значимые различия при сравнении с контрольной группой (критерий Вилкоксона, $p < 0,05$).

Исследования показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса раневого экссудата у лабораторных животных с моделированными полнослойными кожными ранами позволили сделать вывод, что наиболее благоприятное комплексное действие на них оказала пектиновая пленка с аминофталгидразидом. Последняя замедляла рост активности СОД в первые сутки раневого процесса, ускоряла ее снижение в дальнейшем, что в сочетании с умеренным снижением активности каталазы отражает выраженное снижение оксидативных процессов в ране как проявление купирования воспалительной реакции. Использование препаратов пектина без действующего агента оказывало значительно меньшее влияние на активность указанных выше ферментов.

Полученные нами в ходе эксперимента данные показали, что иммунодепрессивные изменения в системе нейтрофильных гранулоцитов (НГ) периферической крови крыс с экспериментальными послойными ранами кожи, максимально выражены на 10-е сутки. При самостоятельном заживлении ран, создаются условия для вторичного инфицирования и более длительного репаративного процесса. Это обусловлено тем, что НГ, являясь первой линией защиты организма от инфекций, благодаря способности к активному фагоцитозу, участвуют и в репаративных процессах посредством цитокинсекретирующей способности и стимуляции пролиферации фибробластов и эндотелиоцитов. В то же время применение при заживлении экспериментальных ран в качестве аппликантов свекловичных пектиновых пленок не только не сопровождается функциональной депрессией фагоцитов, но

и в ряде случаев приводит к стимуляции показателей фагоцитарной и микробицидной функции, что в свою очередь может индуцировать функциональное истощение клеток. В этой связи позитивной оценки заслуживают полученные нами результаты иммунологической эффективности сочетанного применения свекловичных пектиновых пленок и иммуномодулятора аминофталгидразида, которое позволяет сохранять показатели фагоцитарной и микробицидной функции НГ в пределах нормы интактных крыс даже в поздние сроки наблюдения. Вышеперечисленный механизм общих иммунологических изменений в периферической крови лабораторных животных с полнослойными кожными ранами по нашему мнению обусловлен стимулирующим действием аминофталгидразида на продукцию цитокинов, выходом последних в периферическую кровь и воздействием их на клеточное и гуморальное звено иммунитета. Описанный нами механизм требует уточнения и проведения дополнительных исследований. Наблюдаемая активация клеток неспецифического звена антимикробной защиты вызвана антиоксидантным эффектом использования пектиновых пленок с аминофталгидразидом. Вышеперечисленное влияние аминофталгидразида уменьшает повреждающее действие активных радикалов кислорода не только на не затронутые патологическим процессом клетки и ткани, но и на сами эффекторные клетки иммунной системы.

Проведенное цитологическое исследование и исследование цитохимических реакций НГ при лечении экспериментальных ожоговых ран показало, что при использовании пектиновых пленок с аминофталгидразидом на 7-е сутки происходит переход процесса из воспалительно-регенераторной фазы к регенераторно-воспалительной. В ходе исследования ядерного материала НГ выявлено, что ядра НГ экспериментальных животных находятся в активированном состоянии, максимум активационных процессов соответствует третьему дню от начала и их наибольшая выраженность обнаруживается у крыс опытной группы. НГ периферической крови и экссудата лабораторных животных с экспериментальной ожоговой раной мягких тканей спины характеризовались сниженным содержанием катионных белков, ШИК-положительных веществ (гликогена) и активности миелопероксидазы в их цитоплазме. Максимум данного снижения приходился на третьи сутки наблюдения и максимален у животных опытной группы. Результаты проведенного морфологического и цитохимического исследования позволило нам предположить, что пектиновые пленки с аминофталгидразидом активируют как внутрисосудистый, так и тканевой пул НГ, вызывают дополнительную активацию ядерного материала НГ и усиливают расходование активных компонентов их цитоплазмы.

В ходе применения пектиновых пленок в лечении экспериментальных ран нами были отмечены следующие положительные свойства и клинический эффект:

1. хорошая адгезия пленок к раневой поверхности после предварительного увлажнения пленок в антисептическом растворе;

2. отсутствие воспалительных проявлений со стороны раны;
3. отсутствие парникового эффекта и чрезмерной экссудации под пленочным покрытием;
4. пленки способствуют быстрому переходу 2-й фазы раневого процесса к 3-й.

Недостаток по нашему мнению заключался в чрезмерной ломкости пленочных покрытий до момента увлажнения последних и темная окраска пленки, ассоциированной с аминофталгидразидом, что затрудняет визуальную оценку раневой поверхности.

Таким образом, были получены убедительные данные об эффективности применения свекловичной пектиновой пленки с аминофталгидразидом в лечении полнослойных и ожоговых ран у лабораторных животных. Исходя из вышесказанного, можно с уверенностью сказать, что раневые покрытия на основе свекловичного пектина с добавлением иммуномодулятора аминофталгидразида являются весьма перспективной лекарственной формой. Активация процессов эпителизации и пролиферации, стимуляция показателей фагоцитарной и микробицидной функции НГ, выраженная антиокислительная активность пектиновой пленки с аминофталгидразидом, побуждает продолжить дальнейшие исследования по применению данного раневого покрытия в клинической практике лечения ожогов и ран.

ВЫВОДЫ

1. Свекловичные пектиновые пленки и пленки с аминофталгидразидом стимулируют процессы эпителизации и скорость заживления полнослойных кожных и ожоговых ран: с 4-х суток в группе «пектиновая пленка с аминофталгидразидом» отмечалось значительное достоверное уменьшение площади раневых дефектов в 1,8 раза в сравнении с контрольной за счет раневой контракции и краевой эпителизации. Пектиновая пленка без действующего агента приводила к достоверному уменьшению площади раны только с 7-х суток: $84,60 \pm 6,05 \text{ мм}^2$ против $177 \pm 5,50 \text{ мм}^2$ контрольной группы. Скорость заживления ожоговых ран достоверно увеличивается на 5, 15 и 30-е сутки с достижением максимума к 30-му дню наблюдения
2. Пектиновые пленки с аминофталгидразидом способствуют переходу воспалительно-регенераторной фазы раневого процесса к регенераторно-воспалительной уже на 7-е сутки и активизации внутрисосудистого и тканевого пула нейтрофильных гранулоцитов, ядерного материала нейтрофилов. Максимум активационных процессов ядерного материала соответствует третьему дню от начала лечения пектиновыми пленками.

3. При местном применении пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом у лабораторных животных с полнослойными кожными ранами происходят общие иммунологические изменения в периферической крови. Местное применение пленок с иммуномодулятором приводит к стимуляции показателей фагоцитарной и микробицидной функции, что в свою очередь может индуцировать функциональное истощение клеток. Механизм общего влияния при местном применении пленок по нашему мнению обусловлен стимулирующим действием аминофталгидразида на продукцию цитокинов, выходом последних в периферическую кровь и воздействием их на клеточное и гуморальное звено иммунитета. Описанный нами механизм требует уточнения и проведения дополнительных исследований.

4. Применение пектиновых пленок с аминофталгидразидом для лечения полнослойных кожных и ожоговых ран потенцируют активность основных ферментов системы антиоксидантной защиты (каталазы, супероксиддисмутазы) у лабораторных животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. После получения соответствующих разрешительных документов пектиновые пленки с аминофталгидразидом можно будет применять при вялогранулирующих ранах, термических ожогах II, IIIa и IIIб ст. в ранние сроки после травмы. Применение пленочных раневых покрытий на основе пектинов в стадию гнойного воспаления и экссудации требует дальнейшего изучения. Точкой приложения пектиновых пленок является раневая поверхность ожоговой раны и трофической язвы. Пектиновые пленки можно будет использовать в комбустиологии в качестве лечебного средства перед аутодермопластикой, а также в хирургических отделениях при лечении обширных трофических язв венозной этиологии.

2. Выраженный стимулирующий регенерацию эффект пектиновых пленок на течение раневого процесса побуждает продолжить дальнейшие исследования по применению данного раневого покрытия в клинической практике в лечении ожогов и ран.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Павленко С.Г. Использование пектиновых пленок с фиксированными фармпрепаратами для лечения трофических язв на фоне ХВН. (Тезисы). Здоровье семьи-21 век. Онкология- 21 век / С.Г. Павленко, **Д.В. Шаблин**, З.Н. Хатко, А.А. Евглевский //Материалы 12 междунар. науч. конф. и 3 междунар. научн. онкол. конф.:тез. - Эйлат; Пермь, 2008.-С.398-399.

2. Павлюченко, И.И. Оценка антиоксидантной активности пектиновых пленок с аминофталгидразидом, применяемых для местного лечения ран в экспериментальных моделях *in vivo*/ И.И. Павлюченко, **Д.В. Шаблин**, С.Р. Федосов // *Materialy 9 mezinarodnivedecko – prakticka konference. Praha.* - 2012/2013. - S. 34 - 38.
3. *Пат. 2360678 Российская Федерация, МПК А61Р41/00, А61Р31/02. Способ лечения раневых поверхностей / С.Г. Павленко, З.Н. Хатко, **Д.В. Шаблин**, О.В. Кадол. - № 2008103660/14; заявл. 30.01.2008; опубл. 10.07.2009, Бюл. № 19. – 4 с.: ил.
4. Саакян, Э.А. Морфологическая и биохимическая картина длительно незаживающей раны при использовании пектиновых пленок с фиксированным фармпрепаратом в эксперименте / Э. А. Саакян, **Д.В. Шаблин**, С. Т. Беретарь // *Материалы 2 междунар. (9 итог.) науч.-практ. конф. молодых ученых.* – Челябинск, 2011.-С.218-222.
5. ***Шаблин, Д.В.** Оценка эффективности лечения экспериментальных ожоговых ран при использовании пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом [Электронный ресурс] / **Д.В. Шаблин**, С.Г. Павленко, А. А. Евглевский, А. А. Хуранов // *Современные проблемы науки и образования.* – 2012. – № 5. – Режим доступа :<http://www.science-education.ru/105-6965>. - Дата обращения: 10.09.2012.
6. ***Шаблин, Д.В.** Современные раневые покрытия в местном лечении ран различного генеза: обзор лит. / Д.В. Шаблин, С.Г. Павленко, А.А. Евглевский, П.П. Бондаренко, А.А. Хуранов // *"Фундам. исслед.* – 2013. - № 12 (2). – С. 361 – 365.
7. ***Шаблин, Д.В.** Опыт лечения хронических трофических язв венозной этиологии у геронтологических больных / **Д.В. Шаблин**, С.Г. Павленко, З.Н. Хатко, А.А. Евглевский // *Кубан. науч. мед. вестн.* - 2010. - №7 (121). -С. 171-174.
8. **Шаблин, Д.В.** Эффективность лечения экспериментальных ожоговых ран при использовании пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом / **Д.В. Шаблин**, С.Г. Павленко, А.А. Евглевский // *Современные проблемы и пути их решения в науке, транспорте, производстве и образовании: сб. науч. тр.Sword.* - Одесса, 2012. - С. 32 - 37.
9. **Шаблин, Д.В.** Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови крыс с экспериментальными полнослойными кожными ранами и на фоне применения пектиновых пленок / **Д.В. Шаблин**, С.Г. Павленко, З.Н. Хатко, Г.А. Чудилова, Л.В. Ломтатидзе // *Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы 20 юбил. междунар. конф.* – Ялта; Гурзуф, 2012. - С. 233-235.

10. **Шаблин, Д.В.** Анализ динамики заживления полнослойных кожных ран у крыс при использовании пектиновых пленок с аминофталгидразидом / **Д.В. Шаблин, С.Г. Павленко** //Материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Краснодар; Анапа, 2012. - С.397-398.

11. **Шаблин, Д.В.** Цитологическая оценка местного течения раневого процесса экспериментальных ожоговых ран в условиях традиционного лечения и лечения с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом: материалы конф. / **Д.В. Шаблин, С.Г. Павленко, А.А. Евглевский, П.П. Бондаренко** //Междунар. журн. приклад. и фундам. исслед. – 2012. - №11. - С. 21-24.

12. **Шаблин, Д.В.** Использование пектиновых пленок с фиксированными фармпрепаратами для лечения трофических язв на фоне хронической венозной недостаточности. / **Д.В. Шаблин, С.Г. Павленко, З.Н. Хатко, А.А. Евглевский** //Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы 16 междунар. конф. и дискус. науч. клуба. - Ялта; Гурзуф.- 2008. - С.181-182.

13. **Шаблин, Д. В.** Морфологическая оценка использования пектиновых пленок в фиксированными фармпрепаратами в эксперименте / **Д.В. Шаблин, С.Г. Павленко, З.Н. Хатко, А.А. Евглевский** // Вестн. новых мед. технологий. – 2009. – Т. 14, №1. - С.190-191.

14. **Шаблин, Д.В.** Особенности лечения хронических трофических язв венозной этиологии у геронтологических больных / **Д.В. Шаблин, С.Г. Павленко, З. Н. Хатко, А. А. Евглевский** // 21 съезд хирургов Рос. Федерации: материалы съезда. - Волгоград, 2011. - С. 394-395.

15. **Шаблин, Д.В.** Применение пектиновых пленок с фиксированными фармпрепаратами у больных с трофическими язвами на фоне хронической венозной недостаточности / **Д.В. Шаблин, С.Г. Павленко, З.Н. Хатко, А.А. Евглевский, П.Б. Русских** // Конгресс «Человек и лекарство. Краснодар-2008»: тез. докл. – Краснодар, 2008.- С.101-102.

16. **Шаблин, Д.В.** Эффективность лечения экспериментальных ожоговых ран при использовании пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом / **Д.В. Шаблин, С.Г. Павленко, А.А. Евглевский** // Сб. науч.-практ. работ, посвящ. 65-летию Ю. С. Винника. – Красноярск, 2013. - С. 517 - 520.

*** - опубликовано в журналах, входящих в перечень изданий, рекомендуемых ВАК РФ для опубликования материалов докторских и кандидатских диссертаций.**

Список сокращений

АОА – антиокислительная активность

АОС – антиоксидантная система

БВХЛ – быстрая вспышка хемилюминесценции

КАТ – каталаза

КОМБэр – коэффициент окислительной модификации биомолекул эритроцитов

СОД – супероксиддисмутаза

ТБЧ – тиобарбитуровое число

ЭВМ – электронная вычислительная машина

SH-группы – сульфгидрильные группы