

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

ШАБЛИН Дмитрий Валерьевич

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ПЕКТИНОВЫХ ПЛЕНОК С ИММУНОМОДУЛЯТОРОМ
АМИНОФТАЛГИДРАЗИДОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН
(КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.17 – хирургия

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:
доктор медицинских наук
профессор С.Г. Павленко
Научный консультант:
к.м.н., доцент Евглевский А.А.**

Нальчик – 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	6
ВВЕДЕНИЕ.....	7
Глава 1. ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ МЕСТНОЙ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ РАН (обзор литературы).....	12
1.1. Состояние проблемы местного лечения ран различного генеза на современном этапе.....	12
1.2. Основные принципы местного лечения хронических, ожоговых ран и трофических язв венозной этиологии.....	16
1.3. Современные раневые покрытия в лечении ран различной этиологии.....	27
1.4. Применение препаратов пектина в медицине на современном этапе	32
1.5. Применение пектина в лечении ран различной этиологии.....	34
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	37
2.1. Экспериментальные исследования.....	37
2.1.1. Материал исследований.....	38
2.1.2. Характеристика исследуемых пленочных покрытий.....	40
2.2. Методы моделирования ран и ожогов	47
2.2.1. Обезболивание подопытных животных.....	47
2.2.2. Моделирование полнослойных кожных ран.....	47
2.2.3. Моделирование ожогов.....	49
2.2.4. Планиметрическое исследование.....	51

2.2.5. Цистологические исследования.....	51
2.3. Биохимические методы исследования.....	52
2.3.1. Методика забора биологического материала.....	52
2.3.2. Методики оценки прооксидантно-антиоксидантного статуса биологического материала.....	53
2.3.3. Амперометрический анализ антиокислительной активности.....	53
2.3.4. Определение активности каталазы.....	54
2.3.5. Определение активности супероксиддисмутазы.....	55
2.4. Иммунологические методы.....	56
2.4.1. Определение бактериального фагоцитоза с оценкой степени завершенности	56
2.4.2. Оценка кислородзависимых микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов в NBT-тесте.....	57
2.4.3. Спонтанный NBT- тест.....	58
2.4.4. Стимулированный NBT-тест-нагрузочный тест in vitro..	59
2.5 Клинические аспекты применения пектиновых пленок с аминофталгидразидом в лечении трофических язв венозной этиологии	60
2.5.1. Характеристика больных	60
2.5.2 Клинические методы исследования	60
2.6. Методы статистической обработки.....	61
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕКТИНОВЫХ ПЛЕНОК С АМИНОФТАЛГИДРАЗИДОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ И ОЖГОВЫХ РАН В ЭКСПЕРИМЕНТЕ.....	63
3.1. Анализ заживления полнослойных кожных ран у крыс при использовании пектиновых пленок с иммуномодулятором	

аминофталгидразидом.....	63
3.2. Иммунологическая эффективность применения пектиновых пленок в лечении полнослойных кожных ран в эксперименте	67
3.3. Оценка антиоксидантной активности пектиновых пленок при лечении полнослойных кожных ран в эксперименте.	74
3.3.1. Оценка антиоксидантной активности пектиновых пленок в экспериментальных моделях <i>in vitro</i>	74
3.3.2. Оценка антиоксидантной активности пектиновых пленок, применяемых для местного лечения ран, в экспериментальных моделях <i>in vivo</i>	76
3.4. Моделирование ожоговых ран у лабораторных животных и оценка эффективности лечения ожогов при использовании пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом.....	80
3.5. Резюме.....	87
Глава 4. ДИНАМИКА МОРФОЦИТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАНЕВОГО ЭКССУДАТА ОЖГОВОЙ РАНЫ КРЫС В ПРОЦЕССЕ ИХ ЛЕЧЕНИЯ ПЕКТИНОВОЙ ПЛЕНКОЙ С АМИНОФТАЛГИДРАЗИДОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ.....	89
4.1. Цитологическая оценка местного течения раневого процесса при лечении мазью «левомеколь» и лечении с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом.....	89
4.2. Динамика содержания катионного белка нейтрофильных гранулоцитов периферической крови и экссудата при лечении мазью «левомеколь» и лечении с использованием пектиновых пленок с	

аминофталгидразидом.....	97
4.3. Динамика содержания ШИК-положительных веществ нейтрофильных гранулоцитов периферической крови и экссудата в условиях традиционного лечения ожоговой раны и лечения с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом.....	101
4.4. Динамика активности миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов периферической крови и экссудата при лечении мазью «левомеколь» и лечении с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом.....	104
4.5. Динамика оптической плотности ядер нейтрофильных гранулоцитов периферической крови и экссудата, окрашенных по Фельгену на ДНК при лечении мазью «левомеколь» и лечении с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом.....	107
4.6. Обсуждение результатов цитохимического исследования раневого экссудата.....	110
4.7. Резюме.....	114
4.8. Клинические аспекты применения пектиновых пленок с аминофталгидразидом в лечении трофических язв венозной этиологии.....	114
Глава 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	121
ВЫВОДЫ.....	128
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	130
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	131
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	155

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АОА – антиокислительная активность

БВХЛ – быстрые вспышки хемилюминесценции

ИП – индекс переваривания

КАТ – каталаза

КБ – катионный белок

КМ – коэффициент мобилизации

К-ППаА- кровь лабораторных животных при лечении с использованием пектиновых пленок, ассоциированных с аминофталгидразидом

К-ТЛ- кровь лабораторных животных при традиционном лечении

НГ – нейтрофильные гранулоциты

ППаА – пектиновые пленки ассоциированные с аминофталгидразидом

РП – раневое покрытие

СОД – супероксиддисмутаза

СЦИ – средний цитохимический индекс

ТЯ – трофическая язва

УВ - увеличение

ФАН – фагоцитарная активность нейтрофилов

ФИ – фагоцитарный индекс

ФПК – формазан-позитивные клетки

ФЧ – фагоцитарное число

ХР – хроническая рана

Э-ППаА – экссудат при лечении с использованием пектиновых пленок ассоциированных с аминофталгидразидом

Э-ТЛ – экссудат при традиционном лечении

ВВЕДЕНИЕ

Длительно существующие раны остаются одной из существенных проблем здравоохранения. На практике длительно незаживающей принято считать рану, существующую более 4 недель без признаков активного заживления (Храмылин В.Н., 2005). 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, et al, 2005; S. Sasanka, 2012]. Однако, еще в 1992 г. итоговый доклад группы международных экспертов по венозным трофическим язвам (Alexander House Group) показал, что 85% ТЯ при ХВН можно закрыть с помощью консервативной терапии.

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. Так, ожоговые раны у пожилых пациентов (старше 65 лет) заживают в среднем через 26 дней после травмы против 17 дней у молодых людей [N. S. Gibran et al., 2000], что можно объяснить возрастным снижением репаративных процессов.

За последние полвека число препаратов для местного лечения существенно увеличилось [L. Geley, 1978]. Относительно недавно в практике лечения ран и трофических язв стали применять раневые покрытия различного типа. Применение раневых покрытий позволяет существенно повысить эффективность лечения трофических язв, ран и ожогов [Б. А. Парамонов и др., 2000; С. В. Добыш и др., 2001, С. Triller, 2013]. В настоящее время в клинической практике

используется более 300 видов раневых покрытий [Д. Ю. Андреев, 2009; КС. Broussard, 2013].

Относительно недавно в практике местного лечения ран стал применяться пектин в виде раствора. В НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского для лечения ожоговых ран с хорошим эффектом использовался 1-2% раствор пектинов [Е. Б. Лазарева и соавт., 2002]. Выраженный ранозаживляющий эффект пектина получен при лечении «чистых» ран у лабораторных животных и «чистых» ран у больных [Е.Р. Segura Ceniceros et al., 2003, 2006]. Экспериментально и клинически доказана эффективность препарата Пепидол ПЭГ, содержащего в своем составе 3% раствор пектина в лечении гнойных ран [П. А. Чумаков, 2006]. Однако в доступной нам литературе нигде не нашлось упоминания о применении пектина в виде пленочного покрытия.

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.

Цель исследования: совершенствование местного лечения ран и ожогов на основе применения пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом в эксперименте.

Задачи исследования:

1. Обосновать в эксперименте применение пектиновой пленки с аминофталгидразидом для лечения полнослойных кожных и ожоговых ран.
2. Провести цитологическую, цитохимическую оценку лечебного действия пектиновых пленок для ожоговых ран в эксперименте.
3. Изучить влияние пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом 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, подвергнувшихся лечению пектиновыми пленками.

Научная новизна результатов исследования

1. Изучена цитологическая и иммунохимическая динамика раневого процесса при использовании пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом 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 аминофталгидразидом при лечении полнослойных кожных ран в эксперименте на примере про - и антиоксидантной активности.

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

Основные положения, выносимые на защиту

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

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

Научно-практическая значимость исследования

Результаты исследования расширяют представление о возможностях применения современных природных раневых покрытий при лечении ран различного генеза. В эксперименте обоснован и предложен способ лечения ожоговых ран с применением пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом, который способствует стимуляции регенерации ран.

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

Личный вклад автора в получении результатов

Личное участие автора в исследовании выразилось в практической реализации основной идеи исследования, предложенной научным руководителем, в проведении экспериментальных исследований, статистической обработке материала и анализе результатов. Соискателем написан текст диссертации, а также большинство публикаций по теме исследования.

Автор благодарит своего научного руководителя профессора Сергея Георгиевича Павленко за предоставленную тему исследования и помощь в написании работы, чуткое руководство и продуктивную критику. Также выражается особая благодарность научному консультанту, доценту ГБОУ ВПО КубГМУ Андрею Александровичу Евглевскому в содействии по проведению гистологических и цитохимических исследований и помощи в трактовке полученных результатов. Одновременно благодарю коллектив кафедры

фундаментальной и клинической биохимии, кафедры иммунологии ФППВ КубГМУ, а также сотрудников вивария КубГМУ за помощь в работе.

Апробация результатов исследования

Основные положения диссертации представлены на XVI международной научной конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» (Украина, Гурзуф, 2008), на XII международной научной конференции и III международной научной онкологической конференции «Здоровье семьи – XXI век. Онкология – XXI век» (Эйлат-Пермь, 2008), IX международной научно-практической конференции «VĚDA A VZNIK – 2012/2013» (Прага, 2012/2013), Российской научно-практической конференции молодых ученых (Челябинск, 2011), XX международной научной конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» (Украина, Гурзуф, 2012), на XI Съезде хирургов Российской Федерации (Волгоград, 2011). Основные публикации – в журналах "Кубанский научный медицинский вестник", "Современные проблемы науки и образования".

По материалам диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 3 работы входящих в перечень изданий, рекомендуемых ВАК РФ для опубликования материалов докторских и кандидатских диссертаций.

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 157 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 141 отечественных и 72 иностранных источников. Представленный материал иллюстрирован 19 таблицами, 42 рисунками, 8 фотографиями.

ГЛАВА 1.

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ МЕСТНОЙ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ РАН

1.1. Состояние проблемы местного лечения ран различного генеза на современном этапе

Проблема лечения ран и раневой инфекции остается актуальной на протяжении всей истории хирургии (Адамян А.А., 2001; Абаев Ю.К., 2006; Глухов А.А. и др., 2009; Kong M et all, 2010).

Особую актуальность проблеме придает рост количества военных конфликтов, пожаров, травматизма, что приводит к увеличению больных с поражениями покровных тканей. Причем в отличие от многих заболеваний, при любом уровне развития общества, вряд ли когда-нибудь человечество сможет избавиться от необходимости ее решения (Толстых М.П., 2004). Это обусловлено длительными сроками заживления ран, часто наблюдаемыми неудовлетворительными косметическими и функциональными результатами.

Множество литературных источников затрагивают проблему лечения хронических ран (ХР) и трофических язв (ТЯ). Проблема восстановления утраченного кожного покрова при заболеваниях и повреждениях различной этиологии остается актуальной во всем мире (Алексеев А. А. и др., 1999; Новикова Н.Ф., 2000). В большей степени это относится к лечению ТЯ и длительно незаживающих ран, являющихся серьезной медицинской проблемой (Новикова Н.Ф., 2000; Ali-Bahar M., Bauer B., et all, 2004). Хронической принято считать рану, существующую более 4 недель без признаков активного заживления; исключения составляют обширные раневые дефекты с признаками

активной репарации (Храмлиин В.Н., 2005). В отечественной медицине принято несколько наименований подобных ран: ТЯ, длительно-незаживающая или вялотекущая, реже - ХР. За рубежом, наоборот, такие раны чаще называют хроническими или проблемными, реже незаживающими (chronic or problem or non-healing). Длительно незаживающая рана - это рана, репарация которой нарушена из-за неблагоприятных фоновых состояний. Так, ожоговые раны у пожилых пациентов (старше 65 лет) заживают в среднем через 26 дней после травмы против 17 дней у молодых людей (Gibran N.S. et al., 2000), что можно объяснить возрастным снижением репаративных процессов. Большинство длительно незаживающих ран заживает вторичным натяжением, только если предварительно устранены фоновые причинные факторы - нарушение кровоснабжения тканей, инфекция и воспаление (Бобровников А.Е. и др., 2010).

В комбустиологической практике постоянно встречаются пациенты с длительно существующими ожоговыми ранами. Известно, что ожоговые раны эпителизируются самостоятельно только при поражениях II-IIIА степени, небольшие по площади ожоги IIIБ-IV степени могут также заживать, но только за счет контракции раны и (или) миграции эпидермиса с ее краев (Бобровников А.Е. и др., 2010).

Кожные язвы являются наиболее типичным видом хронических ран. ХР отличаются от острых ран и заживление происходит с формированием избыточной грануляционной ткани, часто с развитием чрезмерного фиброза, ведущего к рубцовой контрактуре и потере функции (Абаев Ю.К., 2006).

В Соединенных Штатах ХР страдают около 6,5 миллиона пациентов (Singer A.J. et al, 1999; Crovetti G. et al, 2004). Более 25 млрд. долл. США ежегодно расходуется на лечение ХР (Chandan K. Sen, et al, 2009). В зарубежной литературе ХР часто сравнивают с эпидемией, которая затрагивает большую часть населения мира и создает серьезную угрозу общественному здоровью и экономике Соединенных Штатов. Лечение хронических ран является значительным бременем, которое ложится на систему здравоохранения — как по интенсивности проводимого лечения, так и по своей стоимости (Абаев Ю.К., 2006; Wong VW, et

al, 2012). В Скандинавских странах связанные с этим расходы составляют 2-4% от общего объема расходов здравоохранения (Gottrup F, Holstein P., 2001).

Другую серьезную проблему представляют собой ТЯ. Венозная ТЯ представляет собой дефект кожи и глубжележащих тканей, возникающий в результате хронического нарушения венозного оттока и не заживающий в течение 4-6 нед. (Богачев В.Ю. и др., 2001). Это осложнение хронического заболевания вен встречается у 1-2% людей трудоспособного и у 4-5% лиц пожилого и старческого возрастов (Савельев В.С., 2001). Чаще всего ТЯ страдают представители экономически развитых стран, частота заболевания в России и Западной Европе составляет от 1% до 4% населения и остается неизменной многие годы (Кириенко А.И. и др., 1999; Магомедов М.М., 2001; Савельев В. С., 2001; Тимофеева С. И., 2002; Кириенко А. И. и др., 2005; Андреев Д.Ю., 2007; Гавриленко А.В. и др., 2008, 2009; Оболенский В.Н. и др., 2009; Седов В.М., 2009; Дикий С.В., 2012).

В США выявляют около 600 000 больных с язвами ежегодно (Abbade LP, et al, 2005). У лиц в возрасте 65 лет и старше, венозные язвы составляют примерно 1,69% населения США (Hodde J, et al 2007). Лечение одного такого больного обходится в 9600 долларов (Hodde J, et al 2007). У одной трети больных возникают повторные рецидивы до 4-х раз за год (Fishman T., 2007). В испанском исследовании, средний возраст таких больных - 76 лет, 81% всех ТЯ образовалась у пациентов в возрасте старше 65 лет (Soldevilla J, 2006). В Ирландии, распространенность язв на нижних конечностях в общей численности населения составляет 0,12%. Это выше на 1,2% в популяции старше 70 лет (Clarke-Moloney M, et al, 2006). Затраты на лечение пациентов с ТЯ в специализированных центрах в Германии показало, что средняя стоимость лечения одного пациента составляет от € 9900 до € 10800 (Augustin M. et al, 2008). В Скандинавии, ежегодные затраты на одного пациента в лечении венозных язв нижних конечностей были оценены в 3.000 € - 6.000 € (Kjar, M., 1995; Lindholm C., 1995).

Среди российских граждан насчитывается более 2,5 миллионов больных с ТЯ нижних конечностей (Гавриленко А.В. и др., 2008). В нашей стране более 10%

общего числа пациентов гнойных отделений составляют больные с ТЯ нижних конечностей, 70% которых имеет венозную этиологию (Кириенко А.И., 2000; Магомедов М.М., 2001; Савельев В.С., 2001; Савельев В.С. и др., 2004; Гавриленко А.В. и др., 2008; Кузнецов Н.А. и др., 2009). В России лечение больного с венозной язвой, по самым скромным подсчетам, обходится в 113 тыс. рублей в год (Романовский А.В., 1999). Также нельзя не принимать во внимание проблему ожоговых ран. Ежегодно в России регистрируется более 400000 больных с ожогами различной этиологии, их частота составляет 300-350 случаев на 10000 населения. Ожоги II-IIIА степени составляют большинство среди термических поражений кожи (Митряшов К.В., Терехов С.М., 2011).

Язвы на ногах могут быть вызваны несколькими факторами, такими как сосудистые, метаболические и гематологические изменения, а главной причиной развития язв в промышленно развитых странах является хроническая венозная недостаточность (ХВН) (Johnson JJ, Paustrian C., 2005). Заболеваемость ХВН составляет около 5,9%, а распространенность ТЯ составляет около 1% в западном мире, и чаще у пожилых людей (Wipke-Tevis DD et al., 2000).

Несмотря на современные достижения хирургии и клинической фармакологии, в последнее десятилетие прослеживается явная тенденция к омоложению данного контингента больных (Кузнецов Н.А., 2009; Rucley C.V., 1997; Torre J.I., Chambers J.A., 2008). Длительно незаживающая рана ограничивает возможность передвигаться, создает косметический дефект, вызывает болевой синдром и нарушает качество жизни пациента (Тимофеева С.И., 2002). Длительное, иногда годами продолжающееся лечение приводит к значительным финансовым затратам, которые превращают проблему ТЯ в социально-экономическую (Кириенко А.И., 2000; Тимофеева С.И., 2002; Гавриленко А.В. и др., 2009; Wai-sun Ho., 2002; Lonnie L., 2007).

1.2. Основные принципы местного лечения хронических, ожоговых ран и трофических язв венозной этиологии

Лечение ХР и ТЯ является одной из сложных задач в хирургической практике (Васильева Л.С, Куликов Л.К и соавт., 2010). По данным НИИ хирургии им. А.В. Вишневского заживление ТЯ в течение 4 месяцев постоянного консервативного лечения наступает только у 50% больных, у 20% пациентов язвы не заживают 2 года, а у 5% остаются открытыми 5 лет. При проведении адекватной хирургической коррекции венозного оттока нижней конечности в большинстве случаев удается добиться устранения явлений ХВН и трофических расстройств. Комплексное консервативное лечение венозных трофических язв предусматривает следующие направления: прием препаратов системного действия, эластическая компрессия, физиотерапевтическое лечение, проведение местной терапии язвенных дефектов (Гриценко В.В., 2007). Для лечения ТЯ в настоящее время используется не менее 200 консервативных и хирургических методов и более 1000 различных средств и лекарственных препаратов, причем число их продолжает неуклонно увеличиваться (Гриценко В.В., Орловский П.И., 2007). Современные методы системной интенсивной терапии и местные перевязочные средства позволяют ликвидировать нарушения кровотока, добиться очищения раны, но раневой дефект при этом сохраняется (Новожилов А.А., Родивилов Б.Б., 2007). Оперативные вмешательства не всегда способствуют его устранению. В таких случаях хирургическая тактика направлена на скорейшую подготовку раны к пластическому закрытию (Стойко Ю.М. и др., 2001; Гостищев В.К., 2009; Ярец Ю.И. и др., 2010). То есть, у значительной части пациентов с ТЯ консервативные мероприятия являются основным методом лечения и позволяют добиться их закрытия в 70–80% случаев (Согласительный документ: Task Force on Chronic Venous Disorders of the Leg; 1999).

Одним из важнейших компонентов лечения ТЯ венозной этиологии и длительно незаживающих ран является местная медикаментозная терапия (Суисси Ю.Ю., 2006). За последние полвека число препаратов для местного лечения существенно увеличилось (Geley L., 1978). Распространенной ошибкой представляется длительное применение какого-либо одного "очень эффективного" средства, пролонгирующего процессы регенерации на многие месяцы (Липницкий Е.М., 2001). Выбор того или иного варианта местного лечения определяется, прежде всего, стадией раневого процесса, характером осложнений, индивидуальными особенностями пациента, в т.ч. наличием поливалентной аллергии (Савельев В. С., 1996; Колокольцева Т. Д. и др., 1998; Кириенко А. И. и др., 2003).

Течение раневого процесса условно можно разделить на три основных фазы: 1) фаза воспаления; 2) фаза регенерации; 3) фаза образования и реорганизации рубца (Кузин М.И., 1990). Принципиальной особенностью венозных ТЯ является отсутствие четкой стадийности раневого процесса. В этом случае применение того ли иного лекарственного препарата будет определяться преобладающими проявлениями (Тимофеева С.И., 2002).

Первая фаза характеризуется обильным раневым отделяемым, перифокальной воспалительной реакцией ТЯ. Необходимым условием успешного заживления является максимально эффективное очищение язвенных дефектов, для чего традиционно используются различные антисептические растворы. Широкое распространение получили растворы йодофоров, в которых йодид калия связан с поверхностно-активными веществами, что уменьшает раздражающее и повреждающее действие йода при сохранении антисептических свойств (Гриценко В.В., Орловский П.И., 2007). В практике лечения ран достаточно широко используются новые комплексные соединения йода с поливинилпирролидоном, выпускаемые разными фирмами под названием «Повидон-йод», «Бетадин», «Йодопирон», «Йодовидон» и др., обладающие микробоцидным и микростатическим действием. Йодофору подавляют

грамположительные бактерии, включая энтерококки и микобактерии; подавляют грамотрицательные бактерии, в том числе псевдомонады, ацетобактерии, клебсиеллы, протей; подавляют споры бактерий, грибы, вирусы, включая вирусы гепатита В и С, энтеро- и аденовирусы, а также анаэробные, спорообразующие и аспорогенные бактерии (Блатун Л.А., 2007).

Для ускорения очищения ран применяют лекарственные средства, способствующие лизису и отторжению нежизнеспособных тканей и фибрина. Широкое применение нашли протеолитические ферменты (трипсин, химопсин, химотрипсин). Кристаллическая форма протеолитических ферментов не нашла широкого клинического применения – они активны лишь во влажной среде при фиксированном значении $pH=6$, расщепляют только компоненты раневого экссудата и повреждают компоненты регенерирующего соединительно-тканного матрикса (Flanga V., 2002). В связи с чем, наиболее оправданным является применение протеаз, обладающих коллагенолитической активностью, таких как «Коллагеназа», «Коллагеназа-К», «Поликоллагеназа-К». Коллагеназа – водорастворимый фермент, избирательно расщепляет лишенный мукополисахаридного футляра «мертвый» коллаген на границе живых и девитализированных тканей. Коллагеназа не только не повреждает компоненты соединительнотканного матрикса, но и увеличивает пролиферацию кератиноцитов почти в 10 раз (Flanga V., 2002). Коллагеназа входит в состав мази «Ируксол», широко применяемой для лечения трофических язв (Липницкий Е.М., 2001), но в настоящее время не поставляемая в Российскую Федерацию. Хорошо зарекомендовала себя в клинической практике отечественная мазь «Стрептолавен», в состав которой входит энзим микробного происхождения стрептолизин, антимикробный препарат мирамистин и сбалансированная по осмотическому действию основа, не вызывающая пересушивание тканей ран. Эта единственная в стране мазь с некролитическим действием в настоящее время успешно применяется при лечении больных с синдромом диабетической стопы, с обширными ожогами, трофическими язвами и пролежнями. Относительно

недавно в хирургической практике появились повязки с иммобилизованными ферментами: «Протеокс-М», «Протеокс-Д», «Протеокс-Т», «Лизоамид», «ПАМ-Т», «ПАМ-ТЛ» (Ефименко Н.А., 2005).

В последние годы при выраженной экссудации из раны многие авторы (Крюков В.В., 2005; Суисси Ю.Ю., 2006; Томских Н.Н. и Богомолов Н.И., 2007; Оболенский В.Н. и соавт., 2009) с успехом используют биологически активные дренирующие сорбенты (аниловин, диовин, анилодиовин, диотевин, анилодиотевин, колласорб, колладиасорб и др.), основным компонентом которых является гелевин с антимикробным препаратом (диоксидин), протеолитическими ферментами (террилитин, коллагеназа из гидробионтов), местным анестетиком (анилокаин). В.В. Крюков (2005) с успехом применял обогащенный цеолит насыщенным раствором ронколейкина в 1-й фазе раневого процесса, что сокращало сроки очищения ран, появления грануляций и краевой эпителизации. Н.Н. Томских с соавт. (2007) использовал новый способ лечения гнойных ран (патент РФ № 2195291), основанный на использовании сорбента природного происхождения (цеолит + белая глина) с насаженным гипохлоритом натрия. Ю.Ю. Суисси (2006) при лечении трофических язв применяла раневой сорбент «Колладиасорб».

При лечении ТЯ весьма важным является подавление микрофлоры на поверхности раны (Суисси Ю.Ю., 2006).

Наиболее распространенными и относительно дешевыми антибактериальными препаратами для местного лечения, выпускаемые в виде растворов, относятся диоксидин (0,1 - 1% водный раствор, а также диоксиновая мазь на водной основе), хлоргексидин (20% раствор гибитана и 5% раствор биглюконата хлоргексидина) и мирамистин (Блатун Л.А., 2007). В современной медицинской практике широко используются растворы гипохлорита натрия (Павленко С.Г. и соавт., 1995).

Из большого общего числа антибактериальных мазей в первой фазе раневого процесса большинством российских хирургов чаще всего используются многокомпонентные мази на гидрофильной основе; «Левосин», «Левомеколь», «Диоксидиновая», «Мафенид» (Зиновьева Е.В., Легеза В.И., 2003). Эти средства оказывают выраженное бактерицидное и бактериостатическое действие на большинство известных микроорганизмов. Хорошо зарекомендовала себя антибактериальная мазь «Эпланол» (Богданец Л. И. и соавт., 2007).

В настоящее время появилась возможность более успешно лечить раны, используя новый комбинированный препарат «Банеоцин», содержащий два высокоактивных бактерицидных компонента - бацитрацин и неомицин, между которыми существует синергизм. Резистентность к этому препарату возникает крайне редко, что определяет возможность его использования у больных с длительно не заживающими ранами и наличием ассоциаций микроорганизмов, резистентных к обычным антисептикам и антибиотикам. Это заключалось в выраженном антибактериальном воздействии на микроорганизмы, в стимуляции регенераторных процессов, сокращении площади ран и сроков лечения (Ширшов О.Н., 2008).

С.С. Казанков (2011) в своей работе применял терпенсодержащий препарат «Антиран», который особенно эффективен в сочетании с ультразвуковой кавитацией. Данный препарат обладает высокой антибактериальной активностью, активизирует формирование и созревание грануляционной ткани, эпителизацию раневой поверхности. Этот препарат также ускоряет заживление хронических ран, активизирует эпителизацию и восстановление производных эпидермиса через 14 суток.

В отечественной и зарубежной литературе положительно оценивается антимикробное действие хитозана. Точные механизмы антимикробного действия хитозана еще неизвестны. Было высказано предположение, что взаимодействие между положительно заряженными молекулами хитозана и отрицательно

заряженными микробными клеточными мембранами приводит к разрушению мембраны микробной клетки и внутриклеточных составляющих. (Rabea EI, et al., 2003; Raafat D, et al., 2008; Kong M, et al., 2010; Li P, Poon YF, Li W, 2011).

По-прежнему, в клинической практике лечения ран находят применение препараты, созданные на основе растительного сырья. Одним из них является Бальзам Залевского, содержащий масла микроводоросли Спирулины и сибирского кедра. А.А. Алексеев и А.Э. Бобровников (2009) изучили микробиологическую эффективность препаратов Бальзама Залевского. Полученные авторами данные показали эффективность Бальзама Залевского в отношении основных возбудителей ожоговой инфекции.

Второе рождение приобретают препараты с серебром, которое обладает широкими антимикробными, противогрибковыми и противовирусными свойствами (Klasen, H.J., 2000; Lansdown, A.V., 2002). Доказана их активность в лечении ран, в которых вегетирует антибиотикоустойчивая флора (Блатун Л.А., 2007). Были созданы комбинированные содержащие серебро повязки: «Acticoat», «Cellosorb Ag», «Actisorb silver», «SilverCell», «Urgotul S. Ag» и др. Входящее в состав современных повязок «Acticoat» нанокристаллическое серебро отличается от обычного серебра значительно большей площадью поверхности, быстрее высвобождает свои ионы и, следовательно, может иметь более высокий уровень антибактериальной активности (Joy Fong, Fiona Wood, 2006).

В настоящее время в иностранной литературе активно обсуждается использование медицинского меда в лечении инфицированных ран. Его положительные свойства, связаны с осмотическим эффектом, а также наличием фермента, который продуцирует перекись водорода (Molan PC., 2001). Мед оказывает бактерицидное действие более чем на 50 видов бактерий, в том числе клинических штаммов MRSA и VRE. Он продемонстрировал клиническую эффективность для различных видов раневых инфекций, резко уменьшает колонизацию кожи многими бактериями, в том числе MRSA (Kwakman PH, Van

den Akker JP, Guclu A, et al., 2008), ускоряет заживление ран и редко вызывает побочные реакции. Медицинский мед класса (например, Манука) применяется во многих странах (Molan PC., 2000; Cooper RA, 2002).

Во второй и третьей фазах раневого процесса все усилия хирургов направлены на стимуляцию заживления раневых дефектов. Большую группу средств, активирующих репарацию, составляют биогенные стимуляторы: апилак, прополис, мумие, солкосерил, актовегин, вулнузан и др. Препараты «Солкосерил» и «Актовегин» представляют собой депротеинезированный гемодиализат из крови телят, являющийся мощным стимулятором репаративных процессов.

Появляются данные о применении новых ранозаживляющих препаратов на основе полиаминосахаридов. Одним из таких средств является новый препарат «Микоран», разработанный коллективом ученых Института микробиологии РАН и Института хирургии им. А.В. Вишневского РАМН. Это лекарственное средство является природным препаратом, получаемым из мицелия низшего гриба *Blakeslea trispora*. Исследования показали ускорение заживления ран за счет стимуляции пролиферации фибробластов хитином и хитозаном (Алексеев А.А., Феофилофа Е.П. и соавт., 2000)

В зарубежной литературе встречается упоминание о «неспецифическом репаранте» - Фенитоине (дифенилгидантоин). Он был введен в терапию в 1937 году для эффективной борьбы с судорожными расстройствами (Kimball OP, Nolan TN., 1939). При лечении эпилепсии клиницистами был замечен побочный эффект препарата, заключающийся в развитие фиброзных разрастаний на деснах. С учетом данного эффекта предложено его использование в заживлении ран (Ashima Bhatia, Surya Prakash, 2004). Механизм, посредством которого фенитоин ускоряет заживление ран, неизвестен. В исследованиях на животных авторы показали, что фенитоин стимулирует пролиферацию фибробластов, образование грануляционной ткани, способствует отложению коллагена и других компонентов соединительной ткани, снижает бактериальное загрязнение и уменьшает

экссудацию из раны (McAnally LE.,1992; Anstead GM, Hart LM, Sunahara JF, Liter ME, 1996; Talas G, Brown RA, McGrouther, 1999).

В качестве мощных стимуляторов репарации хорошо себя зарекомендовали препараты на основе коллагена. Филимонов А. А. с соавт. (2002) предложил к использованию лиофилизированное коллагенсодержащее покрытие, насыщенное комбинированным химиотерапевтическим средством «Бутолом» (патент РФ N 2115418 от 23.01.1998 г.). По заявлению авторов «Бутолом» обладает пролонгированным направленным действием на раневой процесс за счет насыщения антисептическими средствами или препаратами, стимулирующими репаративные процессы в ране. Так же с хорошей стороны показали себя препарат «Вулнузан» и новый препарат природного происхождения, используемый в лечении трофических язв - 5% мазь «Биопин». Указывается на противовоспалительное, ранозаживляющее, антимикробное, антиоксидантное и иммуномодулирующее действие препарата. А.В. Колсанов (2003) в своем экспериментально-клиническом исследовании получил хорошие результаты, применяя лиофилизированное коллагенсодержащее раневое покрытие «Лиопласт». Автор убедительно доказал, что препарат успешно можно использовать для лечения поверхностных ран различной этиологии (ожоги П-ША, ША-ШБ степени, трофические язвы, длительно незаживающие раны, донорские участки), и как этап подготовки к аутодермопластике при лечении ожогов ШБ-IV степени, ТЯ и длительно незаживающих ран.

Для лечения ТЯ, хронических и ожоговых ран с целью стимуляции регенерации местно используют различные антиоксиданты: производные янтарной кислоты (Васьков К.С., Галенко-Ярошевский П.А.,1998), бета-каротин (Павленко С.Г., Казарян Р.В. и др., 2002).

Перспективным препаратом, проходящим в настоящее время клинические испытания является мазь «Содерм», в состав которой входит антиоксидант - супероксиддисмутаза. В экспериментальной работе Ю.Ю. Суисси (2006) показана

ее эффективность при лечении ТЯ нижних конечностей. Автор считает, что ее следует применять для купирования воспалительных явлений и для подготовки ран к восстановлению кожного покрова. К этой же группе препаратов относится линимент «Дибунол» и крем «Флерэнзим». Кроме того, для стимуляции регенерации ран используются иммуномодуляторы, в том числе препарат «Галавит» (Maremkulov V.Kh. et al., 2005). М.А. Куцоля (2006) для лечения экспериментальных ран у крыс местно в виде аппликаций применял Ронколейкин. В НИИ хирургии им. А.В. Вишневского апробирован оригинальный перевязочный материал в виде стерильной салфетки «Колетекс-АДН». Салфетка состоит из текстильной основы, на которой иммобилизован иммунологический препарат – деринат. Из материалов салфетки лекарство в строго определенной дозе в течение трех суток поступает в рану, способствуя стимуляции заживления раны. Хорошие результаты в местном лечении ожоговых ран показал иммуномодулятор «Гепон» (Алексеев А.А. и соавт., 2012).

К сильным стимуляторам клеточного деления относятся колониестимулирующие и ростовые факторы (Зиновьева Е.В., Легеза В.И., 2003). К таким стимуляторам роста клеток кожи относится тромбоцитарный (PDGF), эпидермальный (EGF), инсулиноподобный (IGF) факторы, а также факторы роста фибробластов (FGF). В настоящее время предпринимаются активные попытки включения ростовых факторов в состав лечебных препаратов. В препарате «Hebermin» (Куба) содержится эпидермальный фактор роста в сочетании с сульфазинном серебра. Однако в рандомизированных исследованиях, проведенных в 2000 году достоверных различий в основной и контрольной группах при применении тромбоцитарного (PDGF) и эпидермального (EGF) факторов не выявлено. Более обнадеживающие результаты были получены при использовании колониестимулирующих факторов роста (GM-CSF, rhGM-CSF), однако последнее исследование проводилось у пациентов с диабетическими язвами (Богачев В.Ю., 2006).

В России в 1993 году в Институте хирургии им. А.В. Вишневского РАМН Д.С. Саркисовым и сотрудниками отдела патологической анатомии был разработан оригинальный и эффективный способ лечения ожоговых ран на основе применения культивированных клеток (Саркисов Д.С. и др., 1990). В качестве основного компонента культивируемого пласта клеток впервые использованы не кератиноциты, а фибробласты (Саркисов Д.С. и др., 1990; Саркисов Д.С., 1991; Федоров В.Д., Саркисов Д.С., 1996).

Перспективы использования фетальных фибробластов человека при лечении длительно незаживающих ран различной этиологии представлены в работах Т.Д. Колокольцевой и соавт. (1998). Донорская рана, длительно незаживающая и периодически нагнаивающаяся, на третьи сутки после трансплантации клеток очистилась от гноя, в ней усилилась краевая эпителизация, на восьмые сутки дефект полностью закрывался (Колокольцева Т.Д., 1998). Аналогичный результат получен у зарубежных авторов: раны эпителизовались на восьмые сутки (Ruszczak Z. et al., 2000).

Эффективность клеточной терапии в лечении больных с ТЯ нижних конечностей венозной этиологии показали В.М. Седов и его коллеги (2007). Они применяли культуру фибробластов, выращенных на раневом покрытии «Фолидерм», в комплексном лечении ТЯ венозной этиологии. Сроки эпителизации составили в среднем 1,5 недели для варикозных и 3,2 недели для посттромбофлебитических язв (Седов В.М., Андреев Д.Ю. и соавт., 2007).

Новым этапом биоинженерных технологий в лечении длительно незаживающих ран явилось создание и использование «живого эквивалента кожи», который представляет собой коллагеновый гель, содержащий микроносители алло - или аутофибробластов и покрытый культурой аллокератиноцитов (Зорин В.Л. и др., 2009; Гавриленко А.В. и соавт., 2008; Bello Y.M. et al., 2000; Saap L.J., Donohue K., 2004). В США, Канаде, Японии, Германии, Великобритании, Испании опыт производства и использования подобных

коммерческих клеточных продуктов насчитывает уже более 20 лет (Зорин В.Л., Зорина А.И., 2009; Hirt-Burri N., 2008). В западных клиниках для лечения длительно незаживающих ран широко применяются клеточные продукты: «Dermagraft», «CellActiveSkin», «Cyzact (ICO-PRO)», «Vavelta (ICX-TRC)», «Alloderm», «TransCyte», «Epibase», «Integra» в клиниках Европы и США (Алексеев А.А., Фисталь Н.Н., 2010; Gohari S. et al., 2002; Saap L.J., Donohue K., 2004).

Наиболее часто в лечении ТЯ на фоне ХВН или сахарного диабета применяют клеточные продукты «Apligraf», «Dermagraft», которые представляют собой коллагеновую мембрану с аллогенными фибробластами и кератиноцитами (Monique C. P. et al., 2002). Приживаемость покрытий составляет 30 – 71% для «Dermagraft» и 13 - 80% – для «Apligraf», средняя длительность заживления хронических дефектов кожи составляет от трех недель до двух месяцев (Bello Y. M. et al., 2000; Monique C. P. et al., 2004). Недостатки вышеуказанных покрытий связаны с их высокой стоимостью и малым сроком хранения.

В настоящее время в зарубежной литературе доминирует концепция заживления ТЯ во влажной среде. Относительно недавно в практике лечения ран и ТЯ стали применять раневые покрытия (РП) различного типа. Такие перевязочные местные лечебные средства предназначены для создания оптимальных условий для заживления ран (Gryson ML., 2007).

К современным пленочным покрытиям относят «OpSite», «Tegaderm», «Omiderm» которые обладают достаточной прочностью, эластичностью и удобны в использовании, выполняют барьерную функцию, однако не обладают необходимыми параметрами влаго- и воздухо- проницаемости (Шаповалов С.Г., 2005). В нашей стране разработаны и производятся пленочные раневые покрытия «Асеплен» и «Фолидерм», получившие положительные оценки исследователей (Карнович А.Г., 2005). Однако высокая стоимость этих препаратов ограничивает их широкое клиническое применение.

Широко применяются для лечения ран и ТЯ раневые покрытия в виде губок. Представителями этой группы покрытий являются: альгинатные РП — «Альгипор», «Сорбсан», «Теггель», «Кальтостат», «Колетекс», коллагеновые губчатые РП — «Комбутек», «Лиопласт» (Колсанов А. В., 2003), комбинированные белково-полисахаридные губки «Альгикол», «Фиброкол». Коллагеновые покрытия обладают стимулирующим действием, пластичностью, прочностью и способностью к рассасыванию («Комбутек»).

Основной механизм лечебного действия гидрогелей («Гелиперм», «Вигилон», «Опрагель», «Гидросорб», «Активтекс», ММ-Гель-Р (ЭГ), «Хитоскин-колл» и др.) заключается в создании под ними влажной среды, что в первой фазе раневого процесса обеспечивает стимуляцию аутолиза, во второй создает условия для роста и развития грануляций, а в третьей — формирование эластичного рубца. Из представленных выше препаратов «Хитоскин-колл» является единственным отечественным гидроколлоидным раневым покрытием, в который введены ростовые факторы (эпидермальный и эндотелиальный), а также наночастицы серебра и церий (Седов В.М., Андреев Д.Ю., 2010).

ММ-Гель-Р (ЭГ) на сегодняшний день является единственным материалом, который может быть использован во всех трех фазах раневого процесса, что, в сочетании с быстрым заживлением ран, способно снизить количество необходимых для лечения койко-дней, тем самым, сокращая стоимость лечения (Лесовой Д.Е. и др., 2010)

Покрытия в виде гелей имеют ряд достоинств: прозрачность, плотный контакт с раной, препятствующий скоплению экссудата, безболезненность удаления. В то же время они часто малоэффективны из-за низкой механической прочности, склонности к пересыханию, малой сорбционной способности.

К комбинированным раневым покрытиям можно отнести покрытия «Воскопран», «Парапран» и «Гелепран». По данным исследователей (Обыденникова Т.Н., Усов В.В., 2007), использование данного РП позволят сократить сроки лечения больных с ТЯ.

Таким образом из представленных литературных источников можно сделать вывод, что для местного лечения обширных и длительно незаживающих ран разработаны десятки методов и раневых покрытий. Тем не менее, большое их разнообразие свидетельствует о том, что совершенного метода лечения обширных и длительно незаживающих ран в настоящее время не существует, а это и определяет актуальность поиска новых методов лечения.

1.3. Современные раневые покрытия в лечении ран различной этиологии

Своеобразной лекарственной формой являются раневые покрытия (РП). Применение РП позволяет существенно повысить эффективность лечения ТЯ, ран и ожогов (Парамонов Б.А. и соавт., 2000; Добыш С.В. и соавт., 2001). В настоящее время в клинической практике используется более 300 видов раневых покрытий (Андреев, Д.Ю., 2009).

Основные требования, предъявляемые к РП, заключаются в создании оптимальной микросреды для заживления ран, высокой абсорбционной способности в отношении раневого экссудата, способности предотвращать проникновение микроорганизмов, достаточной проницаемости для газов, паров воды, эластичности, отсутствии пирогенного, антигенного, токсического, местного раздражающего и аллергического действий.

По форме изготовления и способу применения РП подразделяются на: губки, гелеобразующие покрытия, пленочные покрытия, покрытия, формирующиеся при распылении композиции в виде аэрозоля, комбинированные покрытия (Ефименко Н.А. и соавт., 2002; An Goossens, et al., 2010).

По своему происхождению РП можно условно разделить на природные и синтетические (Колсанов А.В., 2003). Препараты природного происхождения – это различные варианты консервированной кожи или дермы, амниотической оболочки человека или животных и являются «золотым стандартом» раневого покрытия. Зарубежными фирмами из донорской кожи человека выпускаются

покрытия: 1) «TransCyte» - биосинтетическая полупроницаемая мембрана силикона на нейлоновой сетке, покрытая свиным коллагеном и человеческими фибробластами новорожденных (Hansen SL, et al., 2001), используется в качестве повязки на поверхностные ожоги, которые не требуют пересадки кожи; 2) «Dermagraft» - содержит фибробласты новорожденных на биоабсорбируемой сетке полиглактина (Pham C, et al., 2007); 3) «Apligraf» состоит из слоя эпидермиса аллогенных неонатальных кератиноцитов и фибробластов от новорожденных (Jones I. et al., 2002), который используется в качестве дополнения к аутотрансплантатному покрытию, что обеспечивает ускоренное заживление ран (Pham C, et al., 2007). 4) «Integra» - состоящая из матрицы бычьего коллагена, хондроитин-6-сульфата, гликозаминогликана из хрящей акулы. Широкое распространение в настоящее время получили раневые покрытия из свиной кожи – «Свидерм» и «Alloask D». Препаратом нового поколения, содержащего коллаген I типа, полученный из кожи крупного рогатого скота, является «Коллост». И.А. Шестаков (2009) получил положительный эффект, применяя «Коллост» для укрепления толстокишечного анастомоза.

Для лечебных целей может использоваться амниотическая мембрана человека или животных. Лечебное действие обусловлено наличием в ее составе ряда компонентов внеклеточного матрикса (коллагена, фибронектина, гликозамигликанов) и ростовых факторов. Сложная технология производства и высокая стоимость обуславливают трудность их использования в отечественном здравоохранении.

К РП биологического происхождения относят покрытия на основе белково-полисахаридных комплексов. Их преимуществом является нетоксичность, антигенность, они легко и быстро резорбируются организмом. И.Н. Большаковым и А.К. Кириченко (2008) показана эффективность применения раневого покрытия на основе коллаген-хитозанового комплекса, содержащего пролиферирующую культуру фибробластов, возможность полноценного восстановления тканевых структур, включая сосочковый слой кожи. Созданы различные коллаген-хитозановые раневые покрытия «Коллахит» - «Коллахит ФА», содержит

антисептический препарат Фурагин и местный анестетик анилокаин и «Коллахит Ш», содержит антисептик растительного происхождения - шиконин.

К биологически активным текстильным перевязочным материалам относят семейство перевязочных материалов «Активтекс», которое насчитывает более 20 наименований изделий с различным лечебным действием. А.В. Хачатрян (2009) с хорошим эффектом использовала «Активтекс фурагин» при подготовке гранулирующих ран, в том числе обширных, к кожной пластике.

Сорбенты отечественного и зарубежного производства все шире используются для лечения гнойных ран. Основной функциональной характеристикой сорбирующих покрытий является способность поглощать выделяющийся из раны экссудат, количество которого может быть значительно.

Ю.И. Бородин с соавт. (2009) в экспериментах на лабораторных животных показал, что применение РП «Литопласт» при лечении ожоговой раны III А степени оказывает протективный эффект на структурную организацию начальных звеньев лимфатической системы кожи, улучшает ее дренажную функцию, способствует снижению степени эндогенной интоксикации организма в послеожоговом периоде. В.А. Лазаренко с соавт. (2010) применял раневое покрытие «Ресорб» в лечении гнойных ран в I и II фазах раневого процесса, что, способствовало сокращению основных стадий течения раневого процесса в два раза по сравнению с лечением официальной мазью «Левомеколь». Лучшие результаты автор получал при совместном использовании «Ресорба» и «Биатравма».

Гелеобразующие покрытия формируются при смачивании экссудатом нанесенного на раневые поверхности в виде порошка вещества и чаще всего выполняют функцию дренирующих сорбентов. Эти вещества обеспечивают отток в повязку не только раневого экссудата, но и микроорганизмов.

Большим количеством препаратов представлены гидрогелевые раневые покрытия. К ним относят: гидроколлоиды – «Comfeel ulcer», «Comfeel plus», «Hydrocoll», «Suprasorb H», «Opragel», «Granuflex», «DuoDerm» «Extra-thin», «Tegasorb»; гидрогели в тубах - «Purilon gel», «Nu-Gel», «Hydrosorb gel»,

«Suprasorb G», «Granugel»; гидрогелевые повязки - «Hydrosorb», «Гелепран». По результатам исследования Е.А. Девярых (2006) применение отечественного гидрогелевого раневого покрытия «Гелепран» оказывает стимулирующее действие на процессы заживления. Создание и поддержание гидрогелями на язвенной поверхности влажной среды способствует более быстрому, по сравнению со стандартной терапией, регрессу клинических симптомов и закрытию венозных ТЯ.

Другим РП на основе макропористых гидрогелей поливинилового спирта является «ММ-Гель-Р (ЭГ)». На сегодняшний день исследуемый материал является единственным материалом, который может быть использован во всех трех фазах раневого процесса. Кроме того, при использовании данного материала отсутствует необходимость в оперативном вмешательстве по поводу некрэктомии и аутодермопластики, а так же назначении пациенту противовоспалительных и обезболивающих препаратов (Лесовой Д.Е. и соавт., 2010). При местном лечении гнойных ран и язв различного происхождения в первой и второй фазах раневого процесса эффективный результат показал гель «Пронтосан» за счет ускорения их очищения, сокращения сроков экссудации и заживления, снижения интенсивности местного болевого синдрома. По данным С.А. Воробьева с соавт. (2009) местное применение раствора и геля «Пронтосан» хорошо переносится и не вызывает побочных эффектов у пациентов с гнойными ранами и язвами различной этиологии.

Для лечения гнойно-воспалительных заболеваний ран И.Н. Шандуренко (2001) применил биологически активные гелевые повязки «АППОЛО-ПАК» и «АППОЛО-ПАА». В состав гидрогеля включены лекарственные вещества - антисептик (мирамистин) и анестетик местного действия - анилокаин. Автор установил, что гелевые повязки защищают ткани от высыхания и травмирования, способствуют лизису некротических тканей, обеспечивают дренаж раны, стимулируют пролиферативную и синтетическую активность соединительно-тканых клеток, образование грануляционной ткани.

В странах Западной Европы и США на протяжении более 20 лет для стимуляции заживления ран используется PRP гель (гель обогащенный тромбоцитами плазмы). Аутологичный PRP гель состоит из цитокинов, факторов роста, хемокинов и фибрина, полученные из крови пациента (Frykberg RG, Driver VR et al., 2010; Reese RJ., 2010). Механизм действия PRP геля связан с молекулярной и клеточной индукцией аналогичной той, которая наблюдается при активации тромбоцитов (Reese RJ., 2010). Marissa J. Carter (2011) провела систематический обзор и мета-анализ, которые показали, что полное и частичное заживление ран было быстрее у больных, которым применялся PRP гель по сравнению с контрольной группой.

Однако несмотря на положительные эффекты от применяемых гидрогелевых РП G.Gallenkemper et al. (1998); TM Pereira et al. (2007); Lim K-S. et al. (2007) описаны аллергические реакции в виде контактного дерматита на отдельные компоненты геля.

1.4. Применение препаратов пектина в медицине на современном этапе

Пектиновые вещества были открыты в 1825 году, однако, несмотря на то, что их изучение продолжается более 150 лет; химическое строение этих соединений было выяснено лишь во второй половине XX в. В последние годы исследователи (Оводов, Ю.С., 1998; Brigand, G., 1990; Hourdet, D., 1991; Nicolas, С.С., 1993) на основании экспериментальных данных сделали вывод, что пектиновые вещества являются комплексной группой кислых полисахаридов. Пектиновые вещества включают нерастворимый протопектин, растворимые пектиновые полисахариды и сопутствующие им галактаны, арабинаны и арабиногалактаны (Оводов Ю.С., 2009). Пектиновые вещества входят в состав практически всех растений, выполняют в растениях множество различных жизненно важных функций и характеризуются широким спектром физиологической активности. Пектины, выделяемые из непищевых растений, представляют основу ряда лекарственных средств и биологически активных добавок, а из пищевых растений - являются важным компонентом рациона человека. Последние входят в группу так называемых растворимых «пищевых волокон» с большим сродством к организму человека, выработанным за многовековой период их потребления. Они практически не токсичны, недостаток их в рационе питания человека приводит к серьезным нарушениям в обмене веществ.

Пектины являются вспомогательным средством при приготовлении многих лекарственных форм, служат основой для получения пастилок, суппозиториев, являются исходным сырьем в приготовлении гидрогелей, таблеток, мягких желатиновых и мягких ректальных капсул, свечей. Именно низкометоксилированные пектины обладают способностью образовывать в организме нерастворимые комплексы с определенными тяжелыми металлами и радионуклидами. Введение пектина может усилить терапевтический эффект или

снизить побочное негативное действие лекарственных препаратов (Хатко З.Н., 2008). Согласно исследованиям отечественных и зарубежных ученых, пектин может широко использоваться в комплексном лечении социально значимых заболеваний. Пектин способен усиливать действие различных лекарственных средств – противомикробных (антибиотиков), сердечно-сосудистых и других (Донченко Л.В., 2000). Низкометоксилированные пектины (свекловичный и др.) взаимодействуют с противоположно заряженными поверхностями, связываются с противоположно заряженными молекулами и таким образом могут служить покрытием для создания носителя лекарственных препаратов (Хотимченко Ю.С. и др., 2001).

Низкоэтерифицированный пектин находит широкое применение в медицине. Медицинское применение низкоэтерифицированного свекловичного пектина обусловлено еще и его значительной бактерицидной активностью, благодаря чему этот вид пектина может использоваться при лечении желудочно-кишечных заболеваний у детей (Потиевский Э.Г. и др., 1992). Причем, бактерицидная активность пектинов усиливается при снижении степени этерификации.

Пектин является весьма эффективным средством для энтеростимуляции, энтерорепаляции и энтеросанации. Д.А. Демидов с соавт. (2009) проводил при перитоните энтеросанацию с использованием созданного с помощью современных высоких технологий из пищевого растительного сырья лечебного пектинсодержащего препарата МПСР с комплексным действием и выявил его преимущество перед энтеросорбцией другими аналогами. С.И. Емельянов с соавт. (2010) при использовании в послеоперационном лечении кишечной недостаточности модифицированного пектинсодержащего препарата отметил благоприятный эффект, что подтверждено оценкой биоптатов слизистой оболочки желудка, тощей и сигмовидной кишки. Е.Б. Лазарева с соавт. (2010) использовала пектины у больных с тяжелой термической и ЧМТ.

Л.У. Шрамко (2000) применяла пектин в многокомпонентном лечении перитонита и сопровождающего его синдрома кишечной недостаточности. Автор

отметила, что пектин способствует более быстрой нормализации функциональной активности ЖКТ и снижает угрозу бактериальной транслокации.

Низкоэтерифицированный пектин может широко применяться в качестве гемостатического средства. Лучший гемостатический эффект отмечен у пектинов со степенью метоксилирования 65 - 70%. Причем наиболее эффективными гемостатиками являются пектаты калия и кальция, полученные из свекловичного низкоэтерифицированного пектина. При этом побочные явления отсутствуют. Кроме того, одним из основных аспектов применения пектина в медицине являются комплексообразующие свойства пектина. Однако для нейтрализации воздействия тяжелых металлов и радионуклидов на организм человека наиболее предпочтительно использование низкометоксилированного свекловичного пектина. Отмечено, что стронций, находящийся в растительной пище, отличается высокой подвижностью и может вытесняться под действием соляной кислоты желудочного сока, и, входя в ионное легкоадсорбируемое состояние поглощаться пектинами. В этом случае низкометоксилированный пектин деградирует в желудочно-кишечном тракте в значительно меньшей степени, чем высокометоксилированный. По данным Донченко Л.В. (2000) сорбционная емкость пектина: 1 г. - 375 мг/ Pb^{2+} , 1 г. активированного угля – 17 мг/ Pb^{2+} . Активность низкометоксилированного пектина начинает проявляться уже в желудке, что означает более ранний и продолжительный контакт с радионуклидами. Продолжительность комплексообразования пектинов с радионуклидами в пищеварительном тракте происходит в течение 1 - 2 ч, реже 3 - 4 часов, что обеспечивает более эффективное связывание ионов тяжелых металлов (Донченко Л.В. и соавт., 2006).

1.5. Применение пектина в лечении ран различной этиологии

При поиске новых средств для местного воздействия на гнойную рану в первую очередь учитывается способность данного препарата эффективно подавлять раневую микрофлору и препятствовать суперинфицированию раны

представителями внутрибольничной инфекции (Чумаков П.А., 2006). Пектин, являющийся основой раневого покрытия, обладает выраженным бактерицидным действием на раневую микрофлору, в частности на *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *St. faecalis*, *Pr. vulgaris* о чем свидетельствуют проведенные различными авторами микробиологические исследования (Лазарева Е.Б, 2002; Чумаков П.А., 2006; Сегура-Сенисерос Э.П., 2006; Хатко З.Н., 2008; Шевчук В.Ю., 2013). Бактерицидные свойства пектина позволяют использовать его в составе пектин-желатинового комплекса с добавками физиологически активных веществ в качестве водорастворимой пленки для лечения открытых ран и ожогов (Хатко З.Н., 2008).

В 1975 году фирмой ConvaTec создана повязка на основе пектина и желатины для лечения венозных язв голени – «Varihesive». Новый материал настолько активно стимулировал образование грануляционной ткани, что в некоторых наблюдениях приходилось прижигать избыточные грануляции. Э.П. Сегура-Сенисерос с соавт. (2006) использовали отходы производства сока маракуйи (пассифлоры) в качестве носителя для иммобилизации протеазы папаина при получении пленок, пригодных для лечения кожных ран. Исследования по лечению кожных ран, проведенные на добровольных пациентах, с применением папаин-пектиновых пленок, продемонстрировали ускорение заживления ран без каких-либо негативных побочных эффектов независимо от типа и глубины раны.

В НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Е.Б. Лазарева и соавт. (2002) использовала 1-2% раствор пектинов (яблочного и свекловичного) для лечения ожоговых ран. Клинические наблюдения показали, что местное применение пектинов хорошо переносится больными, не вызывает побочных реакций и осложнений. При нагноении ожоговых ран IIIA - IIIB степени наложение повязок с пектинами приводило к быстрому купированию нагноительного процесса. Сроки заживления ран, леченных пектинами, на 2-4 дня опережали контрольные за счет ускоренного очищения раны в экссудативную стадию течения раневого процесса. Также исследователи отметили выраженный

бактерицидный эффект пектина в отношении стрептококков и синегнойной палочки. Авторами подчеркивается, что наибольший эффект достигался при использовании пектинов с первых дней после ожога.

Таким образом, имеются убедительные теоретические обоснования эффективности препаратов пектина при местном воздействии на гнойную рану. Кроме того в литературе описан выраженный ранозаживляющий эффект пектина при лечении чистых ран у лабораторных животных (Segura Ceniceros E.P. et al., 2003), ран у пациентов (Сегура-Сенисерос Э.П. и соавт., 2006) и при лечении инфицированных ожогов в клинике (Лазарева Е.Б. и соавт. 2002).

Таким образом, в связи с возрастающей ролью применения пектинов в медицине и фармацевтической промышленности, необходимо более широкое исследование их свойств и роли в профилактике и лечении различных заболеваний человека. Перечисленные выше факты служат поводом для дальнейшего изучения возможностей пектина при местном воздействии на патологический очаг – раны различного генеза.

ГЛАВА 2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа базируется на данных экспериментальных, морфологических, цитоиммунохимических, биохимических, иммунологических и клинических методах исследования. В исследованиях применяли пектиновые пленки из низкометоксилированного свекловичного пектина, полученного на базе Майкопского технологического университета доцентом, к. м. н. Хатко З.Н. Субстанция аминоталгидразида любезно предоставлена для проведения экспериментальных исследований директором «Абидофарма» профессором Абидовым М.Т.

2.1. Экспериментальные исследования

Эксперименты на животных проводились в виварии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, цитоиммунохимические исследования на базе кафедры гистологии КубГМУ, иммунологические - на кафедре иммунологии КубГМУ. Операции и все манипуляции с животными проводились 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.).

2.1.1. Материал исследований

Опыты выполнены на 62 беспородных белых крысах-самцах. Результаты работы представлены по данным 3-х серий экспериментов. Общая структура проведенных экспериментов представлена на рисунке 1 и в таблице 1. Лабораторные животные из эксперимента не выводились т. к. происходило полное заживление раневых дефектов.

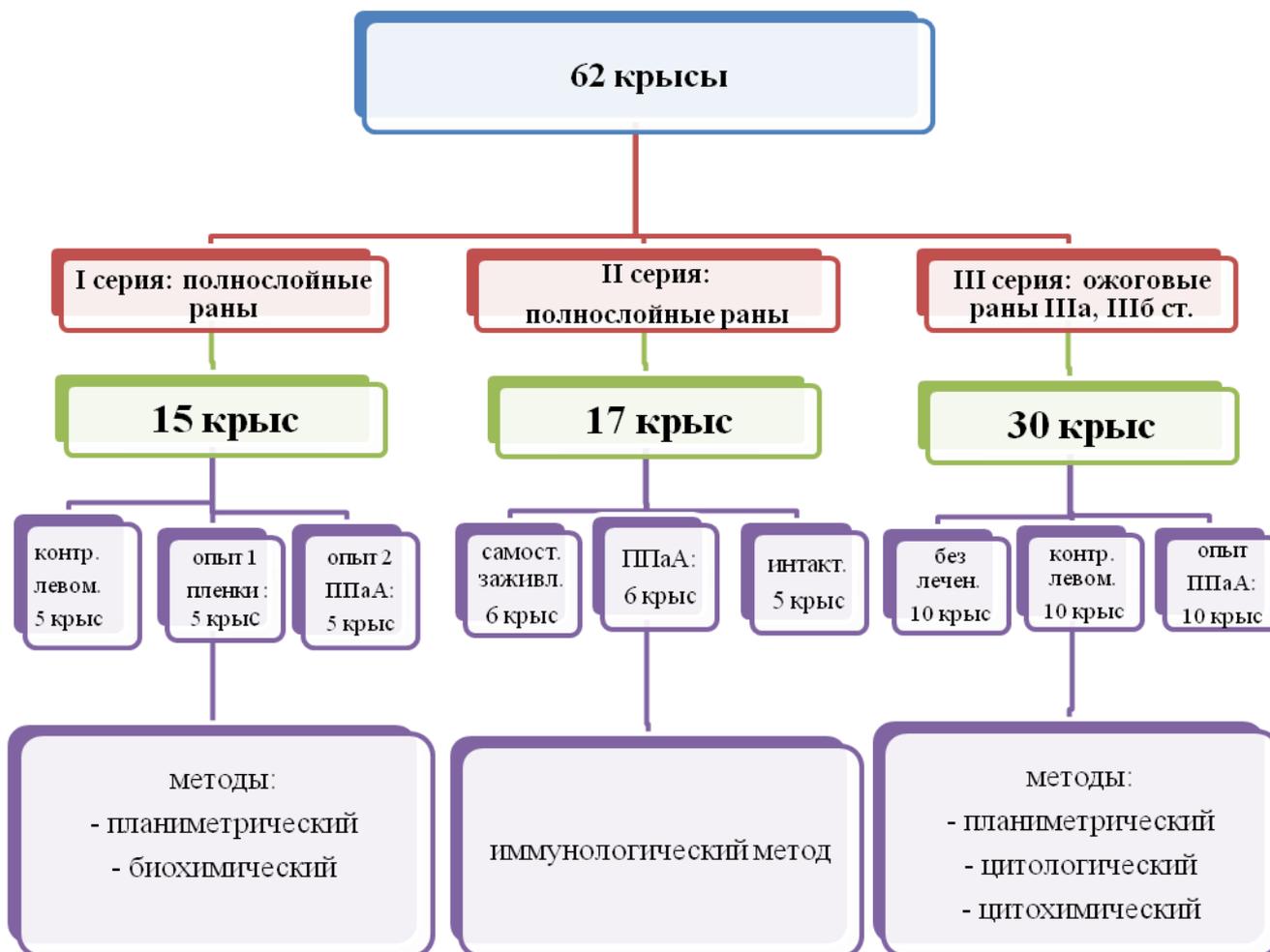


Рисунок 1. Дизайн проведенных экспериментальных исследований

Примечание: ППАА – пектиновые пленки, ассоциированные с аминофталгидразидом

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

Таблица 1.

Структура и количество проведенных исследований

№	Экспериментальная модель	Кол-во образцов
1.	Исследование мазков-отпечатков (ожоговые раны)	240
2.	Иммунологические исследования крови при полнослойных кожных ранах	53
3.	Иммунологические методы исследования периферической крови при полнослойных кожных ранах	53
4.	НСТ-тест (спонтанный и стимулированный) - полнослойные кожные раны	104
5.	Исследование фагоцитоза - полнослойные кожные раны	100
6.	Исследование мазков крови (цитохимия) – ожоговые раны	120
7.	Исследование биологических проб раневого экссудата - полнослойные кожные раны	75
	Планиметрические исследования - полнослойные кожные и ожоговые раны	806

2.1.2. Характеристика исследуемых пленочных покрытий

В основу исследований положено изучение свойств пектиновых пленок при лечении полнослойных кожных и ожоговых ран. Одно из направлений применения пектинов (природных полисахаридов) связано с тем, что они способны проявлять лечебные и профилактические свойства при ряде заболеваний, не уступая по эффективности некоторым лекарственным препаратам. Пектин усиливает действие некоторых медикаментозных форм, не раздражает кожу, имеет бактериостатический и бактерицидный эффекты, используется для приготовления антисептиков, способствует заживлению ран. Использование пектинов при разработке новых лекарственных средств улучшает их биофармацевтические свойства. Пектины обладают бактерицидным, сорбционным, иммуномодулирующим, стимулирующим моторику кишечника и репаративным действием.

Пленка получена из высокоочищенного пектина, выделенного из свекловичного жома по разработанной технологии (патент РФ № 2124848) на базе Майкопского государственного технологического университета. Получение пектиновой пленки осуществлялось следующим способом: сухой свекловичный жом подвергался промывке-набуханию водой при температуре 30-60°C в течение 20-30 мин. Подготовленное сырье подвергалось гидролизу-экстрагированию при температуре 74-75° С в течение 2 часов при соотношении сырья и раствора соляной кислоты с концентрацией 1,3-1,5 % соответственно 1:15. Для обеспечения возможности использования свекловичного пектина ионообменную очистку пектинового экстракта и спиртовую очистку сухого порошкообразного пектина, что позволяет получить пектин с чистотой 75-77 % и комплексообразующей способностью 500-600 мг Pb²⁺/г (патент РФ № 2124848, 20.01.1999г. Способ получения пектина). Полученный свекловичный пектин высокоочищенный и тонкоизмельченный растворялся в растворе галавита при температуре 20-30°C и перемешивался до однородного состояния в течение 20-30

мин. Раствор пектина переносился на фторопластовую поверхность и высушивался при температуре 20-50° С в течение 24-48 часов, затем отделялся от подложки, переносился в герметичную упаковку и стерилизовался методом ультрафиолетового излучения в течение не менее 15 мин.

Для стерилизации и хранения пектиновых пленок использовались 2 вида упаковки: SELFSEALSTERILIZATIONPOUCH, производство Великобритании (размер 3,5x9 – 86x253 мм) и KENDALLBLISTERFILM Transherent Wound Dressing, производство Швейцария) (размер 2x3 – 5,1x7,6 см). Пектиновую пленку в герметичной упаковке обрабатывали в УФ-поле в течение одного часа для придания ей стерильности. В таблице 2 приведены результаты бактериологического исследования пектиновой пленки в зависимости от экспозиции в УФ-поле.

Таблица 2.

Результаты исследования пектиновой пленки на бактериологическую стерильность

Наименование	Результат бактериологического посева					
	Время стерилизации УФ-лучами, мин.					
	0	10	15	30	45	60
Пленка пектиновая на дистиллированной воде	пол.	пол.	отр.	отр.	отр.	отр.

Пектиновые пленки до стерилизации и после в герметичной упаковке для стерилизации и хранения представлены на рисунке 2 и 3.



А.

Б.

Рисунок 2. Пектиновые пленки (свекловичные): А. пектиновая свекловичная, Б. свекловичная + аминофталгидразид



Рисунок 3. Пектиновые пленки в герметичной упаковке для стерилизации и хранения: А. SELFSEALSTERILIZATIONPOUCH, производство Великобритании; Б. KENDALLBLISTERFILM Transharent Wound Dressing, производство Швейцария.

Пектиновые пленки из свекловичного высокоочищенного свекловичного пектина в герметичной упаковке обрабатывались в УФ - поле в течение 15 минут для придания им стерильности. Стерильность пленок в упаковке сохранялась до 15 месяцев. Стерилизация данным методом не изменяла структуру пектиновой пленки.

Оптимальные соотношения свекловичного высокоочищенного пектина и иммуномодулятора аминофталгидразида для создания пленок представлено в таблице 3.

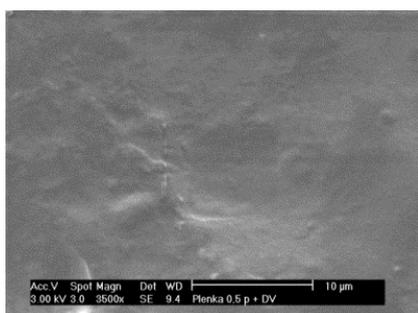
Таблица 3.

Определение оптимального соотношения свекловичного высокоочищенного пектина и иммуномодулятора аминофталгидразида для создания пленок, используемых для лечения ран

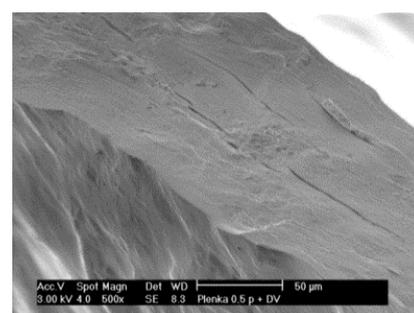
Наименование	Соотношение пектина и галавита		
	1:1	3:1	5:1
Пленка	не образуется (растрескивается)	не образуется (растрескивается)	образуется (пленка плотная,

	при высыхании)	при высыхании)	прочная)
--	----------------	----------------	----------

В наших исследованиях применяли пленки округлой формы диаметром 3 см и площадью 7 см². Согласно исследованиям Хатко З.Н. (2013) пленки, полученные из свекловичного пектина, являются практически гладкими, а содержащие аминофталгидразид – имеют гладкие и зернистые участки (рисунок 4, 5). Микроструктура срезов пленок показывает, что каждый вид пленки имеет свой отличительный «рисунок», обусловленный механизмом взаимодействия комбинируемого вещества с пектином (патент РФ № 2342955).

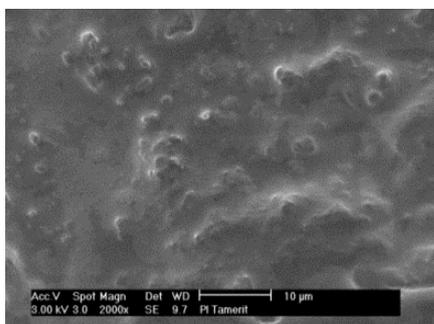


А. 3500x

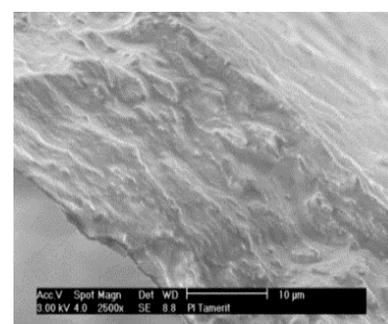


Б. 500x

Рисунок 4. Микроструктура свекловичной пектиновой пленки (А.) и среза свекловичной пектиновой пленки (Б.)



В. 2000x



Г. 2500x

Рисунок 5. Микроструктура свекловичной пектиновой пленки с аминофталгидразидом (В.) и среза свекловичной пектиновой пленки с аминофталгидразидом (Г.)

Результаты исследования элементного состава пектиновых пленок представлены в таблице 4, а спектры рентгеновского излучения пленок на рисунке 6.

Таблица 4.

Показатель	Элементный состав, %													
	СК	ОК	NaK	MgK	AlK	SiK	PK	SK	CaK	FeK	KK	CaK	FeK	CuK
<i>Свекловичная пектиновая пленка</i>														
Весовой	56.84	42.41	0.17	0.01	0.02	0.04	0.02	0.11	0.03	0.06	0.09	0.06	0.06	0.14
Атомарный	63.90	35.80	0.10	0.01	0.01	0.02	0.01	0.05	0.01	0.02	0.03	0.01	0.01	0.03
<i>Свекловичная пектиновая пленка с аминофталгидразидом</i>														
Весовой	55.67	37.64	1.26	0.00	0.42	0.04	0.06	0.09	4.46	0.08	0.12	0.10	0.10	0.06
Атомарный	64.39	32.69	0.76	0.00	0.22	0.02	0.03	0.04	1.75	0.03	0.04	0.02	0.02	0.01

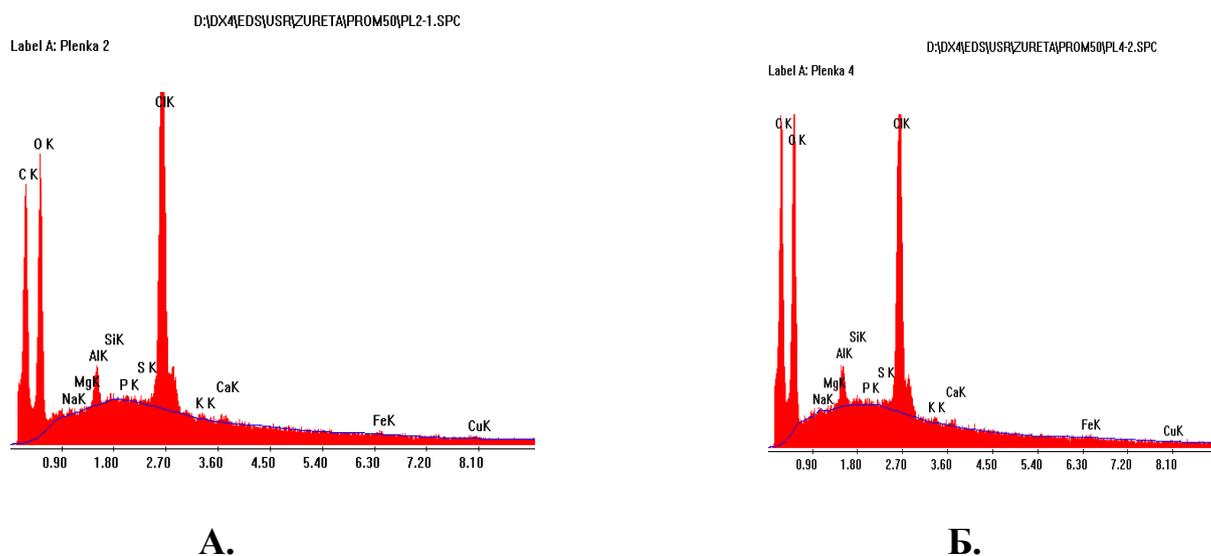


Рисунок 6. Спектры свекловичной пектиновой пленки (А.) и пектиновой пленки с аминофталгидразидом (Б.)

По элементному составу пектиновые пленки отличаются друг от друга. Так, весовое содержание углерода в анализируемых объектах составляет 50 - 65 %, кислорода – 20 - 45 %, хлора – 4 - 8 %. Причем, весовое содержание углерода несколько выше у пленок с аминофталгидразидом. Полученные значения по элементному составу свекловичного пектина подтверждают их зависимость от технологии получения целевого продукта. Остальные элементы содержатся в малых количествах.

Пектиновые пленки применялись во 2-й фазе раневого процесса на вялогранулирующие, длительнонезаживающие (модель полнослойной кожной

раны) и ожоговые раны. В нашем случае пленки представляли собой своеобразный барьер между раной и окружающей средой и предотвращали инфицирование и нагноение последних. Пектин, являющийся основой раневого покрытия, обладает выраженным бактерицидным действием на раневую микрофлору, в частности на *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *St. faecalis*, *Pr. vulgaris* о чем свидетельствуют проведенные различными авторами микробиологические исследования (Лазарева Е.Б, 2002; Чумаков П.А., 2006; Сегура-Сенисерос Э.П., 2006; Хатко З.Н., 2008; Шевчук В.Ю., 2013). В связи с вышеперечисленным, в своей работе мы не стали дублировать микробиологические исследования, а также включать в состав пленок антибактериальный агент.

Лекарственный препарат Галавит разработан группой ученых Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова. Галавит – лекарственное средство с противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами, разрешенное к клиническому применению приказом Министерства Здравоохранения РФ от 31 марта 1997 года (регистрационный номер 97/91/3). Активным компонентом препарата является производное аминофталгидразида, обладающее противовоспалительными, иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами (Абидов М.Т., 2000). Его основные фармакологические эффекты обусловлены способностью изменять функционально-метаболическую активность макрофагов, а также нейтрофильных гранулоцитов (Абидов М.Т., 2000). Галавит имеет принципиальные отличия от других иммунокорректоров. Во-первых, помимо не менее выраженной, чем у других высокоэффективных иммунокорректоров, способности восстанавливать эффективный иммунный ответ, Галавит обладает выраженной противоопухолевой и противовоспалительной активностью, позволяющей применять его не только при хронических инфекционных заболеваниях, но и при остром воспалении и сепсисе. Во-вторых, Галавит является единственным препаратом, который совмещает в себе три вида фармакологической активности: иммунокорригирующее, противовоспалительное и антиоксидантное действия. Тогда как другие препараты обладают преимущественно одним видом действия.

Описанные выше особенности галавита и его способность модулировать функциональную активность НГ послужило поводом для включения его в состав пектиновых пленок с целью изучения данной комбинации на течение раневого процесса. Высокоочищенный и тонкоизмельченный свекловичный пектин совмещался с лекарственным веществом путем растворения в растворе галавита при температуре 20-30°C и перемешивания до однородного состояния в течение 20-30 мин. с последующим высушиванием полученной композиции (патент РФ № 2124848, 20.01.1999г. Способ получения пектина). В ходе проведенных Хатко З.Н исследований было обнаружено, что пектин в водных растворах образует мицеллы больших размеров с многочисленными внутренними полостями в виде спиралей или других сложных межмолекулярных образований. Внутри этих структур образуются каналы, которые могут заполняться молекулами галавита. Образование непрочных межмолекулярных соединений пектина с галавитом способствует повышению биодоступности последнего и вероятно, порционному его освобождению в рану. Однако доскональное изучение данного механизма требует проведение дополнительных исследований и не служит целью нашей работы.

2.2. Методы моделирования ран и ожогов

1. Полнослойные кожные раны
2. Ожоги кожи III-а и III-б степени

2.2.1. Обезболивание подопытных животных

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. Наступление наркоза устанавливали по угнетению роговичного рефлекса и отсутствие реакции на болевые раздражители.

2.2.2. Моделирование полнослойных кожных ран

Моделирование полнослойных кожных ран осуществляли с целью изучения пектиновых пленок, изготовленных из различных видов пектина на течение раневого процесса.

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. Операционное поле последовательно обрабатывали однократно 5% спиртовым раствором йода и 70% этиловым спиртом, после чего закрывали стерильными салфетками. 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 (рисунок 7). Использование пленок на начальном этапе лечения позволило предотвратить инфицирование ран и ускорить процесс репарации раневых дефектов.



Рисунок 7. Аппликация пектиновой пленки (рана слева).

Поверх исследуемых пленок накладывали стерильную салфетку и фиксировали ее отдельными узловыми швами к краям раны (рисунок 8).



Рисунок 8. Фиксация салфетки к краям раны.

На контрольную рану накладывали стерильную салфетку с мазью «левомеколь». Макроскопическую оценку давали на 1, 4, 7, 10 и 14-е сутки, проводили планиметрическое исследование, брали экссудат раны для биохимических исследований. Забор венозной крови для иммунологических исследований производили из кончика хвоста путем отсечения его части на 1, 4, 7, 10-е сутки.

2.2.3. Моделирование ожогов

Эксперименты выполнены на беспородных белых лабораторных крысах массой тела 180 – 250 г. 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 (рисунок 9) 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. Крыс отсаживали в клетки по одной для того, чтобы предотвратить взаимное разгрызание повязок. После ожога крысы помещались в клетку по одной для наблюдения. Оценивалась активность животного, подвижность в клетке, состояние шерсти. Ежедневно наблюдали за состоянием ожогового струпа, оценивали его цвет, фиксацию к подлежащим тканям (рисунок 10). Отторжение струпа происходило на 14-18-е сутки, после чего обнажалась раневая поверхность, доступная для дальнейшего изучения (рисунок 11).



Рисунок 9. Моделирование ожоговой раны у лабораторного животного.



Рисунок 10. Ожоговый струп на 10-е сутки.



Рисунок 11. Вид ожоговой раны IIIa ст. после отторжения струпа на 14-е сутки.

Все животные разделены на три группы по 10 в каждой: 1 группа - 10 животных, у которых раны заживали самостоятельно (без лечения), 2 группа – 10 крыс – контрольная группа, на ожоговые раны которых накладывали мазь «левомеколь» и 3-я группа – опытная - 10 крыс, которым на раневые дефекты наносили пектиновые пленки с аминофталгидразидом. После отторжения ожогового струпа (14-18-й день) на раны 1-й группы животных накладывали стерильную салфетку с 0,9% физиологическим раствором, 2-я группа получала лечение мазью «левомеколь», 3-я группа – пектиновые пленки с аминофталгидразидом. 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 ожоговой раны и периферическую кровь из кончика хвоста животного для цитохимических исследований на 1, 3, 7, 14-е сутки.

2.2.4. Планиметрическое исследование

Для оценки эффективности местного лечения полнослойных кожных ран и ожоговых ран измеряли скорость эпителизации. С этой целью до начала лечения точно определяли площадь раны. Для этого на рану накладывали стерильный лист полиэтиленовой пленки и переносили на нее контуры 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 1, 4, 7, 10 и 14-е сутки в случае полнослойных кожных ран и на 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35-е сутки проводимого местного лечения ожоговых ран. Динамику уменьшения площади раны в ходе заживления оценивали в процентах по формуле: $Y = 100 \times (S_0 - S_t) / S_0$ (метод Навакатиняна О.А., Фенчина К.М., 1979), где S_0 – начальная площадь раны, S_t – площадь на день t .

2.2.5. Цитологические исследования

Мазки крови и отпечатки экссудата наносили на обезжиренные предметные стекла и фиксировали ацетон-этанолом (соотношение 1:1), а также парами 40% формалина по 15 и 5 минут соответственно. Мазки и отпечатки, фиксированные ацетон-этаноловой смесью подвергали гидролизу в 5 N HCl при 37⁰C в течение 8 минут (Евглевский А.А., 1985), а затем окрашивали в стандартизированных 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 парами 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). Дополнительно, в целях морфологического исследования клеточного состава экссудата, его отпечатки окрашивали по Май-Грюнвальду. В отпечатках, окрашенных по Май-Грюнвальду, подсчитывали количество клеточных форм, наблюдаемых в 10 произвольно выбранных полях зрения микроскопа при его увеличении 200х, что обеспечивало снижение влияния неравномерности распределения клеток по поверхности отпечатка на результаты подсчета. Для уточнения морфологического типа клеток использовали иммерсионные микроскопические системы с увеличением 1000х. Документирование результатов исследования осуществляли методом цифровой микрофотографии при увеличении 630х. Следует учесть, что количество нейтрофильных гранулоцитов (полинуклеаров), лимфоцитов (мононуклеаров) подсчитывалось отдельно. Учету подвергались только четко идентифицируемые клетки. Гликоген в цитоплазме НГ определяли с помощью ШИК – реакции.

2.3. Биохимические методы исследования

2.3.1. Методика забора биологического материала

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 (рисунок 12). Забор биоматериала производили на 1, 4, 7, 10 и 14-е сутки.



Рисунок 12. Забор биоматериала с поверхности раны путем аппликации фильтровальной бумаги.

При этом использовались квадраты фильтровальной бумаги площадью 1 см², экспозиция на ране производилась в течение 3 минут, 3 квадрата фильтровальной бумаги помещались в 3 мл 0,1 М фосфатного буфера (рН=7,4), элюирование достигалось путем интенсивного механического встряхивания пробы в течение 1 минуты, после чего элюент с квадратами фильтровальной бумаги охлаждался до 8-10°С.

2.3.2. Методики оценки прооксидантно-антиоксидантного статуса биологического материала

Люминол-зависимая H₂O₂-индуцированная хемилюминесценция

Люминол-зависимая H₂O₂-индуцированная хемилюминесценция экссудата раны измерялась на хемилюминотестере ЛТ-1 производства НПО «Люмин» (Ростов-на-Дону) по методике И.И. Павлюченко и соавт. (2003).

2.3.3. Амперометрический анализ антиокислительной активности

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). Способ основан на измерении электрического тока, возникающего при окислении биологического образца на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале и сравнении полученного сигнала с сигналом стандарта, измеренного в тех же условиях.

Техника выполнения. Добавляли к 1 мл буферного раствора с экссудатом, собранного из раны 0,1 мл 28% раствора трихлоруксусной кислоты. Полученные образцы центрифугировали 20 мин. при 3000 оборотов в минуту. Вносили в пробирку 5 мл элюента и 100 мкл подготовленного экссудата. Подготавливали прибор Яуза-ААА-01 с установкой следующих параметров: потенциал +1,3 В; элюент 2,2 мМ раствор H_3PO_4 ; скорость подачи элюента 1,2 cm^3/min . Оценивали АОА на Яуза-ААА-01 путем 5 последовательных измерений сигналов и определения среднего арифметического значения из 5 измерений при среднем квадратичном отклонении не более 5%. Затем рассчитывали относительную площадь электрического тока окисления субстрата в сравнении с окислением аскорбиновой кислоты и результаты выражали в $nA \cdot c$.

2.3.4. Определение активности каталазы

Определение активности каталазы (КАТ) основано на определении скорости утилизации перекиси водорода в реакционной смеси, в которую вносится биологический материал, содержащий фермент. Об интенсивности утилизации перекиси водорода судили по скорости снижения экстинкции при длине волны 260 нм, на которой перекись водорода имеет максимум светопоглощения.

Активность КАТ исследовали в раневом экссудате по методу R.Beers et I. Sizer, (1952) в модификации И.И. Павлюченко и соавт., (2006).

Техника выполнения. В пробирку вносили 200 мкл раневого экссудата параллельно в опыт и контроль и инкубировали в течение 180 секунд при температуре 37°C в сухом термостате. После окончания инкубации в пробирки с опытной пробой добавляли 0,3 мл 50% раствора трихлоруксусной кислоты и

пробирки центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Супернатант фотометрировали против 5% раствора трихлоруксусной кислоты при длине волны 260 нм. Полученная экстинкция соответствует содержанию перекиси водорода в супернатанте. Разность в оптической плотности контрольной и опытной проб использовалась для расчета активности КАТ.

Техника расчета. Расчет активности КАТ производили по разнице экстинкций в опытной и контрольной пробах согласно закону Бугера-Ламберта-Бэра с учетом молярного коэффициента светопоглощения перекиси водорода при длине волны 260 нм $\epsilon = 22 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ по формуле (формула 1).

$$A = (\Delta E \cdot V_{\text{р.с.}} \cdot 10^3 \cdot x) / (V_{\text{пр}} \cdot 1 \cdot \epsilon \cdot t) \text{ (формула 1),}$$

где А - активность КАТ, ммоль / (мин•л);

ΔE - разность экстинкций контрольных и опытных проб;

$V_{\text{р.с.}}$ - объем реакционной смеси (3 мл);

$V_{\text{пр}}$ - объем пробы, использованной для определения активности КАТ (0,2 мл);

1 - длина оптического пути (1 см);

ϵ - молярный коэффициент светопоглощения H_2O_2 ;

t - время инкубации (3 мин);

10^3 - коэффициент пересчета моль в ммоль

x - степень разведения эритроцитарной взвеси в гемолизате.

Полученные результаты активности КАТ делили на количество эритроцитов в использованной взвеси и выражали в условных единицах активности (ед. акт.).

2.3.5. Определение активности супероксиддисмутазы

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.

Техника выполнения. Выполнение методики заключается в определении разницы экстинкций растворов опытной пробы (с биосубстратом) и контрольной пробы (без биосубстрата). Аутоокисление кверцетина (1,4 мкМ) проводили в течение 15 минут при комнатной температуре в 0,015 М фосфатном буфере pH 7,8, содержащем 0,08 мМ этилендиаминтетраацетата и 0,8 мМ тетраметилэтилендиамин в конечном объеме 3,5 мл. Реакцию начинали внесением в среду инкубации кверцетина в 0,1 мл диметилсульфоксида. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре при 406 нм. Степень ингибирования аутоокисления кверцетина определяли по разнице в оптической плотности опытной и контрольной пробы.

Техника расчета. Результаты активности СОД выражали в единицах активности (ед. акт.), соответствующих степени ингибирования реакции за единицу времени.

2.4. Иммунологические методы

2.4.1. Определение бактериального фагоцитоза с оценкой степени завершенности (Нестерова И.В. и соавт., 1996)

На середину хорошо обезжиренного стекла наносили 20 мкл гепаринизированной крови (к 20 мкл крови добавляют 10 мкл гепарина). Добавляли 10 мкл мясо-пептонного бульона и 10 мкл микробной взвеси лабораторного штамма № 209 *St. aureus* на физ. растворе в концентрации 1×10^6 в мл. Все ингредиенты перемешивали осторожным покачиванием стекла. Инкубировали во влажной камере в термостате в течение 2 часов при 37°C. Излишек крови осторожно удаляли при наклоне предметного стекла под углом 45°, и на предметном стекле оставался микролейкоконцентрат, ограниченный хорошо видимыми контурами капли. Препарат фиксировали в метаноле (этанол) в течение 5 минут, окрашивали по Романовскому в течение 5 минут. Промывали в дистиллированной воде, сушили, микроскопировали, по результатам проводили оценку поглотительной и переваривающей способности НГ.

Оценка поглотительной способности и переваривающей функции фагоцитов.

Поглотительная функция: подсчитывали 100 НГ в мазке, в каждом из них определяли: есть или нет внутриклеточно расположенные бактерии; количество убитых и разрушенных бактерий; количество живых бактерий. «Активный» нейтрофил - нейтрофил, поглотивший микробы, % фагоцитоза: % «активных» НГ из общего числа посчитанных НГ. Фагоцитарное число: среднее число фагоцитированных микробов (М), деленное на 1 «активный» НГ (ФАН):

$$\text{ФЧ} = \frac{\text{М}}{\text{ФАН}}$$

Фагоцитарный интегральный индекс (ФИ):

$$\text{ФИ} = \frac{\text{М}}{100}$$

Завершенность фагоцитарного акта:

Процент переваривания (% П) = $\frac{\text{Муб} \times 100}{\% \text{ ФАН}}$, где Муб - среднее число убитых микробов на 1 посчитанный НГ (т.е. - на 100).

$$\text{Индекс переваривания (ИП)} = \frac{\text{Муб}}{100}$$

2.4.2. Оценка кислородзависимых микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов в NBT-тесте (Нестерова И.В. и соавт., 1996)

Центральное место в антимикробной активности фагоцитирующих клеток периферической крови занимает кислородный или респираторный «взрыв», вследствие чего генерируются активные формы кислорода в системе НАДФ-оксидазы. В оценке кислородного «взрыва» наиболее широко используется метод, в основе которого лежит реакция восстановления нитросинего тетразолия ионом водорода и супероксидным анионом, при этом в клетках образуются грубо-

дисперсные темно-синие гранулы диформаза, оцениваемые с помощью световой микроскопии.

Визуальная оценка цитохимических реакций с использованием принципа Kaplow (1955):

0 степень - окрашено только ядро, цитоплазма не окрашена, не видно контуров гранул;

1-я степень - вся цитоплазма диффузно окрашена или окрашено не более 1/4 цитоплазмы;

2-я степень - в цитоплазме хорошо видны окрашенные гранулы, окрашено более 1/4 цитоплазмы;

3-я степень - всю цитоплазму занимают гранулы, но ядро свободно, окрашено 3/4 и более цитоплазмы;

4-я степень - гранулы занимают всю цитоплазму и наслаиваются на ядро.

Выведение среднего цитохимического индекса (СЦИ)

После подсчитывания 100 нейтрофилов выводили средний цитохимический индекс (СЦИ):

$$\text{СЦИ} = \frac{0_a + 1_b + 2_c + 3_d + 4_e}{100}$$

(где a, b, c, d, e - количество клеток соответственно 0, 1, 2, 3, 4-й степеней).

2.4.3. Спонтанный NBT- тест

На середину хорошо обезжиренного стекла помещали 20 мкл крови, добавляли 10 мкл гепарина в разведении 2 ед. гепарина в 0,1 мл физиологического раствора, и 10 мкл 0,1 % водного раствора тетранитросинего тетразолия и 10 мкл физиологического раствора, рН-7,0 и перемешивали осторожным покачиванием стекла. Инкубировали препараты 15 мин в термостате при 37° С. Излишек крови осторожно удаляли, наклоном стекла под углом 45°, и на предметном стекле оставался микролейкоконцентрат, ограниченный хорошо видимыми контурами капли. Лейкоциты вследствие своих адгезивных свойств прилипали к

поверхности стекла. Фиксировали мазки в метаноле в течение 1 минуты и докрашивали ядра в 0,5 % растворе нейтрального красного на забуференном физиологическом растворе pH-7,0 в течение 1 минуты. Препараты промывали, высушивали и микроскопировали.

Результаты реакции: формазан-позитивные гранулы окрашивали в черный цвет, ядра - в красный. Подсчитывали процент формазан позитивных клеток (ФПК) и средний цитохимический индекс (СЦИ) с использованием принципа Kaplow (1955).

2.4.4. Стимулированный NBT-тест-нагрузочный тест *in vitro*

При постановке NBT-теста со стимуляцией лабораторным штаммом *Staph. aureus* (штамм № 209) определяли резервный функциональный потенциал НГ. Для этого на середину хорошо обезжиренного стекла помещали 20 мкл крови, добавляли 10 мкл гепарина в разведении 2 ед. гепарина в 0,1 мл физиологического раствора, а также 10 мкл *St.aureus* в разведении 1 млрд. микробных тел в 1 мл физиологического раствора, и через 2 минуты - 10 мкл тетранитросинего тетразолия. Инкубировали препарат в термостате при $t\ 37^{\circ}\text{C}$ в течение 15 минут. Излишек крови осторожно удаляли наклоном стекла под углом 45° , и на предметном стекле остается микролейкоконцентрат, ограниченный хорошо видимыми контурами капли. Фиксировали препараты в метаноле в течение 1 минуты, докрашивали ядра в 0,5% растворе нейтрального красного на забуференном физиологическом растворе pH-7,0 в течение 1 минуты. Мазки промывали, высушивали, микроскопировали. Оценка результатов реакции аналогична таковой в NBT-спонтанном тесте: подсчитывали процент ФПК и средний цитохимический индекс (СЦИ) с использованием принципа Kaplow (1955). Кроме того, выводили коэффициент мобилизации (КМ) по отношению

$$\frac{\% \text{ формазан-позитивных НГ в стимулированном NBT-тесте}}{\% \text{ формазан-позитивных НГ в спонтанном NBT-тесте}}$$

2.5. Клинические аспекты применения пектиновых пленок с аминофталгидразидом в лечении трофических язв венозной этиологии

В исследование включены 16 больных с хроническими трофическими язвами венозной этиологии, находившиеся на стационарном лечении в хирургическом отделении Краснодарского госпиталя для ветеранов войн с 2007 по 2008 гг. Все больные подписали информированное добровольное согласие на проводимое местное лечение язвенных дефектов.

2.5.1. Характеристика больных

Средний возраст больных составлял 85 лет, из них мужчин – 9 человек, женщин – 7 человек. Среднее время существования язвенных дефектов составило 6, 3 года (от 7 мес. до 20 лет). С одиночными язвами было 10 больных, с множественными (2-5 язв) – 6 человек. Средняя площадь язв – 19,4 см². (4,3-63см²). Из сопутствующей патологии наблюдались: ИБС, гипертоническая болезнь 2-й и 3-й стадий. Больные с сопутствующим сахарным диабетом в критерий включения не попадали.

Для местного лечения использовались пектиновые пленки с иммуномодулятором аминофталгидразидом во 2-й фазе раневого процесса. Никакие другие средства для местного лечения язв больше не применялись.

2.5.2. Клинические методы исследования

Всем больным при поступлении в стационар проводился бактериальный посев из ран с определением чувствительности к антибиотикам, общеклиническое обследование, лабораторные исследования. В посевах наиболее часто встречались: *Ps. auriginose*, *St. aureus*, в меньшем количестве *Pr. vulgaris*, *E. coli*, энтеробактерии и различные микробные ассоциации.

Всем больным производилась консервативное лечение трофических язв. Хирургическое лечение, направленное на устранение вертикального и горизонтального венозного рефлюкса не проводилось из-за возрастных особенностей контингента больных (средний возраст 85 лет), требующих индивидуального подхода в личном общении, не только в лечении, но и на этапе обследования, множества сопутствующих заболеваний, часто в стадии декомпенсации и отсутствии необходимых условий для проведения «сосудистых» операций.

Всем больным в качестве местного лечения применяли пектиновые пленки на основе свекловичного пектина с аминофталгидразидом. После предварительной санации язвенного дефекта раствором антисептика (0,05 % водный раствор хлоргексидина биглюканата) на рану путем аппликации наносили пектиновые пленки на основе свекловичного пектина с аминофталгидразидом после чего рану закрывали стерильной асептической повязкой. Традиционные средства для местного лечения язв (левосин, левомеколь, содерм и др.; йодонаты) у данной группы больных не применяли. Смену повязок осуществляли через день, наблюдая за состоянием пленочного покрытия и заменяя его на новое по мере его биодegradации. Для оценки эффективности местного лечения трофических язв измеряли скорость эпителизации. С этой целью до начала лечения точно определяли площадь раны. Для этого на рану накладывали стерильный лист полиэтиленовой пленки и переносили на нее контуры кожного дефекта. Затем полученное изображение раны накладывали на лист миллиметровой бумаги, после чего подсчитывали количество квадратных сантиметров и миллиметров, заключенных внутри границ контура.

Компрессионная терапия подразумевала наложение биндажа, формируемого из бинтов короткой и/или средней степени растяжимости. Уровень бинтования (от основания пальцев или от голеностопного сустава, до колена или до паха), техника наложения биндажа, степень компрессии – зависели от формы поражения венозного русла у данного конкретного больного.

Повторное измерение площади раны осуществляли через каждые 10 – 15 дней проводимой локальной и общей терапии.

2.6. Методы статистической обработки

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

Определяли показатели: среднюю арифметическую (M), среднеквадратичное отклонение (σ), ошибку средней арифметической (m).

Пользуясь таблицами Фишера-Стьюдента, определяли “p” – уровень достоверности доверительных границ. За достоверные принимали показатели критерия $p < 0,05$, т.е. менее 5% ошибки. Статистическую значимость различий оценивали с помощью t критерия Стьюдента для малых выборок и критерия Вилкоксона (Гланц С., 1998; Зайцев В.М., 2003).

ГЛАВА 3.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕКТИНОВЫХ ПЛЕНОК С АМИНОФТАЛГИДРАЗИДОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ И ОЖОГОВЫХ РАН В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

3.1. Анализ заживления полнослойных кожных ран у крыс при использовании пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом

В первой серии опытов на крысах мы использовали пленочное раневое покрытие из пектина, выработанного из свеклы промышленным путем (патент РФ на изобретение №2342955) с фиксированным на нем иммуномодулятором аминофталгидразидом.

Из литературных источников известно, что эксперименты на животных не в полной мере моделируют заживление ран у человека. Это связано с анатомо-физиологическими особенностями крыс. Крысиная кожа существенно отличается от человеческой, так как она более подвижна, имеет подлежащий слой мышечной ткани, из-за чего у данного вида животных происходит значительная контракция кожи, приводящая к уменьшению размеров раны. Кроме того, процессы репарации у крыс происходят значительно быстрее (Парамонов Б.А., 1997). Поэтому полностью перенести результаты, полученные в опытах на грызунах на человека нельзя (Заликин Г.А., 1980; Шалимов С.А. и соавт., 1989). Наблюдая за раневым процессом у 3-х групп животных (2-х опытных и контрольной) мы отметили значительные отличия. Отмечена хорошая фиксация пектиновой пленки к дну раны, для ее снятия с целью оценки состояния раны требуется некоторое усилие. Если долго не менять повязку, то пленка плотно фиксировалась к дну раны, истончалась и биодegradировала. Свекловичная пектиновая пленка без

иммуномодулятора (аминофталгидразида) являлась прозрачной и через нее было удобно наблюдать за состоянием раны, характером экссудата, если таковой имелся. Пектиновая пленка с аминофталгидразидом не прозрачная, визуально оценить состояние раны не представлялось возможным, поэтому в некоторых случаях возникала необходимость приподнимать раневое покрытие. С целью предотвращения травматизации эпителия и грануляционной ткани снятие пленки для взятия мазка отпечатка проводили на ограниченном участке.

Из 10 крыс опытной группы № 2 у 3-х крыс ввиду плотной фиксации пленки к дну раны пленку подрывали, в остальных случаях пленка легко отделялась от дна раны. С целью предотвращения травматизации эпителия и грануляционной ткани снятие пленки для взятия мазка отпечатка проводили на ограниченном участке. Визуальный осмотр раны, забор раневого экссудата для биохимических исследований и измерение площади полнослойной кожной раны производили на 1, 4, 7, 10 и 14-е сутки. После осмотра раны осуществляли ее обработку антисептиками и вновь накладывали пленочное покрытие, предварительно увлажняя его в водном растворе хлоргексидина с целью ее размягчения и моделирования пленочного покрытия по раневому дефекту. Ни в одном случае использования пектиновой пленки с аминофталгидразидом и без него, не зафиксировано развития воспаления, что очевидно, связано с ее выраженной противовоспалительной и барьерной функцией. Надо также отметить, что экссудации в ранах под пектиновыми пленками с действующим агентом (аминофталгидразидом) и без него не наблюдалось. Это по нашему мнению связано с высокой сорбционной способностью самого пектина. У животных контрольной группы на 2-й день после моделирования полнослойной кожной раны отмечалась экссудация. Животные контрольной и опытных групп содержались отдельно. Большое значение придавали общему состоянию животных, их активности, подвижности в клетках, состоянию шерсти. Шерсть животных в норме имеет своеобразный блеск и, обычно, прилежит к кожному покрову. Во время болезни шерсть тусклая, взъерошенная. При осмотре ран оценивались такие качественные показатели, как гиперемия кожи, наличие

струпа, количество экссудата, выраженность инфильтрации тканей в области ран. Надо отметить, что в опытных и контрольной группах поведение животных существенно не отличалось. Поведение крыс было активное, крысы принимали пищу в обычных количествах. Общеизвестно, что повязки с фиксированными под ними пластиковыми кольцами служили дополнительным раздражителем и вызывали беспокойство у животных. Несмотря на отдельное содержание каждого животного, большая часть животных уже на 3-й день разгрызало повязки и фиксированные пластиковые кольца, что приводило к контракции раны, изменению ее формы и доставляло дополнительные трудности при проведении планиметрии. Все это потребовало дополнительных манипуляций над ранами и замены колец путем наложения обвивного шва по периметру раны. С 4-х суток у контрольной группы раны были покрыты серозной корочкой с нерезко выраженной гиперемией кожи по периметру. При поднятии корочки из раны получен скудный серозно-гнойный экссудат. В опытных группах экссудация под пектиновой пленкой отсутствовала, что по нашему мнению связано с высокой сорбционной способностью пектина. 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 $253,20 \pm 9,9 \text{ мм}^2$ у контрольной. Такая тенденция сохраняется до 14-х суток, что видно из таблицы 4. 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 1мм. 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. Как видно из таблицы 4, заживление ран при использовании пектиновой пленки с иммуномодулятором в сравнении с пленкой без действующего агента

происходило на 3 суток быстрее, что связано с положительным влиянием аминофтальгидразида на течение раневого процесса. Статистически значимые различия изучаемых препаратов с контролем наблюдались с 4-х суток у пленки с действующим веществом и с 7-х суток у пленки без иммуномодулятора (см. таблицу 5).

Таблица 5.

Динамика изменения площади полнослойных ран в зависимости от способа лечения (M±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 аминофтальгидразидом (n=5)	313,40±0,68	307,40±3,16	136,80±7,21*#	84,60±6,05*#	15,40±5,17*#	3,00±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)

Скорость заживления раневых дефектов вычислялась по формуле: $Y=100 \times S_0 - St/S_0$ (метод Фенчина К.М. и Навакатиняна О.А., 1979), где S_0 – начальная площадь раны, St – площадь на день t . Результаты измерений представлены в таблице 6. °

Таблица 6.

Скорость заживления полнослойных кожных ран (%)

Группы	% заживления (M±m, p)				
	1-е сутки	4-е сутки	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки
1 гр. – пект. пленка (n=5)	1,66±0,74	20,1±1,54	44,9±11,3	60,1±4,59*	74,8±1,52
2 гр. – пект. пленка+аминофтальгидр. (n=5)	1,91±0,69	53±3,12*#	80,2±7,32*#	87,3±6,14*#	95±1,38*#
3 гр. – контроль (n=5)	0	19,2±0,40	30±10,2	57,5±6,1	79,8±2,25

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

Из таблицы 6 следует, что уменьшение площади раны при использовании пектиновых пленок обеих видов (без иммуномодулятора и с аминофталгидразидом) происходит с 1-х суток, однако данный показатель не является статистически значимым. 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.

Таким образом, по результатам планиметрических исследований у животных при применении пектиновых пленок без действующего агента и с иммуномодулятором аминофталгидразидом, можно сделать вывод, что последние стимулируют регенерацию эпителия и ускоряют репаративные процессы в ране. Однако, использование пленки с иммуномодулятором более предпочтительно, так как заживления ран происходит на 3 суток быстрее.

3.2. Иммунологическая эффективность применения пектиновых пленок в лечении полнослойных кожных ран в эксперименте

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) – первая «аварийная» линия защиты в системе надзора за иммунным гомеостазом (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1989, Маянский А.Н., 2003) - чрезвычайно чувствительны к разнообразным местным нарушениям в организме, способным влиять на иммунный статус. Являясь достаточно пластичной структурой, нейтрофил способен менять свою реактивность, подвергаясь как позитивному (праймирование, гиперактивация),

так и негативному (деактивация, ослабление чувствительности к повторным стимулам) кондиционированию (Маянский А.Н., Челышев И.В., Чеботарь И.В., 1993; Нестерова И.В. и соавт., 1996; Колесникова Н.В. и соавт., 1997). Наряду с уничтожением бактерий в реакциях фагоцитоза, НГ играют ключевую роль в воспалении, контролируя не только распространение воспаления на неповрежденные ткани, но и способствуя прекращению воспаления, репарации тканей и восстановлению последних к нормальной гомеостатической функции после ликвидации бактериальной инвазии. При нормальном функционировании системы фагоцитов крови инфекционные процессы маловероятны, тогда как одной из причин последних является количественная и функциональная недостаточность данного звена иммунной системы, рассматриваемая сегодня как фактор риска для их генеза (Колесникова Н.В., и соавт., 1999). Исследование функциональной активности НГ у экспериментальных животных проводилось в соответствии с методическими рекомендациями И.В.Нестеровой и соавт. (1996).

Оценка общеклинических параметров крови у крыс с экспериментальными полнослойными кожными ранами и интактным контролем показала достоверное увеличение общего числа лейкоцитов (в 1,6 раза) на 4-е сутки наблюдения. При этом относительное содержание НГ находилось в пределах такового у интактных животных, тогда как их абсолютное содержание превышало норму в 1,6 раза. В дальнейшем (на 7-е сутки) у экспериментальных животных имело место снижение до уровня нормы общего числа лейкоцитов и абсолютного содержания НГ, относительно 4-х суток, с тенденцией к возрастанию процента НГ. На 10-й день наблюдения было выявлено наиболее выраженное возрастание абсолютного числа НГ как за счет достоверного прироста %НГ, так и за счет увеличения общего числа лейкоцитов. При использовании метода аппликации раны пектиновыми пленками на основе свекловичного пектина в сочетании с иммуномодулятором аминофталгидразидом (2 группа) на 4-е и 7-е сутки наблюдения отмечался сходный характер изменений показателей, однако на 10-й день увеличение общего числа лейкоцитов, а также процентного и абсолютного числа НГ было достоверно более выраженным, чем у крыс с самостоятельным

заживлением ран. В частности, имело место увеличение лейкоцитоза в 1,5 раза против 1 группы и в 2,4 раза относительно интактных животных; %НГ - в 1,2 раза выше таковых в 1 группе и в 1,4 раза - относительно интактного контроля; абсолютного содержания НГ - в 2,1 раза относительно 1 группы и в 4 раза - относительно интактного контроля. Дальнейший мониторинг показал некоторую тенденцию к снижению лейкоцитоза, наиболее значимую на 7-е сутки (таблица 7).

Таблица 7.

Динамика изменения показателей фагоцитарной функции крыс с экспериментальными послыонными кожными ранами с учетом различных способов их заживления (M±m,p)

группы	лейкоциты	НГ%	НГабс	%ФАН	ФАНабс	ФЧ	ФИ	%П	ИП
1 группа – самостоятельное заживление раны									
4-е сутки	15,06± 1,11*	23,60± 1,98	4,00± 0,39*	57,25± 3,11	2,18± 0,16*	2,39± 0,22	1,28± 0,10	71,64± 5,12	0,92± 0,08
7-е сутки	10,50± 0,89#	25,60± 2,01	2,72± 0,22#	53,75± 2,96*	1,64± 0,12	2,89± 0,25	1,61± 0,12	68,81± 4,49	1,12± 0,10
10-е сутки	14,91± 1,12*	31,40± 2,76*	4,75± 0,53*	47,60± 4,01 *#	2,41± 0,18*	2,31± 0,16	1,12± 0,05*	64,46± 3,73	0,73± 0,04*
2 группа – пектиновая пленка с аминофталгидразидом									
4-е сутки	15,42± 1,47*	22,33± 2,10*	3,56± 0,29*	50,33± 3,96*	1,77± 0,19	2,01± 0,19	1,03± 0,09	66,70± 4,28	0,61± 0,05*
7-е сутки	16,31± 1,36*	20,75± 1,86*	3,34± 0,30*	59,00± 3,18#	1,86± 0,19	3,25± 0,23*	1,84± 0,17	60,94± 5,11	1,13± 0,87
10-е сутки	21,93± 1,86*#	38,55± 2,49*#	9,80± 0,11*#	49,83± 2,69*#	4,83± 0,55*#	2,99± 0,31	1,39± 0,09	70,98± 6,12	0,95± 0,06
3 группа - интактный контроль									
	9,28± 0,59	27,00± 1,93	2,50± 0,17	59,20± 3,12	1,49± 0,16	2,45± 0,22	1,42± 0,14	69,41± 4,87	1,00± 0,04

Примечание: * - достоверность отличий от контроля (p<0,01), # - достоверность межгрупповых различий (p<0,01)

Анализ изменения функциональной активности НГ у животных экспериментальных групп показал, что у крыс с самостоятельным заживлением ран (1 группа) тенденция к снижению числа активно-фагоцитирующих клеток (% ФАН), выявляемая на 4-е сутки, становится более выраженной через 7 дней от начала эксперимента, приобретая характер достоверной количественной

депрессии к концу наблюдения (таблица 7, рисунок 13). При этом % ФАН на 10-е сутки был в 1,24 раза ниже, чем у интактных животных. Однако абсолютное содержание активных фагоцитов не было сниженным во все сроки наблюдения, что связано с увеличением общего числа лейкоцитов крови и числа НГ в микролитре крови, соответственно.

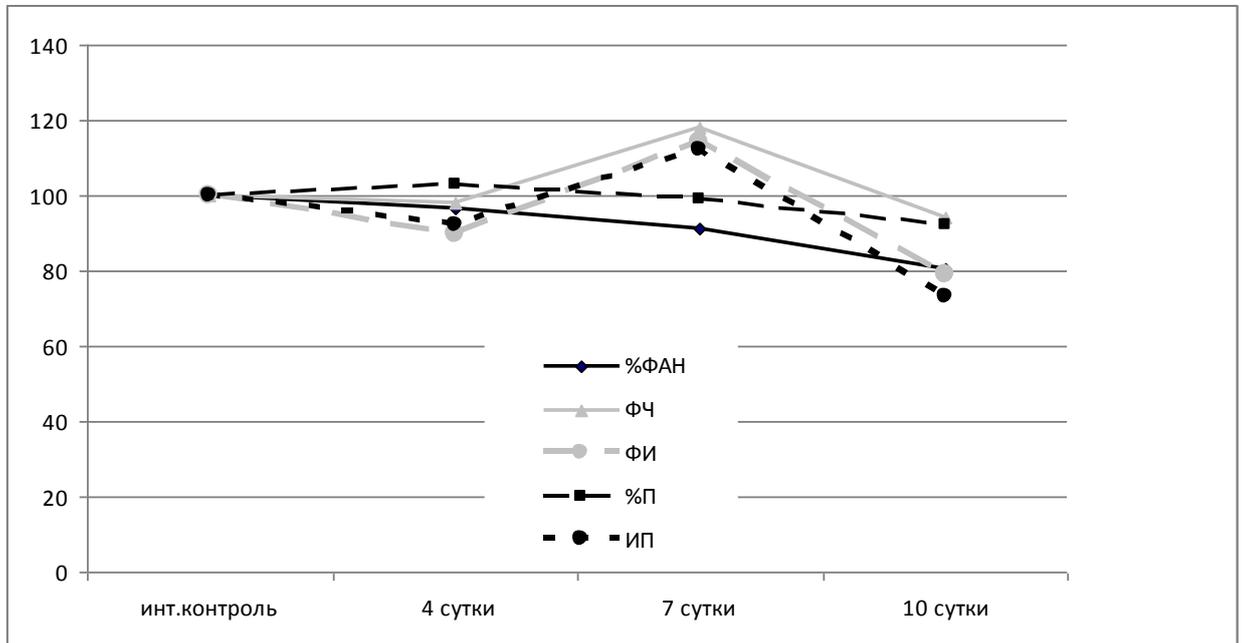


Рисунок 13. Характер изменения показателей фагоцитарной функции НГ крови крыс с самостоятельным заживлением экспериментальных послойных кожных ран в динамике наблюдения (в % от интактного контроля)

Исследованиями показано также, что нанесение экспериментальной кожной раны приводит не только к снижению числа активно-фагоцитирующих клеток, но и к угнетению их поглотительной способности, о чем свидетельствует снижение фагоцитарного индекса (ФИ), наиболее выраженное к 10-м суткам от начала эксперимента ($1,12 \pm 0,09$ против $1,42 \pm 0,14$ в интактном контроле) – таблица 7. Переваривающая способность фагоцитов в ранние сроки наблюдения не была подвержена достоверным изменениям, однако на 10-е сутки имела место выраженная тенденция к снижению индекса (ИП) и процента (%П) переваривания бактериального антигена относительно таковых у интактных крыс (таблица 7, рисунок 13).

При экспериментальной аппликации послойной кожной раны крыс пектиновыми пленками на основе свекловичного пектина с аминофталгидразидом (2 группа), относительное содержание активных фагоцитов периферической крови было достоверно более низким, чем в интактном контроле и у крыс 1 группы, однако в отличие от животных с самостоятельным заживлением ран (1 группа) в последующие сроки было значимое увеличение %ФАН. Наиболее значимым было сравнение абсолютного числа активных фагоцитов, демонстрирующее увеличение ФАН абс. на 7-е сутки в 1,13 раза, а на 10-е сутки - в 2 раза по сравнению с соответствующими сроками наблюдения у крыс с самостоятельным заживлением ран (таблица 7, рисунок 14).

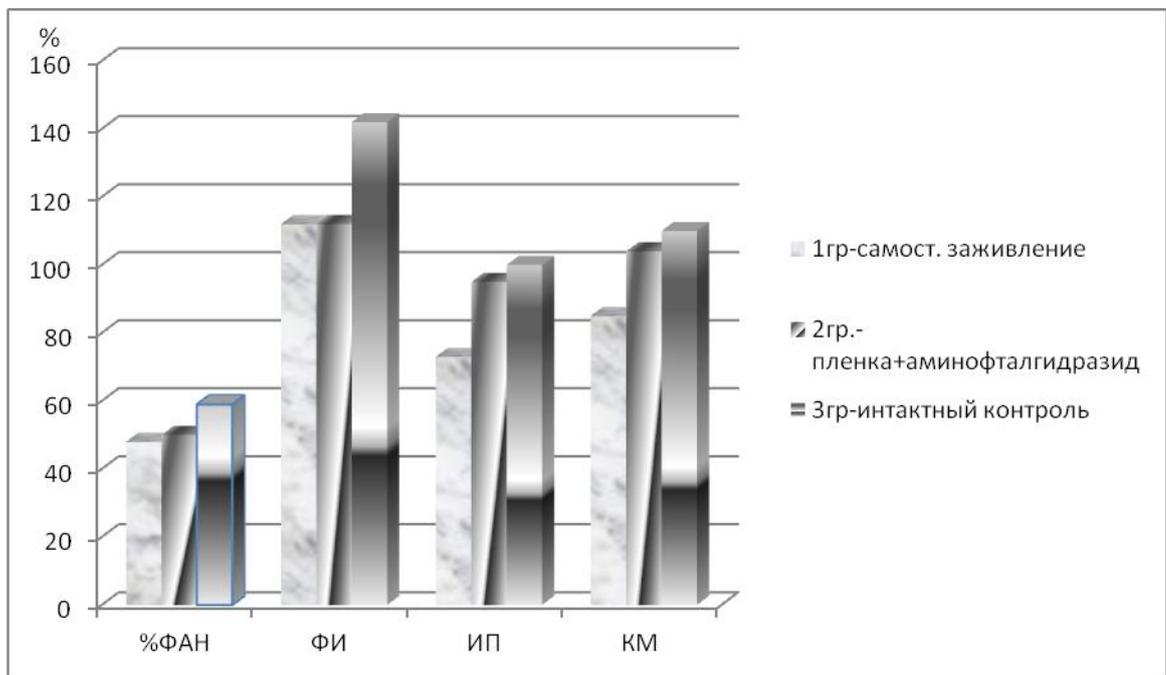


Рисунок 14. Характер изменения показателей фагоцитарной и микробицидной функции НГ крови крыс с различными способами заживления экспериментальных полнослойных кожных ран в поздние сроки (10 сутки)

Наряду с этим использование в лечении ран пектиновых пленок и иммуномодулятора позволило нивелировать депрессивные изменения поглотительной и переваривающей функции НГ на 10-е сутки наблюдения, а также нормализовать активность кислородзависимых микробицидных ферментов фагоцитов, как в спонтанных условиях, так и при дополнительной антигенной нагрузке *in vitro* (рисунок 14). Оценка кислородзависимого микробицидного

потенциала клеток по показателям спонтанного и стимулированного NBT - теста показала его угнетение у животных с самостоятельным заживлением экспериментальных ран кожи в самые ранние сроки наблюдения (на 4-е сутки). При этом имело место, наиболее выраженное снижение величины среднего цитохимического индекса (СЦИ) - в 3,3 раза, а также процентного содержания формазан-позитивных клеток (%ФПК) - в 1,2 раза. На 7-е сутки наблюдалась тенденция к увеличению СЦИ, тогда как %ФПК находился на уровне такового в самые ранние сроки. Однако к концу наблюдения было выявлено однонаправленное достоверное увеличение данных показателей относительно таковых у интактных животных: %ФПК - в 3,2 раза, а СЦИ - в 1,7 раза. Поскольку изучение данных показателей в условиях антигенной нагрузки *in vitro* (стимулированный NBT-тест) позволяет выявить скрытые нарушения оксидазной биоцидности клеток, интерес представляла их оценка при инкубации суспензии НГ цельной крови со *Staphylococcus aureus* (штамм 209) в системе *in vitro*. При этом выявлено, что в ранние сроки оценки ответ на антигенную нагрузку, оцениваемый по коэффициенту мобилизации (КМ), был достоверно более высоким, чем у интактных крыс, а в последующем он отчетливо снижался с минимумом на 10-й день наблюдения. В частности, в поздние сроки мониторинга величина КМ у крыс 1 группы составила $0,85 \pm 0,07$ против $1,10 \pm 0,09$ у контрольных интактных животных (таблица 8).

Таблица 8.

Изменение показателей микробицидной функции крыс с полнослойными кожными ранами и при использовании пектиновых пленок ($M \pm m, p$)

Группы	%ФПК _{сп}	%ФПК _{ст}	СЦИ _{сп}	СЦИ _{ст}	КМ
1 группа - самостоятельное заживление ран					
4-е сутки	$1,00 \pm 0,07$	$2,75 \pm 0,21^{* \#}$	$0,03 \pm 0,01^{*}$	$0,095 \pm 0,01$	$2,75 \pm 0,19^{* \#}$
7-е сутки	$1,00 \pm 0,05$	$1,40 \pm 0,09$	$0,07 \pm 0,02$	$0,114 \pm 0,02$	$1,40 \pm 0,12$
10-е сутки	$3,80 \pm 0,22^{* \#}$	$1,60 \pm 0,08$	$0,17 \pm 0,03^{*}$	$0,142 \pm 0,02$	$0,85 \pm 0,07^{*}$
2 группа – пектиновая пленка с аминофталгидразидом					
4-е сутки	$1,17 \pm 0,07$	$1,33 \pm 0,09$	$0,035 \pm 0,01^{*}$	$0,07 \pm 0,01$	$1,17 \pm 0,12$
7-е сутки	$1,25 \pm 0,10$	$2,75 \pm 0,25^{*}$	$0,03 \pm 0,02^{*}$	$0,14 \pm 0,02$	$2,13 \pm 0,18$
10-е сутки	$2,42 \pm 0,18^{* \#}$	$2,58 \pm 0,27^{*}$	$0,14 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,02$	$1,04 \pm 0,09$
3 группа - интактный контроль					
	$1,20 \pm 0,08$	$1,40 \pm 0,09$	$0,10 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,009$	$1,10 \pm 0,09$

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

Анализируя в целом полученные данные, следует заключить, что иммунодепрессивные изменения в системе НГ периферической крови крыс с экспериментальными послойными ранами кожи, максимально выраженные на 10-е сутки, при самостоятельном заживлении ран, создают 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 (10-е сутки).

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.

3.3. Оценка антиоксидантной активности пектиновых пленок при лечении полнослойных кожных ран в эксперименте

С целью оценки влияния местной антиоксидантной терапии на состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса и клиническое течение раневого процесса была произведена серия экспериментов, в которую включались пектиновые пленки. Первым этапом оценивалась антиоксидантная активность указанных раневых покрытий *in vitro* с использованием авторских тест-систем, вторым этапом – *in vivo* на экспериментальной модели полнослойной кожной раны.

3.3.1. Оценка АОА в экспериментальных моделях *in vitro*

Исследовались пленки 2-х видов: свекловичной без иммуномодулятора и свекловичной пектиновой пленки содержащей аминоталгидразид. В качестве препарата сравнения исследовалась мазь «Актовегин». Показатели антиокислительной активности (АОА), оцененные с помощью амперометрического способа на «Яуза-ААА-01», были следующие: «свекловичный пектин» - $0,37 \pm 0,02$ мг/л vit C, «пектин с аминоталгидразидом» - $1,28 \pm 0,06$ мг/л vit C, «актовегин» - $0,86 \pm 0,03$ мг/л vit C. Следует отметить, что препарат «пектин с аминоталгидразидом» превзошел АОА_{амп} препарата «актовегин» на 42% ($p < 0,05$).

Показатели АОА, оцененные с помощью хемилюминесцентного метода на хемилуминотестере ЛТ-01, были следующие: «свекловичный пектин» - $28,0 \pm 0,9$ %ing, «пектин с аминоталгидразидом» - $86,5 \pm 1,9$ %ing, «актовегин» - $77,2 \pm 1,3$ %ing. АОА_{хл} препарата «пектин с аминоталгидразидом» превосходит этот показатель препарата «актовегин» на 12% ($p < 0,05$).

Показатели АОА, оцененные в тест-системе с $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ индукцией и выраженные в убихиноновых единицах (Q-ЕД – отношение показателя препарата к показателю KoQ_{10}), были следующие: «свекловичный пектин» – $2,37 \pm 0,18$ Q-ЕД, «пектин с аминофталгидразидом» - $4,41 \pm 0,15$ Q-ЕД, «актовегин» - $3,94 \pm 0,21$ Q-ЕД. АОА_{H₂O₂} препарата «пектин с аминофталгидразидом» превосходит показатель препарата «актовегин» на 12% ($p > 0,05$).

Показатели АОА, оцененные в тест-системе с индукцией ультрафиолетовым облучением, были следующие: «свекловичный пектин» - $3,02 \pm 0,21$ Q-ЕД, «пектин свекловичный с аминофталгидразидом» - $5,03 \pm 0,27$ Q-ЕД, «актовегин» - $4,87 \pm 0,25$ Q-ЕД. АОА_{УФО} «пектина с аминофталгидразидом» практически не отличается от аналогичного показателя мази «актовегин» ($p > 0,05$) – таблица 9.

Наибольшая АОА по совокупности результатов выполненных методик выявлена у пектиновой пленки с аминофталгидразидом». АОА гидрофильной мази «Левомеколь» незначительна. Интересно, что «Актовегин» в тест-системе с индукцией ультрафиолетовым облучением опередил другие мази. Вероятно, это связано с тем, что длительная инкубация позволила действующему началу липофильной мази более полно преодолеть барьер раздела сред.

Таблица 9.

Показатели антиоксидантной активности пектиновых пленок

Группы	Амперометрическая АОА, мг/л аскорбиновой кислоты	Хемиллюминиметрическая АОА, % ингибирования	АОА с УФ-облучением, Q-единиц	АОА с H_2O_2 -индукцией, Q-единиц
свекловичный пектин	0,37 0,02* [^]	28,0 0,9* [^]	3,02 0,21* [^]	2,37 0,18* [^]
пектин с аминофталгидразидом	1,28 0,06*	86,5 1,9*	5,03 0,27	4,41 0,15
актовегин	0,86 0,03	77,2 1,3	4,87 0,25	3,94 0,21

* - статистически достоверное отличие от актовегина ($p < 0,05$).

[^] - статистически достоверное отличие от пектина с аминофталгидразидом ($p < 0,05$).

3.3.2. Оценка антиоксидантной активности пектиновых пленок, применяемых для местного лечения ран в экспериментальных моделях *in vivo*

Оценку АОА пектиновых пленок производили на модели полнослойной кожной раны у лабораторных крыс. Крысы были разделены на 3 группы: 1 группа - контрольная: лечение осуществлялось мазью «левомеколь», 2 и 3-я группы опытные – лечение проводилось пектиновыми свекловичными пленками без иммуномодулятора (2-я группа) и пектином свекловичным с аминофталгидразидом (3-я группа). Экссудат полнослойной кожной раны забирался на 3, 7, 10 и 14-е сутки от формирования раны. Об АОА применяемых пленок судили по изменению активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ), интенсивности хемилюминесценции, способности окисляться под воздействием постоянного электрического тока. АОА экссудата раны, измеренная амперометрическим методом (таблица 10), во 2-й группе (пектиновые пленки без иммуномодулятора) к 7 суткам характеризовалась статистически достоверным снижением в сравнении с контрольной группой и 3-й группой (пектин с аминофталгидразидом). Это служит отражением снижения напряженности оксидативных процессов в ране, отражает усиливающиеся репаративные процессы. Длительное сохранение высоких показателей антиокислительной активности в 3-й группе (пектин свекловичный с аминофталгидразидом) определяется высокими антиоксидантными свойствами действующего агента этой комбинации — аминофталгидразида. К 14 суткам наименьшая антиокислительная активность зафиксирована в 3-й группе (пектин с аминофталгидразидом), что характеризует переход в фазу регенерации.

Динамика максимума быстрой вспышки хемилюминесценции (БВХЛ) экссудата раны (таблица 10) во 2-й группе (свекловичный пектин без иммуномодулятора) характеризовалась монотонным снижением. Напротив, в 3-й группе (пектин с аминофталгидразидом) зарегистрирована двухфазная динамика: увеличение максимума быстрой вспышки хемилюминесценции на 2-е сутки

сменялось быстрой убылью, которая к 3 суткам вывела эту группу в лидеры по скорости и абсолютным значениям этого показателя. Различия между группой «контроль» и опытными группами имели статистическую значимость только на 2-е сутки. 3-я группа (пектин с аминофталгидразидом) имела статистически значимые различия со всеми группами со 2-х до 4-х суток

Таблица 10.

Динамика амперометрической антиокислительной активности раневого экссудата у животных различных групп в эксперименте (мг/л витамина С)

Временной интервал (сутки)	Пектиновая пленка без иммуно-модулятора 2 группа	Пектин с аминофталгидразидом 3 группа	Контрольная группа 1 группа
3-е	0.364 0.035	0.340 0.034	0.348 0.049
7-е	0.202 0.027*^	0.382 0.034^	0.382 0.034
10-е	0.140 0.025	0.160 0.029	0.182 0.026
14-е	0.064 0.022*	0.036 0.021^	0.108 0.033

* - 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, $p < 0,05$).

Таблица 11.

Динамика максимума быстрой вспышки раневого экссудата у животных различных групп в эксперименте (% ингибирования)

Временной интервал (сутки)	Пектиновая пленка без иммуно-модулятора 2 группа	Пектин с аминофталгидразидом 3 группа	Контрольная группа 1 группа
3-е	23.94 2.12	26.34 2.32	25.30 2.57
7-е	18.50 2.15*^	31.32 3.28^	26.10 2.14
10-е	15.42 2.31*	10.62 1.94^	16.98 3.38
14-е	10.68 2.45*	5.48 1.66^	13.28 2.43

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

Таблица 12.**Динамика активности каталазы раневого экссудата у животных различных групп в эксперименте (ед. акт.)**

Временной интервал (сутки)	Свекловичный пектин 2 группа	Пектин с аминофтал- гидразидом 3 группа	Контрольная группа 1 группа
3-е	0.0870 0.0231	0.0838 0.0133	0.0870 0.0272
7-е	0.1170 0.0135 [^]	0.1124 0.0125 [^]	0.1422 0.0079
10-е	0.1100 0.0121 ^{*^}	0.0868 0.0158 [^]	0.1588 0.0116
14-е	0.0850 0.0125	0.0566 0.0200	0.0784 0.0129

* - статистически значимые межгрупповые различия (критерий Вилкоксона, $p < 0,05$);

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

Активность КАТ экссудата (таблица 12) в опытных группах снижалась быстрее, чем в контрольной группе (статистически достоверно, $p < 0,05$). Наибольшая скорость снижения активности каталазы зафиксирована на 3-е сутки в 3-й группе (пектин свекловичный с аминофталгидразидом). Активность супероксиддисмутазы экссудата (таблица 13) имела двухфазную динамику во всех группах: рост этого показателя после 2-х суток сменялся снижением. Наименьший рост и наибольшая скорость последующего снижения отмечена в 3-й группе (пектин с аминофталгидразидом) ($p < 0,05$). С меньшей скоростью активность СОД снижалась во 2-й группе (свекловичный пектин без иммуномодулятора) ($p < 0,05$).

Таблица 13.

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

Временной интервал(сутки)	Свекловичный пектин 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 межгрупповые различия (критерий Вилкоксона, $p < 0,05$).

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

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 СОД в первые сутки раневого процесса, ускоряли ее снижение в дальнейшем, что в сочетании с умеренным снижением активности 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. Сам механизм их действия в большей степени можно охарактеризовать как непрямо́й — облегчение течения раневого процесса за счет сорбционной способности пектина.

По совокупности оцениваемых показателей АОА протестированных препаратов наибольшая оказалась у пектиновой пленки с аминофталгидразидом, что обусловлено наличием в ее составе вещества с высокой антиоксидантной

активностью - аминофталгидразида. Несколько меньшая антиокислительная активность отмечена у свекловичного пектина.

3.4. Моделирование ожоговых ран у лабораторных животных и оценка эффективности лечения ожогов при использовании пектиновых пленок с иммуномодулятором аминофталгидразидом

Изучив литературные источники, мы пришли к выводу, что наиболее распространен способ моделирования ожоговых ран на экспериментальных животных (лабораторных крысах) путем прикладывания к депилированной коже пробирки с горячей водой с температурой 100°C на 15 секунд (модель ожога Ша ст.) и на 30 секунд - ожоги Ш-б степени (Кочетыгов Н.И., 1964). Данный способ использовали А.Г. Карнович (2005), Ю.Ю. Суисси (2006). Недостаток данного способа заключается в том, что нельзя обеспечить одинаковую степень давления пробирки на кожу и площадь ожога при моделировании ожогов у всех лабораторных животных. Также известен способ моделирования ожоговой травмы сухим воздухом с температурой 500°C (Моновцов И.А., заявка на патент 2001127406/14, 08.10.2001). Данный способ отличается трудоемкостью, дороговизной и требует наличие сложной аппаратуры.

Нами разработан новый способ моделирования ожоговых ран. В своих исследованиях мы использовали для моделирования ожоговой раны латунный цилиндр площадью рабочей поверхности 706 мм², массой 300 гр., нагретый до 100°C в кипящей воде, а равномерность давления на всей площади контакта обеспечивается собственной силой тяжести, что представляет собой сохранение постоянной силы давления в месте контакта цилиндра с кожей. Металлический (латунный) цилиндр массой 300 гр. с рабочей контактной поверхностью площадью 706 мм² помещали в сосуд с кипящей водой на 5 минут. За это время рабочая температура на контактной поверхности цилиндра достигает 100°C. Температура окружающей среды во всех опытах равна 22°C и благодаря большой теплоемкости латуни (0,377 кДж/кгхК) температура латунного цилиндра

изменялась незначительно. После нагрева цилиндр извлекался из сосуда, удалялись остатки воды, и прикладывался своей рабочей поверхностью к депилированной коже лабораторного животного с силой давления 3 Ньютона на 15 секунд (ожог ША ст.) и на 30 секунд (модель ожога ШБ ст.). Преимущество данного способа является его простота, универсальность и одинаковая сила давления в месте контакта на ткани во всех сериях эксперимента.

В ходе проведенных исследований было выявлено, что в первые часы после воздействия горячего цилиндра на кожу в месте контакта формировался струп белесоватого цвета. Корочка была тонкой, достаточно мягкой, чтобы собрать ее в складку. На следующий день отмечалось утолщение и уплотнение ожогового струпа. На 5-е сутки у животных 1-й группы (без лечения) появлялись единичные очаги кровоизлияний на поверхности струпа. У животных 2-й и 3-й группы цвет струпа менялся от белесовато-желтого до красно-коричневого. В первые трое суток после ожога животные 1-й группы (без лечения) были малоподвижны, сидели в углу клетки, не принимали пищу, что вероятно связано с последствием воздействия ожоговой травмы или проявлением ожоговой болезни. Лишь спустя 3 суток отмечалась двигательная активность, и восстанавливался аппетит. У животных двух других групп данные изменения в поведении проходили в течение суток. С первых суток после нанесения ожогов животным 2-й группы (контрольной) ежедневно на ожоговый струп наносили мазь «левомеколь», 3-й группе (опытной) – пектиновые пленки, 1-я группа животных оставалась без лечения. У всех групп животных начало отторжения струпа происходило примерно в один и тот же срок – на $13,8 \pm 0,39$ день (рисунок 15).



Рисунок 15. Начало отторжения ожогового струпа

Установили, что благодаря мази «левомеколь» у животных 2-й группы струп находился в более влажном состоянии. У опытной группы фиксированная к поверхности струпа пектиновая пленка существенного влияния на его свойства не оказывала.

Несмотря на использование различных лекарственных средств (мази и раневого покрытия), окончательное отторжение струпа у всех групп животных также проходило примерно в одни и те же сроки – на 16-е сутки. Вид отторгнувшегося струпа представлен на рисунке 16.

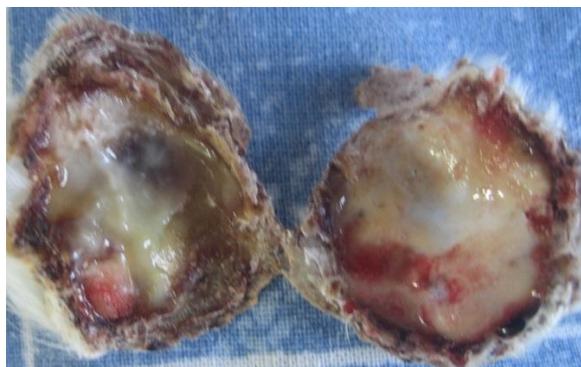


Рисунок 16. Вид струпа после отторжения (внутренняя поверхность струпа).

После отторжения струпа открывалась раневая мокнущая поверхность (рисунок 17).



Рисунок 17. Раневая поверхность после отторжения ожогового струпа.

У животных 1-й группы рана сохранялась в таком виде в течение 3-6-ти суток, а с 6-х суток отмечалось уменьшение размеров дефекта за счет краевой эпителизации (в случае ожога IIIА ст.) или раневой контракции (ожог IIIБ ст.).

У животных, которым на рану накладывали мазь «левомеколь», воспалительных изменений со стороны раны не наблюдалось. Рана после снятия повязки была покрыта серозной корочкой, при удалении которой обнажалась мокнущая раневая поверхность. Таким образом, рана оставалась во влажном состоянии, эпителизация начиналась с $5,80 \pm 0,20$ суток и завершалась на 40-е сутки.

У животных опытной группы (лечение которым проводилось пектиновыми пленками с аминофталгидразидом) отмечалось достоверным более ранние сроки начала эпителизации – $4,90 \pm 0,35$ суток и окончательного заживления раневого дефекта в сравнении с контрольной группой (таблица 14).

Таблица 14.

Отторжение струпа, эпителизация и заживление ожоговых ран у животных по группам в динамике.

Изменения по суткам наблюдения	Группы		
	I-без лечения ($M \pm m, p$) (n=10)	II-левомеколь (контроль) ($M \pm m, p$) (n=10)	III-пленки ($M \pm m, p$) (n=10)
Начало отторжения струпа	$13,6 \pm 0,16$	$13,8 \pm 0,39$	$13,8 \pm 0,33$
Окончательное отторжение	$16,6 \pm 0,31$	$16,1 \pm 0,46$	$16,2 \pm 0,36$

струпа						
Начало эпителизации	6,40±0,31 [#]		5,80±0,20		4,90±0,35 ^{*#} p<0,05	
Степень ожога	Ша	Шб	Ша	Шб	Ша	Шб
Заживление раны	40,80±0,79 [#]	41,50±0,79	40,20±0,74	40,70±0,86	26,45±1,93 ^{*#} p<0,001	30,73±1,29 ^{*#} # p<0,001

Примечание: * достоверность отличий от контроля (p<0,05;p<0,001), # достоверность межгрупповых отличий (p<0,05)

При визуальном осмотре пленка плотно фиксирована к ране, сухая на ощупь, при приподнимании ее за край пинцетом обнажалась влажная, без признаков воспаления розовая раневая поверхность (рисунок 18).



Рисунок 18. Вид ожоговой раны с плотно фиксированной пектиновой пленкой на 10-е сутки лечения.

При оставлении пленки на ране происходит постепенное ее истончение и биodeградация по мере эпителизации раневого дефекта. Пленка в виде тонкой темно-коричневого цвета корочки выстилает весь периметр раны, сохраняя под собой влажную среду ожогового дефекта (рисунке 19).



Рисунок 19. Состояние пектиновой пленки по мере заживления раны.

К 20 - 25-м суткам наблюдения рана в 10 раз уменьшалась в размерах от исходной и принимала продолговатую форму (рисунок 20), окончательное заживление ран у животных 3-й группы происходило на 30-е сутки. Раны принимали продолговатую форму с последующей эпителизацией и образованием еле заметного рубца.



Рисунок 20. Вид раны на 25 сутки лечения пектиновой пленкой (ожог IIIA ст.)

В ходе проведенного эксперимента были определены сроки заживления ожоговых ран, представленных на рисунках 21 и 22. Как видно из представленных ниже графиков, 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.

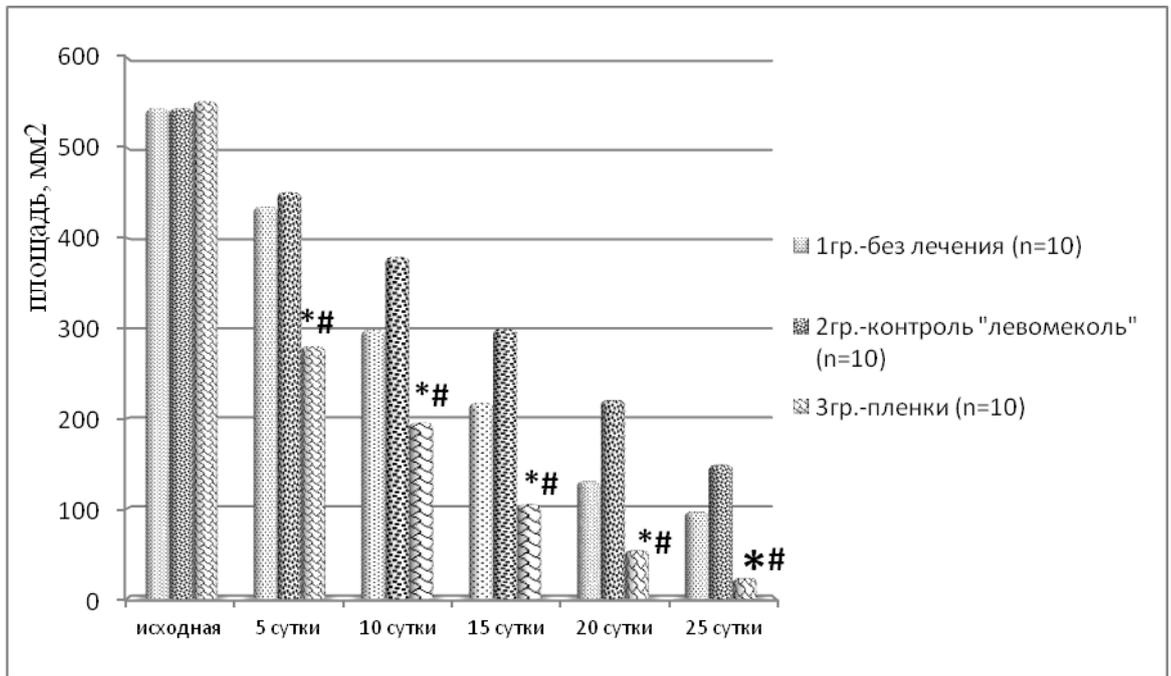


Рисунок 21. Динамика изменения площади ожоговых ран IIIa ст. (мм²)

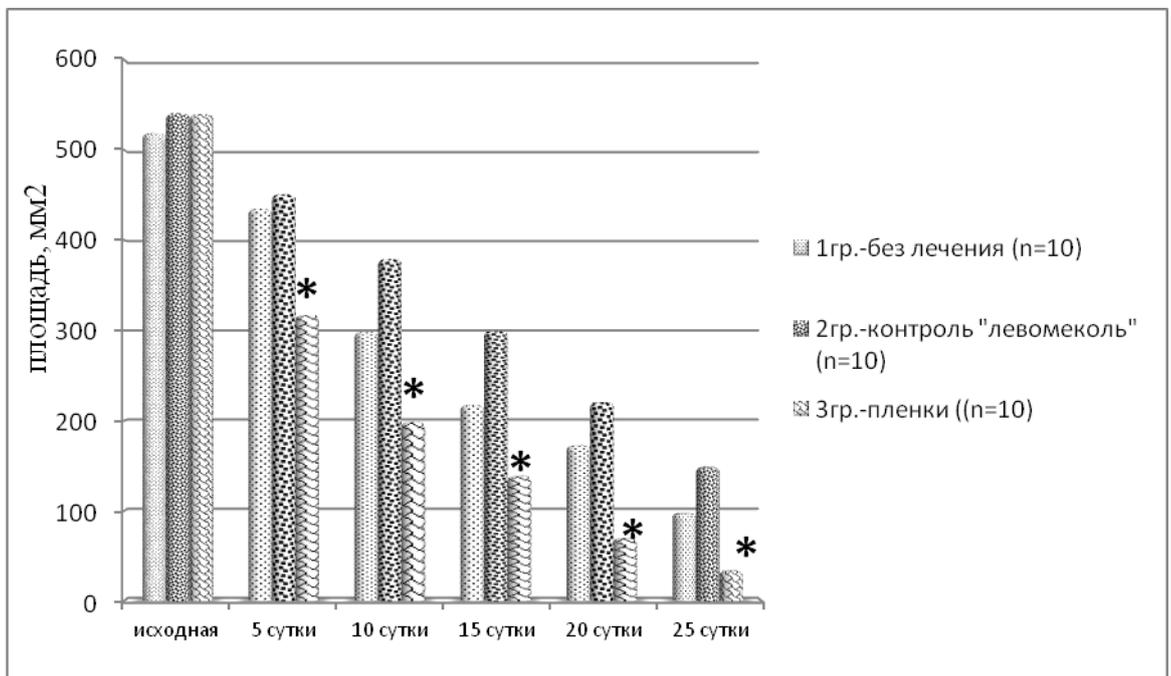


Рисунок 22. Динамика изменения площади ожоговых ран IIIб ст. (мм²)

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

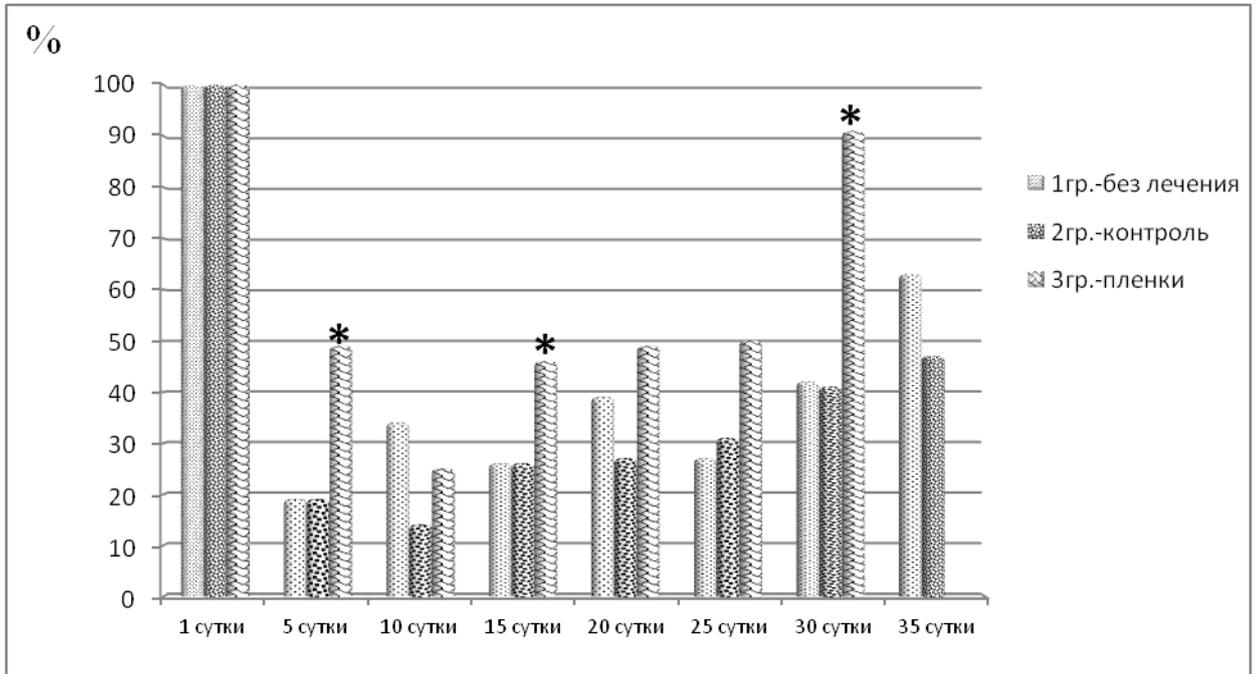


Рисунок 23. Скорость заживления ожоговых ран IIIа ст. (%) к исходному

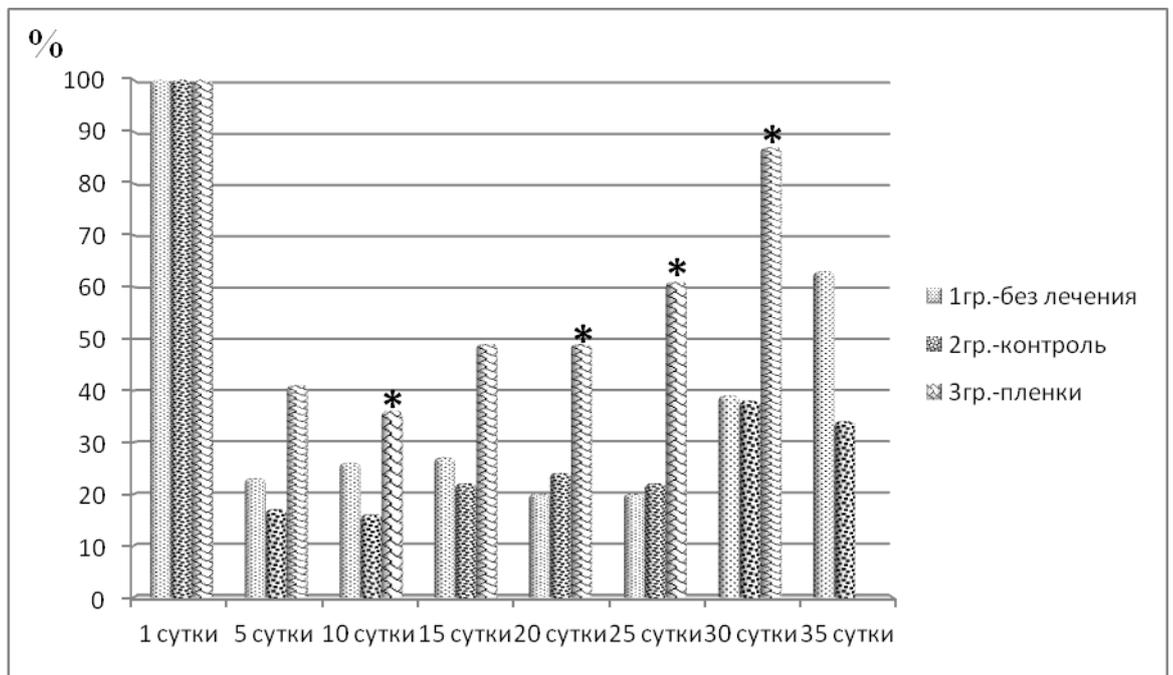


Рисунок 24. Скорость заживления ожоговых ран IIIб ст (%) к исходному

Примечание: * достоверность отличий от контроля ($p < 0,001$; $p < 0,05$), # достоверность межгрупповых отличий ($p < 0,001$; $p < 0,01$)

Анализируя скорость заживления ожоговых ран у животных различных групп обращает на себя внимание достоверное увеличение скорости на 5, 15 и 30-е сутки с достижением максимума к 30-м суткам наблюдения (рисунок 23, 24).

Следует заметить, что увеличение скорости более демонстративно в отношении ожоговых ран IIIб ст., что по нашему мнению связано больше не с краевой эпителизацией, а с раневой контракцией.

3.5.Резюме

В данной главе произведена оценка заживления полнослойных кожных и ожоговых ран в эксперименте при лечении пектиновыми пленками без действующего лекарственного агента и пленками с аминофталгидразидом, показана иммунологическая эффективность и АОА пектиновых пленок с аминофталгидразидом.

Результаты планиметрических исследований динамики заживления полнослойных кожных ран показали, что при использовании пектиновых пленок с аминофталгидразидом уменьшению площади ран в сравнении с животными контрольной группы происходит с 1-х суток. Статистически достоверное сокращение площади полнослойных кожных ран в сравнении с контролем начинается с 4-х суток у пленки с аминофталгидразидом и с 7-х суток у пленки без иммуномодулятора. Заживление ран при использовании пектиновой пленки с иммуномодулятором в сравнении с пленкой без действующего агента происходило на 3 суток быстрее.

Сравнивая скорость заживления ожоговых ран у животных различных групп было замечено достоверное увеличение скорости на 5, 15 и 30-е сутки с достижением максимума к 30-му дню наблюдения при использовании пленки с аминофталгидразидом.

В ходе иммунологических исследований было выявлено, что свекловичные пектиновые пленки, ассоциированные с аминофталгидразидом, стимулируют показатели фагоцитарной и микробицидной функции НГ. Установлено, что данные раневые покрытия сохраняют показатели активности фагоцитарной и микробицидной функции НГ в пределах нормы интактных крыс даже в поздние сроки наблюдения (на 10-14-е сутки).

Замечено, что пектиновые пленки с аминофталгидразидом оказывают благоприятное комплексное действие на показатели пооксидантно-антиоксидантного баланса раневого экссудата у лабораторных животных. В частности вышеназванные РП замедляют рост активности СОД, снижают активность каталазы, что, очевидно связано с сорбционной способностью пектина и действием иммуномодулятора аминофталгидразида.

Таким образом, в данной главе показано комплексное действие пектиновых пленок с аминофталгидразидом на течение раневого процесса в ране.

ГЛАВА 4.

ДИНАМИКА МОРФОЦИТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАНЕВОГО ЭКССУДАТА ОЖГОВОЙ РАНЫ КРЫС В ПРОЦЕССЕ ИХ ЛЕЧЕНИЯ ПЕКТИНОВОЙ ПЛЕНКОЙ С АМИНОФТАЛГИДРАЗИДОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Проблема течения раневого процесса остается по-прежнему актуальной, не смотря на многочисленные исследования в этой области, проведенные в последнее время. Одним из важных его элементов является экссудация. Клеточный состав экссудата и цитохимическая характеристика его компонентов являются интегральным отображением динамики воспалительного процесса и могут быть использованы для контроля за его течением. Не менее важным критерием для оценки тяжести раневого процесса является состояние микробицидных систем периферической крови в частности ее неспецифического звена в виде системы НГ, которые мигрируя в ткани, принимают непосредственное участие в “килинге” бактерий, а также выполняют сложные регуляторные функции на клеточном и тканевом уровне. Значимость данной проблемы существенно возрастает в условиях лечения ран мягких тканей различной локализации, что, в ряде случаев, объясняется топографической близостью ран к жизненно-важным органам, многообразием вариантов кровоснабжения, а также тяжестью возможных осложнений раневого процесса.

4.1. Цитологическая оценка местного течения раневого процесса экспериментальных ожоговых ран при лечении мазью «левомеколь» и лечении с использованием пектиновых пленок с аминофталгидрази́дом

Исследование мазков экссудата, полученного с поверхности ожоговых ран на 1-е сутки после отторжения струпа показало, что в его составе присутствует большое количество полинуклеаров (рисунок 25).

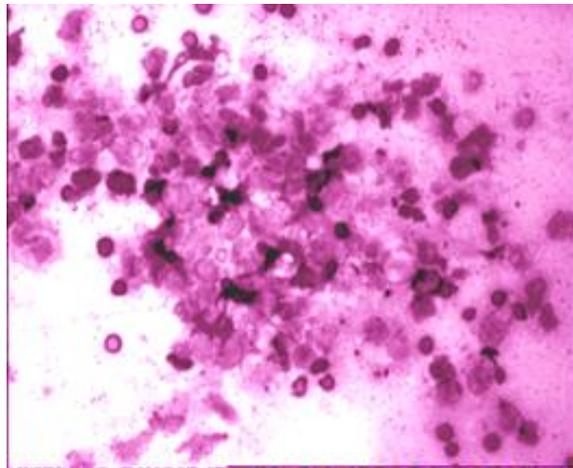


Рисунок 25. Цитологическая картина раневого отделяемого ожоговых ран мягких тканей спины крыс через 1 сутки после создания экспериментальной ожоговой раны (мазь «левомеколь»). Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 200х).

Количество мононуклеаров меньше приблизительно в 2-2,5 раза. Среди мононуклеаров преобладают типичные лимфоциты. Встречаются макрофаги, эпителиоидные клетки, плазмциты и единичные фибробластоподобные клетки. Следует отметить, наличие в ряде мазков значительного количества типичных эозинофилов. Экссудат богат эритроцитами. Визуальных различий в картине мазков экссудата, полученного от опытной и контрольной группы экспериментальных животных, обнаружено не было. Статистически значимых различий по содержанию полинуклеаров и мононуклеаров не выявлено. При подсчете количества клеточных форм в полях зрения микроскопа были установлены некоторые различия между обследованными группами лабораторных животных (таблица 15), свидетельствующие о некотором увеличении доли полинуклеаров в составе клеток экссудата, полученного от животных, у которых в качестве лечебного средства использовали пектиновые

пленки с аминофталгидразидом (рисунок 26) , однако это увеличение не было статистически достоверным ($P>0,05$). Прирост количества мононуклеаров также был статистически не достоверен. Следует отметить, что общее количество клеток (не считая эритроцитов) в мазке экссудата из ран, леченных с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом, было в среднем на 20% больше, чем в контроле, причем данный прирост был статистически значим ($P<0,05$).

Таблица 15.

Некоторые цитологические показатели раневого экссудата в условиях применения пектиновых пленок с аминофталгидразидом

СРОКИ ИССЛЕДОВАНИЯ		Количество полинуклеаров	Количество мононуклеаров	Суммарное количество клеток в экссудате
1-е сутки после начала эксперимента	Контроль	135±11	56±5	220±12
	Лечение пектиновыми пленками с аминофталгидразидом	158±12 $P>0,05$	62±6 $P>0,05$	265±11* $P<0,05$
3-е сутки после начала эксперимента	Контроль	129±12	35±6	191±18
	Лечение пектиновыми пленками с аминофталгидразидом	165±11* $P<0,05$	58±6* $P<0,05$	251±12** $P<0,01$
7-е сутки после начала эксперимента	Контроль	14±2	21±4	61±6
	Лечение пектиновыми пленками с аминофталгидразидом	4±2** $p<0,001$	8±1** $P<0,01$	29±3** $P<0,001$
14-е сутки после начала эксперимента	Контроль	2±0,3	5±2	21±2
	Лечение пектиновыми пленками с аминофталгидразидом	Клеток недостаточно для статистической обработки		

Примечание. 1. Р-достоверность отличия от контроля

2. Суммарное количество клеточных форм экссудата включает в себя мононуклеары, полинуклеары, а также другие клетки (эозинофилы, моноциты, макрофаги и т.п.), обнаруженные в нем.

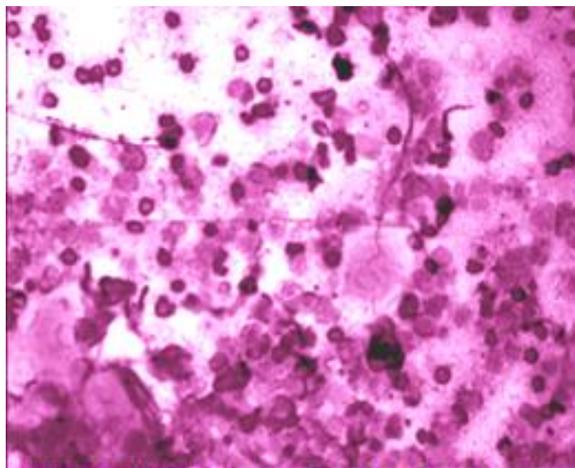


Рисунок 26. Цитологическая картина раневого отделяемого ран мягких тканей спины крыс через 1 сутки после создания экспериментальной ожоговой раны (лечение с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом. Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 200х).

На 3-е сутки после начала эксперимента цитологическая картина мазка экссудата практически осталась прежней по отношению к наблюдаемой на 1-е сутки от начала эксперимента, однако количественные показатели претерпели существенные изменения.

В контрольной группе суммарное число клеток в поле зрения снизилось на 29%, количество полинуклеаров и мононуклеаров снизилось на 6 и 21% соответственно.

При использовании в качестве лечебного средства пектиновых пленок с аминофталгидразидом в экссудате были обнаружены существенные отличия в сравнении с контрольной группой в пределах данного срока исследования. В основной группе по сравнению с предыдущим сроком исследования количество полинуклеаров увеличилось на 7%, содержание мононуклеаров стало меньше на 4 %, общее число клеток снизилось на 14%. По сравнению с контролем различия были весьма существенны и статистически значимы (таблица 15). Количество полинуклеаров увеличилось на 30%, число мононуклеаров возросло на 2%,

общее число клеток в поле зрения микроскопа стало больше в среднем на 31%. (рисунок 27, 28).

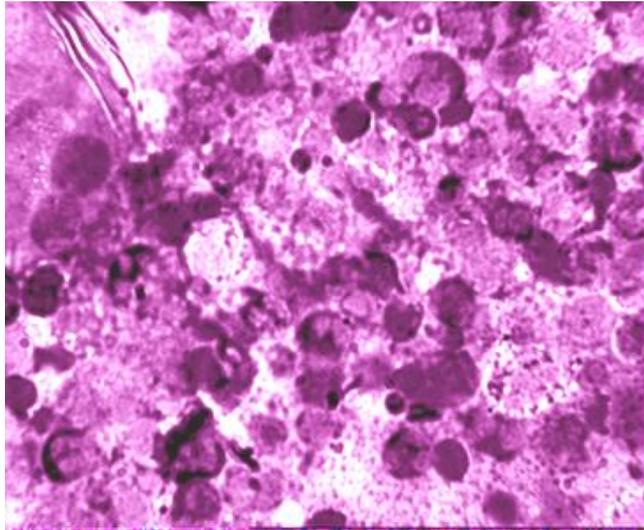


Рисунок 27. Цитологическая картина раневого отделяемого ран мягких тканей спины крыс через 3-е суток после создания экспериментальной ожоговой раны (мазь «левомеколь»). Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 630х).

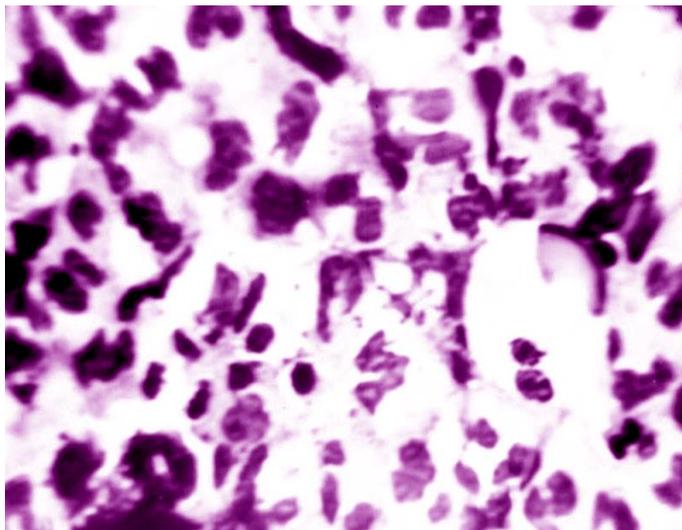


Рисунок 28. Цитологическая картина раневого отделяемого ран мягких тканей спины крыс через 3-е суток после создания экспериментальной ожоговой раны (лечение с использованием пектиновых пленок, с аминофтальгидразидом. Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 630х).

На 7-е сутки после начала эксперимента цитологическая картина мазка экссудата претерпела серьезные изменения по сравнению с выявленной на

предыдущем сроке исследования. В мазках, полученных от всех исследованных групп лабораторных животных, отмечено резкое снижение общего числа клеток, как гематогенного, так и гистиогенного происхождения (рисунок 29).

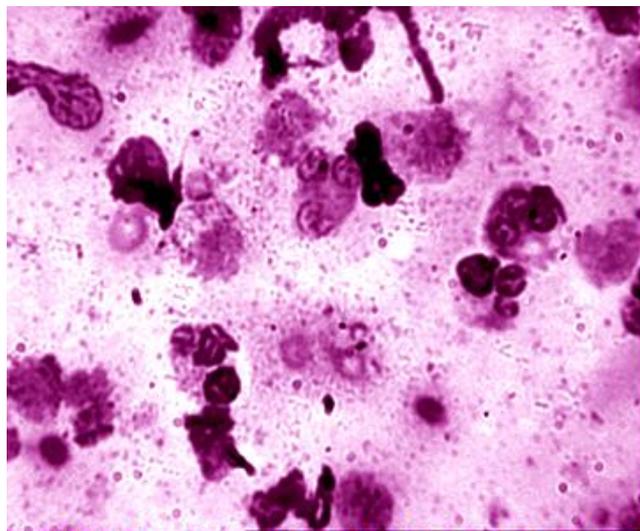


Рисунок 29. Цитологическая картина раневого отделяемого ран мягких тканей спины крыс через 7 суток после создания экспериментальной ожоговой раны (мазь «левомеколь». Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 630х).

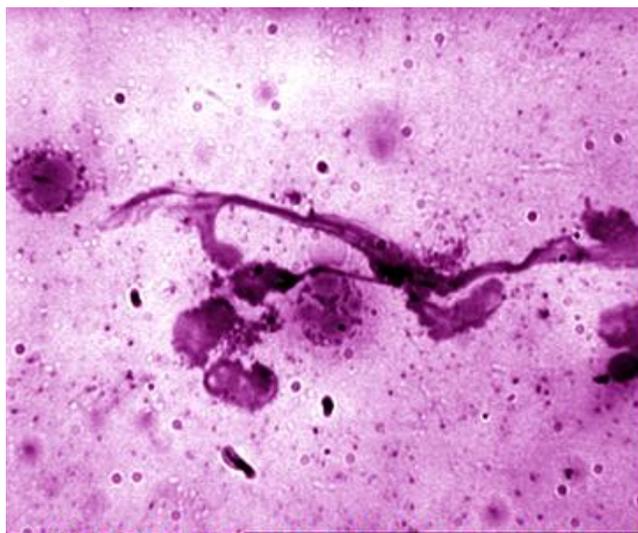


Рисунок 30. Цитологическая картина раневого отделяемого ран мягких тканей спины крыс через 7 суток после создания экспериментальной ожоговой раны (лечение с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом. Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 630х).

Так в контрольной группе количество мононуклеаров уменьшилось на 35%. Аналогичные и еще более явные изменения претерпела цитологическая картина экссудата ран, подвергшихся терапии с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом (рисунок 30).

На 14-е сутки после начала лечения визуальная цитологическая картина в мазках раневого отделяемого животных контрольной группы характеризовалась бедностью клеточных форм. Наблюдаемые клетки отличались сильными дегенеративными изменениями, касающимися их морфологических структур. Большинство клеток имели нарушения внешней оболочки, ядра сильно фрагментированы, цитоплазма вакуолизирована. В основном в экссудате присутствовали клетки гематогенного происхождения - поли- и мононуклеары (рисунок 31). Следует отметить, что морфологическая идентификация клеток сильно была затруднена ввиду их дегенеративных изменений. Общее количество клеток, определяемых в мазках, незначительно. В мазках раневого отделяемого крыс основной группы наблюдались лишь единичные клетки. Их число было недостаточно для проведения статистической обработки.

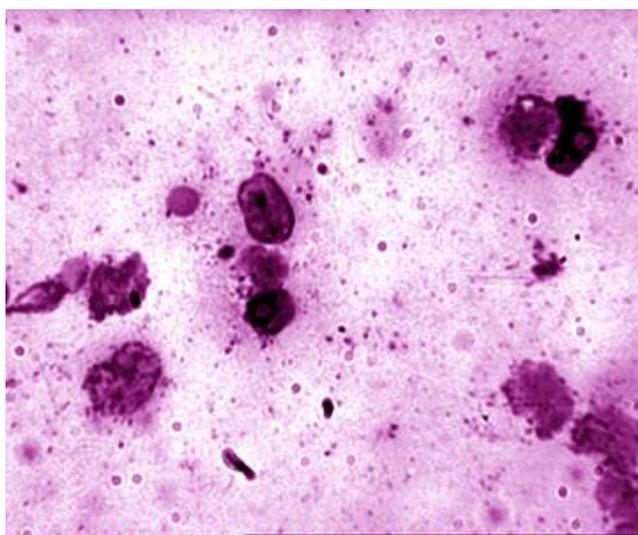


Рисунок 31. Цитологическая картина раневого отделяемого ран мягких тканей спины крыс через 14 суток после создания экспериментальной ожоговой раны (мазь «левомеколь»). Окраска по Май-Грюнвальду. Ув. 630х).

Динамика содержания полинуклеаров и мононуклеаров, а также общего количества клеток в составе экссудата ожоговых ран на протяжении всех дней проведенного эксперимента представлена на рисунках 32, 33, 34



Рисунок 32. Динамика содержания (в расчете на одно поле зрения) полинуклеаров в составе экссудата ран мягких тканей спины лабораторных животных. (I-1-е сутки, II-3-и сутки, III- 7-е сутки , IV- 14-е сутки; ПШаА - пектиновые пленки, ассоциированные с аминофталгидразидом).

Г

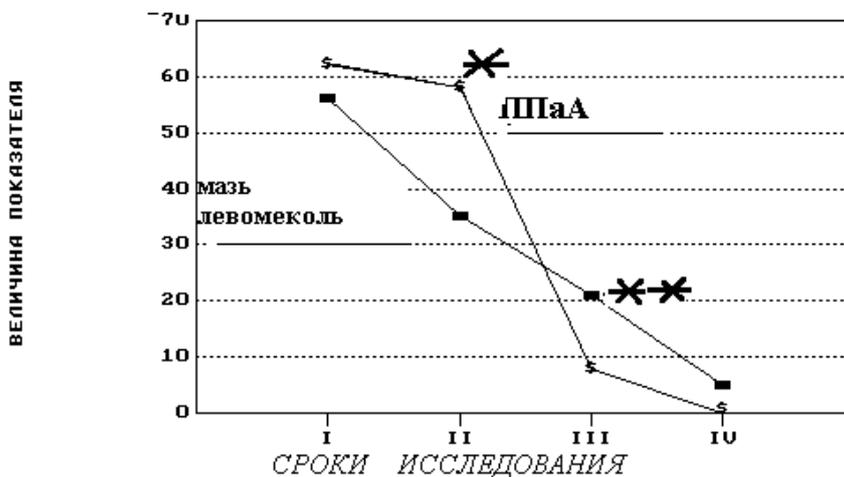


Рисунок 33. Динамика содержания (в расчете на одно поле зрения) мононуклеаров в составе экссудата ран мягких тканей спины лабораторного животного (I-1-е сутки, II-3-и сутки, III- 7-е сутки , IV- 14-е сутки; ПШаГ - пектиновые пленки, ассоциированные с аминофталгидразидом).

Примечание: * - достоверность отличий от контроля ($p < 0,05$); ** - $p < 0,001$

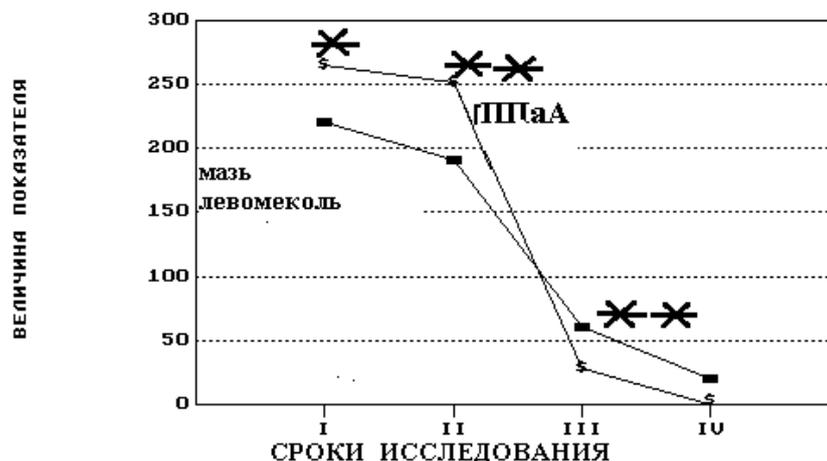


Рисунок 34. Динамика общего количества клеток (в расчете на одно поле зрения) в составе экссудата ран мягких тканей спины крыс. (I-1-е сутки, II-3-и сутки, III- 7-е сутки, IV- 14-е сутки; ППаА- пектиновые пленки ассоциированные с аминофталгидразидом).

Примечание: * - достоверность отличий от контроля ($p < 0,05$); ** - $p < 0,001$

4.2. Динамика содержания катионного белка НГ периферической крови и экссудата экспериментальной ожоговой раны при лечении мазью «левомеколь» и лечения с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом

Исследование содержания катионного белка (КБ) в цитоплазме нейтрофильных гранулоцитов периферической крови крыс контрольной группы показало, что оно колеблется в от 2,04 до 2,4 усл. ед. составляя в среднем $2,22 \pm 0,18$ усл. ед.

Содержание КБ в НГ периферической крови крыс с экспериментальной ожоговой раной мягких тканей спины через 1 сутки от начала эксперимента было несколько снижено по сравнению с аналогичными данными характерными для животных контрольной группы. Оно составило в контрольной группе животных $1,87 \pm 0,13$ усл. ед. и $1,78 \pm 0,14$ усл. ед. у лабораторных животных опытной группы. Следует отметить, что эти показатели не имели статистически значимых отличий,

как между собой, так и по сравнению с нейтрофильными гранулоцитами лабораторных животных контрольной группы ($P > 0,05$).

Через 3-е суток после начала эксперимента, содержание КБ у лабораторных животных без лечения составило 87% от исходного уровня и 71% от уровня контрольной группы (лечение мазью «левомеколь»), при этом отличие от контроля являлось статистически значимым ($P < 0,01$). Снижение содержания КБ было более существенным у крыс опытной группы. Так по сравнению с контролем его содержание составило 42 % ($P < 0,001$), а по сравнению с исходным уровнем его количество снизилось до 72% ($P < 0,01$).

На 7-е сутки от начала эксперимента у животных контрольной группы содержание КБ нейтрофилов периферической крови практически вернулось к исходному уровню и составило $1,79 \pm 0,16$ усл. ед. У животных опытной группы содержание КБ нейтрофилов продолжало оставаться пониженным, как относительно контрольной группы, так и относительно исходного уровня, хотя и несколько возросло относительно предыдущего срока исследования (таблица 16, рисунок 35).

На 14-е сутки после начала эксперимента наблюдалось продолжение роста содержания КБ нейтрофильных гранулоцитов периферической крови, которое при традиционном лечении практически достигло уровня контроля, а при использовании пектиновых пленок с аминофтальгидразидом оставалось лишь незначительно сниженным (таблица 16, рисунок 32).

Аналогичное исследование, проведенное в отношении НГ раневого экссудата показало, что на 1-е сутки от начала эксперимента содержание КБ нейтрофильных лейкоцитов лабораторных животных, получавших традиционное лечение составило $1,66 \pm 0,14$ усл. ед., к концу 3-х суток после начала эксперимента оно незначительно снизилось до уровня $1,51 \pm 0,14$ усл. ед., а к 7-м суткам оказалось на уровне $1,33 \pm 0,13$ усл. ед. Отсутствие достаточного числа НГ в экссудате, полученном из операционной раны на 14-е сутки от начала

эксперимента не позволило проследить дальнейшую динамику содержания КБ. У животных получавших лечение с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом, содержание КБ на 1-е сутки от начала эксперимента составило $1,46 \pm 0,12$ усл. ед, к 3-м суткам оно достоверно снизилось ($P < 0,05$) до уровня $1,11 \pm 0,12$ усл. ед., к 7-м суткам от начала эксперимента содержание КБ практически не изменилось. (таблица 16 и рисунки 35, 36).

Таблица 16.

Динамика содержания катионного белка в цитоплазме НГ крови и экссудата крыс с экспериментальной ожоговой раной мягких тканей спины при лечении мазью «левомеколь» и лечении с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом.

Сроки исследования	1-е сутки после начала эксперимента	3-е сутки после начала эксперимента	7-е сутки после начала эксперимента	14-е сутки после начала эксперимента
Контроль (кровь)	$2,22 \pm 0,18$	$2,22 \pm 0,18$	$2,22 \pm 0,18$	$2,22 \pm 0,18$
Традиционное лечение левомеколь (кровь)	$1,87 \pm 0,13$ P1>0,05	$1,57 \pm 0,17$ P1>0,05 P3>0,05	$1,78 \pm 0,16$ P1>0,05 P3>0,05	$2,31 \pm 0,22$ P1>0,05 P3>0,05
Лечение с использованием ППАА (кровь)	$1,78 \pm 0,14$ P1>0,05	$1,29 \pm 0,11$ P1<0,001 P<0,01	$1,56 \pm 0,14$ P1<0,01 P3>0,05	$1,98 \pm 0,19$ P1>0,05 P3>0,05
Традиционное лечение (экссудат)	$1,66 \pm 0,14$	$1,41 \pm 0,14$ P3>0,05	$1,33 \pm 0,13$ P3>0,05	Клеток недостаточно для статобработки
Лечение с использованием ППАА (экссудат)	$1,46 \pm 0,12$ P2>0,05	$1,11 \pm 0,07$ P2<0,05 P3<0,05	$1,19 \pm 0,09$ P2>0,05 P3>0,05	Клеток недостаточно для статобработки

Примечание.

ППАА - пектиновые пленки ассоциированные с аминофталгидразидом

P1 - различие между показателями НГ крови животных без лечения и животных контрольной группы.

P2 - различие между показателями НГ экссудата при традиционном лечении (левомеколь) и лечении с использованием ППАА (в пределах одного срока исследования)

P3 - различие показателей нейтрофильных гранулоцитов крови и экссудата от аналогичных показателей, полученных в предыдущий срок исследования

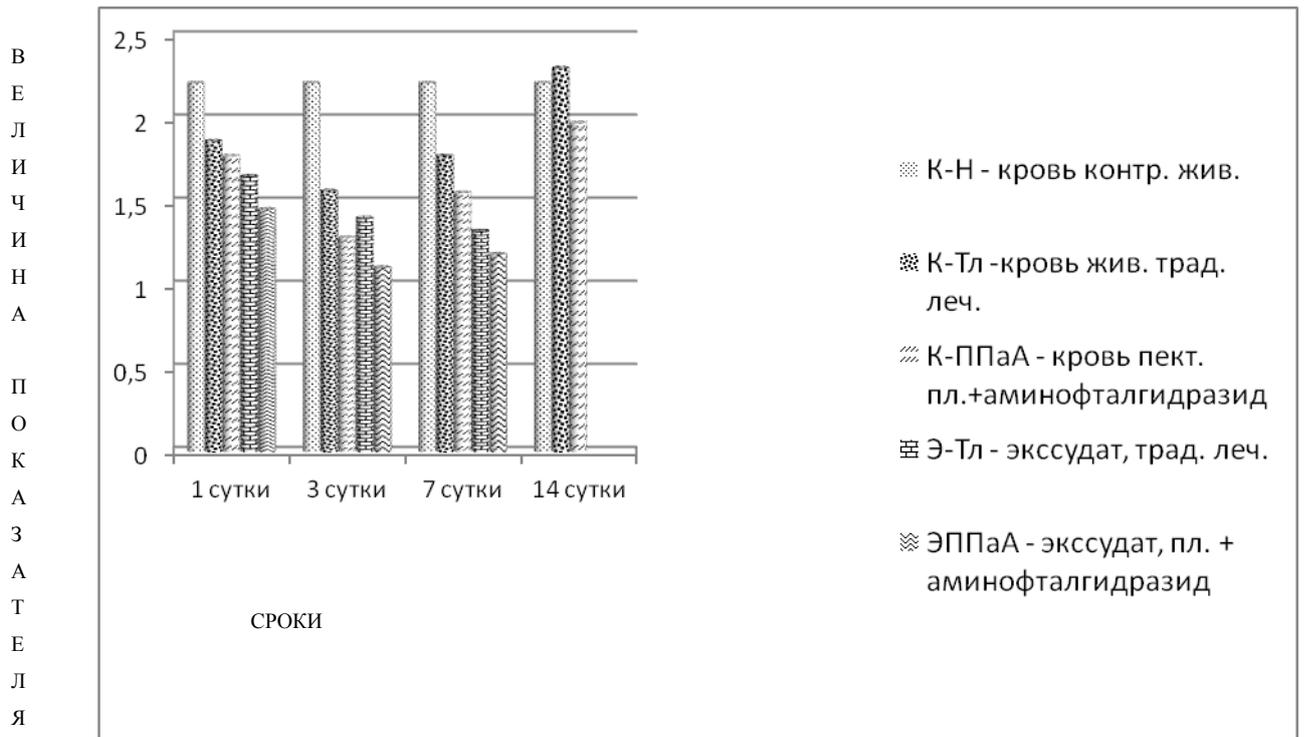


Рисунок 35. Динамика содержания КБ в цитоплазме НГ крови и экссудата крыс с экспериментальной ожоговой раной мягких тканей спины в условиях традиционного лечения и лечения с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом (К-Н – кровь животных без лечения, К-ТЛ - кровь лабораторных животных при традиционном лечении (левомеколь), К-ППаА - кровь лабораторных животных при лечении с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом, Э-ТЛ – экссудат при традиционном лечении (левомеколь), Э-ППаА – экссудат при лечении с использованием пектиновых пленок ассоциированных с аминофталгидразидом).

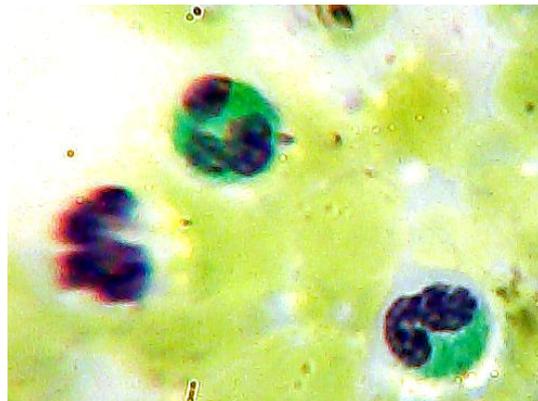


Рисунок 36. Типичная картина распределения КБ в цитоплазме НГ в составе экссудата. Окраска по Пигаревскому В.М. (Ув.1000х)

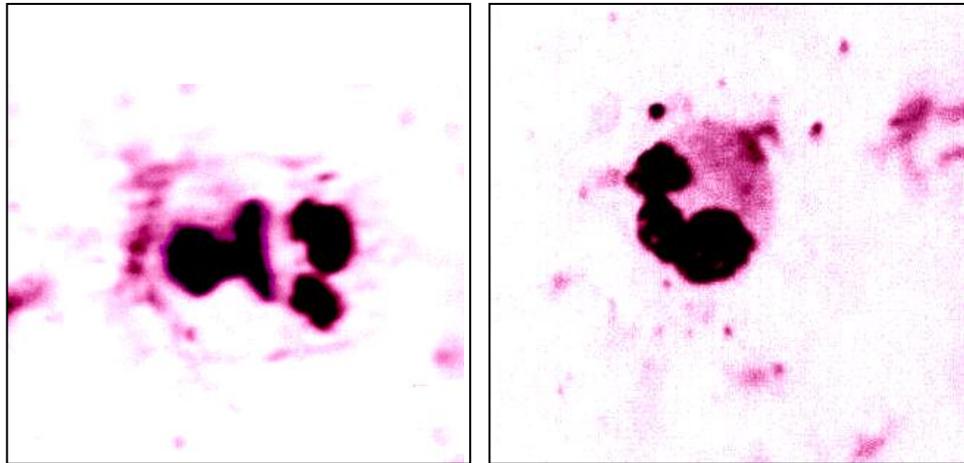
4.3. Динамика содержания ШИК-положительных веществ (гликогена) НГ периферической крови и экссудата при лечении мазью «левомеколь» и лечении с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом

Анализ содержания ШИК-положительных веществ в цитоплазме НГ лабораторных животных без лечения показал, что оно колеблется от 3,1 до 2,39 усл. ед. составляя в среднем $2,7 \pm 0,31$ усл. ед. Аналогичные результаты получены у животных контрольной группы, раны которых обрабатывались мазью «левомеколь», на 1-е сутки от начала эксперимента составили в среднем $2,4 \pm 0,11$ усл. ед. У животных опытной группы показатель составил $2,3 \pm 0,12$ усл. ед. В обоих случаях статистически значимое отличие от аналогичных показателей крови животных контрольной группы отсутствовало ($P > 0,05$). Содержание ШИК-положительных веществ (гликогена) в цитоплазме НГ, полученных из раневого отделяемого на первые сутки от начала эксперимента, было существенно снижено по отношению к аналогичным показателям нейтрофилов крови и составляло для животных контрольной группы $1,8 \pm 0,08$ усл. ед. и $1,6 \pm 0,07$ усл. ед. для животных опытной группы.

Через 3-е суток после начала эксперимента в НГ крови животных без лечения отмечалось существенное снижение содержания ШИК-положительных веществ (гликогена), которое у животных контрольной группы достигло уровня $1,7 \pm 0,09$ усл. ед., а в группе получавших лечение с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом $1,3 \pm 0,13$ усл. ед. В обоих случаях данное снижение было статистически значимо ($P < 0,001$). Аналогичные процессы наблюдались и у нейтрофилов, полученных из экссудата, в цитоплазме которых содержание ШИК-положительных веществ (гликогена) соответственно равнялось $1,5 \pm 0,007$ усл. ед. и $1,2 \pm 0,08$ усл. ед. (таблица 17).

Начиная с 7-х суток эксперимента в цитоплазме НГ экспериментальных животных был зарегистрирован постепенный рост содержания ШИК -

положительных веществ, который, практически достиг уровня контроля к 14-м суткам. Нейтрофилы экссудата также обнаружили тенденцию к увеличению содержания ШИК - положительных компонентов цитоплазмы (Рисунок 37, 38, таблица 17).



А

Б

Рисунок 37. Типичная картина распределения ШИК-положительных веществ в цитоплазме НГ в составе экссудата (А) и периферической крови (Б). Окраска по Мас Манус. (Ув.1000х)

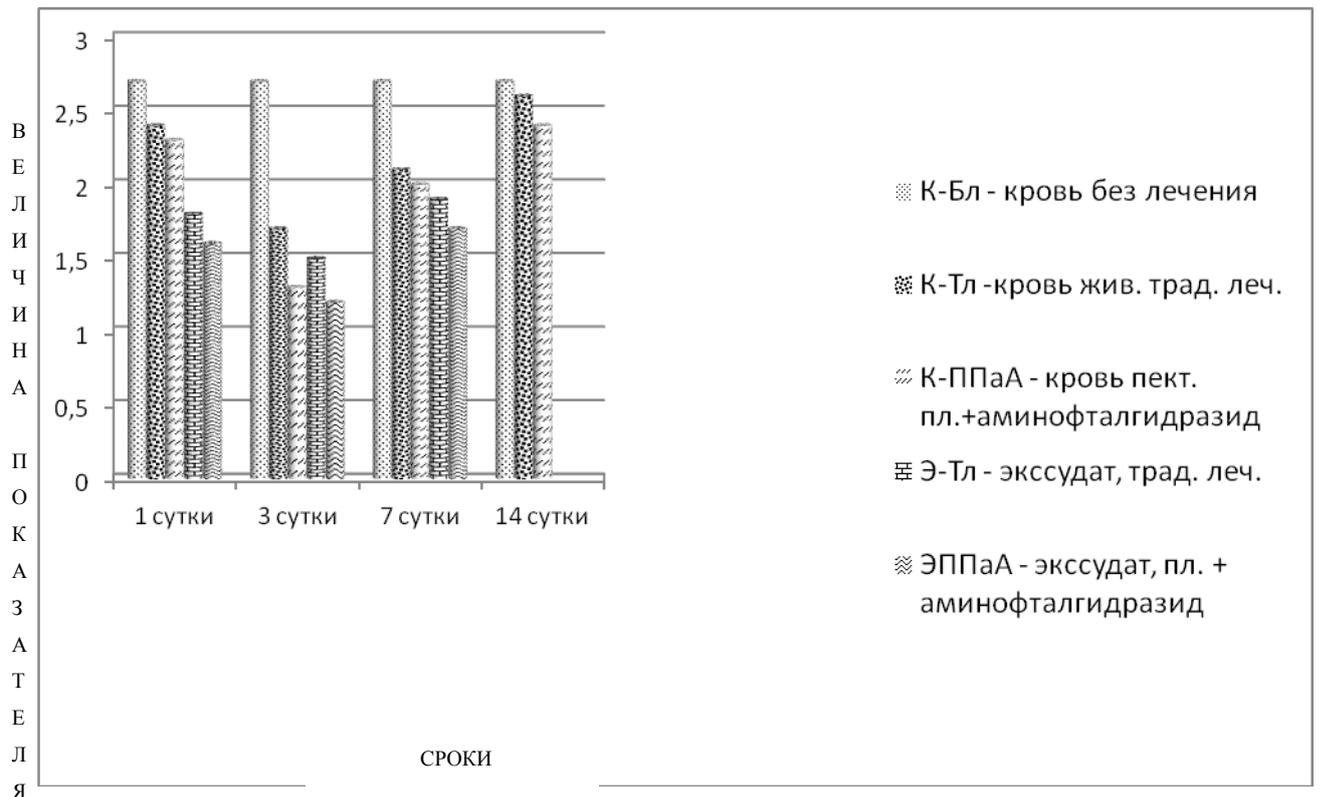


Рисунок 38. Динамика содержания ШИК-положительных веществ в цитоплазме НГ крови и экссудата крыс с экспериментальной ожоговой раной мягких тканей спины в условиях традиционного лечения и лечения с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом (К-БЛ – кровь животных без лечения, К-ТЛ - кровь лабораторных животных при традиционном лечении - левомеколь, К-ППаА - кровь лабораторных животных при лечении с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом, Э-ТЛ – экссудат при традиционном лечении - левомеколь, Э-ППаА – экссудат при лечении с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом).

Таблица 17.

Содержание ШИК-положительных веществ в НГ периферической крови и экссудата крыс с экспериментальной ожоговой раной мягких тканей спины при лечении мазью «левомеколь» и лечении с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом.

СРОКИ ИССЛЕДОВАНИЯ	1-е сутки после начала эксперимента	3-е сутки после начала эксперимента	7-е сутки после начала эксперимента	14-е сутки после начала эксперимента
Контроль (кровь)	2,7±0,31	2,7±0,31	2,7±0,31	2,7±0,31
Традиционное лечение- левомеколь (кровь)	2,4±0,11 P1>0,05	1,7±0,09 P1<0,01 P3<0,001	2,1±0,22 P1>0,05 P3>0,05	2,6±0,35 P1>0,05 P3>0,05
Лечение с использованием ППаА (кровь)	2,3±0,12 P1>0,05	1,3±0,13 P1<0,001 P3<0,001	2,0±0,14 P1<0,05 P3<0,001	2,4±0,21 P1>0,05 P3>0,05
Традиционное лечение- левомеколь (экссудат)	1,8±0,08	1,50±0,07 P3<0,01	1,9±0,09 P3<0,001	Клеток недостаточно для статобработки
Лечение с использованием ППаА (экссудат)	1,6±0,07 P2>0,05	1,2±0,08 P2<0,01 P3<0,001	1,7±0,08 P2>0,05 P3<0,001	Клеток недостаточно для статобработки

Примечание.

ППаА - пектиновые пленки, ассоциированные с аминофталгидразидом

P1 - различие между показателями НГ крови животных без лечения и животных контрольной группы.

P2 - различие между показателями НГ экссудата при традиционном лечении (левомеколь) и лечении с использованием ППаА (в пределах одного срока исследования)

P3 - различие показателей НГ крови и экссудата от аналогичных показателей полученных в предыдущий срок исследования

4.4. Динамика активности миелопероксидазы НГ периферической крови и экссудата при лечении мазью «левомеколь» и лечении с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом

Анализ уровня активности миелопероксидазы НГ группы крыс без лечения показал, что она колеблется от 1,9 усл. ед. до 2,26 усл. ед. составляя в среднем $2,03 \pm 0,13$ усл. ед. В цитоплазме НГ лабораторных животных контрольной группы на 1-е сутки эксперимента средняя активность миелопероксидазы составляла $2,45 \pm 0,19$ усл. ед., что на 21% превышало аналогичные значения, характерные для животных, не получавших лечения. Следует отметить, что данное увеличение не являлось статистически значимым ($P > 0,05$). В опытной группе уровень активности миелопероксидазы НГ на первые сутки от начала эксперимента практически не отличался от животных контрольной группы, и составлял в среднем $2,22 \pm 0,15$ усл. ед. ($P > 0,05$).

Через 3-е суток лечения раны, у интактных животных (без лечения) активность миелопероксидазы снизилась на 18% по отношению к уровню активности данного фермента, характерного для животных контрольной группы и на 31% по отношению к исходному уровню. В обоих случаях данное снижение являлось статистически значимым ($P < 0,05$ и $P < 0,001$ соответственно). Животные опытной группы обнаружили аналогичную динамику активности миелопероксидазы НГ. Ее уровень снизился на 24% по отношению к контролю и на 31% по отношению к исходному уровню ($P < 0,01$ и $P < 0,001$ соответственно). В дальнейшем в обеих группах животных наблюдался постепенный рост активности миелопероксидазы нейтрофильных лейкоцитов, который к 7-м суткам

эксперимента достиг значений практически не отличающихся от значений характерных для животных контрольной группы (таблица 18, рисунок 27, 28).

НГ эксудата в обеих группах лабораторных животных обнаружили динамику активности миелопероксидазы, характеризующуюся тенденцией к постепенному снижению при весьма низком ее исходном уровне (таблица 18, рисунок 39, 40). Следует отметить, что статистически значимых различий в активности миелопероксидазы НГ эксудата, как между животными, находящимися в эксперименте, так и между сроками исследования, зарегистрировано не было.

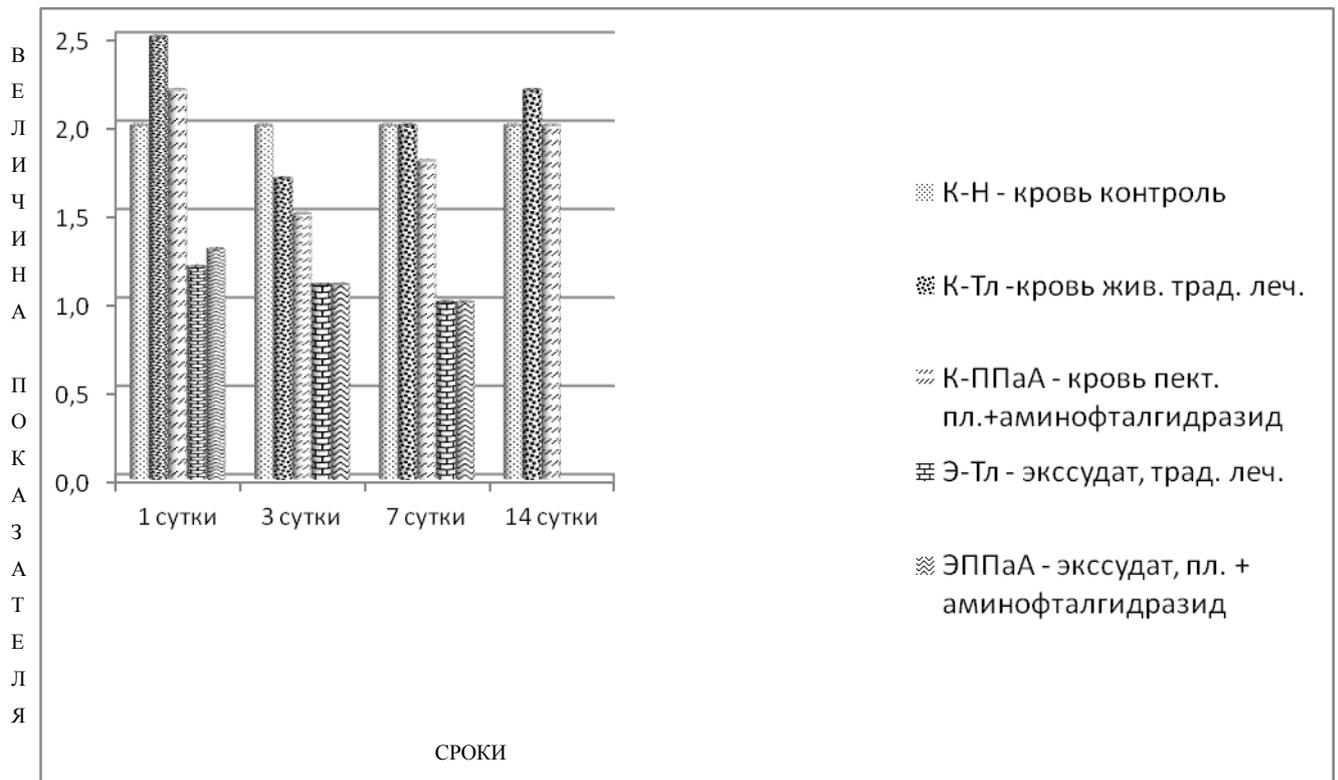


Рисунок 39. Динамика активности миелопероксидазы в цитоплазме НГ крови и эксудата крыс с экспериментальной ожоговой раной мягких тканей спины в условиях традиционного лечения и лечения с применением пектиновых пленок с аминафталгидразидом (К-БЛ – кровь животных без лечения, К-ТЛ - кровь лабораторных животных при традиционном лечении-левомеколь, К-ППаА - кровь лабораторных животных при лечении с использованием пектиновых пленок ассоциированных с аминафталгидразидом, Э-ТЛ – эксудат при традиционном лечении - левомеколь, Э-ППаА – эксудат при лечении с использованием пектиновых пленок ассоциированных с аминафталгидразидом).

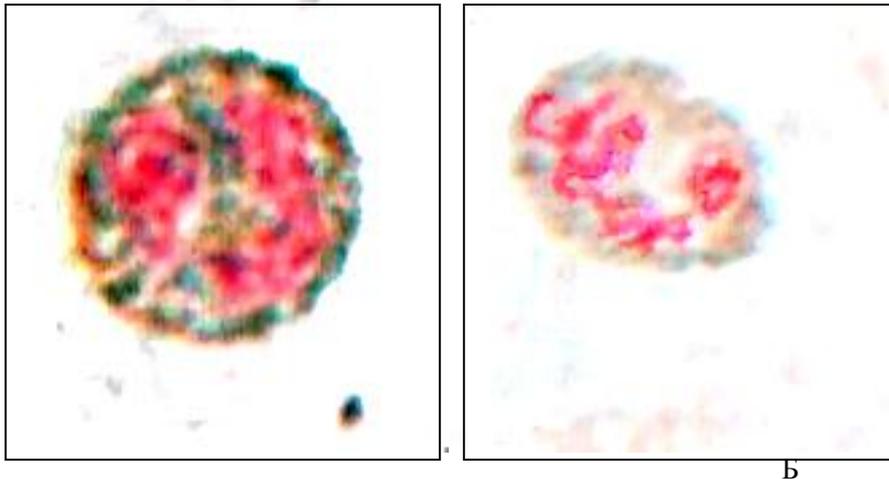


Рисунок 40. Типичная картина активности миелопероксидазы в цитоплазме НГ периферической крови (А) и в составе экссудата (Б). Окраска по Сато и Секла. (Ув.1000х)

Таблица 18.

Активность миелопероксидазы в НГ периферической крови и экссудата крыс с экспериментальной ожоговой раной мягких тканей спины при лечении мазью «левомеколь» и лечении с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом.

СРОКИ ИССЛЕДОВАНИЯ	1-е сутки после начала эксперимента	3-е сутки после начала эксперимента	7-е сутки после начала эксперимента	14-е сутки после начала эксперимента
Контроль (кровь)	2,03±0,13	2,03±0,13	2,03±0,13	2,03±0,13
Традиционное лечение- левомеколь (кровь)	2,45±0,19 P1>0,05	1,68±0,11 P1<0,05 P3<0,001	1,98±0,09 P1>0,05 P3<0,05	2,21±0,19 P1>0,05 P3>0,05
Лечение с использованием ППаА (кровь)	2,22±0,15 P1>0,05	1,54±0,09 P1<0,01 P3<0,001	1,78±0,14 P1>0,05 P3>0,05	1,99±0,12 P1>0,05 P3>0,05
Традиционное лечение- левомеколь (экссудат)	1,21±0,08	1,11±0,09 P3>0,05	1,01±0,06 P3>0,05	Клеток недостаточно для статобработки
Лечение с использованием ППаА (экссудат)	1,31±0,07 P2>0,05	1,13±0,07 P2>0,05 P3>0,05	1,09±0,05 P2>0,05 P3>0,05	Клеток недостаточно для статобработки

Примечание. ППаА - пектиновые пленки ассоциированные с аминофталгидразидом

P1 - различие между показателями НГ крови животных без лечения и животных контрольной группы.

P2 - различие между показателями НГ экссудата при традиционном лечении (левомеколь) и лечении с использованием ППаА (в пределах одного срока исследования)

P3 - различие показателей НГ крови и экссудата от аналогичных показателей, полученных в предыдущий срок исследования

4.5. Динамика оптической плотности ядер НГ периферической крови и экссудата, окрашенных по Фельгену на ДНК, при лечении мазью «левомеколь» и лечении с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом

Анализ оптической плотности ядер НГ крови крыс без лечения показал, что она составляет в среднем $0,35 \pm 0,002$ усл. ед. Аналогичные данные, зарегистрированы для ядер НГ лабораторных животных контрольной группы, на 1-е сутки от начала эксперимента оптическая плотность ядер составляла $0,45 \pm 0,001$ усл. ед. В условиях терапии с использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом данный показатель имел сходные параметры и составлял $0,41 \pm 0,001$ усл. ед. В обоих случаях данное повышение уровня оптической плотности ядер НГ было статистически значимо ($P < 0,001$). Ядра НГ экссудата у тех же животных, как при лечении мазью «левомеколь», так и при использовании в качестве терапевтического средства пектиновых пленок с аминофталгидразидом, обнаружили еще большую оптическую плотность. Она соответственно составила $0,54 \pm 0,002$ и $0,64 \pm 0,001$ усл. ед. Это увеличение было статистически значимо, как относительно аналогичных показателей крови, так и между собой ($P < 0,001$).

Через 3-е суток после начала эксперимента, у крыс контрольной группы оптическая плотность ядер НГ как крови, так и экссудата, увеличилась на 47 и 50% соответственно ($P < 0,001$). У животных опытной группы уровень прироста оптической плотности был еще значительно больше - 90% и 36%.

На 7-е сутки эксперимента во всех изученных группах было зарегистрировано снижения уровня оптической плотности ядер НГ, которое, однако, не достигло исходного уровня (за исключением нейтрофилов крыс опытной группы) - таблица 19, рисунок 41, 42.

На 14-е сутки после начала эксперимента продолжалось снижение уровня оптической плотности ядер НГ крови у животных без лечения. При этом у животных контрольной группы она опустилась ниже исходного уровня и практически достигла уровня характерного для интактного контроля (таблица 19, рисунок 41, 42). Исследовать данный показатель в ядрах НГ экссудата не представилось возможным в виду недостаточного количества клеток в его составе.

Таблица 19.

Динамика оптической плотности ядер НГ крови и экссудата крыс с экспериментальной ожоговой раной мягких тканей спины в условиях традиционного и лечения с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом.

СРОКИ ИССЛЕДОВАНИЯ	1-е сутки после начала эксперимента	3-е сутки после начала эксперимента	7-е сутки после начала эксперимента	14-е сутки после начала эксперимента
Контроль (кровь)	0,35±0,002	0,35±0,002	0,35±0,002	0,35±0,002
Традиционное лечение- левомеколь (кровь)	0,45±0,001 P1<0,001	0,66±0,002 P1<0,001 P3<0,001	0,51±0,003 P1<0,001 P3<0,001	0,32±0,002 P1<0,001 P3<0,001
Лечение с использованием ППаА (кровь)	0,41±0,001 P1<0,001	0,78±0,001 P1<0,001 P3<0,001	0,67±0,002 P1<0,001 P3<0,001	0,51±0,001 P1<0,001 P3<0,001
Традиционное лечение- левомеколь (экссудат)	0,54±0,002	0,81±0,003 P3<0,001	0,56±0,001 P3<0,001	Клеток недостаточно для статобработки
Лечение с использованием ППаА (экссудат)	0,64±0,001 P2<0,001	0,87±0,02 P2<0,01 P3<0,001	0,43±0,002 P2<0,001 P3<0,001	Клеток недостаточно для статобработки

Примечание. ППаА - пектиновые пленки, ассоциированные с аминофталгидразидом

P1 - различие между показателями НГ крови животных без лечения и животных контрольной группы.

P2 - различие между показателями НГ экссудата при традиционном лечении (левомеколь) и лечении с использованием ППаА (в пределах одного срока исследования)

P3 - различие показателей НГ крови и экссудата от аналогичных показателей полученных в предыдущий срок исследования

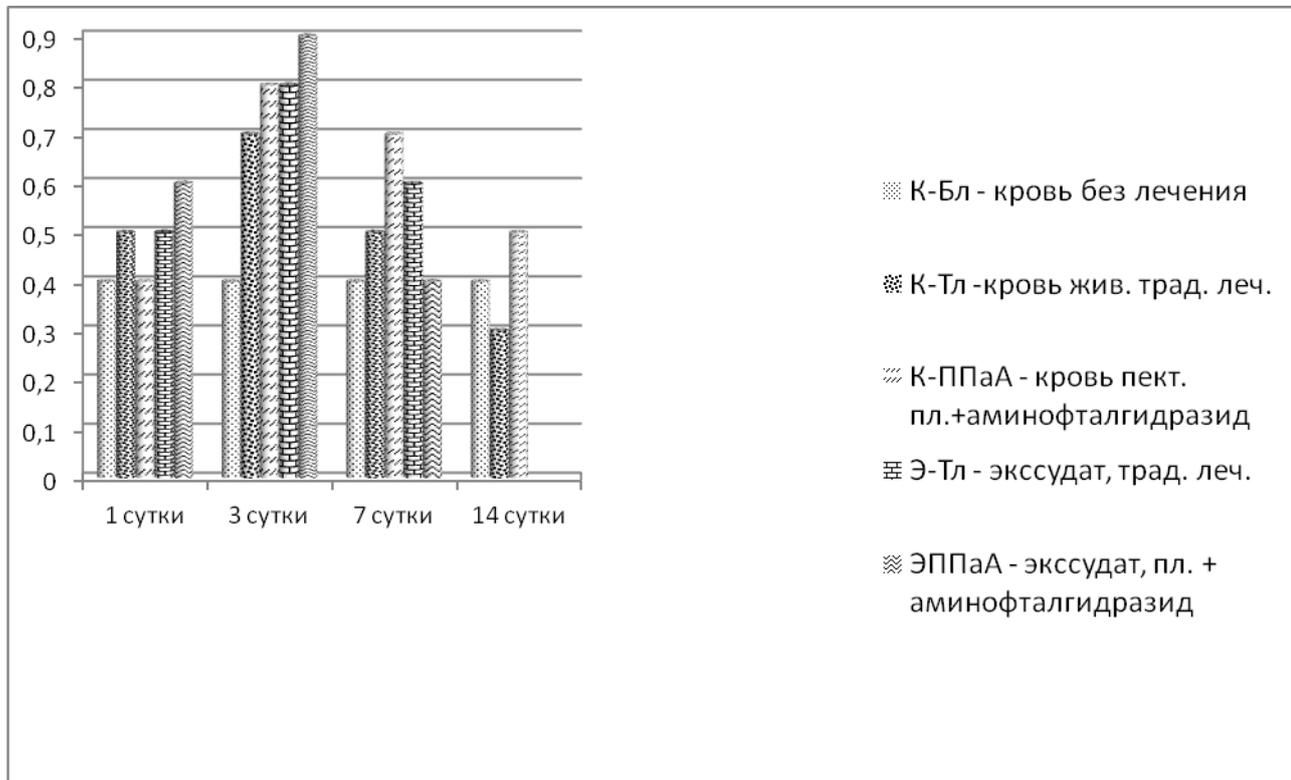
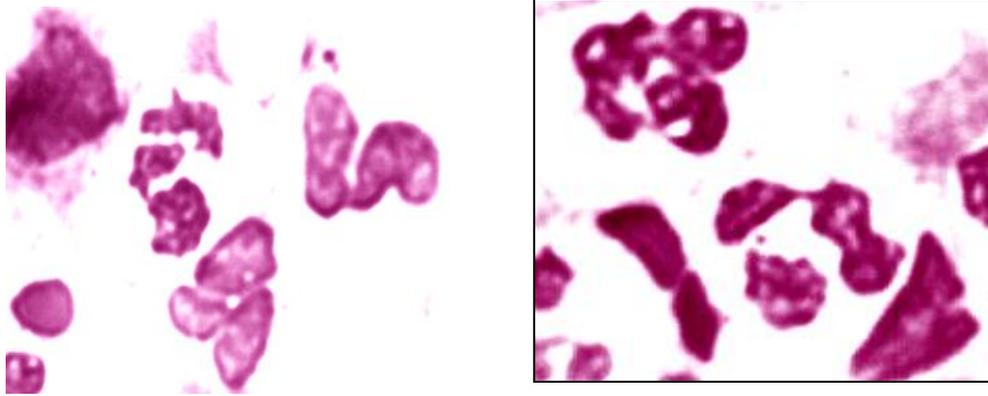


Рисунок 41. Динамика оптической плотности ядер НГ, окрашенных по Фельгену на ДНК. К-БЛ – кровь животных без лечения, К-ТЛ - кровь лабораторных животных при традиционном лечении (левомеколь), К-ППаА - кровь лабораторных животных при лечении с использованием пектиновых пленок ассоциированных с аминофталгидразидом, Э-ТЛ – экссудат при традиционном лечении (левомеколь), Э-ППаА – экссудат при лечении с использованием пектиновых пленок ассоциированных с аминофталгидразидом.



А

Б

Рисунок 42. Типичная картина ядер нейтрофильных гранулоцитов экссудата при окраске по Фельгену на ДНК: А - на 7-е сутки эксперимента у животных опытной группы, лечение пленками; Б – на 14-е сутки эксперимента у интактных животных (Ув.1000х)

4.6. Обсуждение результатов цитохимического исследования раневого экссудата

Важным элементом раневого экссудата являются НГ, осуществляющие в ране «киллинг» бактерий, их фагоцитоз, а также принимающие участие в регуляции процессов общей неспецифической антимикробной защиты организма.

НГ являются источником активных форм кислорода (АФК), которые часто приводят к возникновению окислительного стресса – активации свободнорадикальных процессов. В НГ, в отличие от других клеток (моноцитов, макрофагов, лимфоцитов), потребление кислорода и продукция АФК (респираторный взрыв) не являются системой жизнеобеспечения. Этим путем они осуществляют свои эффекторные функции. Будучи исключительно защитной реакцией организма в физиологических условиях, респираторный взрыв НГ способен при выраженном воспалительном процессе вызывать гибель окружающих здоровых клеток, подавлять антиоксидантные механизмы защиты окружающих тканей (в частности эндотелия сосудов) и тем самым способствовать переходу воспаления к затяжному течению (Барабой В.А., Сутковой Д.А., 1997; Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Mehta J., Dinerman J., Mehta P. et al., 1989).

Критериями для оценки течения раневого процесса в этих условиях могут быть избраны цитохимические показатели ядра и цитоплазмы НГ периферической крови и экссудата ран лабораторных животных, а также цитологические показатели раневого отделяемого.

Неферментные КБ и особенно их фракция дифензины являются важнейшим элементом не кислородной антимикробной системы НГ. Как было установлено Klebanoff с соавторами (1967; 1972), миелопероксидаза, являющаяся железосодержащим КБ с молекулярной массой 122000 и изоэлектрической точкой в области рН-10.0, активируемая пероксидом водорода, выделяется в фаголизосому и окисляет микробные белки. Миелопероксидазная система НГ способна инактивировать грамположительные и грамотрицательные бактерии, вирусы, грибы, микоплазмы, ШИК - положительные вещества (гликоген) в цитоплазме НГ определяет энергетический резерв этих клеток. Морфологический состав экссудата давно используется для определения фаз раневого процесса.

Указанные причины и явились главным фактором, побудившим нас произвести исследование содержания КБ, гликогена, активности миелопероксидазы, физико-химических свойств хроматина НГ и клеточного состава раневого отделяемого в процессе лечения ожоговых ран мягких тканей спины лабораторного животного, как при традиционном его варианте (мазью «левомеколь»), так и в условиях применения пектиновых пленок.

Анализ результатов цитологического исследования показал, что в исследованных группах животных, пролеченных мазью «левомеколь», так и с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом наблюдается положительная динамика течения раневого процесса, характеризующаяся переходом воспалительно-регенераторной тканевой реакции к регенераторной. Однако, с применением пектиновых пленок с аминофталгидразидом динамика процесса предпочтительней, так как уже на 7-е сутки отмечается переход процесса из воспалительно-регенераторной фазы к регенераторно-воспалительной. Следует отметить, что у 2-х животных опытной группы на 7-е сутки наблюдался переход процесса в регенераторную стадию, что не отмечалось

ни у одного животного контрольной группы. Однако, недостаточное количество подобных фактов не позволило выделить их в статистическую группу.

При исследовании хроматина НГ периферической крови и раневого экссудата крыс с экспериментальной ожоговой раной спины, нами было обнаружено существенное увеличение окрашиваемости ДНК ядер эти клеток по сравнению со значениями, характерными для животных контрольной группы. Максимальный уровень оптической плотности ядер НГ был зарегистрирован к концу первых суток после начала эксперимента. Следует отметить, что максимальные значения оптической плотности были зарегистрированы в ядрах НГ экссудата животных получавших лечение с использованием пектиновых пленок с аминофтальгидразидом. В дальнейшем уровень оптической плотности ядер снижался, что было характерно, как для клеток крови, так и для экссудата. При этом даже на пятые сутки послеоперационного периода значения оптической плотности ядер НГ периферической крови лабораторных животных оставались повышенными, относительно аналогичны значений, характерных для интактных животных (без лечения). Учитывая молекулярные механизмы возникновения окрашивания ядер клеток по Фельгену, описанные ранее, следует констатировать, 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 характеризуются сниженным содержанием КБ, ШИК-положительных веществ и активности миелопероксидазы в их цитоплазме. Максимум данного снижения приходится на третьи сутки послеоперационного периода и максимален у животных, при лечении которых использовали пектиновые пленки с аминофтальгидразидом. Нами также установлено увеличение содержания КБ в цитоплазме НГ по мере заживления ран. По мере заживления раны потребность в КБ снижается и их количество в цитоплазме НГ увеличивается. Аналогичная динамика наблюдается

и в отношении содержания ШИК-положительных веществ и активности миелопероксидазы НГ, как периферической крови, так и раневого экссудата.

Следует отметить, что в настоящее время НГ считаются полностью дифференцированными клетками, у которых все активные компоненты гранулярного аппарата цитоплазмы синтезируются на костномозговой стадии развития. Ожидать, что обнаруженное нами увеличение активности ядер этих клеток приведет к увеличению синтетической активности этих клеток не следует (Маянский А.Н., Галиулин А.Н., 1984). Активация ядер НГ, по всей видимости, является ответом на раздражающее воздействие компонентов раневого экссудата и возможно приводит к синтезу лишь регуляторных транскриптов, повышающих общую биологическую активность клетки, заставляющую ее более активно расходовать антимикробные и энергетические компоненты своей цитоплазмы, что и подтверждается динамикой содержания КБ, гликогена и активности миелопероксидазы. Описанные результаты исследования показывают, что применение пектиновых пленок с аминофталгидразидом активирует как внутрисосудистый, так и тканевой пул НГ, вызывая дополнительную активацию их ядерного материала и усиливает расходование активных компонентов их цитоплазмы. Это происходит на фоне повышения расхода энергетических запасов клетки. Нельзя исключить, что наблюдаемая активация клеток неспецифического звена антимикробной защиты вызвана антиоксидантным эффектом использованием пектиновых пленок с аминофталгидразидом, которая уменьшает повреждающее действие активных радикалов кислорода не только на не затронутые патологическим процессом клетки и ткани, но и на сами эффекторные клетки иммунной системы.

Таким образом, применение пектиновых пленок с аминофталгидразидом при местном лечении ран создает условия для активации неспецифического звена иммунной системы и оказывает благоприятное влияние на течение репаративных процессов в ране.

4.7. Резюме.

Результаты цитологического исследования и исследований цитохимических реакций НГ при лечении экспериментальных ожоговых ран, представленных в данной главе, свидетельствуют, что при использовании пектиновых пленок с аминофталгидразидом у животных опытной группы 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 интактных животных (без лечения) характеризуются сниженным содержанием катионных белков, ШИК-положительных веществ (гликогена) и активности миелопероксидазы в их цитоплазме. Максимум данного снижения приходится на третьи сутки эксперимента и максимален у животных опытной группы.

Таким образом, в данной главе проведенные цитохимические исследования ядра и цитоплазмы НГ позволили строго количественно оценить биологическую активность НГ раневого экссудата, что может служить основой для разработки методов диагностики и контроля за течением раневого процесса.

4.8. Клинические аспекты применения пектиновых пленок с аминофталгидразидом в лечении трофических язв венозной этиологии.

Язвы венозной природы занимают лидирующее место (свыше 70%) среди различных причин язвенного поражения голеней, а их лечение представляет значительные трудности (Липницкий Е.М., 2001). Особенно тяжелый контингент

представляют больные пожилого и старческого возраста, у которых течение раневого процесса отличается торпидностью, ареактивностью.

В общепринятом комплексе лечебных мероприятий, включающем обязательную эластическую компрессию, соблюдение лечебно-охранительного режима, применение системной фармакотерапии, физиотерапевтических процедур, хирургической коррекции нарушенного венозного оттока, особую роль играет местное лечение. Его основной задачей является тщательная санация или полное заживление язвы. С этой целью применяют различные местные фармакологические лекарственные средства, современные раневые покрытия или готовые повязки с лечебными свойствами, соответствующими стадии раневого процесса. 16 больным – добровольцам с хроническими трофическими язвами венозной этиологии, подписавшим информированное добровольное согласие и находившихся на лечении в хирургическом отделении Краснодарского госпиталя для ветеранов войн для местного лечения язв использовались пектиновые пленки с аминофталгидразидом. Средний возраст больных составлял 85 лет, из них мужчин – 9 человек, женщин – 7 человек. Среднее время существования язвенных дефектов составило 6, 3 года (7 мес. до 20 лет). С одиночными язвами было 10 больных, с множественными (2-5 язв) – 6 человек. Средняя площадь язв – $19,4\text{см}^2$. ($4,3\text{-}63\text{см}^2$). Для местного лечения использовались пектиновые пленки с иммуномодулятором аминофталгидразидом во 2-й фазе раневого процесса. Никакие другие средства для местного лечения язв больше не применялись. В ходе проводимого лечения отмечалось активное разрастание грануляционной ткани, ускорение процессов регенерации, уменьшение размеров раневых дефектов. Было выявлено, что биодegradация пленки наступала на 4-е сутки, полное очищение язвенных дефектов на 4-5 сутки. Развитие грануляций наоборот отмечалось на 6-10 сутки. Полная эпителизация язвенных дефектов регистрировалась на 15-18 день. Микроскопически отмечалась активное разрастание грануляционной ткани, ускорение процессов регенерации, уменьшение размеров раневых дефектов. В контрольных бактериальных посевах отмечалась полная элиминация патогенной микрофлоры.

Клинический пример: больная З., 84 года, и.б. № 9868, находилась на лечении в хирургическом отделении Краснодарского клинического госпиталя для ветеранов войн с 1.11.07 г. по 11.11.07 г. с диагнозом: варикозное расширение вен обеих нижних конечностей, ХВН VI ст. по СЕАР, трофическая язва правой голени. Из анамнеза: больная страдает ХВН в течение 20 лет. Трофическая язва у больной появилась около 2 лет назад. Безуспешно лечилась амбулаторно по месту жительства. При поступлении язва имеет размеры 3х5 см, посев на микрофлору дал рост протей (Фото 1).



Фото 1. Исходный вид язвенного дефекта

Наложена пектиновая пленка с аминофталгидразидом (Фото 2).



Фото 2. Аппликация на язву пектиновой пленки с аминофталгидразидом.

Выполнены мазки-отпечатки до лечения и после лечения на 5 и 7 сутки. Отмечено, что с 4 суток наблюдается биодеградация пленки. Язва очистилась, стала сухой, появилась эпителизация с краев. Размеры раны за 7 суток уменьшились до 2,5х4 см за счет краевой эпителизации (Фото 3). Таким образом, у больной отмечен выраженный регенераторный эффект.



Фото 3. Вид язвы на 7-е сутки лечения пленками

На следующем клиническом примере больной Иванцовой В.Д., 82 лет, и.б. № 8599 ККГВВ установлен диагноз: Варикозная болезнь нижних конечностей. ХВН 3 ст. Трофическая язва левой голени. (Фото 4).



Фото 4. Трофическая язва правой голени. Видна выраженная инфильтрация краев раны и гиперемия кожи по периферии язвенного дефекта.

У больной отмечается аллергическая реакция на местное использование йода и фурациллина. Показано, что применение пектиновой пленки с аминафталгидразидом значительно уменьшает воспаление в ране и вокруг нее (Фото. 5 и 6).



Фото 5. Аппликация пектиновой пленкой с аминафталгидразидом на язву.

Из приведенных фото видно, что уже на 2-е сутки наблюдается уменьшение отека раны и тканей вокруг нее (Фото 6).



Фото 6. Вид трофической язвы левой голени на 2-е сутки после аппликации пектиновой пленки с аминофталгидразидом.

На 4-е и 7-е сутки после аппликации отмечается выраженный клинический эффект (Фото 7, 8).



Фото 7. Вид трофической язвы на 4-е сутки после лечения пленками. Инфильтрации краев язвы нет, гиперемия кожи вокруг язвы регрессирует, появилась морщинистость кожи, намечается тенденция к раневой контракции.

Отмечается уменьшение инфильтрации краев язвы, гиперемии кожи по периферии язвенного дефекта. По краям язвы видны остатки пленочного покрытия.



Фото 8. Вид трофической язвы левой голени на 7-е сутки после аппликации пектиновой пленки с аминофталгидразидом. Воспалительные явления вокруг язвы, гиперемия кожи полностью регрессировали, видна краевая эпителизация.

Таким образом, вышеперечисленные положительные клинические примеры подтверждают полученные экспериментальные данные, позволяют говорить об эффективности применения пектиновых пленок в клинике и стимулируют исследователей в проведении широких клинических испытаний данных лекарственных форм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лечение ран является одной из важнейших проблем хирургии. Раны имеются у большинства хирургических больных и от эффективности их лечения зависит исход раневого процесса, а также трудоспособность пациента. В настоящее время для лечения ран используется множество различных общих и местных методик лечения. Однако, несмотря на технический прогресс, основным методом лечения ран является использование повязок. Перспективной формой повязок являются раневые покрытия. С каждым годом в арсенале хирургов появляются новые раневые покрытия, однако проблема лечения ран остается по-прежнему актуальной (Адамян А.А., 2001; Толстых М.П., 2004; Абаев Ю.К., 2006; Глухов А.А. и др., 2009; Kong M et al, 2010; Triller C, 2013). Одной из нерешенных проблем остается аллергия и устойчивость микроорганизмов к антибиотикам и антисептикам. Поэтому поиск новых перевязочных средств, решающих эти проблемы, остается актуальным, и в поле зрения исследователей вновь попадают вещества растительного происхождения.

В последние годы усилился интерес исследователей в отношении природных полисахаридов, в частности к пектину. Пектин является природным полимером Д-галактуроновой кислоты и входит в состав всех зеленых растений планеты.

Основой работы являются результаты исследований, полученных в ходе 3-х серий экспериментов на 62 беспородных лабораторных крысах в виварии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России. В нашей работе на экспериментальных моделях полнослойных кожных и ожоговых ран мы исследовали лечебную эффективность пектиновой пленки, состоящей из свекловичного низкометоксилированного высокоочищенного пектина и свекловичную пленку

ассоциированную с иммуномодулятором аминофталгидразидом (галавит) в соотношении соответственно 5:1 (патент РФ на изобретение №2342955). В ходе работы было изучено 240 мазков отпечатков ожоговых ран и 120 мазков крови от 30 животных; 53 морфологических исследований крови, 53 исследования лейкоцитоза, 100 исследований фагоцитоза, 104 исследования спонтанного и стимулированного НСТ - теста, проведено 75 заборов биологического материала для биохимических исследований, 806 планиметрических измерений.

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 ША и ШБ ст. Получены убедительные доказательства ускоренного роста эпителия в ранах, покрытых пектиновыми пленками, по сравнению с ранами, лечеными мазью «левомеколь», что также подтверждается в работе П.А.Чумакова (2006). В наших исследованиях 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 $253,20 \pm 9,9 \text{ мм}^2$ у контрольной. Такая тенденция сохраняется до 14-х суток. 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. 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. Скорость заживления ожоговых ран достоверно увеличивается на 5, 15 и 30-е сутки с достижением максимума к 30-му дню наблюдения

При лечении ожоговых ран IIIA и IIIB ст. у животных опытной группы отмечались более ранние сроки начала эпителизации – $4,90 \pm 0,35$ суток и окончательного заживления раневого дефекта в сравнении с контрольной группой. Рана после снятия повязки была покрыта серозной корочкой, при удалении которой обнажалась мокнущая раневая поверхность, эпителизация начиналась с $5,80 \pm 0,20$ суток и завершалась на 40-е сутки. В опытной группе 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 суток. Анализируя скорость заживления ожоговых ран у животных различных групп, обращает на себя внимание достоверное увеличение скорости заживления на 5, 15 и 30-е сутки с достижением максимума к 30-м суткам наблюдения. Результаты планиметрических исследований динамики заживления полнослойных кожных ран показали, что при использовании пектиновых пленок с аминофталгидразидом уменьшение площади ран в сравнении с животными контрольной группы происходит с 1-х суток. Статистически достоверная тенденция к сокращению площади ран начинается с 10-х суток.

Таким образом, применение пектиновых пленок в лечении полнослойных кожных и ожоговых ран по данным планиметрии демонстрирует очень хороший результат.

В нашей работе мы доказали, что пектиновые пленки с аминофталгидразидом оказывают благоприятное комплексное действие на показатели пооксидантно-антиоксидантного баланса раневого экссудата у лабораторных животных. В частности вышеназванные РП замедляют рост

активности СОД, снижают активность каталазы, что, очевидно связано с сорбционной способностью пектина и действием аминофталгидразида.

Полученные нами в ходе эксперимента данные показали, что иммунодепрессивные изменения в системе 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.

Исследования показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса раневого экссудата у лабораторных животных с моделированными полнослойными кожными ранами позволили нам 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. Сам механизм их действия в большей степени можно охарактеризовать как не прямой — облегчение течения раневого процесса за счет сорбционной способности пектина. По совокупности оцениваемых показателей, АОА оказалась наибольшей у пектиновой пленки с аминофталгидразидом, что обусловлено наличием в ее составе вещества с высокой антиоксидантной активностью - аминофталгидразида. Несколько меньшая антиокислительная активность отмечена у свекловичного пектина.

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 приходилось на третьи сутки наблюдения и максимален у животных опытной группы. Результаты проведенного морфологического и цитохимического исследования позволило нам предположить, что пектиновые пленки с аминофтальгидазидом 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 отметили 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. 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 аминофтальгидазидом, что затрудняет визуальную оценку раневой поверхности.

Таким образом, были получены убедительные данные об эффективности применения свекловичной пектиновой пленки с аминофтальгидазидом 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 аминофтальгидазида являются весьма перспективной лекарственной формой. Точкой приложения пектиновых пленок является раневая поверхность ожоговой раны и трофической язвы. Пектиновые пленки можно использовать в комбустологии в качестве лечебного средства перед аутодермопластикой, а также в хирургических отделениях при лечении обширных трофических язв венозной этиологии.

Активация процессов эпителизации и пролиферации, стимуляция показателей фагоцитарной и микробицидной функции НГ, выраженная антиокислительная активность пектиновой пленки с аминафталгидразидом, 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абаев, Ю. К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция / Ю. К. Абаев. - Ростов н/Д.: Феникс, 2006. - 427 с.
2. Абидов, М. Т. Иммуностропная активность тамерита / М. Т. Абидов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2000. - № 3, прил. - С. 11-19.
3. Адамян, А. А. Современные биологически активные перевязочные средства в комплексном лечении ран / А. А. Адамян // Материалы 4 Международной конференции / под ред. В. Д. Федорова и А. А. Адамяна. – М., 2001. - С. 25-27.
4. Алексеев, А. А. Влияние трансплантации аллофибробластов на раневой процесс и его исходы у обожженных / А. А. Алексеев, Н. Н. Фисталь, Д. П. Подурец // Клеточ. технологии в биологии и медицине. – 2010. - № 1. – С. 36-39.
5. Алексеев, А. А. Изучение эффективности повязок с иммобилизованными ферментами для лечения ожоговых ран / А. А. Алексеев, А. Э. Бобровников // Комбустиология [Электронный ресурс]. – 2012. - № 48. - Режим доступа: <http://www.burn.ru/last/>
6. Алексеев, А. А. Местное применение стимуляторов регенерации для лечения ожоговых ран / А. А. Алексеев, А. Э. Бобровников // Комбустиология [Электронный ресурс]. – 2010. - № 41. – Режим доступа: <http://www.burn.ru/all/>
7. Алексеев, А. А. Микоран - новый препарат для лечения ожогов / А. А. Алексеев, Е. П. Феофилофа, В. М. Терешина, А. С. Меморская, В. П. Евтушенкова, А. Г. Ивановская // Комбустиология [Электронный ресурс]. – 2000. - № 4. – Режим доступа: <http://www.burn.ru/all/>

8. Алексеев, А. А. Микробиологическая оценка эффективности современных антимикробных препаратов для местного лечения ожоговых ран / А. А. Алексеев, А. Э. Бобровников, Р. П. Терехова, М. Г. Крутиков // Комбустиология [Электронный ресурс]. – 2009. - № 37. - Режим доступа: <http://www.burn.ru/all/>
9. Алексеев, А. А. Современные методы трансплантации культивированных клеток кожи и её эквивалентов при лечении ожогов / А. А. Алексеев, С. В. Попов // Комбустиология [Электронный ресурс]. – 1999. - № 1. – Режим доступа: <http://www.burn.ru/all/>
10. Андреев, Д. Ю. Современные раневые покрытия. Ч. I / Д. Ю. Андреев, Б. А. Парамонов, А. М. Мухтарова // Вестн. хирургии им. И. И. Грекова. -2009. - Т. 168, № 3. - С. 98–102.
11. Андреев, Д. Ю. Современные раневые покрытия. Ч. II / Д. Ю. Андреев, Б. А. Парамонов, А. М. Мухтарова // Вестн. хирургии им. И. И. Грекова. - 2009. - Т. 168, № 4. - С. 109–112.
12. Барабой, В. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / В. А. Барабой, Д. А. Сутковой. – Киев: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 422 с.
13. Басов, А. А. Сравнительная характеристика антиоксидантных свойств фармпрепаратов и биологически активных добавок в тест-системах *in vitro* / А. А. Басов, С. Р. Федосов, Е. А. Губарева, И. С. Канус, И. И. Павлюченко, И. М. Быков // Новые технологии в стоматологии: сб. науч. тр. – М.; Краснодар, 2007. – С. 3-7.
14. Басов, А. А. Сравнительная характеристика антиоксидантных свойств фармпрепаратов и биологически активных добавок в тест-системах *in vitro* / А. А. Басов, С. Р. Федосов, Е. А. Губарева, И. С. Канус, И. И. Павлюченко, И. М. Быков // Новые технологии в стоматологии: сб. науч. тр. – М.; Краснодар, 2007. - С. 3-7.

15. Блатун, Л. А. Местное медикаментозное лечение ран. Проблемы и новые возможности их решения / Л. А. Блатун // *Consilium medicum. Хирургия.* - 2007. – Т. 9, № 1, прил. № 1. – С. 9-16.
16. Бобровников, А. Э. Остаточные длительно существующие ожоговые раны: определение и особенности лечения / А. Э. Бобровников, М. Г. Крутиков, М. Г. Лагвилава, А. А. Алексеев // *Комбустииология [Электронный ресурс].* – 2010. - № 40. - Режим доступа: <http://www.burn.ru/all/>
17. Богачев, В. Ю. Местное лечение венозных трофических язв / В. Ю. Богачев, Л. И. Богданец, А. И. Кириенко, А. Ю. Брюшков, О. В. Журавлева // *Consilium medicum. Хирургия.* – 2001. – Т. 3, № 11, прил. – С. 10-14.
18. Богачев, В. Ю. Современные методы лечения венозных язв и медицина, основанная на доказательствах / В. Ю. Богачев // *Consilium medicum. Хирургия.* – 2006. – Т. 8, № 2. – С. 46-50.
19. Богданец, Л. И. Место и эффективность антимикробных средств в лечении трофических язв у больных с венозной недостаточностью нижних конечностей / Л. И. Богданец, С. С. Березина, Е. Б. Гельфанд // *Инфекции в хирургии.* – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 38-41.
20. Большаков, И. Н. Применение коллаген-хитозанового раневого покрытия с культурой эмбриональных фибробластов при местном лечении глубоких ожогов / И. Н. Большаков, А. К. Кириченко, А. В. Еримеев, А. А. Власов // *Фундам. исслед.* - 2008. - № 10. - С. 59-60.
21. Бородин, Ю. И. Раневое покрытие «Литопласт» / Ю. И. Бородин, Н. П. Бгатова // *Успехи наук о жизни.* – 2009. - № 1. - С. 31-51.
22. Бутенко, З. А. Цитохимия и электронная микроскопия клеток крови и кроветворных органов / З. А. Бутенко, Д. Ф. Глузман, К. П. Зак. – Киев: Наукова думка, 1974. – 248 с.
23. Быков, М. И. Анализ эффективности методики “SORTION & IMPRINTING” с целью забора биологического материала из раны для биохимического анализа / М. И. Быков, И. И. Павлюченко, С. Р. Федосов // *Аллергология и иммунология.* – 2007. - № 1. - С. 110.

24. Васильева, Л. С. Динамика микробного пейзажа в хронической экспериментальной ране при её лечении препаратами, содержащими биологически активные вещества / Л. С. Васильева, Л. К. Куликов, С. С. Казанков, А. А. Смирнов, Е. В. Симонова, Н. В. Тиранская // Сибир. мед. журн. – 2010. – Т. 97, № 6. – С. 79-81.
25. Васьков, К. С. Влияние некоторых производных янтарной кислоты на выживаемость ишемизированной ткани кожного лоскута в эксперименте / К. С. Васьков, П. А. Галенко-Ярошевский // Актуальные вопросы дерматологии, венерологии и дермато-курортологии. – Краснодар, 1998. - С. 31-33.
26. Воробьев, С. А. Опыт применения раствора и геля «Пронтосан» в местном лечении гнойных ран различного происхождения / С. А. Воробьев, Е. Ю. Левчик // Хирургия. – 2009. - № 1(55). - С. 71-75.
27. Гавриленко, А. В. Использование фибробластов и кератиноцитов в комплексном лечении венозных трофических язв / А. В. Гавриленко, О. В. Павлова, П. Е. Вахратьян // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2008. - № 10. – С. 80-83.
28. Гавриленко, А. В. Комплексное лечение варикозной болезни СЕАР-6 степени с использованием клеточных культур / А. В. Гавриленко, А. А. Иванов, О. В. Павлова // Традиционные и новые направления сосудистой хирургии и ангиологии: сб. науч. работ. - Челябинск, 2009. – Вып. 5. – С. 27-29.
29. Гарсиа, А. А. Одноволновый метод двух площадей, применяемый для цитофотометрии мазков и отпечатков тканей / А. Гарсиа, Р. Ирио // Введение в количественную цитохимию. – М., 1969. – С. 196-201.
30. Гланц, С. Медико-биологическая статистика : пер. с англ. / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
31. Глухов, А. А. Применение программной гидропрессивно-аспирационной санации в комплексном лечении больных с гнойными очагами мягких

- тканей / А. А. Глухов, В. А. Сергеев, В. М. Иванов // Вестн. эксперим. и клинич. хирургии. – 2009. – Т. 2, № 1. – С. 14–18.
32. Гостищев, В. К. Дифференцированный подход к выбору кожной пластики операций у больных с хирургической инфекцией / В. К. Гостищев, К. В. Липатов, Е. В. Комарова, Б. О. Хо, Е. В. Маракуца // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2009. - № 12. – С. 19-24.
33. Гриценко, В. В. Современные аспекты диагностики и лечения трофических язв венозной этиологии: пособие для врачей общей практики / В. В. Гриценко, П. И. Орловский. – СПб., 2007. – С. 24.
34. Девярых, Е. А. Гидрогелевые раневые покрытия в лечении венозных трофических язв : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е. А. Девярых. - М., 2006. - 95 с.
35. Демидов, Д. А. Экспериментальная и клиническая оценка модифицированного пектинсодержащего препарата в лечении кишечной недостаточности при перитоните / Д. А. Демидов, М. В. Костюченко, П. А. Двоеносова, О. Н. Шеверницкая // Эксперим. и клинич. гастроэнтерология. - 2009. - № 2. - С. 65-73.
36. Дикий, С. В. Пути совершенствования лечения трофических язв венозной этиологии / С. В. Дикий, И. А. Калашников, Л. Р. Консул // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2012. – Т. 1-2, № 47-48. – С. 80-81.
37. Добыш, С. В. Современные перевязочные средства для лечения ран во второй фазе раневого процесса / С. В. Добыш, А. В. Васильев, О. В. Шурупова // Материалы Международной конференции / под ред. В. Д. Федорова, А. А. Адамяна. - М., 2001. - С. 115.
38. Донченко, Л. В. Технология пектина и пектинопродуктов / Л. В. Донченко, Г. Г. Фирсов. – Краснодар : КГАУ, 2006. – 279 с.
39. Донченко, Л. В. Технология пектина и пектинопродуктов: учеб. пособие / Л. В. Донченко. - М.: ДеЛи, 2000. – 255 с.
40. Евглевский, А. А. Кислотолабильность комплекса ДНК-гистон в ядрах клеток крови здоровых людей и больных лейкозами:

- (цитофлуориметрическое исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. А. Евглевский. – М., 1985. – 24 с.
41. Емельянов, С. И. Влияние пектинсодержащего препарата на слизистую пищеварительного тракта при кишечной недостаточности / С. И. Емельянов, Б. С. Брискин, Д. А. Демидов, Т. И. Демидова // Хирург. гастроэнтерология. – 2010. - № 11. - С. 67-71.
42. Ефименко, Н. А. Современные тенденции в создании биологически активных материалов для лечения гнойных ран / Н. А. Ефименко, Ф. Е. Шин, М. П. Толстых, А. С. Тепляшин // Воен. мед. журн. - 2002. - Т. 323, № 1. - С. 48-52.
43. Зайцев, В. М. Прикладная медицинская статистика / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. – Спб.: ФОЛИАНТ, 2003. – 432 с.
44. Заликин, Г. А. К вопросу экстраполяции на человека полученных в эксперименте данных / Г. А. Заликин // Материалы Всесоюзной конференции «Биологические характеристики лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных». – М., 1980. – С. 253-254.
45. Зиновьева, Е. В. Основные направления совершенствования местной медикаментозной терапии ран и ожогов / Е. В. Зиновьева, В. И. Легеза // Обзоры по клинич. фармакологии и лекарств. терапии – 2003. - Т. 2, № 2. – С. 66-72.
46. Зорин, В. Л. Анализ зарубежного рынка регенеративной медицины / В. Л. Зорин, А. И. Зорина, В. Р. Черкасов // Клеточ. трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. - № 3. – С. 68-78.
47. Зорин, В. Л. Дermalные фибробласты для лечения дефектов кожи / В. Л. Зорин, А. И. Зорина, О. С. Петракова, В. Р. Черкасов // Клеточ. трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. - № 4. – С. 26-40.
48. Казанков, С. С. Лечение длительно незаживающих ран терпенсодержащим препаратом Антиран в сочетании с ультразвуковой кавитацией : дис. ... канд. мед. наук / С. С. Казанков. - Иркутск, 2011. - 138 с.

49. Казарян, Р. В. Иммунологические эффекты препарата бета-каротина (Каролин): тез. / Р. В. Казарян, А. А. Евглевский, И. И. Павлюченко, А. Г. Кунделеков, С. Г. Павленко, А. В. Завалишин // *Int. J. Immunorehabil.* - 2002. - Т. 4, № 1. - С. 74.
50. Казимирко, В. К. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В. К. Казимирко, В. И. Мальцев, В. Ю. Бутылин, Н. И. Горобец. – Киев : Морион, 2004. – 159 с.
51. Карнович, А. Г. Применение современных синтетических и биотехнологических раневых покрытий для лечения ран различного генеза (экспериментально - клиническое исследование) : дис. ... канд. мед. наук / А. Г. Карнович. - Краснодар, 2005. – 162 с.
52. Кириенко, А. И. Лечение трофических язв венозной этиологии: пособие для врачей / А. И. Кириенко. - М.: Изд-во НЦССХ РАМН, 2000. – С. 22.
53. Кириенко, А. И. Лечение тяжелых форм хронической венозной недостаточности препаратом Гинкор-Форт / А. И. Кириенко, В. Ю. Богачев, А. В. Каралкин, И. А. Золотухин // *Ангиология и сосудистая хирургия.* - 1999. - № 2. – С. 52-56.
54. Кириенко, А. И. Современная компрессионная терапия заболеваний вен / А. И. Кириенко, И. А. Золотухин, А. В. Каралкин, С. Г. Гаврилов // *Consilium medicum.* - 2005. - № 6. – С. 33-38.
55. Кириенко, А. И. Современные принципы лечения хронической венозной недостаточности / А. И. Кириенко, Р. А. Григорян, И. А. Золотухин // *Consilium medicum. Флебология.* – 2003. - № 6. – С. 363-366.
56. Колесникова, Н. В. К вопросу о коррекции экспериментальных дисфункций нейтрофильных гранулоцитов / Н. В. Колесникова, Г. А. Чудилова, Л. В. Ломтатидзе, М. А. Светличная // Сб. тр. 1-й нац. конф. РААКИ “Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии”. – М., 1997. - С. 479.

57. Колесникова, Н. В. Регуляция функционирования системы нейтрофильных гранулоцитов в эксперименте: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Н. В. Колесникова. - Новосибирск, 1999. - 50 с.
58. Колокольцова, Т. Д. Перспективы использования фетальных фибробластов человека при лечении ран различной этиологии / Т. Д. Колокольцова, Н. Д. Юрченко, Н. Г. Колосов, Е. А. Нечаева, О. В. Шумаков, С. А. Христо // Вестн. РАМН. - 1998. - № 3. - С. 32-34.
59. Колсанов, А. В. Комплексное лечение раневых дефектов кожи и мягких тканей различной этиологии с применением клеточных культур и биопокрытий. Экспериментально-клиническое исследование : дис. д-ра мед. наук / А. В. Колсанов. - Самара, 2003. - 341 с.
60. Костюк, В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // Вопр. мед. химии. - 1990. - № 2. - С. 88-91.
61. Кочетыгов, Н. И. О способах воспроизведения термических ожогов в эксперименте / Н. И. Кочетыгов. - Л.: ВМОЛА им. С. М. Кирова, 1964. - 46 с.
62. Кремнева, Л. В. Нарушения функциональной активной полиморфноядерных лейкоцитов при гиперлипидемии у больных ИБС и возможность их коррекции фенофибратом / Л. В. Кремнева, О. В. Абатурова, С. В. Шалаева // Кардиология. - 1998. - Т. 38, № 5. - С. 42-44.
63. Крюкова, В. В. Патогенетическое обоснование сорбционно - аппликационной терапии гнойных ран : дис. ... канд. мед. наук / В. В. Крюкова. - Чита, 2005. - 152 с.
64. Кузин, М. И. Раны и раневая инфекция / М. И. Кузин, Б. М. Костюченко. - М.: Медицина, 1990. - 592 с.
65. Кузнецов, Н. А. Клинико-экономические аспекты применения современных перевязочных средств при лечении пациентов с венозными трофическими язвами голени / Н. А. Кузнецов, Г. В. Родоман, В. Г. Никитин, М. А. Карев,

- Т. И. Шалаева // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2009. - № 11. – С. 63-69.
66. Куцоля, М. А. Влияние Ронколейкина® на заживление экспериментальных полнослойных ран кожи М. А. Куцоля // Человек и лекарство: тез. 13 Рос. нац. конгр. - М. , 2006. - С. 635.
67. Лазарева, Е. Б. Влияние пектинов на микрофлору желудочно-кишечного тракта у больных с тяжелой термической и черепно-мозговой травмой / Е. Б. Лазарева [и др.] // Медицинский алфавит. Лаборатория. – 2010. - № 3. – С. 15-17.
68. Лазарева, Е. Б. Эффективность местного применения пектинов в лечении ожоговых ран / Е. Б. Лазарева [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2002. - № 9. – С 9-13.
69. Лазаренко, В. А. Лечение гнойных ран с применением раневых покрытий «Биатравм» и «Ресорб» (экспериментальное исследование) / В. А. Лазаренко, А. И. Бежин, А. З. Гусейнов, А. В. Чердаков, А. В. Иванов, В. А. Жуковский // Вестн. новых мед. технологий. – 2010. – Т. 17, № 3. – С. 200-203.
70. Лесовой, Д. Е. Восстановительная терапия тяжелых дефицитов мягких тканей в экспериментальной ожоговой ране с использованием гидрогелевого раневого покрытия ММ-Гель-Р / Д. Е. Лесовой, Н. Ю. Кузнецов, А. А. Артюхов, М. И. Штильман, С. М. Чудных // Биомедицина. – 2010. - № 4. - С. 33-39.
71. Липницкий, Е. М. Лечение трофических язв нижних конечностей. - М., 2001. – С. 160.
72. Магомедов, М. М. Эндометрическая лекарственная терапия в лечении трофических язв нижних конечностей / М. М. Магомедов // 3 конференция ассоциации флебологов России. - Ростов н/Д., 2001. – С. 91-92.
73. Манухина, Е. Б. Роль оксида азота и кислородных свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии / Е. Б. Манухина, Н. П. Лямина, П. В.

- Долотовская, С. Ю. Машина, С. В. Ламина, Д. А. Подкидышев, И. Ю. Малышев // Кардиология. – 2002. – № 11. – С. 73-84.
74. Маремкулов, В. Х. Иммунотропное лечение больных с хирургическими заболеваниями желудочно-кишечного тракта / В. Х. Маремкулов, А. Ю. Разумовский, М. Т. Абидов, А. Б. Алхасов // Хирургия. – 2009. - № 2. – С. 21-24.
75. Маянский, А. Н. Кондиционирование IgG и C3b-зависимых реакций нейтрофилов в условиях специфической и неспецифической адгезии / А. Н. Маянский, И. В. Чельшев, И. В. Чеботарь // Иммунология. - 1993. - №1. - С. 23-25.
76. Маянский, А. Н. Лекции по иммунологии / А. Н. Маянский. – Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2003. – 272 с.
77. Маянский, А. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А. Н. Маянский, Д. Н. Маянский. – Новосибирск: Наука, 1989. – 256 с.
78. Маянский, А. Н. Реактивность нейтрофила / А. Н. Маянский, А. Н. Галиуллин. – Казань: Изд-во Казан. гос. ун-та, 1984. – 160 с.
79. Митряшов, К. В. Оценка эффективности применения эпидермального фактора роста кожи при лечении ожоговых ран в условиях «влажной среды» / К. В. Митряшов [и др.] // Комбустиология [Электронный ресурс]. - 2011. - № 45. - Режим доступа: <http://www.burn.ru/all/>
80. Нестерова, И. В. Комплексное трехуровневое исследование системы нейтрофильных гранулоцитов с возможной диагностикой иммунодефицитных состояний при различной патологии: метод. рекомендации № 96/11 / И. В. Нестерова, Н. В. Колесникова, Г. А. Чудилова. – М., 1996. – 25 с.
81. Никитин, Г. Д. Пластическая хирургия хронических и нейротрофических язв / Г. Д. Никитин [и др.]. – СПб. : Рус. графика : Сюжет, 2001. – 192 с.
82. Новиков, П. Д. Диагностика аллергии в реакции выброса МПО под влиянием аллергена / П. Д. Новиков, Н. Д. Новикова // Иммунопатология. – 2002. - № 1. – С. 63-69.

83. Новикова, Н. Ф. Новые возможности лечения трофических язв, ран кожи и мягких тканей, пролежней и свищей / Н. Ф. Новикова, В. Н. Мордовцев, Т. В. Паренькова // *Consilium medicum. Хирургия.* – 2000. - № 4. – С. 6-8.
84. Новожилов, А. А. Применение биологических покрытий для стимуляции II и III фаз раневого процесса при лечении обширных ран различной этиологии / А. А. Новожилов, Б. Б. Родивиллов // *Инфекции в хирургии.* - 2007. - № 3. – С. 29-32.
85. Оболенский, В. Н. Трофические язвы нижних конечностей - обзор проблемы / В. Н. Оболенский, Г. В. Родоман, В. Г. Никитин, М. А. Карев // *Рус. мед. журн.* – 2009. - № 25. - С. 1647-1663.
86. Обыденникова, Т. Н. Использование современных раневых покрытий в комплексном местном лечении ожоговых ран: материалы 2 съезда хирургов Сибири и Дальнего Востока / Т. Н. Обыденникова, В. В. Усов, С. М. Терехов, С. В. Якушин, Е. Е. Мартыненко // *Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра.* – 2007. - № 45. – С. 137.
87. Оводов, Ю. С. Пектиновые вещества растений европейского Севера России / Ю. С. Оводов, В. В. Головченко, Е. А. Гюнтер, С. В. Попов. - Екатеринбург, 2009. - 111 с.
88. Оводов, Ю. С. Полисахариды цветковых растений: структура и физиологическая активность / Ю. С. Оводов // *Биоорган. химия.* – 1998. – Т. 24, № 7. – С. 483–501.
89. Оводов, Ю. С. Современные представления о пектиновых веществах / Ю. С. Оводов // *Биоорган. химия.* - 2009. - Т. 35, № 3. - С. 293-310.
90. Отчет о проведение клинических испытаний раневых покрытий "КОЛЛАХИТ". - М., 1996. – 6 с.
91. Павленко, С. Г. Имобилизированный гипохлорит натрия в комплексном лечении гнойных ран / С. Г. Павленко, В. Н. Заплишный, В. М. Бенсман, И. А. Шестаков, Д. Ф. Джумба // *Кубан. науч. мед. вестн.* - 1995. - № 2-3 (9-10). - С. 17-18.

92. Павленко, С. Г. Иммунологические эффекты препарата бета-каротина (Каролин) / С. Г. Павленко, Р. В. Казарян, А. А. Евглевский, И. И. Павлюченко, А. Г. Кунделеков, А. В. Завалишин // *Int. J. Immunoreabil.* - 2002. - Т. 4, № 1. - С. 74.
93. Павлюченко, И. И. Активность ферментов антирадикальной защиты в эритроцитах и в раневом отделяемом у больных с осложненным течением сахарного диабета / И. И. Павлюченко, И. А. Луговая, С. Р. Федосов, А. А. Басов, М. И. Быков // 14 Международная конференция «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии». – Ялта ; Гурзуф, 2006. – С. 281-287.
94. Павлюченко, И. И. Интегральные показатели эндогенной интоксикации и окислительного стресса у больных с почечной недостаточностью / И. И. Павлюченко, А. А. Басов, С. Р. Федосов // *Нефрология и диализ.* – 2003. – Т. 5, № 1. – С. 28-32.
95. Пат. № 2236008 Российская Федерация, МПК А61К33/00, G01N33/48. Способ лабораторной диагностики окислительного стресса организма человека / И. И. Павлюченко, А. А. Басов, С. Р. Федосов. – Заявл. 28.07.2003; опубл. 10.09.2004, Бюл. №25.
96. Парамонов, Б. А. Ожоги : рук. для врачей / Б. А. Парамонов, Я. О. Порембский, В. Г. Яблонский. - СПб. : Спец. Лит., 2000. - 480 с.
97. Парамонов, Б. А. Современные возможности и перспективы развития методов восстановления кожного покрова у тяжело обожжённых (клинико-экспериментальное исследование) : дис. ... д-ра мед. наук / Б. А. Парамонов. – СПб., 1997. – 406 с.
98. Пат. 1814764 Российская Федерация, МПК А61К31/557, А61К47/48. Способ получения средства для лечения гнойно-некротических ран / Ю. М. Гафуров [и др.]. - № 4848928/14; заявл. 20.04.90; опубл. 20.04.95, Бюл. № 8.
99. Пат. 2091078 Российская Федерация, МПК⁶ А61К47/48, А61К33/14. Способ лечения хирургической инфекции / С. Г. Павленко, С. Е. Гуменюк, П. А.

- Галенко-Ярошевский, В. Н. Заплишный, Д. И. Ушмаров; Кубан. гос. мед. акад. - № 95115387/14; заявл. 31.08.95; опубл. 27.09.97.
100. Пат. 2124848 Российская Федерация, МПК A23L1/0524. Способ получения пектина / З. Н. Хатко, Л. В. Донченко, В. В. Нелина, Л. Я. Родионова, А. И. Свинцицкая; Кубан. гос. аграр. ун-т. - № 97104313/13; заявл. 21.03.97; опубл. 20.01.99, Бюл. № 2.
101. Пат. 2210118 Российская Федерация, МПК⁷ G09B23/28, A61B18/04/. Способ моделирования ожоговой травмы в эксперименте у животных / Моновцов И. А. - № 2001127406/14; заявл. 08.1.01; опубл. 10.08.03, Бюл. № 22 (III ч.). - 6 с.
102. Пат. 2342955 Российская Федерация. Способ получения антисептической пленки / З. Н. Хатко, С. Г. Павленко, Л. В. Донченко, А. Н. Шехова, С. Т. Беретарь, Л. В. Карданова. - № 2007142036/15; заявл. 13.11.2007; опубл. 10.01.09, Бюл. №1.
103. Полиферментные препараты в гнойной хирургии: метод. рекомендации / под ред. Н. А. Ефименко. - М., 2005. – 30 с.
104. Пат. 02154388 Российская Федерация, МПК A23L1/0524, A61L15/20, A61R7/00. Пектинсодержащие композиции, способ их получения и способ получения сухой устойчивой к нагреванию катионной соли пектина [Электронный ресурс] / Поль-Эжеде Глан; заявитель и патентообладатель ХЕКЬЮЛИЗ ИНКОРПОРЕЙТЕД (US). - № 94042925/13; заявл. 02.12.1994; опубл. 20.08.2000. – Режим доступа: <http://www.freepatent.ru/patents/2154388>.
105. Ромм, А. Р. Действие лазерного излучения на перекисную хемилюминесценцию раневого экссудата / А. Р. Ромм, М. П. Шерстнев, В. В. Волков, Ю. А. Владимиров // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1986. - № 102. – С. 426-428.
106. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / В. П. Фисенко [и др.]. – М.: ЗАО ИАИ «Ремедиум», 2000. – 398 с.

107. Савельев, В. С. Современные направления в хирургическом лечении хронической венозной недостаточности / В. С. Савельев // Флебологическая. – 1996. - № 1. – С. 5-8.
108. Савельев, В. С. Флебология: рук. для врачей / В. С. Савельев [и др.]. – М. : Медицина, 2001. – 664 с.
109. Савельев, В. С. Хроническая венозная недостаточность нижних конечностей как общемедицинская проблема / В. С. Савельев, А. И. Кириенко, В. Ю. Богачев, О. В. Голованова, С. Г. Гаврилов, И. А. Золотухин, О. В. Журавлева, А. Ю. Батюшков, Е. А. Девярых // Consilium medicum. Хирургия. – 2004. – Т. 6, № 6. – С. 433-436.
110. Саркисов, Д. С. Использование культивированных фибробластов при лечении ожоженных / Д. С. Саркисов [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1990. - № 3. – С. 400-402.
111. Саркисов, Д. С. Опыт применения культуры фибробластов при лечении ожоженных / Д. С. Саркисов, Е. В. Глущенко, В. П. Туманов, С. С. Морозов, Ш. Р. Гуруков // Воен.-мед. журн. – 1993. - № 10. – С. 62-63.
112. Сегура-Сенисерос, Э. П. Оценка влияния пектин-папаиновых взаимодействий на стабильность фермента, и механические свойства пектиновых пленок из маракуйи, используемых для лечения кожных ран / Э. П. Сегура-Сенисерос [и др.] // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия. – 2006. - № 47. - С. 66-72.
113. Седов, В. М. Новые отечественные раневые покрытия «Хитоскин-колл » в лечении трофических язв нижних конечностей / В. М Седов, Д. Ю. Андреев, Б. А. Парамонов, С. Ф. Антонов // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2011. – Т. 10, № 2(38). – С. 58-63.
114. Седов, В. М. Эффективность клеточной терапии в лечение больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной этиологии / В. М. Седов, Д. Ю. Андреев, Т. Д. Смирнова, Б. А. Парамонов, Т. Н. Енькина, А. А. Соминина, О. И. Киселев, Ю. Ю. Суисси, Л. В. Лебедев // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 65-75.

115. Сogласительный документ: Task Force on Chronic Venous Disorders of the Leg. – 1999.
116. Стойко, Ю. М. Комплексное лечение хронической венозной недостаточности нижних конечностей в стадии трофических расстройств / Ю. М. Стойко, Е. В. Шайдаков, Н. А. Ермаков // Consilium medicum. Хирургия. – 2001. – Т. 3, № 7, прил. - С. 28-31.
117. Суисси, Ю. Ю. Обоснование и оценка эффективности применения сорбирующих лекарственных средств и раневых покрытий в местном лечении ран и трофических язв : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ю. Ю. Суисси. - СПб., 2006. - 20 с.
118. Тимофеева, С. И. Лечение трофических язв: проблемы и перспективы // Комбустиология [Электронный ресурс]. – 2002. - № 12-13. - Режим доступа: <http://www.burn.ru/all/>
119. Толстых, М. П. Лечение ран антиоксидантами / М. М. Толстых, Б. А. Ахмедов, А. Р. Атаев, Ф. Е. Шин, А. Н. Парфенов. – М. ; Махачкала : Эпоха, 2004. – 170 с.
120. Томских, Н. Н. Природные сорбенты в лечении гнойных ран / Н. Н. Томских, Н. И. Богомоллов // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2007. - № 4 (56), прил. - С. 180.
121. Федоров, В. Д. Пластическое восстановление кожных покровов с использованием культивированных аллофибробластов / В. Д. Федоров, Д. С. Саркисов, А. А. Алексеев, В. П. Туманов, Г. Г. Серов // Анналы хирургии. – 1996. - № 4. – С. 16-19.
122. Фенчин, К. М. Заживление ран / К. М. Фенчин. — Киев, 1979. — 167 с.
123. Филимонов, А. А. Комбинированные антимикробные средства и коллагенсодержащие раневые покрытия в лечении и профилактике местных инфекционных осложнений при ожоговой травме / А. А. Филимонов, А. В. Колсанов, А. В. Толстов // Комбустиология [Электронный ресурс]. – 2002. - № 10. - Режим доступа : <http://www.burn.ru/all/>

124. Хатко, З. Н. О лечебных свойствах пектиновой пленки : материалы 7 Междунар. науч. конф. «Современные наукоемкие технологии» / З. Н. Хатко // Фундам. исслед. – 2008. - № 1. – С. 150.
125. Хатко, З. Н. Исследование чувствительности клинических штаммов микроорганизмов к свекловичному пектину / З. Н. Хатко // Материалы 12 Международной научной конференции «Здоровье семьи – XXI век», Нетания (Израиль), 29 апр. - 7 мая 2008 г. – Ч. 2. – Пермь, 2008. - С. 348-350.
126. Хатко, З. Н. Развитие научно-практических основ технологии высокоочищенного свекловичного пектина полифункционального назначения и пектиносодержащих композиций: дис. ... д-ра техн. наук / З. Н. Хатко. - Воронеж, 2013. - 356 с.
127. Хачатрян, А. В. Оптимизация местного лечения ран и раневой инфекции кожи и мягких тканей : (экспериментально-клиническое исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. В. Хачатрян. - Самара, 2009. - 15 с.
128. Химическая энциклопедия: в 5-ти т. – М.: Сов. Энциклопедия, 1992. – Т. 3. – С. 895–897.
129. Хотимченко, Ю. С. Фармакологические свойства пектинов / Ю. С. Хотимченко, А. В. Кропотов, М. Ю. Хотимченко // Эфферент. терапия. - 2001. – Т. 7, № 4. – С. 22-36.
130. Храмилин, В. Н. Современные аспекты местного лечения хронических ран нижних конечностей у больных сахарным диабетом / В. Н. Храмилин // Сахарный диабет. – 2005. - № 4. – С. 26-30.
131. Чумаков, П. А. Применение препарата пектина в комплексном лечении гнойных заболеваний мягких тканей : дис. ... канд. мед. наук / П. А. Чумаков. - Омск, 2006. – 135 с.
132. Шавхабов, Ш. Ш. Применение пектина при лечении ОКИ / Ш. Ш. Шавхабов, Ш. Р. Юсупов, Э. Г. Потиевский // Материалы съезда врачей - инфекционистов (г. Суздаль). - М.; Киров, 1992. - Т. 1. - С. 348-351.
133. Шандуренко, И. Н. Опыт клинического применения биологически активных гелевых повязок / И. Н. Шандуренко // Современные подходы к

- разработке и клиническому применению эффективных перевязочных средств, шовных материалов и полимерных имплантатов: материалы 4 Междунар. конф. - М., 2001. - С. 82-85.
134. Шаповалов, С. Г. Современные раневые покрытия в комбустиологии // ФАРМиндекс-Практик. – 2005. – Вып. 8. - С. 38-46.
135. Шестаков, И. А. Влияние применения препарата «Коллост» на механическую прочность толстокишечных анастомозов (экспериментальное исследование) / Шестаков И. А. [и др.] // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Сер.: Медицина. Фармация. - 2009. - Т. 67, № 8. - С. 75-79.
136. Шевчук, В. Ю. Влияние 5%-ного геля свекловичного пектина на патогенную микрофлору / В. Ю. Шевчук, С. А. Бабичев, И. И. Павлюченко, С. Г. Павленко, В. Я. Зобенко // Кубан. науч. мед. вестн. – 2013. - № 1 (136). - С.195-197.
137. Ширшов, О. Н. Лечение гнойно-некротических ран с применением препарата Банеоцин / О. Н. Ширшов // Consilium medicum. Хирургия. - 2008. - № 1, прил. - С. 28-31.
138. Шрамко, Л. У. Первый опыт применения глутамина и пектина в комплексном лечении перитонита / Л. У. Шрамко, Е. Б. Лазарева, Т. П. Македонская // Современные аспекты диагностики и лечения перитонита : гор. науч.- практ. конф. - М., 2000. – С. 22-24.
139. Шубич, М. Г. Окраска катионного белка бромфеноловым синим / М. Г. Шубич // Лаб. дело. - 1967. - № 9. - С. 67.
140. Эрепрейса, Е. А. Организация хроматина в ядре интерфазной клетки / Е. А. Эрепрейса. - Рига, 1990. – С. 1-114.
141. Ярец, Ю. И. Лабораторный прогноз риска отторжения аутодермотрансплантата / Ю. И. Ярец, И. А. Новикова // Вестн. хирургии. – 2010. - № 2. – С. 34-38.
142. Abbade, L. P. Venous ulcer: epidemiology, physiopathology, diagnosis and treatment / L. P. Abbade, S. Lastoria // Int. J. Dermatol. – 2005. - N 44. - P. 449–56.

143. Ali-Bahar, M. Dermal fibroblasts from different layers of human skin are heterogeneous in expression of collagenase and types I and III procollagen mRNA / M. Ali-Bahar [et al] // *Wound Repair Regen.* – 2004. – Vol. 12, N 2. – P. 175-182.
144. Anstead, G. M. Phenytoin in wound healing / G. M. Anstead, L. M. Hart, J. F. Sunahara, M. E. Liter // *Ann. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 30. – P. 768-775.
145. Apoptosis and cell proliferation. - 2nd ed. - Mannheim (Germany): Boehring Mannheim GmbH, Biochemica, 1998. – 143 p.
146. Astaldi G. Verga L. The glycogen content of the cells of lymphatic leukaemia / G. Astaldi, L. Verga // *Acta haematol. (Basel).* - 1957. - Vol. 17, N 3. - P. 129.
147. Augustin, M. Cost-of-illness of venous leg ulcers in Germany - a nationwide cross-sectional study / M. Augustin, K. Herberger, S. Purwins, E. S. Debus // *EWMA Annual Meeting.* - Lisbon, 2008.
148. Bello, Y. M. Tissue-Engineered skin in wound healing / Y. M. Bello, A. F. Falabella, W. H. Eaglstein // *Am. J. Dermatol.* – 2000. – Vol. 2, N 5. – P. 305-315.
149. Brem, H. Molecular markers in patients with chronic wounds to guide surgical debridement / H. Brem, O. Stojadinovic // *Mol. Med.* – 2007. – Vol. 13, N 1-2. – P. 30-39.
150. Brigand, G. Insight into the structure of pectic by high performance chromatographic methods / G. Brigand, A. Denis // *Carbohydrate Polymers.* – 1990. – Vol. 12, № 1. – P. 61–77.
151. Broussard, KC. Wound dressings: selecting the most appropriate type / KC. Broussard, JG. Powers // *Am J Clin Dermatol.* – 2013. - Vol.14, N 6. – P. 449-459.
152. Bush, A. K. Designing bioengineered skin substitutes containing microfabricated basal lamina analogs to enhance skin regeneration : Degree of doctorate of Philosophy in Biomedical Engineering and Medical Physics / A. K. Bush. – Massachusetts, 2009. – 164 p.

153. Chandan, K. Sen. The person to a skin of wounds: the basic and avalanche threat for population and economy health / Chandan K. Sen, Gayle M. Gordillo // *Wound Repair Regen.* – 2009. – Vol. 17, N. 6. – P. 763–771.
154. Triller, C. Modern wound dressings / D. Huljev, T. Planinsek Rucigaj // *Acta Med Croatica.* – 2013. - Vol. 67, N 1. - P. 81-87.
155. Clarke-Moloney, M. An exploration of current leg ulcer management practices in an Irish community setting / M. Clarke-Moloney, N. Keane, E. Kavanagh // *J. Wound Care.* – 2006. – Vol. 15. – P. 407–410.
156. Cooper, R. A. The sensitivity to honey of gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds / R. A. Cooper, P. C. Molan, K. G. Harding // *J. Appl. Microbiol.* – 2002. – Vol. 93. – P. 857-863.
157. Cornwall, J. V. Leg ulcers: epidemiology and aetiology / J. V. Cornwall, C. J. Doré, J. L. Lewis // *Br. J. Surg.* – 1986. – Vol. 73, N 9. – P. 693-696.
158. Crovetti, G. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds / G. Crovetti, G. Martinelli // *Transfus. Apher Sci.* – 2004. – Vol. 30, N 2. - P. 145-151.
159. Deservi, S. Clinical and angiographic correlates of leukocyte activation in unstable angina / S. Deservi [et al.] // *Amer. Coll. Cardiology.* – 1995. – Vol. 26. – P. 1146-1150.
160. Doughty, D. B. Lower-extremity ulcers of vascular etiology / D. B. Doughty, J. Waldrop, J. Ramundo // *Acute & chronic wounds: nursing management* / R. A. Bryant. - 2ed. - St. Louis: Mosby, 2000. - P. 265-300.
161. Entrapment of Enzymes in natural polymer extracted from residue of food industry: preparation methods, partial characterization and possible application / E. P. Segura Ceniceros [et al.] // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия.* - 2003. - Т. 44, № 1. - С. 84-87.
162. Fife, C. Limitations of daily living activities in patients with venous stasis ulcers undergoing compression bandaging: problems with the concept of self-bandaging / C. Fife, D. Walker, B. Thomson, M. Carter // *Wounds.* - 2007. – Vol. 19. – P. 255–257.

163. Fishman, T. How to manage venous stasis ulcers / T. Fishman // *Podiatry Today*. - 2007. - Vol. 20. - P. 66–72.
164. Frykberg, R. G. Chronic wounds treated with a physiologically relevant concentration of platelet-rich plasma gel: a prospective case series / R. G. Frykberg [et al.] // *Ostomy Wound Manage.* - 2010. - Vol. 56, N 6. - P. 36–44.
165. Gibran, N. S. Current status of burn wound pathophysiology / N. S. Gibran, D. M. Heimbach // *Clin. Plast. Surg.* - 2000. - Vol. 27. - P. 11-22.
166. Gohari, S. Evaluation of Tissue- Engineered Skin (Human Skin Substitute) and Secondary Intention Healing in the Treatment of Full Thickness Wounds after Mohs Micrographic or Excisional Surgery / S. Gohari, C. Gambla, M. Healey // *Dermatol. Surg.* - 2002. - Vol. 28. - P. 1107–1114.
167. Goossens, A. New wound dressings: classification, tolerance / A. Goossens, M.-B. Cleenewerck // *Eur. J. Dermatol.* - 2010. - Vol. 20, N. 1. - P. 24-26.
168. Gosain, A. Aging and wound healing / A. Gosain, L. A. DiPietro // *World. J. Surg.* - 2004. - Vol. 28, N 3. - P. 321-326.
169. Gottrup, F. A specialized wound-healing center concept: importance of a multidisciplinary department structure and surgical treatment facilities in the treatment of chronic wounds // *Am. J. Surg.* - 2004. - Vol. 187, N 5A. - P. 38S-43S.
170. Gottrup, F. A new concept of a multidisciplinary wound healing center and a national expert function of wound healing / F. Gottrup, P. Holstein // *Arch. Surg.* - 2001. - Vol. 136, N. 7. - P. 765-772.
171. Gryson, M. L. Pansements et principes pour la pose des pansements / M. L. Gryson // *Medical Devices News (MDNews)*. - 2007. - September/October.
172. Hansen, S. L. Using skin replacement products to treat burns and wounds / S. L. Hansen, D. W. Voigt, P. Wiebelhaus, C. N. Paul // *Adv. Skin. Wound. Care.* - 2001. - Vol. 14, N 1. - P. 37-44.
173. Hirt-Burri, N. Wound-healing gene family expression differences between fetal and foreskin cells used for bioengineered skin substitutes / N. Hirt-Burri [et al.] // *Artif. Organs.* - 2008. - Vol. 32, N 7. - P. 509-518.

174. Hodde, J. Submucosa Wound Matrix for Chronic Wound Healing / J. Hodde, R. Allam // *Wounds*. – 2007. – Vol. 19. – P. 157–163.
175. Hourdet, D. Solution of Pectin Polysaccharides – III: Molecular Size of Heterogeneous Pectin Chains. Calibration and Application of SEC to Pectin Analysis / D. Hourdet, G. Muller // *J. Carbohydrate Polymers*. – 1991. – № 16. – P. 409–432.
176. Johnson, J. J. Guideline for management of wounds in patients with lower-extremity venous disease / J. J. Johnson, C. Paustrian. – Glenview: Wound Ostomy and Continence Nurses Society – WOCN, 2005.
177. Jones, I. A guide to biological skin substitutes / I. Jones, L. Currie, R. Martin // *Br. J. Plast. Surg.* – 2002. – Vol. 55, N 3. – P. 185-193.
178. Joy Fong. Nanocrystalline silver dressings in wound management: a review / Joy Fong, Fiona Wood // *Int. J. Nanomedicine*. – 2006. – Vol. 1, N 4. – P. 441–449.
179. Kimball, O. P. The use of Dilantin in the treatment of epilepsy / O. P. Kimball, T. N. Horan // *Ann. Intern. Med.* – 1939. – Vol. 13. – P. 787-793.
180. Kjer, M. Evidence-based medical technical care for patients with venous leg ulceration. - Denmark: Copenhagen University, 1995.
181. Klasen, H. J. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses / H. J. Klasen // *Burns*. – 2000. – Vol. 26. – P. 117–130.
182. Kong, M. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review / M. Kong, X. G. Chen, K. Xing, H. J. Park // *Int. J. Food. Microbiol.* – 2010. - Vol. 144, N 1. – P. 51-63.
183. Kristal, B. Participation of peripheral polymorphonuclear leucocytes in the oxidative stress and inflammation in patients with essential hypertension / B. Kristal [et al.] // *Amer. J. Hypertension*. – 1998. – Vol. 11, N 8 (Pt.1). – P. 921-928.
184. Kwakman, P. H. Medical-grade honey kills antibiotic-resistant bacteria in vitro and eradicates skin colonization / P. H. Kwakman [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 46. – P. 1677-1682.

185. Lansdown, A. B. Silver. 1. Its antibacterial properties and mechanism of action / A. B. Lansdown [et al.] // *J. Wound. Care.* – 2002. – Vol. 11. – P. 125–130.
186. Laudmesser, U. Oxidant stress as a marker for cardiovascular events / U. Laudmesser, D. Harrison // *Circulation.* – 2001. – Vol. 104, № 22. – P. 2638-2640.
187. Li, P. A polycationic antimicrobial and biocompatible hydrogel with microbe membrane suctioning ability / P. Li, Y. F. Poon, W. Li, H. Y. Zhu // *Nat. Mater.* – 2011. – Vol. 10, N 2. – P. 149-156.
188. Lindholm, C. Leg ulcer treatment in hospital and primary care in Sweden: cost-effective care and quality of life / C. Lindholm // *Adv. Wound Care.* – 1995. – Vol. 8, N 48. – P. 50–52.
189. Lonnie, L. Whiddon The treatment of venous ulcers of the lower extremities / L. Lonnie // *Proc. Bayl. Univ. Med. Cent.* – 2007. – Vol. 20, N 4. – P. 363–366.
190. Marissa J. Carter. Use of Platelet Rich Plasma Gel on Wound Healing: A Systematic Review and Meta-Analysis / M. J. Carter, C. P. Fulling, L. K. Parnell // *Eplasty.* – 2011. – Vol. 11. – P. e38.
191. McAnally, L. E. Use of phenytoin for wound healing / L. E. McAnally, D. Thompson // *Hospital Pharmacy.* – 1992. – Vol. 27. – P. 649-650.
192. Mehta, J. Neutrophil function in ischemic heart disease / J. Mehta [et al.] // *Circulation.* – 1989. – Vol. 79, № 3. – P. 549-556.
193. Molan, P. C. Honey and sugar as a dressing for wounds and ulcers / P. C. Molan, R. F. Cooper // *Trop. Doct.* – 2000. – Vol. 30. – P. 249-250.
194. Molan, P. C. Honey as a topical antibacterial agent for treatment of infected wounds. *World Wide Wounds* [Electronic resource]. – URL: <http://www.worldwidewounds.com/2001/november/Molan/honey-as-topical-agent.html>.
195. Monique, C. P. Bilayered bioengineered skin substitute (“Apligraf”) / C. P. Monique, G. L. Plosker // *Biodrugs.* – 2002. – Vol. 16, N 6. – P. 439-455.
196. Nicolas, C. C. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during

- growth / C. C. Nicolas, M. David // *The Plant Journal*. – 1993. – Vol. 3, N 1. – P. 1–30.
197. Pham, C. Bioengineered skin substitutes for the management of burns: a systematic review / C. Pham [et al.] // *Burns*. – 2007. – Vol. 33, N 8. - P. 946-957.
198. Pearse, A. G. E. *Histochemistry, theoretical and applied*. – 2nd ed. – Boston : Little and Brown, 1961.
199. Raafat, D. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound / D. Raafat, K. von Bargen, A. Haas, H. G. Sahl // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2008. – Vol. 74, N 12. – P. 3764-3773.
200. Rabea, E. I. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action / E. I. Rabea [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2003. – Vol. 4, N 6. – P. 1457-1465.
201. Reese, R. J. Autologous platelet rich plasma (PRP): what do we know? Important concepts relevant to hair restoration surgery / R. J. Rabea // *Hair. Transplant. Forum Int.* – 2010. – January/February. - P. 14–17.
202. Rucley, C. V. Socioeconomic impact of chronic venous insufficiency and leg ulcer / C. V. Rucley // *Angiolog.* – 1997. – Vol. 48. – P. 67- 69.
203. Ruszczak, Z. Modern aspects of wound healing: an update / Z. Ruszczak, R. A. Schwartz // *Dermatol. Surg.* – 2000. – Vol. 26. – P. 219-229.
204. Saap, L. J. Clinical classification of bioengineered skin use and its correlation with healing of diabetic and venous ulcers / L. J. Saap, K. Donohue, V. Falanfa // *Dermatol. Surg.* – 2004. – Vol. 30, N 8. – P. 1095-1100.
205. Sasanka S. Venous ulcers of the lower limb: Where do we stand? / S. Sasanka., S. S. Chatterjee // *Indian. J. Plast. Surg.* – 2012. - Vol. 45, N 2. – P. 266-274.
206. Sato J., L. Selkia L. // *S.J. Clin.Med.* - 1928. - Vol. 13 - P. 1058.
207. Singer, A. J. Cutaneous wound healing / A. J. Singer, R. A. Clark // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 341, N 10. – P. 738-746.
208. Soldevilla, J. Epidemiology of chronic wounds in Spain: Results of the First National Studies on Pressure and Leg Ulcer Prevalence / J. Soldevilla, J. E. Torra,

- J. Verdu, J. Rueda, F. Martinez, E. Roche // *Wounds*. - 2006. - Vol. 18. – P. 213–226.
209. Talas, G. Role of phenytoin in wound healing-a wound pharmacology perspective / G. Talas, R. A. Brown, A. McGrouther // *Biochem. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 57. – P. 1085-1094.
210. Torre, J. I. Wound healing, chronic wounds [Electronic resource] / J. I. Torre, J. A. Chambers. - URL: <http://www.emedicine.medscape.com/article/1298452-overview>. - Date of access: 10.01.2011.
211. Wai-sun, H. Skin substitutes: An overview / H. Wai-sun // *Ann. Coll. Surg. H. K.* – 2002. – Vol. 6. – P. 102-108.
212. Wipke-Tevis, D. D. Prevalence, incidence, management, and predictors of venous ulcers in the long-term-care population using the MDS / D. D. Wipke-Tevis [et al.] // *Adv. Skin. Wound. Care.* – 2000. – Vol. 13, N 5. – P. 218-224.
213. Wong, V. W. Tissue engineering for the management of chronic wounds: current concepts and future perspectives / V. W. Wong, G. C. Gurtner // *Exp. Dermatol.* – 2012. – Vol. 21, N 10. – P. 729-734.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение № 1

ПЕРЕЧЕНЬ РАБОТ АВТОРА, 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.

