

На правах рукописи

**КАЗАНКОВ**  
Сергей Станиславович

**ЛЕЧЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН  
ТЕРПЕНСОДЕРЖАЩИМ ПРЕПАРАТОМ АНТИРАН  
В СОЧЕТАНИИ С УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИЕЙ**  
(экспериментальное исследование)

**14.01.17. – хирургия**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Иркутск – 2011

Работа выполнена в ГОУ ДПО «Иркутский государственный институт усовершенствования врачей Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» РФ и ГОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения и социального развития РФ».

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук,  
профессор

*Куликов Леонид Константинович*

**Научный консультант:**

доктор биологических наук,  
профессор

*Васильева Людмила Сергеевна*

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук,  
профессор  
доктор медицинских наук,  
профессор

*Подкаменев Владимир Владимирович*

*Стальмахович Виктор Николаевич*

**Ведущее учреждение:**

*ГОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет  
им. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава*

Защита состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2011 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д.208.032.01 при Иркутском государственном медицинском университете по адресу 664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения и социального развития РФ».

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2011 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук



*Желтовский Ю.В.*

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность

Несмотря на то, что лечение ран и раневой инфекции относится к числу наиболее древних разделов медицины, лечение длительно незаживающих ран (ДНР) и на сегодняшний день остается одной из важных проблем (Коган А.С., Куликов Л.К., 1988; Миронов В.И., Фролов А.П., 2010). Число больных с данной патологией остается по-прежнему большим и за последнее время имеет неуклонную тенденцию к увеличению.

Насыщенность аптечной сети медикаментами общего и местного действия, предназначенными для стимуляции заживления ран, пока не привело к значительному улучшению в решении проблемы лечения ДНР. Проблема изыскания и разработки новых, доступных и высокоэффективных препаратов и способов лечения ДНР по-прежнему остается актуальной задачей. Одним из перспективных направлений представляется исследование препаратов, включающих в свой состав биологически активные вещества (БАВ) растительного происхождения, в частности, представителей многочисленного класса терпеноидов (Гнедов А.А., Фесько А.А., 2007).

Учитывая фактор поликомпонентности при лечении ДНР, большое внимание, наряду с хирургическими и физиотерапевтическими методами лечения, уделяется лекарственному лечению самого раневого процесса, в особенности при его инфицировании. При этом большое значение придается лечению раневого процесса в фазе воспаления, а также поиску препаратов, сокращающих фазы течения раневого процесса и ускоряющих регенерацию. Большой интерес при этом представляет препарат Антиран (Полтавченко Ю.А., Рютин Н.П., Гармашов В.И., 1998), созданный на базе ЗАО «Левестер» в сотрудничестве с НИИ медицины труда и экологии человека ВСФ СО РАМН, включающий в свой состав как основной компонент бициклический монотерпеноид изоборнилацетат – природный стереоизомер борнилацетата являющийся основным компонентом эфирного масла пихты (Шапочников Ю.Г., Решетников Е.А., 1979).

Особый интерес представляет применяемый в хирургии метод ультразвукового воздействия на рану (Денищук П.А., 2001; Липатов К.В., 2002; Вишневский В.А., Магомедов М.Г., 2003). В силу этого нами разработан и применен, при выполнении экспериментального исследования, новый способ лечения ДНР, включающий в себя воздействие препарата Антиран в сочетании с ультразвуковой кавитацией (УЗК) (Куликов Л.К., Казанков С.С., Гармашов В.И., 2002).

В изученной нами литературе не найдено достаточного количества сведений, о противовоспалительном и регенераторном действии препарата Антиран, включающего в свой состав изоборнилацетат, что и послужило побудительным мотивом выполнения научного исследования.

### Цель исследования

*Оценить эффективность противовоспалительного и ранозаживляющего действия терпенсодержащего препарата Антиран в сочетании с ультразвуковой кавитацией, в сравнении с препаратом Абисил-1, при экспериментальном длительно незаживающем раневом процессе.*

Для реализации поставленной цели сформулированы следующие **задачи**:

1. Оценить планиметрические показатели длительно незаживающих ран при спонтанном заживлении и под влиянием лечения Абисилом-1, Антираном и Антираном в сочетании с ультразвуковой кавитацией.

2. Изучить микробную обсемененность длительно незаживающих ран как при спонтанном заживлении, так и при лечении препаратами Абисил-1, Антиран и Антиран в сочетании с ультразвуковой кавитацией.

3. Изучить морфологическую картину развития длительно незаживающих ран под влиянием лечения препаратами Абисил-1, Антиран, Антиран в сочетании с ультразвуковой кавитацией и при спонтанном заживлении.

4. Изучить изменения некоторых биохимических показателей грануляционной ткани длительно незаживающих ран как при спонтанном заживлении, так и при лечении препаратами Абисил-1, Антиран и Антиран в сочетании с ультразвуковой кавитацией.

### **Научная новизна**

При лечении экспериментальных длительно незаживающих ран установлена высокая антибактериальная активность препарата Антиран, содержащего монотерпеноид изоборнилацетат, в отношении грамотрицательных микроорганизмов.

Выявлено, что Антиран, особенно при его сочетании с ультразвуковой кавитацией, интенсифицирует течение и ускоряет завершение экссудативно-деструктивного периода воспаления в экспериментальной длительно незаживающей ране, ограничивая таким образом деструкцию тканей раневого очага.

Доказано, что монотерапия Антираном и, особенно, его сочетание с ультразвуковой кавитацией в более ранние сроки стимулирует репаративные процессы – образование грануляционной ткани и эпителизацию раневой поверхности.

Установлено лимитирующее действие Антирана на процесс рубцевания, которое выражается в предупреждении избыточного образования коллагена в формирующемся рубце и в активации созревания рубцовой ткани.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Установлено, что применение исследованных противовоспалительных средств (Абисил-1 и Антиран) для лечения длительно незаживающих ран приводит к обострению воспалительно-деструктивных процессов, ограничению их продолжительности и более раннему развитию репаративной фазы воспаления. Наибольшую активность в этом отношении проявляет Антиран, особенно, в сочетании с ультразвуковой кавитацией. Одним из механизмов противовоспалительного действия Антирана является его высокая антибактериальная активность. Другим преимуществом применения Антирана является ускорение формирования рубцовой ткани и ее созревание. Показано, что ультразвуковая кавитация способствует быстрой и полной элиминации бактерий из тканей раны на ее поверхность, потенцируя, таким образом, ранозаживляющее действие Антирана.

## **Внедрение в практику**

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры хирургии ИГИУВа при подготовке врачей на ТУ «Гнойные хирургические заболевания». На основании результатов проведенного исследования предложен «Способ лечения хронических ран», сокращающий сроки лечения (патент № 2189814 от 27.09.2002), который может быть рекомендован для применения в клинической практике.

## **Положения, выносимые на защиту**

1. Терпенсодержащий препарат Антиран обладает высокой антибактериальной активностью, интенсифицирует и быстро купирует экссудативно-деструктивные процессы, активизирует формирование и созревание грануляционной ткани, эпителизацию раневой поверхности, ускоряет в 4 раза заживление длительно незаживающих ран.

2. Ультразвуковая кавитация потенцирует ранозаживляющее действие Антирана за счет быстрой и полной элиминации бактерий из глубоких участков тканей на ее поверхность.

## **Апробация основных положений работы**

Материалы исследований доложены и обсуждены на конференциях:

- XI научно-практической конференция Иркутского ИГИУВа: доклад «Антибактериальная активность препарата Антиран» (Иркутск, 2001).
- III-й регионарной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы клинической медицины»: доклад «Сравнительная цитоморфологическая характеристика длительно незаживающих ран при лечении препаратами для наружного применения» (Иркутск, 2002).

По результатам исследований опубликовано 11 работ, из них 6 – в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, в том числе 1 патент.

## **Структура и объем работы**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав о материалах и методах исследования, глав собственных исследований, обсуждения полученных данных, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Текст изложен на 138 страницах машинописного текста, иллюстрирован 11 таблицами и 51 рисунком. Библиография содержит 162 источника, из них 123 – на русском и 39 – на иностранных языках.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследование проведено на базе НИИ медицины труда и экологии человека АФ ГУ НЦ ВСНЦ СО РАМН. В эксперименте использованы 180 беспородных белых крыс массой 170–200 г. Животные содержались в стандартных условиях в виварии на обычном рационе. Эксперименты проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных живот-

ных», утвержденных МЗ СССР (Приложение к приказу МЗ СССР № 775 от 12.08.1977 г.)

**1. Модель длительно незаживающей раны** создавали в течение 10 суток, в соответствии с методическими рекомендациями Фармакологического комитета СССР (№ 4 от 12.05.1989 г.). Модель создавалась в 3 этапа: 1 этап – нанесение стандартного повреждения путем в/к введения под лишённую волосяного покрова кожу боковой поверхности тела 1 мл 10%-го раствора  $\text{CaCl}_2$ , 2 этап (на 2-е сутки) – первичное микробное обсеменение раны, 3 этап (на 6-е сутки) – повторное обсеменение раны. Обсеменение раны проводили путем введения под образовавшийся струп 2 мл микробной взвеси, содержащей в равных соотношениях *Ps. aeruginosa* и *St. aureus* в концентрации  $2 \times 10^6$  кл/мл. Для обсеменения раны использованы штаммы *Ps. aeruginosa* и *S. aureus*, обладающие набором факторов патогенности. Штамм *Ps. aeruginosa* характеризовался продукцией  $\text{Gum}^+$  (гемолизин) и  $\text{Fbr}^+$  (фибринолизин). Штамм *S. aureus* продуцировал  $\text{Gum}^+$  (гемолизин) и  $\text{Lez}^+$  (лецитиназа). Подготовка штаммов бактерий осуществлялась на кафедре микробиологии ИГМУ с участием аспиранта кафедры Н.В. Кичинской.

**2. Группы животных.** Животные были разделены на 4 группы, по 36 крыс в каждой. Первая группа – контрольная, вторая – группа сравнения, третья и четвертая – основные группы. Первая группа крыс не получала лечение, рана заживала спонтанно. Второй группе проводили лечение препаратом Абисил-1 (20%-й раствор субстанции «Абисил» представленной набором терпеноидов, флавоноидов, фитогормонов, витаминов, микроэлементов пихты сибирской, на растительном масле), третьей группе – препаратом Антиран (гель, содержит 10–15 % изоборнилацетата, 28–30 % блоксополимера и 3–4 % бензилового спирта, оставшийся объем – дистиллированная вода). Препараты наносили на поверхность раны ежедневно в течение 28 суток равномерным слоем в количестве 0,2 мл на 1 см<sup>2</sup> площади раны, закрывали рану стерильной марлевой салфеткой и фиксировали повязкой.

Четвертой группе животных в течение первых 4–6 суток (1 сеанс в сутки) проводили комплексное лечение препаратом Антиран в сочетании с воздействием ультразвуковой кавитации. Каждый сеанс включал нанесение на раневую поверхность средства Антиран, затем воздействие ультразвуком в течение 8–10 минут с частотой колебаний  $26,5 \pm 0,5$  кГц, амплитудой 0,60–0,80 мм, после чего на рану повторно наносили Антиран. После комплексной терапии до конца наблюдений проводили монотерапию препаратом Антиран.

Животных выводили из эксперимента методом декапитации под эфирным наркозом. Материал для исследования брали на 1, 4, 8, 14, 21 и 28-е сутки после создания модели длительно незаживающей раны от 6 животных на каждый срок.

**3. Планиметрическое исследование.** По методу О.А. Навакатиняна (Фенчин К.М., 1979), применяемого для определения площади и скорости уменьшения плоскостных ран, измеряли площадь раны. Динамику уменьшения площади раны в ходе заживления оценивали в процентах по формуле:  $Y_t = 100 \times \frac{S_0 - S_t}{S_0}$ , где  $S_0$  – начальная площадь раны, а  $S_t$  – ее площадь на день  $t$ . На основании полученных

значений  $Y_t$  вычисляли индекс скорости заживления раны ( $I_V$ ), который отражает поэтапное изменение площади раны в процентах, по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Индекс скорости заживления рассчитывали по формуле:  $I_V = Y_t - Y_{t-1}$ , где  $Y_t$  – процент уменьшения площади раны от исходного размера в наблюдаемый срок,  $Y_{t-1}$  – процент уменьшения площади раны от исходного размера в предыдущий срок наблюдения.

**4. Бактериологическое исследование.** При определении микробного пейзажа ДНР применяли бактериоскопический метод. В качестве исследуемого материала использовали гнойное отделяемое с раневой поверхности, из которого готовили мазки-отпечатки на стерильные предметные стекла. Фиксацию мазков проводили путем высушивания на воздухе с последующим выдерживанием в 96%-м этиловом спирте в течение 20 минут. Фиксированные мазки-отпечатки окрашивали в течение 1 часа по методу Романовского-Гимза. В мазках-отпечатках определяли концентрацию грам(+)-кокков и грам(-) палочек. Идентификацию микробных клеток проводили по морфологическим признакам. Концентрацию микроорганизмов на  $1 \text{ см}^2$  (N) рассчитывали по формуле:  $N = n/0,0003$ , где n – среднее число микробных клеток в 10 полях зрения микроскопа; 0,0003 см – объем поля зрения микроскопа.

У бактерий, полученных с поверхности ДНР, определяли факторы патогенности: фибринолизин, плазмокоагулазу, гемолизин, лецитиназную активность (Лабинская А.С., 2008).

**5. Морфологическое исследование.** Изготавливали парафиновые срезы (7–9 мкм), окрашивали их гематоксилин-эозином и пикрофуксином по Ван Гизону. На срезах подсчитывали плотность лейкоцитарного инфильтрата и его клеточный состав. По качественным характеристикам оценивали ход воспалительного процесса: степень деструкции клеток в очаге воспаления, реакцию сосудов и активность ангиогенеза, воспалительный отек, ростовую активность эпидермиса, фиброархитектонику очага воспаления, структуру новообразованной соединительной ткани.

**6. Биохимическое исследование.** Определяли биохимические показатели, отражающие динамику деструктивных и репаративных процессов:

- 1) оксипролин – маркер коллагеновых белков (Stegeman H., 1958);
- 2) тирозин – маркер неколлагеновых белков (Слуцкий Л.И., 1969);
- 3) нуклеиновые кислоты (НК) – показатель количества в ткани клеточных элементов (Северин С.Е., Соловьева Г.А., 1989);
- 4) малоновый диальдегид (МДА) – показатель напряженности процессов перекисного окисления липидов (Портяная Н.И., Конусова Б.Г., 1990).

**7. Методы статистической обработки.** Для каждой выборки проверяли гипотезу о нормальности распределения с помощью тестов Колмогорова – Смирнова, Шапиро – Вилка и Лиллиефорса. В случае ненормального распределения данные представляли в виде медианы с верхними и нижними квартилями (25-й и 75-й процентиля) – Me (25; 75). При нормальном распределении данные представлены в средних величинах с ошибкой среднего арифметического ( $M \pm m$ ). Определение значимости различий полученных данных в сравниваемых выборках при ненормальном распределении проводили по критерию Крускала-Уоллиса

(k-w), для связанных выборок – по критерию Вилкоксона (W), при нормальном распределении – по критерию Стьюдента (t). Проведен регрессионный анализ полученных данных (множественная регрессия, R), а также корреляционный анализ с вычислением коэффициента корреляции Пирсона (r). Различия между показателями считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Статистическая обработка результатов произведена с помощью пакета программ Statistica 6.0 for Windows.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 1. Планиметрическое исследование длительно незаживающих ран

Полученные данные, отражающие динамику заживления ДНР в различных условиях эксперимента, сведены в таблице 1. По каждой серии эксперимента приведены 2 показателя: медиана площади раневой поверхности и % сокращения площади ДНР от ее исходного размера.

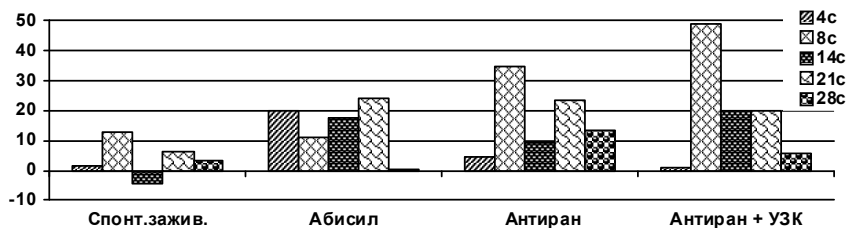
Таблица 1

*Динамика сокращения раневой поверхности длительно незаживающих ран в разных условиях эксперимента*

	Спонтанное заживление		Абисил-1		Антиран		Антиран + УЗК	
	S, мм <sup>2</sup>	Y, %	S, мм <sup>2</sup>	Y, %	S, мм <sup>2</sup>	Y, %	S, мм <sup>2</sup>	Y, %
до леч.	866,5	0	866,2	0	884,5	0	910,0	0
4 сут.	852,0	1,4	685,5	20,0	828,0	4,6	895,5	1,3
8 сут.	753,0	14,4	627,0	31,1	544,5	39,6	471,0	50,6
14 сут.	769,5	9,9	417,0	48,7	439,5	48,9	282,0	70,4
21 сут.	729,0	16,4	238,5	72,8	243,0	72,7	85,5	90,5
28 сут.	727,5	19,7	235,5	73,0	139,5	85,9	37,5	96,1

Из представленных данных видно, что спонтанное заживление ДНР идет медленно, площадь ДНР за 4 недели уменьшается всего на 19,7 %, а все используемые в эксперименте препараты значительно ускоряли заживление ДНР, но в динамике этого процесса имелись отличия. При использовании препарата Абисил-1 в первые 4 суток заживление ДНР проходило быстрее, а в последующие сроки – медленнее, чем при использовании препарата Антиран, особенно, в сочетании Антирана с УЗК. К 8-м суткам от начала лечения самое быстрое уменьшение площади ДНР по отношению к исходному размеру наблюдалось при лечении Антираном в сочетании с УЗК, на 2 месте – монотерапия Антираном, на 3 месте – Абисилом. К 14-м суткам при использовании Абисила-1 площадь ДНР была такой же, как при лечении Антираном, но вариационный размах был в 2–5 раз больше. Сочетание Антирана с УЗК показало наибольшее уменьшение площади ДНР на 14-е сутки лечения и к концу наблюдения (на 28-е сутки – на 96,1 %), что визуально соответствовало практически полной эпителизации раневой поверхности. На 2 месте по этому показателю была монотерапия Антираном (85,9 %), на 3 месте – Абисилом-1 (73 %).

На рисунке 1 показана динамика индекса скорости заживления, который отражает поэтапное изменение площади ДНР в процентах от ее значения в предыдущий срок наблюдения. Поскольку в остром опыте не представлялось возможным проследить уменьшение площади ДНР в течение всех сроков наблюдения у одного и того же животного, значение индекса является относительной величиной (% от медианы) без оценки вариационного размаха.

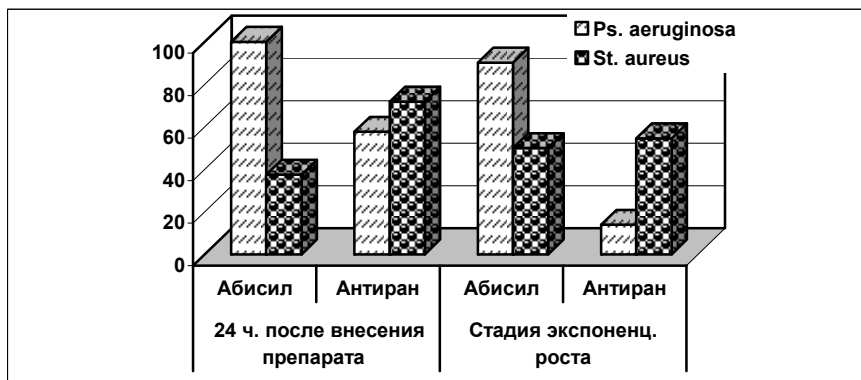


**Рис. 1.** Индекс заживления длительно незаживающих ран.

Из представленных данных видно, что при спонтанном заживлении скорость закрытия ДНР была максимальной (13 %) на 8-е сутки раневого процесса. На 14-е сутки площадь ДНР немного увеличивается. В последующие сроки заживление идет относительно медленно. При лечении Абисилом-1 в первые 4 суток заживление ДНР идет активно, к 8-м суткам скорость заживления снижается почти вдвое, на третьей неделе – вновь возрастает, но на четвертой неделе падает почти до нуля, хотя поверхность ДНР закрыта в этот срок всего на 73 %. При лечении Антираном скорость сокращения площади ДНР была наиболее активной к 8-м суткам, к 14-м суткам несколько замедлялась, к 21-м суткам вновь активизировалась, к 28-м суткам снова замедлялась, но, тем не менее, ДНР закрылась на 85,9 %. В условиях лечения ДНР препаратом Антиран в сочетании с УЗК максимальная скорость закрытия ДНР наблюдалась в период с 4 по 8-е сутки и по величине в 1,5–2 раза превышала максимальное значение этого показателя в других сериях эксперимента. На 14 и 21-е сутки скорость заживления ДНР снизилась в 2,5 раза, а к 28-м суткам – почти в 9 раз (по отношению к скорости заживления через 8 суток), тем не менее, на 28-е сутки ДНР была закрыта на 96,1 %. Таким образом, наиболее быстро и полно раневая поверхность длительно незаживающей раны закрывается при комплексном лечении препаратом Антиран и УЗК.

## 2. Бактериологическое исследование длительно незаживающих ран

В исследованиях *in vitro* была оценена степень токсичности испытуемых препаратов в отношении бактерий, инфицирующих рану. Из представленных на рисунке 2 результатов видно, что наиболее мощным антибактериальным действием обладает Антиран, при внесении которого в монокультуру погибло в течение первых 24 часов 42,3 % *Ps. aeruginosa* и 28,1 % *St. aureus*, а в стадию экспоненциального роста монокультуры численность бактерий нарастала значительно медленнее и оказалась меньше, чем в контроле (без внесения препарата): *Ps. aeruginosa* – на 86,1 %, *St. aureus* – на 45,4 %.



**Рис. 2.** Изменение численности бактерий в монокультуре под действием испытуемых препаратов (в % от их численности в контроле).

Абисил-1 оказывал в отношении *St. aureus* и бактерицидное, и бактериостатическое действие, уменьшая его численность на 62,5 % в течение суток после внесения в культуру и на 50 % – в стадию экспоненциального роста. В отношении *Ps. aeruginosa* Абисил-1 проявлял только слабо выраженный бактериостатический эффект, уменьшая ее численность в стадию экспоненциального роста лишь на 9,7 %.

Выявленные *in vitro* свойства испытуемых препаратов обусловлены, вероятно, их химическим составом. Так, в составе Антирана, проявляющего наиболее выраженные антибактериальные свойства, в виде водного раствора представлены очищенный терпеноид изоборнилацетат (10–15 %) и бензиловый спирт (3–4 %), обладающие бактерицидным действием, а также блоксополимер (28–30 %) с дегидратирующим эффектом. В отличие от Антирана, Абисил-1 является 20%-ым масляным раствором субстанции «Абисил» пихты сибирской, которое, в силу его природной неоднородности, невозможно стандартизировать по соотношению компонентов (терпеноиды, флавоноиды, фитогормоны, витамины, микроэлементы). Кроме того, масляные растворы значительно хуже, чем водные, проникают в ткани и через клеточную стенку бактерий.

В бактериологических исследованиях *in vivo* установлено, что начальная общая микробная обсемененность длительно незаживающей раны составляла  $2,0 \times 10^6$  КОЕ/см<sup>2</sup>. Штамм *St. aureus* изначально характеризовался наличием гемолитической и лецитиназной активности, а *Ps. Aeruginosa* – наличием гемолитической и фибринолитической активности. Известно, что лецитиназа оказывает токсическое действие на фагоцитирующие клетки, подавляя клеточный иммунитет (Смирнова А.М., Трояшкин А.А., Падерина Е.М., 1977). Гемолизирующая активность бактерий, как фактор патогенности, создает питательную среду для бактерий (Лабинская А.С., 2008), что способствует их активному размножению. Механизм действия плазмокоагулазы связывают с тромбированием капилляров и образованием фиброзного чехла вокруг микробных тел, препятствующего фагоцитозу (Смирнова А.М., Трояшкин А.А., Падерина Е.М.,

1977). Из этого следует, что плазмокоагулаза, вызывая тромбирование капилляров, способствует выходу плазмы в ткань, что сопровождается выпадением нитей фибрина, стимулирующего коллагеногенез (Серов В.В., Пауков В.С., 1995). Фибринолитическая активность способствует выживанию бактерий, уменьшая фибриновые отложения, а, следовательно, и плотность грануляционной ткани в репаративный период.

При спонтанном развитии длительно незаживающего раневого процесса к 4-м суткам наблюдения *Ps. aeruginosa* утрачивала свои факторы патогенности и теряла численность до 31–36 % (от исходной), в ДНР лидировал *St. aureus* (табл. 2), сохраняя свои факторы патогенности. Однако в последующие сроки *St. aureus* снижал численность до 8 %, и в ДНР начинала преобладать *Ps. aeruginosa*. К 14-м суткам она восстанавливала гемолитическую активность и увеличивала численность до 49 %, а *St. aureus* терял гемолитическую активность, но сохранял лецитиназную активность и приобретал новые факторы патогенности – плазмокоагулирующую и фибринолитическую активность, его численность возрастала до 23 %. Из этого следует, что в динамике спонтанно развивающегося раневого процесса происходит существенное ослабление патогенности *Ps. aeruginosa*, но усиление патогенности *St. aureus*. К 28-м суткам наблюдения соотношение бактерий уравнивалось, а общая обсемененность ДНР уменьшалась в 6,45 раз, по отношению к начальной.

В процессе лечения ДНР Абисилом-1 лидирующее положение бактерий постоянно менялось. Так, на 4-е сутки *Ps. aeruginosa* утрачивала гемолитическую и фибринолитическую активность и теряла численность до 28,6 % от исходной, в ДНР преобладал *St. aureus*, который сохранял свои факторы патогенности (лецитиназную и гемолитическую активность) и приобретал фибринолитическую активность. Через 8 суток *St. aureus* терял гемолитическую и фибринолитическую активность, и его численность падала до 10 %, тогда как *Ps. aeruginosa* приобретала плазмокоагулирующую активность, вновь увеличивала численность до 64,5 % и доминировала в ДНР. С 14-х суток до конца наблюдения *Ps. aeruginosa* теряла плазмокоагулирующую активность, и ее численность, несмотря на восстановление гемолитической и фибринолитической активности, снова уменьшалась до 22 %, тогда как *St. aureus* приобретал плазмокоагулирующую активность, его численность вновь возрастала (до 26 %), и через 21 сутки он снова лидировал в ДНР. На 28-е сутки численность *St. aureus* резко падала (до 6,2 %), и доминирующей становилась *Ps. aeruginosa*. Общая микробная обсемененность ДНР уменьшалась к концу наблюдения в 6,9 раза по отношению к исходной.

В ДНР, леченной Антираном, в течение всего наблюдения особенностью микробного пейзажа было постоянное доминирование *St. aureus*. Вероятно, это связано с более выраженным антибактериальным действием Антирана в отношении *Ps. aeruginosa*, которая уже через 4 суток утрачивает гемолитическую и фибринолитическую активность и стремительно теряет численность – к 4-м суткам до 10 %, к 8-м суткам до 1,4 % от исходной. В более поздние сроки численность *Ps. aeruginosa* снова увеличивалась (до 22,7 % к концу наблюдений),

что, вероятно, можно объяснить постепенным дренированием глубоких микроабсцессов. Доля *St. aureus* в общей микробной обсемененности составляла через 4 суток 78,7 %, через 8 суток – 94,9 %, через 14 суток – 86,6 %, через 21 сутки – 84 %. Исключение составил последний срок – 28 суток, когда соотношение бактерий уравнивалось. Такая устойчивость *St. aureus* обусловлена, вероятно, сохранением его лецитиназной активности в стадию экссудации и приобретением плазмокоагулирующей и фибринолитической активности в репаративную стадию воспаления. Общая обсемененность ДНР под действием Антирана снижалась на 8 и 14-е сутки в 7,3 раза, но к концу наблюдения незначительно увеличилась и была ниже исходного значения лишь в 4,4 раза, что можно объяснить пополнением жизнеспособных бактерий из микроабсцессов глубоких участков ДНР.

Таблица 2

**Соотношение бактерий в динамике гнойно-воспалительного процесса в длительно незаживающей ране ( $M \pm m$ , КОЕ  $\times 10^5/\text{см}^2$ )**

Группа животных	Сроки (сут.)	<i>St. aureus</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	Соотношение <i>St</i> : <i>Ps</i>
Исходная концентрация		10	10	1:1
Спонтанное заживление	4	3,8 $\pm$ 0,55*	3,1 $\pm$ 0,76*	1,2 : 1,0
	8	0,8 $\pm$ 0,26*/**	3,6 $\pm$ 0,6*/**	1,0 : 4,5
	14	2,3 $\pm$ 0,72	4,9 $\pm$ 1,45*	1,0 : 2,1
	21	2 $\pm$ 0,63	2,2 $\pm$ 0,9*	1,0 : 1,1
	28	1,5 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,5*	1,0 : 1,07
Абисил-1	4	3,9 $\pm$ 0,69	2,86 $\pm$ 0,5	1,36 : 1,0
	8	1 $\pm$ 0,21**	6,45 $\pm$ 1,5**	1,0 : 6,45
	14	2,5 $\pm$ 0,39	2,2 $\pm$ 1,16	1,0 : 1,1
	21	1,8 $\pm$ 0,27	0,9 $\pm$ 0,37	2,0 : 1,0
	28	0,7 $\pm$ 0,08*/**	2,2 $\pm$ 0,12**	1,0 : 3,14
Антиран	4	3,95 $\pm$ 0,6**	1,07 $\pm$ 0,3*/**	3,69 : 1,0
	8	2,59 $\pm$ 0,36*/**	0,14 $\pm$ 0,05*/**	18 : 1,0
	14	2,4 $\pm$ 0,31**	0,37 $\pm$ 0,12*/**	6,48 : 1,0
	21	2,66 $\pm$ 0,5**	0,5 $\pm$ 0,17**	5,3 : 1
	28	2,25 $\pm$ 0,3	2,27 $\pm$ 0,5	1 : 1
Антиран + УЗК	4	4,2 $\pm$ 0,58**	1,24 $\pm$ 0,2*/**	3,38 : 1,0
	8	4,8 $\pm$ 1,28*	1,9 $\pm$ 1	2,5 : 1,0
	14	2,5 $\pm$ 0,69**	0,68 $\pm$ 0,25*/**	3,68 : 1,0
	21	1,46 $\pm$ 0,2**	0,05 $\pm$ 0,03*/**	29,2 : 1
	28	2,93 $\pm$ 0,14*/**	0,59 $\pm$ 0,26**	4,97 : 1

**Примечание:** \* – различия с предыдущим сроком в данной группе,  $p < 0,05$ , \*\* – различия между концентрацией *St. aureus* и *Ps. aeruginosa* в данной группе,  $p < 0,05$ .

В ДНР, леченной Антираном в сочетании с УЗК, профиль патогенности бактерий изменялся так же, как при монотерапии Антираном, и в ДНР с 4-х суток наблюдения постоянно доминировал *St. aureus*. На 4-е сутки его доля в общей

микробной обсемененности составляла 77,2 %, на 8-е сутки – 71,6 %, на 14-е сутки – 78,6 %, на 21-е сутки – 96,7 %, на 28-е сутки – 83,2 %. Из этих данных видно, что при применении УЗК доля *St. aureus* на 8-е сутки наблюдения была ниже, а на 21 и 28-е сутки выше, чем при лечении только Антираном. Вероятно, это объясняется тем, что УЗК к 8-м суткам наблюдения выталкивает на поверхность содержимое микроабсцессов, содержащих жизнеспособную *Ps. aeruginosa*, а к 21 и 28-м суткам ДНР почти полностью очищается от этой бактерии и на поверхности, и в глубине. Это подтверждается и степенью общей обсемененности ДНР, которая при применении УЗК на 8-е сутки наблюдения была в 2,45 раза больше, чем при лечении Антираном без применения УЗК, а на 21 и 28-е сутки – меньше в 2,1 и в 1,3 раза, соответственно. В конце наблюдения общая обсемененность ДНР была снижена в 5,7 раза по отношению к исходной.

Таким образом, бактериологическое исследование показало, что наибольшей антибактериальной активностью обладает Антиран, особенно в сочетании с УЗК.

### **3. Морфологическое исследование длительно незаживающих ран**

После моделирования длительно незаживающей раны в эпидермисе и дерме регистрировались деструктивные процессы и воспалительный отек. Базальная поверхность эпидермиса сглаживалась, он терял роговой слой, а клетки ростковых слоев сильно набухали и имели вид «теней». Аналогичные изменения наблюдались в клетках волосяных фолликулов и сальных желез. Коллагеновые волокна дермы набухали и теряли способность окрашиваться, в сосудах наблюдалось полнокровие с краевым стоянием лейкоцитов, в основном, нейтрофилов, которые мигрировали в ткань, образуя очаговые скопления и многочисленные абсцессы разного размера.

**При спонтанном заживлении** (без лечения) через 4 суток поверхность ДНР была покрыта обильными гнойно-некротическими массами. Эпидермис по краям ДНР утолщался, около половины клеток ростковых слоев были некротизированы. В дерме формировался крупный абсцесс из плотного лейкоцитарного инфильтрата с преобладанием нейтрофилов (90 %), отграниченный макрофагально-фибробластической капсулой. Вокруг него лейкоцитарная инфильтрация была вдвое слабее ( $12,8 \pm 0,9$  клеток на  $1000 \text{ мкм}^2$ ), встречались микроабсцессы. На периферии зоны воспаления формировалась грануляционная ткань. Через 8 суток с поверхности ДНР продолжали отделяться гнойные массы. В центре абсцесса лейкоцитарный инфильтрат частично разрушался и замещался отечной жидкостью с детритом. К 14-м суткам объем абсцесса уменьшался вследствие прорыва макрофагально-фибробластической капсулы и частичного выхода содержимого на раневую поверхность. На 21–28-е сутки раневая поверхность была покрыта тонким слоем лейкоцитарного детрита, под который по краям нарастал эпидермис. Воспалительный отек не регистрировался, раневой дефект был заполнен грануляционной тканью с небольшим количеством микроабсцессов. Производные кожи не восстанавливались. Таким образом, спонтанное заживление ДНР развивалось относительно медленно.

*При лечении длительно незаживающих ран Абисилом-1* на 4-е сутки отделяемые гнойные массы были менее обильны. В ростковых слоях эпидермиса часть клеток сохранила нормальную структуру, поэтому эпидермис не утратил способность к росту и прорастал по краям ДНР под покрывающий ее поверхность лейкоцитарный вал, состоящий на 70 % из нейтрофилов и на 30 % из лимфоцитов и макрофагов. Под ним концентрировалось много активных фибробластов и макрофагов. Дно ДНР было заполнено хорошо развитой грануляционной тканью с микроабсцессами, в половине случаев встречались единичные крупные абсцессы. Грануляционная ткань отличалась высоким содержанием мононуклеарных лейкоцитов (лимфоцитов, моноцитов, макрофагов) и активных фибробластов (втрое больше, чем при спонтанном заживлении ДНР). На 8-е сутки количество гнойно-некротических масс существенно уменьшалось. Эпидермис утолщался, восстанавливал роговой слой и врастал вглубь ДНР. На поверхности раны оставался слой плотного нейтрофильного инфильтрата, под ним выявлялись разрушающиеся коллагеновые волокна дермы и полости с отеочной жидкостью. Воспалительный отек и умеренная лейкоцитарная инфильтрация распространялись в дерму на большую глубину. К 14-м суткам воспалительный отек убывал, микроабсцессы отсутствовали. Под поверхностным лейкоцитарным инфильтратом формировалась фиброзная капсула, а еще глубже – грануляционная ткань, которая отличалась высокой клеточностью и содержанием небольшого количества нейтрофилов (8–12 %), что указывает на пролонгирование миграции нейтрофилов в очаг воспаления. На 21-е сутки лечения эпидермис активно подрастал под струп. На незакрытой эпидермисом раневой поверхности оставался лейкоцитарный инфильтрат, под ним – ровная слоистая фиброзная ткань. В подлежащей грануляционной ткани все еще сохранялась слабая лейкоцитарная инфильтрация с небольшим содержанием нейтрофилов (8–10 %). На 28-е сутки морфологическая картина очага воспаления остается такой же. Таким образом, особенности длительно незаживающего раневого процесса в условиях лечения Абисилом заключаются в долго сохраняющемся воспалительном отеке и продолжительной миграции в очаг воспаления лейкоцитов, в том числе нейтрофилов, что обеспечивает активное заживление ДНР в течение трех недель. Однако, продолжительно мигрирующие в ткани ДНР нейтрофилы (секретирующие гидролитические ферменты и кислородные радикалы) пролонгируют процессы деструкции тканевых структур, что и является причиной задержки репарации ДНР на 4 недели лечения.

*В условиях лечения длительно незаживающих ран препаратом Антиран* на 4-е сутки наблюдения раневая поверхность была покрыта толстым слоем гнойно-некротических масс, под которыми располагался такой же толстый лейкоцитарный вал с плотностью клеток  $30 \pm 1$  на  $1000 \text{ мкм}^2$  (в нем 90 % – нейтрофилы). Несмотря на такое обилие гнойных масс, в эпидермисе отеочность была слабо выраженной, признаки дистрофии не обнаруживались, клетки сохраняли нормальную структуру, толщина эпидермиса не уменьшалась (в отличие от других серий эксперимента), по краям ДНР эпидермис подрастал под лейкоцитарный вал. В глубоких участках ДНР встречались микроабсцессы. На 8-е сутки поверхность ДНР полностью очищалась от гнойно-некротических масс и лейкоцитарного инфильтрата и была

представлена узкой полосой набухших коллагеновых волокон. Под ней располагалась грануляционная ткань без признаков отека, микроабсцессы отсутствовали. От эпидермиса в нее прорастали волосяные фолликулы. С 8 по 14-е сутки лечения Антираном морфологическая картина ДНР соответствовала фибробластической фазе воспаления и активной эпителизации раневой поверхности. На 21-е сутки в грануляционной ткани уменьшилась васкуляризация, увеличилась упорядоченность коллагеновых волокон и плотность ткани. На 28-е сутки восстановленный эпидермис имел достаточно большую толщину и начал ороговеть. Таким образом, отличительными чертами заживления ДНР при лечении Антираном являются отсутствие застойных явлений в сосудах раневого очага, уменьшение зоны воспалительного отека, быстрое очищение ДНР от инфекта и купирование реакции нейтрофилов, ускорение перестройки грануляционной ткани в нормальную соединительную ткань дермы. Вероятно, высокая антибактериальная активность Антирана лимитирует нейтрофильную реакцию, сопровождающуюся выбросом в ткань активных кислородных радикалов, токсичных не только для бактерий, но и для клеток раневого очага (в том числе, эпидермиса). Это объясняет лучшую сохранность тканей и более высокую активность репаративных процессов в раневом очаге.

*При лечении длительно незаживающих ран препаратом Антиран в сочетании с УЗК* на 4-е сутки раневая поверхность была полностью очищена от гнойно-некротических масс и представлена тонким слоем набухших коллагеновых волокон, под которым сохранялась умеренная лейкоцитарная инфильтрация с преобладанием мононуклеарных лейкоцитов и макрофагов, нейтрофилы были немногочисленны (10–15 %), что позволяет говорить о завершении лейкоцитарной фазы воспаления к этому сроку. Об этом же свидетельствует остаточный воспалительный отек и отсутствие застойных явлений в сосудах. Дно ДНР было заполнено грануляционной тканью, микроабсцессы отсутствовали. На 8-е сутки поверхность ДНР была покрыта плотным струпом, под который активно подрастал эпидермис с признаками гиперкератинизации. На 14-е сутки активно формировались волосяные фолликулы и сальные железы. На 21-е сутки кератинизация эпидермиса нормализовалась, подлежащая соединительная ткань уплотнялась и приобретала нормальное строение по большинству структурных признаков, отклонением от нормальной структуры дермы было лишь отсутствие ее разделения на сосочковый и сетчатый слои. К 28-м суткам в эпидермис начинала вращать соединительная ткань, формируя пока еще редкие, невысокие сосочки. Таким образом, в условиях лечения ДНР Антираном в сочетании с УЗК воспалительный процесс интенсифицируется, все его фазы проходят значительно быстрее, и через 3–4 недели происходит практически полное заживление ДНР. Поскольку этот способ лечения объединяет 2 воздействия – Антираном и УЗК, в его основе лежат два главных механизма: 1 – механическое очищение ДНР от гнойно-некротических масс (на поверхности и в глубине) с помощью обработки ДНР УЗК обуславливает быстрое завершение лейкоцитарной фазы и развитие репаративных процессов; 2 – антибактериальное и цитопротекторное действия Антирана обеспечивают

эффективное удаление бактерий, функциональную полноценность клеток очага воспаления и, как следствие, ускорение репаративных процессов.

#### 4. Результаты биохимического исследования длительно незаживающих ран

Для конкретизации явлений, отражаемых биохимическими показателями, проведен регрессионный анализ всех полученных данных, который выявил ряд зависимостей, общих для всех групп животных.

Установлено, что площадь ДНР с вероятностью 77 % изменяется прямо пропорционально концентрации МДА в ее тканях (в формуле указан весовой коэффициент):  $S_{\text{раны}} = 193,9 \text{ МДА}$  ( $R^2 = 0,77, p < 0,000009$ ). Следовательно, процесс заживления ДНР сопровождается снижением активности перекисного окисления липидов (ПОЛ). В свою очередь, концентрация МДА в тканях ДНР с вероятностью 43 % напрямую зависит от степени бактериальной обсемененности:  $\text{МДА} = 0,4 \text{ бактерий}$  ( $R^2 = 0,43, p < 0,0004$ ). При этом, как оказалось, уровень МДА определяют *Ps. aeruginosa* ( $\text{МДА} = 0,29 \text{ Ps. aeruginosa}$ ,  $R^2 = 0,2, p < 0,02$ ) и концентрация нуклеиновых кислот (НК) ( $\text{МДА} = 1,35 \text{ НК}$ ,  $R^2 = 0,17, p < 0,04$ ). И, наконец, концентрация НК в тканях ДНР с вероятностью 79 % прямо пропорциональна концентрации неколлагеновых белков (маркер тирозин – Тир) и обратно пропорциональна концентрации коллагена (маркер оксипролин – ОПр):  $\text{НК} = 1,18 \text{ Тир} - 0,07 \text{ ОПр}$  ( $R^2 = 0,79, \text{Тир} - p < 0,000003, \text{ОПр} - p < 0,001$ ), следовательно, НК отражают количество клеток в очаге воспаления, которое максимально в экссудативный период воспаления за счет лейкоцитарной инфильтрации. Необходимо отметить, что с вероятностью 20 % концентрация НК оказалась прямо пропорциональна концентрации стафилококка:  $\text{НК} = 0,14 \text{ St. aureus}$ , ( $R^2 = 0,2, p < 0,03$ ). В свою очередь, концентрация коллагена (маркер оксипролин) обратно пропорциональна концентрации стафилококка ( $\text{ОПр} = -0,87 \text{ St. aureus}$ ,  $R^2 = 0,34, p < 0,002$ ) и концентрации НК ( $\text{ОПр} = -3,09 \text{ НК}$ ,  $R^2 = 0,43, p < 0,0004$ ), иными словами, в репаративный период лейкоцитарная инфильтрация минимальна, а основной объем очага воспаления занимают коллагеновые волокна грануляционной ткани. В совокупности представленные данные отражают классический паттерн воспалительного процесса (Серов В.В., Пауков В.С., 1995). Из них следует, что высокие концентрации бактерий, МДА и НК характеризуют экссудативно-деструктивный период воспаления, сопровождающийся инфильтрацией тканей лейкоцитами, выбросом ими гистолитических ферментов и специфических белков (маркер Тир), образованием супероксидных радикалов, что ведет к уничтожению бактерий. Репаративный период воспалительного процесса отражает концентрация коллагена (маркер ОПр), которая изменяется обратно пропорционально показателям экссудативно-деструктивного периода.

Данные биохимического исследования представлены в таблице 3.

Концентрация МДА у всех групп животных достигала максимума на 4-е сутки, затем начинала снижаться, к концу наблюдения достигала минимума, который при лечении Антираном (с УЗК и без нее) соответствовал интактной ткани. Поскольку высокая концентрация МДА характерна для экссудативно-деструктивных процессов, можно считать временной период снижения ее кон-

центрации началом репаративных процессов, а нормализация этого показателя говорит о завершении воспаления. В соответствии с этим, полное завершение воспалительного процесса наблюдалось только в условиях лечения раны Антираном (как в сочетании с УЗК, так и без нее).

Таблица 3

**Изменение концентрации МДА ( $M \pm m$ , мкмоль/г) в тканях длительно незаживающей раны в динамике ее заживления**

Группа животных	Сроки наблюдения				
	4 сут.	8 сут.	14 сут.	21 сут.	28 сут.
Изменение концентрации МДА ( $M \pm m$ , мкмоль/г)					
Спонт. заживление	14,4 ± 0,75 <sup>1</sup>	14,03 ± 0,1 <sup>1</sup>	13,73 ± 0,04 <sup>12</sup>	12,7 ± 0,03 <sup>12</sup>	12,42 ± 0,08 <sup>12</sup>
Абисил	14,9 ± 0,12 <sup>1</sup>	14,01 ± 0,07 <sup>12</sup>	12,7 ± 0,14 <sup>123</sup>	11,6 ± 0,08 <sup>123</sup>	12,04 ± 0,03 <sup>123</sup>
Антиран	14,4 ± 0,2 <sup>1</sup>	13,85 ± 0,39 <sup>1</sup>	12,8 ± 0,4 <sup>13</sup>	12 ± 0,4 <sup>1</sup>	11 ± 0,5 <sup>3</sup>
Антиран + УЗК	13,6 ± 0,24 <sup>13</sup>	13,2 ± 0,5 <sup>1</sup>	12 ± 0,12 <sup>13</sup>	11 ± 0,1 <sup>13</sup>	10,2 ± 0,35 <sup>3</sup>
Изменение концентрации нуклеиновых кислот ( $M \pm m$ , мкг/100 мг ткани)					
Спонт. заживление	2,3 ± 0,04 <sup>1</sup>	2,6 ± 0,07 <sup>12</sup>	2,3 ± 0,05 <sup>12</sup>	2,05 ± 0,03 <sup>12</sup>	1,8 ± 0,03 <sup>12</sup>
Абисил	2,46 ± 0,17	2,8 ± 0,06 <sup>13</sup>	2,3 ± 0,02 <sup>12</sup>	2,05 ± 0,03 <sup>12</sup>	1,87 ± 0,01 <sup>12</sup>
Антиран	2,8 ± 0,08 <sup>13</sup>	2,83 ± 0,13 <sup>1</sup>	2,67 ± 0,1 <sup>13</sup>	2,58 ± 0,09 <sup>13</sup>	2,16 ± 0,08 <sup>23</sup>
Антиран + УЗК	2,92 ± 0,06 <sup>13</sup>	2,95 ± 0,08 <sup>13</sup>	3,02 ± 0,03 <sup>13</sup>	2,7 ± 0,08 <sup>123</sup>	2,15 ± 0,06 <sup>23</sup>
Изменение концентрации тирозина ( $M \pm m$ , мг/100 мг ткани)					
Спонт. заживление	0,99 ± 0,04 <sup>1</sup>	1,1 ± 0,05 <sup>1</sup>	0,8 ± 0,02 <sup>12</sup>	0,72 ± 0,02 <sup>12</sup>	0,78 ± 0,02 <sup>1</sup>
Абисил	0,9 ± 0,03	1,44 ± 0,03 <sup>123</sup>	1,03 ± 0,07 <sup>23</sup>	0,9 ± 0,01 <sup>3</sup>	0,88 ± 0,02 <sup>3</sup>
Антиран	0,95 ± 0,01 <sup>1</sup>	1,35 ± 0,1 <sup>1</sup>	1,25 ± 0,05 <sup>13</sup>	1,03 ± 0,05 <sup>13</sup>	0,94 ± 0,05 <sup>23</sup>
Антиран + УЗК	1,26 ± 0,02 <sup>13</sup>	1,48 ± 0,05 <sup>123</sup>	1,25 ± 0,02 <sup>123</sup>	1,025 ± 0,04 <sup>123</sup>	0,92 ± 0,04 <sup>3</sup>
Изменение концентрации оксипролина ( $M \pm m$ , мг/100 мг ткани)					
Спонт. заживление	8,7 ± 0,16 <sup>1</sup>	10 ± 0,05 <sup>12</sup>	12,6 ± 0,17 <sup>12</sup>	14,05 ± 0,06 <sup>12</sup>	15,02 ± 0,2 <sup>12</sup>
Абисил	9,7 ± 0,13 <sup>13</sup>	10,9 ± 0,09 <sup>123</sup>	12,45 ± 0,06 <sup>12</sup>	13 ± 0,04 <sup>123</sup>	14,2 ± 0,09 <sup>123</sup>
Антиран	9,5 ± 0,1 <sup>1</sup>	13,5 ± 0,1 <sup>1</sup>	12,5 ± 0,5 <sup>13</sup>	10,3 ± 0,05 <sup>13</sup>	9,4 ± 0,05 <sup>23</sup>
Антиран + УЗК	8,3 ± 0,18 <sup>1</sup>	10,7 ± 0,4 <sup>12</sup>	11,9 ± 0,4 <sup>1</sup>	10,6 ± 0,15 <sup>123</sup>	10,9 ± 0,12 <sup>13</sup>

**Примечание:** в интактной ткани МДА = 10,65 ± 0,3; НК = 2,19 ± 0,02; Тиро-зин = 0,89 ± 0,01; Оксипролин = 6,97 ± 0,06. <sup>1</sup> – отличие от интактной ткани при  $p < 0,05$ , <sup>2</sup> – отличие от предыдущего срока при  $p < 0,05$ , <sup>3</sup> – отличие от спонтанного заживления при  $p < 0,05$ .

Концентрация в тканях ДНР НК, отражающая количество клеток, тоже достигала максимума в начальные сроки воспалительного процесса и при спонтанном заживлении ДНР была на 7–13 % ниже, чем в условиях лечения всеми испытываемыми способами. К концу наблюдения концентрация НК уменьшалась в условиях лечения Антираном до уровня интактных тканей, а при спонтанном заживлении и лечении Абисилом-1 – ниже уровня интактных тканей, особенно, при спонтанном заживлении (ниже на 22 %) и в условиях лечения Абисилом (ниже на 17 %).

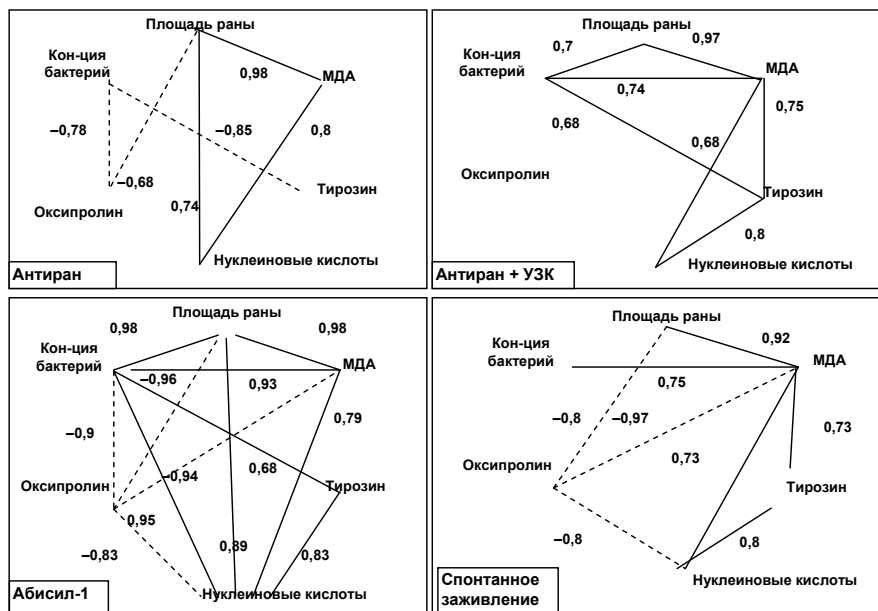
Представленные данные дают возможность выявить следующую закономерность: если лейкоцитарный инфильтрат формируется быстро, это означает, что лейкоциты функционально более активны, инфекция устраняется быстрее, репаративные процессы развиваются и завершаются раньше и без избыточной продукции грануляционной ткани. При недостаточной функциональной активности лейкоцитов формирование лейкоцитарного инфильтрата и очищение ДНР происходит медленнее. Учитывая, что дериваты коллагена (образующиеся при расщеплении коллагеновых волокон ферментами нейтрофилов) стимулируют коллагеногенез (Серов В.В., Шехтер А.Б., 1981), пролонгированная лейкоцитарная инфильтрация способствует избыточному образованию грануляционной ткани, в которой, как правило, волокнистых структур больше, чем клеток (поэтому концентрация НК падает ниже, чем в интактных тканях).

Концентрация тирозина имеет положительную регрессионную взаимосвязь с концентрацией НК, определяющей количество лейкоцитов в тканях. В связи с этим, можно считать, что уровень тирозина отражает количество продуцируемых лейкоцитами белков, к которым можно отнести гидролитические ферменты лизосом, катионные белки нейтрофилов, ферменты, участвующие в обмене супероксидных радикалов, а также цитокины, факторы роста эпидермиса, сосудов, нервов и другие биологически активные белки. Следовательно, можно ожидать, что при высоком уровне тирозина в ДНР ее очищение от масс тканевого детрита будет более активным. У всех групп животных концентрация тирозина (как МДА и НК) нарастала в ранние сроки наблюдения и достигала максимума к 8-м суткам, но при спонтанном заживлении ДНР она была на 20–37 % ниже, чем при лечении ДНР всеми способами. Вероятно, поэтому спонтанное заживление ДНР проходит медленно. При лечении Антираном концентрация тирозина была выше на 20 %, Абисилом-1 – на 30 %, Антираном в сочетании с УЗК – на 33 %. Из этого следует, что максимальная стимуляция клеток к продукции ферментов и других белковых медиаторов воспаления происходит под действием сочетания Антирана с УЗК.

Концентрация оксипролина (маркер коллагена) у всех животных нарастала, начиная с ранних сроков наблюдения до 14-х суток. С 14 по 28-е сутки при спонтанном заживлении и при лечении Абисилом она продолжала нарастать и превысила этот показатель в интактных тканях, в 2,15 раза. В условиях лечения Антираном количество оксипролина в тканях ДНР с 14-х суток начинало снижаться и к концу наблюдения превышало уровень в интактных тканях в 1,5 раза (без УЗК) и в 1,4 раза (с УЗК). Представленные данные свидетельствуют о том, что коллагеногенез начинается на этапе развития экссудативно-деструктивных процессов и еще более активируется в репаративный период. В условиях спонтанного заживления и при лечении ДНР Абисилом-1 формируется объемный рубец из грануляционной ткани, что мы и наблюдали в морфологическом исследовании. В условиях лечения ДНР Антираном деструктивные процессы завершаются к 4–8-м суткам, репаративные процессы развиваются быстрее, рубец из грануляционной ткани формируется к 14-м суткам, а к 21–28-м суткам грануляционная ткань начинает перестраиваться в нормальную соединительную ткань дермы, что сопровождается частичной резорбцией коллагена (Серов В.В., Шехтер А.Б., 1981).

Интеграция полученных данных с помощью корреляционного анализа дала возможность выявить изменения в ауторегуляции воспаления, происходящие под действием испытываемых препаратов, а также отличительные особенности заживления ДНР в зависимости от условий эксперимента.

При спонтанном заживлении между показателями, отражающими механизмы ауторегуляции фаз воспаления, из 15 возможных взаимосвязей выявлено лишь 8 (рис. 3), что дает основание считать сниженной эффективность ауторегуляции процессов в очаге воспаления. Ведущим фактором воспалительного процесса является гиперактивность ПОЛ: концентрация МДА прочно связана со всеми показателями. С одной стороны, она имеет прямую связь с деятельностью лейкоцитов (НК, тирозин), с другой стороны, отражает бактериальную обсемененность ДНР и изменение площади ДНР. При этом концентрация бактерий не имеет значимой зависимости от количества и активности лейкоцитов, что, вероятно, и определяет пролонгацию экссудативно-деструктивных процессов. В свою очередь, продолжительная деструкция стимулирует избыточную продукцию коллагена, поверхность ДНР закрывается медленно (всего на 19,7% за 4 недели), в тканях ДНР сохраняется высокая концентрация МДА, формируется рубец с высоким содержанием коллагена.



**Рис. 3.** Корреляционные взаимосвязи (при  $p < 0,05$ ) между показателями, характеризующими динамику воспаления в длительно незаживающей ране. Обозначения: сплошная линия – прямая связь, пунктирная – обратная связь.

В условиях применения лекарственного препарата Абисил-1 в динамике заживления ДНР выявлено 12 взаимосвязей (рис. 3), следовательно, ауторегуляторные механизмы воспаления под влиянием Абисила приобретают более высокую

устойчивость, что, как правило, обеспечивается сопряжением механизмов регуляции центрального и локального (ауторегуляция) уровней. Концентрация МДА утрачивает ведущую роль, которую приобретают бактериальная обсемененность и лейкоцитарная инфильтрация (НК). Особенно важно появление 5 новых связей: концентрации бактерий с площадью ДНР, с уровнем НК, неколлагеновых белков и коллагена, а также площади ДНР с уровнем НК. Вероятно, это обусловлено двумя свойствами Абисила-1: антибактериальным действием и способностью активировать реакцию нейтрофилов, что значительно ускоряет заживление ДНР.

Применение препарата Антиран приводит, начиная с 4-х суток наблюдения, к дестабилизации взаимодействия клеток очага ДНР, которое характеризуется лишь 6 взаимосвязями (3 отрицательных и 3 положительных) (рис. 3). При этом деструктивные процессы отражены в 3-х прямых взаимосвязях – МДА, лейкоцитарной инфильтрации (НК) и площади ДНР, тогда как концентрация бактерий находится в обратной зависимости от уровня медиаторов воспаления и коллагена. Сокращение числа взаимосвязей дает основание считать, что результат заживления ДНР в условиях ее лечения Антираном определяется, в основном, собственными эффектами препарата. В частности, высокая антибактериальная активность Антирана объясняет быстрое очищение ДНР от инфекта, а активный рост эпидермиса, раннее формирование грануляционной ткани и ее созревание могут быть опосредованы снижением деструкции тканей и, соответственно, высокой сохранностью клеток и их функций. В этих условиях в тканях ДНР на 28-е сутки нормализуется концентрация МДА и содержится значительно меньше коллагена.

В условиях комплексного лечения ДНР препаратом Антиран и УЗК, начиная с 4-х суток наблюдения, во взаимоотношениях клеток, осуществляющих воспалительный процесс, выявляется лишь 7 взаимосвязей – только между показателями экссудативно-деструктивного периода и все положительные. В них выделяются два блока, связанные друг с другом через концентрацию МДА и количество бактерий. 1-й блок связывает концентрацию МДА, площадь ДНР и количество бактерий на ее поверхности. 2-й блок объединяет концентрацию МДА, нуклеиновых кислот и неколлагеновых белков. Таким образом, оба блока имеют общую составляющую – МДА и взаимосвязаны через прямую корреляцию между количеством бактерий и концентрацией неколлагеновых белков. Учитывая, что концентрация МДА и бактерий в данных условиях опыта с 4-х суток лечения была самой низкой, по сравнению с другими группами животных, можно считать, что именно УЗК, сохраняя механизмы ауторегуляции деструктивного периода воспалительного процесса, способствует быстрому удалению бактерий и продуктов ПОЛ, уменьшая, таким образом, деструкцию тканей ДНР. Показатель репаративной фазы (уровень коллагена) не имеет ни одной взаимосвязи с показателями деструктивного периода, что говорит об отсутствии ауторегуляторной стимуляции коллагеногенеза продуктами распада тканей. Тем не менее, это не препятствовало заживлению ДНР, а наоборот, стимулировало сокращение площади раневой поверхности: к 28 суткам остались не закрытыми всего 4 % поверхности ДНР. Морфологически уже с 14 суток наблюдения в грануляционной ткани регистрировались процессы

ее созревания – частичная редукция сосудов и уплотнение коллагеновых волокон. Из этого следует, что применение Антирана в сочетании с УЗК быстро купирует экссудативно-деструктивные процессы в очаге воспаления и ограничивает процесс фиброобразования, предупреждая образование грубого рубца.

Обобщая результаты исследования, можно сделать следующие выводы:

- Спонтанное заживление инфицированной ДНР идет медленно вследствие пролонгации экссудативно-деструктивных процессов, которые поддерживаются гиперактивацией процессов липопероксидации и недостаточной функциональной активностью лейкоцитарного звена воспаления и сопровождаются избыточным синтезом коллагена.

- В группе сравнения лечение инфицированной ДНР Абисилом-1 привело к обострению хронического воспаления, в результате чего сократилась продолжительность экссудативно-деструктивных процессов, увеличилась функциональная активность нейтрофилов, и ускорилось в 3,7–4 раза сокращение раневой поверхности, но активность коллагеногенеза не изменилась.

- В основных группах лечение ДНР препаратом Антиран (в сочетании с УЗК и без нее) значительно интенсифицировало течение и сократило продолжительность всех фаз воспаления, что привело к меньшей деструкции тканей раневого очага, к ранней и менее продолжительной стимуляции коллагеногенеза и полному завершению воспалительного процесса, ускорив сокращение поверхности ДНР при монотерапии Антираном в 4,4 раза, при комплексной терапии Антираном и УЗК в 4,9 раза.

Полученные экспериментальные данные позволяют считать, что терпенсодержащий препарат Антиран является эффективным ранозаживляющим средством, а сочетание Антирана с УЗК ускоряет заживление длительно незаживающей раны за счет уменьшения продолжительности всех фаз воспаления.

## ВЫВОДЫ

1. Терпенсодержащий препарат Антиран ускоряет заживление ДНР, активизирует эпителизацию и восстановление производных эпидермиса через 14 суток, сокращает поверхность ДНР за 28 суток на 85,9 %, а в сочетании с ультразвуковой кавитацией – на 96,1 %, в отличие от Абисила-1, под действием которого эпителизация и восстановление производных эпидермиса активизируются через 21 сутки, площадь ДНР сокращается через 28 суток на 73 %.

2. Антиран обладает высокой антибактериальной активностью, в опыте *in vitro* в первые 24 часа после его внесения в питательную среду снижает количество *Ps. atarginosa* на 42,3 %, *St. aureus* – на 28,1 %, а в стадию экспоненциального роста культуры – на 86,1 % и 45,4 % соответственно, за счет чего уменьшает бактериальную обсемененность ДНР в 7,3 раза через 8–14 суток, а в сочетании с ультразвуковой кавитацией – в 13,2 раза через 21 сутки. Абисил-1 оказывает умеренное бактерицидное действие только на *St. aureus* и снижает бактериальную обсемененность раны в 6,9 раза лишь к 28 суткам.

3. Концентрация МДА в тканях ДНР достигала максимума в экссудативно-деструктивный период воспаления и была выше при спонтанном заживлении и при воздействии Абисилом-1 на протяжении всего раневого процесса. При применении Антирана (как с УЗК, так и без нее) концентрация МДА к концу наблюдения снижалась до уровня интактных тканей.

4. Отличительной особенностью экссудативно-деструктивных процессов при воздействии Абисилом-1 является их интенсификация, распространенность воспалительного отека и продолжительная миграция нейтрофилов в раневой очаг (до 21 суток), а при воздействии Антираном (с УЗК и без нее) – сокращение продолжительности экссудативно-деструктивного периода до 8 суток, что сопровождалось быстрым нарастанием в тканях ДНР нуклеиновых кислот и неколлагеновых белков, уменьшением воспалительного отека и деструкции перифокальных тканей.

5. Грануляционная ткань под влиянием испытуемых препаратов начинала формироваться раньше – с 4 суток длительно незаживающего раневого процесса (при спонтанном заживлении – с 8 суток), но при спонтанном заживлении и воздействии Абисилом-1 к концу наблюдения характеризовалась избыточным содержанием коллагена, а при воздействии Антираном содержание коллагена в ней прогрессивно снижалось с 14 суток в связи с созреванием рубца.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Применение терпенсодержащего препарата Антиран и разработанного способа лечения длительно незаживающих ран может быть рекомендовано как лечебное средство больным с длительно незаживающими инфицированными ранами, трофическими язвами, пролежнями.

2. Лечение препаратом Антиран и применение разработанного способа лечения длительно незаживающих ран может применяться как самостоятельно, так и в комплексном лечении для подготовки ран к аутодермопластике.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Анализ перекисного окисления липидов хронических ран при лечении современными лекарственными препаратами / Л.К. Куликов, С.С. Казанков [и др.] // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины: матер. Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 50-летию ЧГМА. – Чита, 2003. – С. 287–289.

2. Кичинская Н.В., Казанков С.С., Калининко А.В. Хроническая рана и ее микробный пейзаж под влиянием лечения в эксперименте // Материалы научн.-практ. конф. хирургов, акушеров-гинекологов ВСЖД, 1–2 апр. 2003, Улан-Удэ. – Улан-Удэ, 2003. – С. 30–31.

3. Казанков С.С., Батороев Ю.К., Куликов Л.К. Сравнительная цитоморфологическая характеристика длительно незаживающих ран при лечении препаратами для наружного применения в эксперименте // Актуальные проблемы морфологии: Сб. науч. тр. – Красноярск, 2004. – С. 122–124.

4. Цито-морфологические аспекты течения раневого процесса длительно незаживающих ран при лечении препаратом «Антиран» в эксперименте / Л.К. Ку-

ликов, С.С. Казанков [и др.] // Актуальные проблемы клинической медицины: матер. XII науч.-практ. конф., посвящ. 25-летию Иркутского ГОУВа. – Иркутск, 2004. – С. 128–129.

5. Куликов Л.К., Казанков С.С., Кичинская Н.В. Сравнительная эффективность методов лекарственного лечения хронической раны в эксперименте // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – № 3 (41). – С. 233–234.

6. Изменения планиметрических показателей инфицированной хронической раны при ее лечении препаратами, содержащими биологически активные вещества / Л.С. Васильева, Л.К. Куликов, С.С. Казанков [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск, 2009. – Т. 90, № 7. – С. 46–49.

7. Изменения биохимических показателей грануляционной ткани при лечении хронических ран в эксперименте / Л.К. Куликов, С.С. Казанков [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск, 2009. – Т.84, № 1. – С. 49–51.

8. Морфология инфицированной хронической раны при ее лечении биологически активными препаратами наружного применения / Л.С. Васильева, С.С. Казанков [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск, 2009. – Т. 87, № 4. – С. 41–43.

9. Отдельные аспекты динамики хронической инфицированной раны при ее лечении препаратами, содержащими биологически активные вещества / С.С. Казанков [и др.] // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН – 2009. – № 3 (67). – С. 187–189.

10. Динамика микробного пейзажа в хронической экспериментальной ране при ее лечении препаратами, содержащими биологически активные вещества / Л.С. Васильева, Л.К. Куликов, С.С. Казанков [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск, 2010. – Т. 97, № 6. – С. 79–81.

11. Способ лечения хронических раневых процессов: пат. 2189814 Рос. Федерация: МКИ А61К 31/215, А61 N 7/00, А61 Р 17/02 / Куликов Л.К., Казанков С.С., Гармашов В.И.; заявитель Иркутский государственный институт усовершенствования врачей; патентообладатель Куликов Л.К., Казанков С.С., Гармашов В.И. – № 2001106893/14; заявл. 13.03.2001; опубл. 27.09.2002, Бюл. № 27.

### Список сокращений

БАВ	– биологически активные вещества
ДНР	– длительно незаживающая рана
МДА	– малоновый диальдегид
НК	– нуклеиновые кислоты
ОПр	– оксипролин
Тир	– тирозин
УЗК	– ультразвуковая кавитация

---

Подписано в печать 25.03.2011. Бумага офсетная. Формат 60x84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.

Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 1,0

Тираж 100 экз. Заказ № 030-11.

---

РИО НЦ РВХ СО РАМН

(Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел 29–03–37. E-mail: arleon58@gmail.com)