

**МЕТАБОЛИТОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ
ХРОНИЧЕСКИХ РАН**

Звягинцева Т.В., Халин И.В.

Харьков – 2011г.

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
Предисловие	5
Перечень условных сокращений	7
Глава 1. История лечения ран и современные представления о механизмах раневого процесса	9
Глава 2. Особенности заживления хронических ран.....	33
Глава 3. Основные принципы фармакотерапии длительно незаживающих ран.....	51
Глава 4. Эффективность лечения местных лучевых повреждений кожи АТФ, церебролизином, румалоном, андекалином в эксперименте.....	65
4.1. Фосфатазы, ацетилхолинэстераза, SH-группы в очаге повреждения при применении АТФ.....	65
4.2. Влияние церебролизина ромалона, андекалина в комбинации с АТФ на активность фосфатаз и содержание SH-групп в очаге.....	69
Глава 5. Фармакотерапевтическая эффективность церебролизина и пропеса при хроническом раневом процессе в эксперименте	75
5.1. Динамика местных проявлений заживления и общих реакций организма под влиянием церебролизина и пропеса.....	75
5.2. Влияние церебролизина и пропеса на состояние процессов ПОЛ в раневом очаге и периферической крови	80
5.3. Влияние церебролизина и пропеса на состояние антиоксидантной системы в раневом очаге и периферической крови.....	90
5.4. Влияние церебролизина и пропеса на содержание цитокинов в очаге и периферической крови	104

5.5.Морфологические изменения в раневом очаге при применении церебролизина и пропеса.....	112
Глава 6. Эффективность консервативного лечения местных лучевых повреждений метаболитотропными препаратами в клинике.....	140
Список использованных источников.....	152

Светлой памяти моего учителя –
профессора РЕЛИ УШЕРОВНЫ ЛИПШИЦ
и искусного врача МАРИИ
ВАСИЛЬЕВНЫ ЗВЯГИНЦЕВОЙ
посвящается.....

ПРЕДИСЛОВИЕ

Этот труд имеет свою историю. Толчком к поиску средств консервативной терапии для лечения длительно незаживающих ран и среди них тяжелейших – местных лучевых повреждений явилась клиническая ситуация. В 80-е годы прошлого столетия лучевая терапия спасла жизни многих больных, излечив их от онкологических заболеваний или хотя бы продлив длительность жизни. В то же время лучевая терапия стала причиной другого тяжелейшего страдания – лучевых поражений, особенно кожи. Врачи разных специальностей – хирурги, лучевые терапевты, дерматологи столкнулись с проблемой лечения и предотвращения развития лучевых язв, представляющих тяжелейший вариант длительно незаживающих ран, лучевых фиброзов. Обычные консервативные методы лечения в этом случае были неэффективны, а хирургические невозможны при локализации повреждений в области магистральных сосудов, нервных сплетений. Начав использовать метаболитотропные препараты по новым показаниям, врачи часто руководствовались своей интуицией, желанием сделать хоть что-то для облегчения участи страдающего. В этой связи нельзя не упомянуть о пионерских работах кандидата медицинских наук Марии Васильевны Звягинцевой, работавшей старшим научным сотрудником в Харьковском научно-исследовательском институте медицинской радиологии.

Понадобились многие годы чтобы доказать, прежде всего в эксперименте, целесообразность применения этих лекарственных средств при хронических раневых процессах, установить общие механизмы действия различных препаратов: целebroлизина, пропеса, румолона, андекалина и др.

Ключом к решению проблемы эффективного лечения хронических ран, по нашему мнению, может быть восстановление нормальной микросреды очага повреждения, а инструментом – метаболитотропные препараты.

Авторы надеются, что этот скромный труд станет не столько итогом, сколько перспективой для поиска и применения метаболитных препаратов для лечения хронических ран разной этиологии.

Т.В. Звягинцева 2010г., Харьков

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АОС – антиоксидантная система

АК – антиоксидантный коэффициент

АФК – активные формы кислорода

АХЭ – ацетилхолинэстераза

ВКМ – временный внеклеточный матрикс

Гр – Грей

ДК – диеновые конъюгаты

усл. ед. опт. пл. – условная единица оптической плотности

Кат – каталаза

КФ – кислая фосфатаза

МДА – малоновый диальдегид

мккат/г белка – микрокатал на 1 грамм белка

мккат/л – микрокатал на 1 литр

мкмоль/г белка – микромоль на 1 грамм белка

мкмоль/л – микромоль на 1 литр

МЦР – микроциркуляторное русло

ОФ – окислительное фосфорилирование

пг/мл – пикограмм на 1 мл

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПЯЛ - полиморфно-ядерные лейкоциты

ТБК-АП – тиобарбитуровой кислоты активные продукты

СОД – супероксиддисмутаза

ЩФ – щелочная фосфатаза

IFN-интерферон

IL – интерлейкин

ММР – матричные металлопротеиназы

PDGF – тромбоцитарный фактора роста

TGF – трансформирующий фактор роста

TNF – фактор некроза опухолей

VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста

Глава 1. История лечения ран и современные представления о механизмах раневого процесса

Во все времена ранами считали механические повреждения целостности кожи или слизистых оболочек. Однако в наше время понятие “рана” рассматривается шире и включает повреждение под действием не только механических, но и лучевых, тепловых, химических, эндогенных и др. факторов, а также повреждения внутренних органов [1]. Самое раннее документальное упоминание о ранах обнаружено на "Папирусе Эбера", возраст которого примерно 1500 лет до н.э. Этот документ говорит о том, что египтяне для лечения ран использовали лягушачью кожу, мед, животный жир, вино. В книге известного индийского врача Сушруты Саниты (более 700 лет до н.э.) говорится о применении кожного лоскута на ножке [2]. Огромный вклад внес в учение о ранах Гиппократ (460-377 гг. до н. э.). С него практически начинается наука о заживлении раны, он впервые сформулировал понятие первичного и вторичного заживления раны, требовал, чтобы операционное поле было чистым и покрыто чистой тканью. Есть данные об использовании в разное время паутины, новорожденных щенят в кипящем масле белых лилий, прижигания раскаленным железом [3]. Амбруаз Парэ (1509-1590) доказал, что раны лучше заживают, если их не прижигать железом или кипящим маслом, он лечил раны мазью из скипидара, розового масла и яичных желтков, использовал зашивание ран [1]. Развитию учения о ранах в немалой степени способствовали многочисленные войны 17-18 веков. Военный хирург Бильгер (1720-1796) первый стал широко рассекать раны. Принципа рассечения раны и наложения швов придерживался русский хирург Чаруковский [4]. Во время Крымской войны 1854-1856 гг. Н.И.Пирогов сделал большой прорыв не только в развитии военно-полевой хирургии, но и в учении о ранах. Он впервые для лечения ран применял хлорную известь, спирт и йодную настойку. Сформулировал

принципы лечения ран, которые в настоящее время лежат в основе лечения почти любой раны [5]. Еще не так давно считалось, что в ране необходимо создание влажной среды и для этого использовались окклюзионные повязки из глины [6]. В 19 веке Луи Пастер говорил, что рана должна быть сухая, и укрытая от внешней среды, для предотвращения попадания микробов. После этого перевязочному материалу стали уделять значительно больше внимания: появились тканевые повязки из хлопка, марли. Перевязка раны стала неотъемлемым компонентом в лечении ран и в наше время. Первые фабричные перевязочные материалы появились в 19 веке, это были обезжиренные хлопковые повязки похожие на современную ватно-марлевую повязку, одним из главных свойств которых было абсорбция жидкости [7]. Во время первой мировой войны 1914-1918, француз Lumiere разработал марлю, пропитанную парафином, для предотвращения прилипания повязки к ране [8]. В качестве средств для лечения ран Д. Листер предлагал карболовую кислоту, сулему, йодоформ, борную кислоту, лизол, анилиновые краски и др. антисептики. Однако во время войны из-за большого количества гнойных осложнений хирурги перешли от окклюзионной повязки и местной консервативной терапии к активному хирургическому лечению. Полное признание необходимости активной хирургической обработки огнестрельной раны было важнейшим итогом медицинской практики первой мировой войны. А главным выводом из Второй мировой войны можно считать двухэтапность вмешательства: первичная хирургическая обработка и отсроченный или вторичный шов [9].

В настоящее время раневой процесс рассматривается как сложный комплекс общих и местных реакций организма в ответ на повреждение, обеспечивающий заживление. Общие закономерности заживления ран не зависят от этиологии, локализации раны, вида организма, однако эти особенности накладывают некоторый отпечаток на течение раневого процесса. Заживление ран – это многоуровневый, упорядоченный процесс, который состоит из воспаления, регенерации, миграции и пролиферации, синтеза белков внеклеточного матрикса, ремоделирования соединительнотканых и

паренхиматозных компонентов, коллагенизации и обретения прочности [1]. В связи с этим выделяют фазы течения раневого процесса. Существует несколько классификаций фаз. Многообразие классификаций обусловлено постоянным изменением представлений о механизмах развития ран ввиду открытия новых звеньев патогенеза. Е. Howes в зависимости от изменения силы натяжения рубца различал: 1 фазу – латентную, 2 – фиброплазии, 3 – созревания, укрепления рубца [10]. И.Г. Руфанов разделял течение раневого процесса на две фазы – гидратации и дегидратации. На основании морфологических особенностей С.С. Гирголав выделял: 1 фазу – подготовительную, 2 – регенерации, 3 – реорганизации. Такие же по сути фазы предлагал и R. Ross: воспаление, пролиферация, ремоделирование. М.И. Кузин предложил разделить первую фазу на два периода, что более точно отражает патогенез раневого процесса: 1 фаза – воспаление, включающая периоды сосудистых реакций и очищения раны от омертвевших тканей, 2 фаза – регенерация, в течение которой происходит образование и созревание соединительной ткани, 3 фаза – реорганизация рубца и эпителизация [1, 11-13].

Раневое заживление – динамический процесс, который вовлекает в себя сложные взаимодействия молекул внеклеточного матрикса, медиаторов, различных резидентных клеток и мигрировавших подтипов лейкоцитов. У любой раны этот процесс происходит с участием одних и тех же клеток и межклеточных структур, обуславливающих сходную общую динамику раневого процесса как сложнейшего и древнейшего эволюционно сформировавшегося типового процесса, в основе которого лежат такие типовые патологические процессы, как воспаление, нарушения микроциркуляции, периферического кровообращения и тканевого роста.

Классически раневой процесс протекает в следующие временные сроки: 1-2 часа – кровотечение и экссудация, набухание тканей, ацидоз; 2 часа – распад структуры основной субстанции, внеклеточное активирование ферментов; 4-6 часов – гиперемия, выпадение фибрина, эмиграция лейкоцитов; 6-8 часов распад клеток и продолжение распада тканей; 8-16 часов – активирование

клеточных ферментов, фагоцитоз; 16-32 часа – пролиферация клеток; 32-72 часа – активация фибробластов (увеличение общего содержания основного вещества и коллагена), капилляризация; 3 – 4-е сутки – образование основной субстанции; 6 – 7-е сутки – набухание коллагеновых волокон и их созревание, максимальное сокращение раны, эпителизация; 11 – 14-е сутки – снижение обмена веществ; 15 – 21-е сутки – уменьшение числа клеток, образование рубца (рис 1.1).

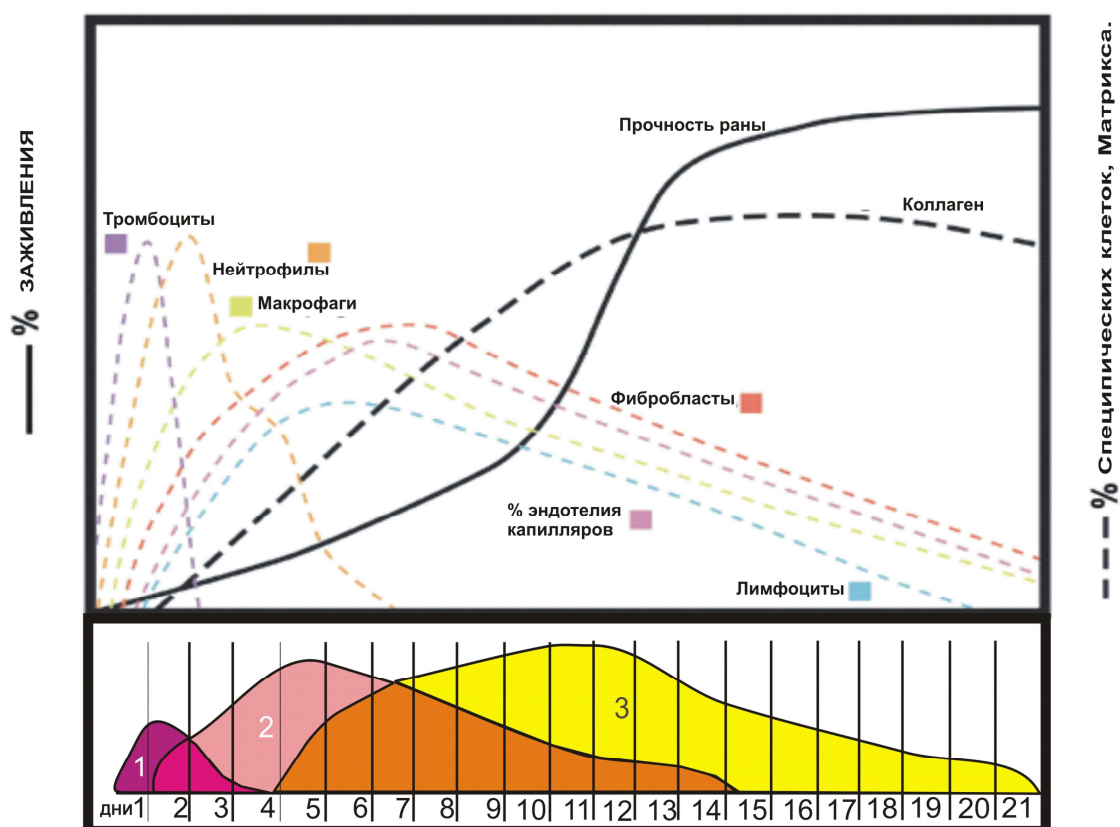


Рис.1.1 Схема нормального заживления острой раны (1 воспаление, 2-пролиферация, 3- ремоделирование)

Идеальным вариантом заживления раны является первичное натяжение. Остальные варианты представляют собой отклонение от этого хода, а попытки ускорить процесс заживления осложненной раны рассматриваются как приближение течения раневого процесса к первичному натяжению.

Непосредственная цель заживления состоит в достижении целостности ткани, восстановления гомеостаза [14, 15]. Для достижения этой цели основные

три фазы заживления: воспаление, формирование ткани (репарация) и ремоделирование ткани накладываются одна на другую во времени и пространстве. В течение воспалительной стадии агрегация тромбоцитов сопровождается проникновением лейкоцитов в очаг. Во время репарации эпителий и вновь сформированная грануляционная ткань, состоящая из эндотелиальных клеток, макрофагов и фибробластов, начинает выполнять и покрывать область раны, чтобы восстановить целостность ткани. Синтез, ремоделирование и смещение структурных молекул внеклеточного матрикса являются обязательными для инициирования и прогрессирования заживления раны. Клеточные реакции на повреждение включают прямые взаимодействия клетка-клетка и клетка-матрикс и непрямые, осуществляемые медиаторами. Очень важны сложные взаимодействия между эпидермисом и дермой. В течение прошлого десятилетия были идентифицированы многочисленные факторы, которые участвуют в реципрокном диалоге между эпидермальными и дермальными клетками для эффективного заживления раны [16]. Для достижения гомеостаза после повреждения важную роль играет постоянный баланс между стимулирующими и ингибирующими медиаторами в течении различных стадий заживления.

Раневое **воспаление** подчиняется всем закономерностям воспаления как такового. Воспалительный ответ – это первый из множества накладывающихся друг на друга процессов, которые составляют заживление раны. В этой фазе одновременно запускается механизм гемостаза и формируются основные признаки воспаления: *tumor* (покраснение), *calor* (повышение температуры), *tumor* (отек), *dolor* (боль), и *functio laesa* (нарушение функции) [17]. Основным клеточным компонентом воспалительного ответа является лейкоцитарный инфильтрат. Лейкоциты не только борются с патогеном, но и участвуют в деградации поврежденной и формировании новой ткани. Различные нарушения притока лейкоцитов в поврежденную ткань влекут за собой уменьшение миграции, пролиферации, дифференцировки, и, в конечном счете, качества заживления, поэтому механизмы регуляции движения клеток в раневом очаге

очень важны. Уже довольно долго считается, что воспалительный ответ способствует экспрессии факторов роста и цитокинов, которые регулируют клеточные и тканевые передвижения, необходимые для заживления [18, 19]. На различных экспериментальных моделях ран, а также в клинике показано, что воспалительный ответ в течение неосложненного заживления характеризуется пространственными и временными изменениями совокупностей из клеток лейкоцитарного дифферона [15, 16, 20]. Четкая хронология этих событий обеспечивает оптимальное заживление.

Начальными эффекторами воспаления, по всей вероятности, являются вегетативные нейроны, нейропептид-содержащие С-волокна, клетки соединительной ткани (тучные клетки, резидентные макрофаги, фибробласты), факторы тканевой жидкости (кининоген, комплемент). Флогоген вызывает первичную альтерацию, которая есть не что иное, как повреждение и активация вышеуказанных клеток и биохимических факторов тканевой жидкости. Последствием первичной альтерации является высвобождение и образование медиаторов воспаления, осуществляющих вторичную альтерацию - лизис некротического детрита, микроорганизмов и повреждение в то же время собственной ткани. Именно вторичная альтерация инициирует экссудацию, эмиграцию и пролиферацию, обеспечивая собственную регуляцию и создавая автоматизм воспалительной реакции.

Многими авторами [1, 21, 22] воспаление рассматривается как ауторегуляторная автоматическая реакция, обеспечивающая собственное развертывание, поддержание и стихание. Осуществление этой реакции происходит путем сложных межклеточных взаимодействий, в регуляции которых первостепенную роль играет медиаторный каскад.

Все известные медиаторы по происхождению делятся на два типа: гуморальные, происходящие из тканевой жидкости и плазмы (система комплемента, свертывания крови и калликреин-кининовая система), и клеточные – из клеток ткани и крови. Последние, в свою очередь, также делятся на предсуществующие, то есть имеющиеся в клетках и жидкостях до активации

(вазоактивные амины, лизосомальные факторы, нейропептиды), и вновь образующиеся или мембраносвязанные, продуцирующиеся при активации клеток: метаболиты арахидоновой кислоты (простагландины, лейкотриены, тромбоксан A_2 , липоксины), монокины (интерлейкин- 1β (IL- 1β), фактор некроза опухолей – α (TNF- α) и др.), лимфокины (фактор некроза опухоли- β (TNF- β), интерферон – γ (IFN- γ), IL-2 и др.), активные метаболиты кислорода (супероксиданион, перекись водорода, радикал гидроксила), окись азота и его активные метаболиты. Вызывая микроциркуляторные изменения, активацию различных форменных элементов, медиаторы воспаления осуществляют нарастание и развертывание воспалительных явлений в виде экссудации, эмиграции и пролиферации [20]. Три основных механизма экссудации включают: 1) повышение проницаемости сосудов; 2) увеличение кровяного давления в сосудах очага воспаления; 3) возрастание осмотического и онкотического давления в воспаленной ткани в результате альтерации и начавшейся экссудации. Эмиграция лейкоцитов с лейко-цитарной инфильтрацией ткани является главным компонентом воспаления. Лейкоциты служат основными клеточными эффекторами воспаления. Основным механизмом эмиграции состоит в явлении хемотаксиса. Хемотаксисами являются главным образом медиаторы воспаления. Среди них важную роль играют цитокины – монокины (TNF- α , IL- 1β), хемокины –IL-8, лимфо-кины, фибринопептиды, нейропептиды, кинины, факторы роста и др. [23].

Сразу после повреждения внесосудистые компоненты крови формируют гемостатический сгусток. Тромбоциты и полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ), слипшиеся в сгусток крови, выпускают множество разнообразных факторов, которые усиливают агрегацию, инициируют коагуляционный каскад и/или действуют как хемоаттрактанты для клеток, вовлеченных в воспалительную фазу [24]. В течение нескольких часов после травмы, благодаря активации провоспалительными цитокинами IL- 1β , TNF- α и IFN- γ , большое количество нейтрофилов мигрирует в очаг через эндотелиальную клеточную стенку капилляров, что в свою очередь ведет к экспрессии

различных классов адгезионных молекул, необходимых для лейкоцитарной адгезии и диапедеза. Адгезионные молекулы это – эндотелиальные Р- и Е-селектин, межклеточная адгезионная молекула (ICAM)-1,-2. Эти адгезины взаимодействуют с интегринами, находящимися на поверхности нейтрофилов CD11a/CD18, CD11b/CD18, CD11c/CD18 и CD11d/CD18 [25]. Хемокины и их рецепторы являются медиаторами для привлечения нейтрофилов в очаг заживления [26, 27]. К ним относятся IL-8, онкоген- α , и моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 (MCP-1) [28]. Кроме того, бактериальные продукты, такие как липополисахариды и формил-метионил пептиды, которые накапливаются в инфицированной ране, могут ускорить направленное передвижение нейтрофилов. Первоначально лейкоцитарная инфильтрация происходит за счет циркулирующего пула лейкоцитов, а затем также и вследствие усиленного кроветворения. Привлеченные нейтрофилы начинают очистку омертвевшей ткани и фагоцитоз инфекционных агентов. Для этого нейтрофилы выпускают множество очень активных антимикробных веществ (активные формы кислорода (АФК), катионоактивные пептиды, эйкозаноиды) и протеазы (эластаза, катепсин Г, протеиназа 3, активатор плазминогена) (табл. 1.1) [29, 30]. С помощью технологии микромножества показано, что перемещение полиморфонуклеаров к пораженному участку кожи запускает программу активации транскрипции, которая может регулировать исход и функцию клеток и обеспечивать заживление раны [31]. Подробное изучение полиморфонуклеаров, синтеза и высвобождения ими медиаторов, механизмов их привлечения, а также их роли в защите организма, показало двойственность этих клеток – они могут быть как полезны, так и вредны для процесса заживления. Эксперименты в 1970-х гг. показали, что истощение нейтрофилов иммунной сывороткой от морских свинок не нарушило значительно репарацию ткани резаных ран в абактериальной среде [18].

Клетки воспаления, их функция и медиаторы, освобождаемые при заживлении ткани

Тип клетки	Функция	Медиаторы
Тромбоцит	Агрегация Инициирование коагуляционного каскада Хемоаттракция	Тромбоцит активирующий фактор Серотонин, β -тромбоглобулин Эйкозаноиды
Полиморфно-ядерный лейкоцит	Фагоцитоз инфекционных агентов	АФК, катионоактивные пептиды, эйкозаноиды, протеазы (эластаза, катепсин Г, протеиназа 3, активатор плазминогена)
	Активация макрофагов, через фагоцитоз Усиление воспалительного ответа Стимуляция репарации	TNF- α , IL-1 β , IL-6 VEGF, IL-8
Макрофаг	Фагоцитоз ПЯЛ и фрагментов ткани Усиление воспалительного ответа Противовоспалительная функция Стимуляция репарации: ангиогенез, фиброплазия Фибролиз	TNF- α , IL-1 β , IL-6 IL-10, TGF- β 1 PDGF, VEGF, bFGF, TGF- α , TGF- β активаторы плазминогена
Тучная клетка	Контроль сосудистой проницаемости Контроль притока ПЯЛ Регуляция ремоделирования	Гистамин Химаза, триптаза
Т лимфоциты (Th1, Th2)	Регуляция ремоделирования	CD40 лиганд, IL-2, TNF- α , IL-4, -5, -10
$\gamma\delta$ Т лимфоциты	Пролиферация, дифференцировка кератиноцитов, синтез гиалурона	FGF-7, -10

В недавних исследованиях, используя подобный подход истощения нейтрофилов, ученые частично подтвердили данную теорию: несмотря на то, что дермальные параметры репарации не были нарушены нейтропенией, реэпителизация была значительно ускорена [32]. Однако, в этой теории

остаётся загадкой, оказывает ли несостоятельность полиморфонуклеаров прямой полезный эффект на реэпителизацию или относительное увеличение других субпопуляций воспалительных клеток, таких как макрофаги, могло быть ответственной за ускоренную эпителизацию. Недавний эксперимент *in vitro* продемонстрировал, что нейтрофилы, изолированные от участков репарации, могут проявлять фенотип и экспрессию профиля цитокинов макрофагов, таким образом, регулируя врожденный иммунный ответ в течении заживления [33]. Кроме того, показано, что закрытие резаных ран у CD18-истощенных мышей было значительно отсрочено, наиболее вероятно вследствие ухудшения дифференцировки миофибробластов и уменьшения контракции раны [34]. Авторы считали, что в CD18-дефицитных ранах, лишенных нейтрофилов, несостоятельность апоптоза нейтрофилов в очаге лишает макрофаги их основного стимула, чтобы секретировать трансформирующий фактор роста (TGF)- β 1, ключевой медиатор, ответственный за дифференцировку миофибробластов. Кроме того, нарушение заживления раны - кардинальная особенность человеческих болезней, которые характеризуются дефицитом функции полиморфонуклеаров, например синдром дефицита адгезии лейкоцита 1 [35].

По мере выполнения своих основных функций лейкоцитами явления эксудации и эмиграции стихают, в то же время усиливается пролиферация, приводящая в конечном итоге к восстановительным процессам в очаге. После фагоцитоза нейтрофилы гибнут путем апоптоза или поглощаются макрофагами [36].

После окончания стимуляции привлечения в рану нейтрофилов, инфильтрация ими очага уже через несколько дней прекращается, а отслужившие нейтрофилы фагоцитируются макрофагами, которые появляются в очаге в течение 2-х дней после повреждения. Эмиграция моноцитов начинается одновременно с выходом нейтрофилов. Осуществляется она благодаря высвобождению тромбоцитами и другими клетками факторов роста [37]. В очаге воспаления моноциты превращаются в макрофаги. Они играют

главную роль в стихании воспаления [38]. Наряду с резидентными макрофагами, большая часть макрофагов в очаг раны привлекается из крови. Принимая во внимание, что инфильтрация ПЯЛ из крови, прежде всего, регулируется комплексами CD11/CD18 и ICAM-1, диапедез моноцитов из крови в рану регулируется взаимодействием интегрина $\alpha 4\beta 1$ и молекулы эндотелиальной сосудистой клеточной адгезии-1 [39, 40]. Макрофагальная инфильтрация раны регулируется градиентами различных хемотактических факторов, включая факторы роста, провоспалительные цитокины и хемокины, макрофагальный воспалительный белок 1 α , MCP-1, RANTES [16, 41-43]. Главными источниками этих хемоаттрактантов в ране являются тромбоциты, которые находятся в сгустке фибрина на раневой поверхности, гиперпролиферативные кератиноциты краев раны, фибробласты и субпопуляции лейкоцитов. Моноцитарный экстравазат становится активизированным и дифференцируется в зрелые тканевые макрофаги путем изменения их фенотипа. Это обеспечивает адаптацию функции макрофагов к определенным условиям микросреды очага. [44-46]. Несмотря на то, что уже описаны многочисленные поверхностные клеточные рецепторы, через которые макрофаги общаются с микросредой, например, рецепторы комплемента, Fc-рецепторы, взаимодействия и механизмы, регулирующие активацию воспалительных клеток в определенной микросреде раны, изучены еще недостаточно [44, 47]. В процессе заживления раны, наряду с иммунологическими функциями (антигенпредставляющие клетки, фагоциты), макрофаги играют интегральную роль в успешном заживлении посредством синтеза многочисленных мощных факторов роста, таких как TGF- β , - α , основной фактор роста фибробластов (bFGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), которые вызывают пролиферацию клеток и синтез внеклеточных матричных молекул резидентными клетками кожи [48]. Обязательное участие макрофагов в репарации было установлено более 30 лет назад. Истощение макрофагов антисывороткой закончилось значительной задержкой заживления [19].

Недавнее исследование расширило эти данные: на Р-и Е-селектин-дефицитных мышах [49], мышах, дефицитных по ферменту β -1,4-галактозилтрансферазе, который гликозилирует Р-и Е-селектины [50] и ICAM-1-дефицитных мышах [51], была показана значительная задержка заживления раны, связанная со сниженной инфильтрацией нейтрофилов и макрофагов. Макрофаги продолжают секрецию медиаторов, фагоцитоз бактерий или других инородных тел (раневое очищение). Одновременно макрофаги вырабатывают TNF- α , IL-1 β , IL-6, которые обеспечивают регуляцию пролиферации фибробластов, отложения коллагена, ангиогенез [16]. Особенно активно макрофаги секретируют факторы роста и монокины на 3-е и 4-е сутки после нанесения раны. Эти вещества привлекают в очаг клетки, необходимые для пролиферации [52]. Гипоксия в раневом очаге стимулирует выработку макрофагами факторов роста, хемокина IL-8, необходимых для ангиогенеза, реэпителизации раневой поверхности, роста грануляций [53]. Фаза пролиферации начинается на 2-3-е сутки, в разгар воспалительной фазы, с появления фибробластов в очаге [54].

Тучными клетками называют лейкоцитарную субпопуляцию (базофил), мигрировавшую из крови в соединительную ткань и ставшую ее клеточным элементом. Лаброциты являются важным источником множества провоспалительных медиаторов и цитокинов, которые могут вызвать воспаление и сосудистые реакции. Поэтому, они вовлечены в репарацию ткани. Во время повреждения в течение нескольких часов происходит дегрануляция резидентных тучных клеток. Возвращение нормального уровня тучных клеток происходит приблизительно через 48 часов после травмы, а затем их количество увеличивается [55, 56]. Анализ показал, что дефицит тучных клеток достоверно влияет на сосудистую проницаемость, приток ПЯЛ, и, в конечном счете, на заживление раны [57-59].

Успешная репарация после повреждения ткани требует обязательного стихания воспалительной реакции. Наряду с достаточной и постоянно увеличивающейся информацией о механизмах и молекулах, стимулирующих и

поддерживающих воспалительную реакцию, механизмы, которые ограничивают и угнетают эту активность, менее изучены. Эти механизмы включают: угнетение экспрессии хемокинов противовоспалительными цитокинами IL-10 [60], TGF-1 β [16, 61, 62] или повышение выработки противовоспалительных молекул (рецепторный антагонист IL-1 (RA-IL-1), растворимый рецептор TNF); угнетение воспалительной реакции, опосредованное клеточным поверхностным рецептором для гиалуронана CD44 [63, 64]; апоптоз [36]. Интересно, что матричные металлопротеиназы (ММП) могут осуществить угнетение воспаления через расщепление хемокинов, которые после этого действуют как антагонисты [65, 66]. Однако, уместность этих механизмов для кожной репарации требует дальнейшего изучения. Недавно был открыт новый фактор Nrf-2, который является мишенью фактора роста кератиноцита-1 (KGF-1). Это фактор был идентифицирован, как регулирующий воспалительную реакцию во время репарации. Раневое заживление у мышей, нокаутированных по Nrf-2, характеризовалось хронической воспалительной реакцией, которая явилась следствием длительной экспрессии IL-1 β и TNF- α [67], что может быть маркером при длительно незаживающем раневом процессе, если рассматривать этот процесс как хроническое воспаление.

Фибробласты – главные эффекторы **репаративной фазы** [68]. На вторые-третьи сутки после повреждения, многочисленными факторами роста, включая TGF- β , PDGF, и так называемыми фиброгенными цитокинами (IL-1, TNF- α) запускается миграция фибробластов к месту повреждения и последующая их пролиферация. Источниками этих факторов являются тромбоциты, эндотелий и макрофаги. Параллельно пролиферации фибробластов происходит новообразование сосудов – ангиогенез. Ввиду того, что повышенная активность фибробластов и эпителия увеличивает их потребность в кислороде – неоваскуляризация является необходимым звеном для дальнейшего развития раневого процесса. Под действием VEGF путем «почкования» от капилляров отделяются тяжи клеток, образующиеся из эндотелия. Позднее в этих тяжах

появляется просвет вновь образовавшихся капилляров [36]. Миграция эндотелиоцитов (CD34) осуществляется благодаря коллагеназе и активатору плазминогена, которые необходимы для расщепления экстрацеллюлярного матрикса. Кроме того, в пролиферации и ангиогенезе важную роль играют цинк-зависимые металлопротеиназы, необходимые для разрушения базальной мембраны, наличие которых, в свою очередь, регулируется TGF- α и IFN- γ [13, 69, 70]. При повышении поступления кислорода макрофаги прекращают продуцировать ангиогенные факторы роста. Те сосуды, потребность в которых иссякла, гибнут путем апоптоза [36]. Ангиогенез состоит из нескольких этапов, которые регулируются факторами роста и цитокинами (табл. 1.2) [71]. Параллельно ангиогенезу фибробласты формируют в ране грануляционную ткань, которая состоит из новых кровеносных сосудов, фибробластов, воспалительных клеток, эндотелиальных клеток, миофибробластов и компонентов временного внеклеточного матрикса (ВКМ). Временный ВКМ отличается от нормального ВКМ содержанием фибронектина, коллагена, гликозаминогликанов и протеогликанов. Главной отличительной особенностью временного ВКМ является наличие таких компонентов, как фибронектин и гиалуронан, которые обеспечивают хорошую миграцию клеток [72], но постепенно ВКМ становится похожим по составу на нормальный ВКМ.

Реорганизация (**ремоделирование**) грануляционной ткани и перестройка рубца является сложным процессом, в основе которого лежит постоянно меняющийся баланс между синтезом коллагена и его разрушением коллагеназой. В первые 6 недель заживления раны доминирует продукция нового коллагена, который случайным образом накапливается в грануляционной ткани. Но по мере созревания коллаген ремоделируется в более организованную структуру с высокой прочностью натяжения.

Постепенно коллаген типа I заменяет коллаген типа III, приближаясь к соотношению в нормальной коже 4:1. Прочность натяжения нового рубца достигает 80 % нормальной кожи примерно через 1 год после повреждения [73-75].

Влияние цитокинов на различные этапы ангиогенеза

Цитокины	Этапы ангиогенеза			
	Активация эндотелия	Миграция эндотелия	Пролиферация эндотелия	Дифференцировка эндотелия, формирование базальной мембраны
VEGF	+	+	+	+
bFGF	+	+	+	+
PDGF	+	+	+	+
TGF- β	+	-	-	+
TNF- α	+	+	+/-	
IL-1 β	+		+	+
IL-6		+	+	
IL-8	+	+	+	

Отложение нового коллагена в ранних фазах заживления связано не только с увеличением синтеза, но и со снижением распада коллагена. В фазе ремоделирования рубца распад коллагена возрастает, а синтез падает. Коллагеназа относится к семейству металлопротеиназ. Продуцируются металлопротеиназы как эпителием, что играет определенную роль в перестройке подэпителиальных участков, так и мезенхимальными фибробластами, эозинофилами. В регуляции этого процесса участвуют сывороточные факторы, цитокины (TNF- α и IFN- γ), а также факторы роста лимфоцитов, среди которых имеются стимуляторы и ингибиторы коллагенолиза [76]. Основную роль в регуляции этих процессов придают взаимодействию между клетками и коллагеном. Наиболее вероятной причиной ускорения коллагеном роста соединительной ткани является стимулирующее влияние продуктов его распада по принципу обратной связи [21, 77, 78]. Для создания барьера с внешней средой вслед формированию грануляционной ткани начинается реэпителизация, которая осуществляется путем миграции

сквозь новую ткань кератиноцитов. Эпителизация начинается от краев раны [79]. Миграцию кератиноцитов через очаг регулирует оксид азота [80]. Окончание миграции происходит после контакта в центре очага кератиноцитов с разных краев раны. После завершения миграции кератиноциты начинают секретировать белки, необходимые для образования базальной мембраны [81].

В течение фазы ремоделирования ткани, после закрытия раны и подавления местной инфекции, Т-лимфоциты составляют самую большую субпопуляцию лейкоцитов раны кожи человека [82, 83]. Необходимыми медиаторами для хемотаксиса и функции лимфоцитов являются хемокины [84, 85]. Спустя 4 дня после повреждения с помощью MCP-1 и хемокинов IFN- γ , индуцибельного белка-10 и монокина индуцированного IFN- γ осуществляется накопление лимфоцитов. Главным источником этих цитокинов являются макрофаги. IFN- γ - основной индуктор переключения экспрессии цитокинов от провоспалительных медиаторов к IFN- γ . Дефицит гена IFN- γ ведет к ускоренной реакции заживления, опосредованной повышением уровня TGF-1 β в ране, последовательным увеличением TGF-1 β -опосредованных путей передачи сигналов и ускорением депонирования коллагена [86]. Количество нейтрофилов, макрофагов, и Т-лимфоцитов было значительно уменьшено в очаге у TGF-1 β -дефицитных мышей, наиболее вероятно вследствие несостоятельности эндотелиальной активации. Эти данные подтверждают роль Т-лимфоцитов в ремоделировании ткани. Однако полное понимание Т-лимфоцитарной функции, и особенно роли специфических Т-лимфоцитарных субпопуляций в репарации требует дальнейшего исследования. Вероятно, что субпопуляции Th1- и Th2-клетки дифференцированно регулируют микросреду раны, секретировав различные профили цитокинов [87,88]. Th1-клетки экспрессируют IFN- γ , IL-2, и TNF- α , тогда как Th2-клетки - IL-4,-5, и-10. Экспрессия этих наборов цитокинов связана с разнообразными процессами ремоделирования ткани. Т-лимфоциты также могут влиять на заживление прямыми межклеточными взаимодействиями с резидентными и не резидентными клетками в очаге раны. Важную роль в этих взаимодействиях

играют взаимодействия между мембраносвязанным гликопротеидом CD40 и CD40-лигандом. Экспрессирующие CD40-лиганд Т-лимфоциты взаимодействуют с экспрессирующими CD40 кератиноцитами, фибробластами, тромбоцитами, и макрофагами, изменяя их профиль экспрессии воспалительных медиаторов, и в последствии репаративную функцию [89-91]. Navran и сотрудники сообщили о роли уникальной популяции $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в эпидермальной репарации [92]. Кожные $\gamma\delta$ T-лимфоциты это дендритные эпидермальные Т-лимфоциты ($\gamma\delta$ DETC), их распределение в эпидермисе строго ограничено. Они распознают, пока еще не идентифицированный антиген, экспрессируемый стрессуемыми или трансформированными кератиноцитами в эпидермисе. Роль $\gamma\delta$ DETC в репарации ткани изучена на $\gamma\delta$ DETC-дефицитных мышах, у которых реакция заживления после механической раны была значительно отсроченной. $\gamma\delta$ DETC являются важным источником ключевых факторов роста, таких как фактор роста фибробластов (FGF) -7,-10, таким образом, регулируя пролиферацию дифференцировку кератиноцитов [92, 93]. Более того, эта популяция Т-лимфоцитов участвует в депонировании гиалурона во внеклеточной матрице, и стимулировании последующей инфильтрации макрофагов в очаг [94]. Обобщая эти результаты, можно говорить о новой функции кожных $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и новых перспективах Т-лимфоцитарного регулирования репарации ткани.

Качество восстановленной ткани полностью зависит от условий протекания воспалительной фазы. Формирование рубца – физиологический и неизбежный итог заживления раны у млекопитающих, а воспаление обязательно предопределяет качество рубца. Хотя, нормальная рубцовая ткань обеспечивает восстановление кожного барьера, новая ткань полностью не заменяет кожу с точки зрения важных структурных, эстетических и функциональных аспектов. Доказано, что у млекопитающих, скорость заживления раны эволюционно оптимизирована для загрязненной среды, где множественный избыточный компенсаторный ответ, быстрая воспалительная реакция обеспечивает быстрое заживление без присоединения инфекции.

Таким образом, рубец является той ценой, которую заплатили млекопитающие за эволюционное выживание после раневого повреждения [95]. Существуют значительные межвидовые и даже межорганные количественные и качественные разновидности рубцовой ткани. У человека при патологических условиях и генетических нарушениях может быть чрезмерное рубцевание, например, гипертрофический шрам или келоид. К сожалению, механизмы, приводящие к различным видам рубца пока не поняты, однако есть экспериментально и клинически обоснованное предположение, что различия в рубцевании отражают изменение воспаления и/или профиля цитокинов у индивидуумов или наличие патологии [96, 23]. Таким образом, более глубокое понимание клеточных и молекулярных механизмов воспалительных процессов, контролирующих рубцевание, будет значительным вкладом в исследование репарации ткани. Существует несколько примеров, которые ясно демонстрируют, что воспалительная фаза тесно связана с репарацией вплоть до формирования рубца. В отличие от послеродовой репарации, рана эмбриональной кожи плода заживает без рубца с полным восстановлением кожной архитектоники. Несмотря на многочисленные различия между плодом и взрослым, которые могут влиять на репарацию ткани, главный признак эмбриональной репарации – несостоятельность типичной воспалительной реакции [97, 98]. Эта минимальная эмбриональная воспалительная реакция может играть центральную роль в уникальном эмбриональном процессе репарации [99, 100]. Если вызвать воспаление в эмбриональной ране, то формирование рубца ускорится [101]. При нанесении раны на зародышевую кожу у ИЛ-10-дефицитных мышей (ИЛ-10 - центральный иммуносупрессивный цитокин, регулирующий врожденные и адаптивные иммунные ответы) и трансплантации ее к взрослым мышам, отмечалось что в контрольной эмбриональной коже был незначительный воспалительный ответ и заживление без рубца, а трансплантанты с дефицитом ИЛ-10 характеризовались значительно более высокой воспалительной инфильтрацией и депонированием коллагена, а также взрослой рубцовой реакцией [102]. Вторым пример,

указывающий, что воспаление играет главную роль в этиологии рубца, показан при исследовании, влияния репродуктивных гормонов на процесс рубцевания. Продемонстрировано, что снижение системного уровня эстрогена у овариоэктомизированных мышей привело к заметному ухудшению заживления связанного с чрезмерным воспалением и рубцеванием [103-108]. Предполагается, что реакция на недостаток эстрогена вызывает нарушение воспалительной реакции, что приводит к снижению протеолитической активности и увеличению ВКМ [104, 105]. Кроме того, показано, что такой важный регулятор воспаления, как фактор ингибирования миграции макрофагов, является ключевым медиатором чрезмерного воспаления в отсутствие эстрогенов [107]. Увеличенный приток нейтрофилов и макрофагов необязательно заканчивается увеличенной реакцией рубцевания. Исследование раны, заживающей у «пожилых» особей, показало, что инвазия нейтрофилов и зрелых макрофагов в очаг раны значительно увеличиваются с возрастом у животных и людей [109, 110]. Однако, острые раны у «пожилых» людей и животных, заживают, хотя и отсрочено, но с более качественным рубцеванием по сравнению с молодыми. На раневой модели «пожилых» животных заживление протекало с регенерацией кожной архитектоники, и с улучшенным макро- и микроскопическим видом рубца, напоминающем нормальную кожу [110]. Подобно эмбриональной репарации, уровень TGF- β в ранах у «пожилых» значительно уменьшены, и это основной механизм развития сниженного рубцевания, наблюдаемого с возрастом. Возможно, дальнейшие исследования помогут идентифицировать механизмы, которые сохраняют кожу «пожилых» от чрезмерного рубцевания, несмотря на увеличенное воспаление.

Такова принципиальная и самая общая схема возникновения, прогрессирования и стихания раневого процесса. Отклонения от этой схемы зависят от множества факторов: этиологии повреждения, локализации очага, реактивности и т.д. Многочисленные эксперименты на различных видах животных, наблюдение за больными с различными по этиологии, характеру течения ранами позволяют сделать вывод, что, несмотря на значительные

различия, выделенные фазы характерны для всех ран, в том числе и осложненных. Различия заключаются в общей скорости заживления, скорости протекания отдельных фаз, вклада контракции, вставочного роста, степени развитости грануляционной ткани, полноты регенерации. Значительную роль в регуляции этих процессов играют специфические иммунные модуляторы. Для глубокого понимания их функции в репарации ткани многими исследователями были изучены генетически модифицированные мышинные модели осложненных ран (табл. 1.3).

Суть этих моделей заключалась в выбивании (нокаутировании) гена, отвечающего за синтез определенного цитокина, затем генетически модифицированному животному наносилась кожная рана. Провоспалительные цитокины IL-1 α , IL-1 β , IL-6 и TNF- α являются центральными медиаторами в течение различных кожных воспалительных процессов [16, 111]. Провоспалительные цитокины достоверно повышаются в течение воспалительной фазы заживления. Наряду с некоторыми резидентными клетками кожи нейтрофилы и макрофаги являются главными источниками и мишенями провоспалительных цитокинов. Ключевая роль провоспалительных медиаторов в лейкоцитарной функции раскрыта на моделях кожной раны у мышей, дефицитных по рецептору TNF – TNF-Rp55. У таких животных, несмотря на значительное уменьшение лейкоцитарной инфильтрации в очаге, было показано увеличение ангиогенеза, содержания коллагена, реэпителизации и экспрессии различных факторов роста и их рецепторов [50]. В конечном счете, дефицит TNFRp55 и несостоятельность передачи сигналов TNF- α закончилась ускоренным закрытием раны. Заживление раны у мышей, дефицитных по антагонисту для IL-1, было отсрочено и проявлялось сниженным ангиогенезом и депонированием коллагена [112]. Приток нейтрофилов был увеличен в течение репарации у мышей, дефицитных по RA-IL-1. Напротив, заживление раны у мышей, дефицитных по ИЛ-6, было значительно отсрочено [113].

Генетические мышинные модели в воспалении и заживлении ран

Ген	НА (нок-аут)/ТГ (транс-ген)	Воспалительный ответ			Фенотип раны			
		ПЯЛ	Макро-фаги	Т-клетки	Эпителизация	Ангиогенез	Ремоделирование	Закрывание раны
TNFR p55	НА	↓	↓	не влияет	↑	↑	↑	↑
IL-1ra	НА	↑	не изучено	не изучено	не изучено	↓	↓	↓
IL-6	НА	Воспаление		↓	↓	↓		↓
MCP-1	НА	не изучено	не влияет	не изучено	↓	↓	↓	↓
MIP-1 α	НА	не влияет	не влияет	не влияет	не влияет	не влияет	не влияет	не влияет
CXCR 2	НА	↓	↓	не изучено	↓	↓	не изучено	↓
IP-10	ТГ	↑	↑	не влияет	↓	↓	не изучено	↓
IFN- γ	НА	↓	↓	↓	↑	↑	↑	↑
PU.1	НА	↓	↓	не изучено	не влияет	не изучено	не влияет	не влияет
Smad3	НА	↓	↓	не изучено	↑	не изучено	↓	↑
SLPI	НА	↑	↑	не изучено	↓	не изучено	не изучено	↓
MIF	НА	не влияет	не влияет	не влияет	не влияет	не влияет	не влияет	не влияет
IL-10	НА	не влияет	↑	не изучено	↑	↑	↑	↑

Кроме сниженной воспалительной реакции, формирование грануляций и реэпителизация были достоверно уменьшены. Это подтверждает важность провоспалительных медиаторов и лейкоцитов в заживлении и причастность

субпопуляций нелейкоцитарных клеток, которые могут влиять на результат репарации. Кроме "классических" медиаторов воспаления, таких как факторы роста и провоспалительные цитокины, хемокины также вовлечены в раневой процесс [114]. Наследственно модифицированные модели мышей с измененной экспрессией определенных хемокинов или их рецепторов разъяснили их роль в репарации и воспалительной фазе. У животных нокаутированных по MCP-1, с недостатком одного из главных макрофагальных хемоаттрактантов, общее количество макрофагов в очаге раны не было изменено, хотя реэпителизация, ангиогенез, и синтез коллагена были значительно отсрочены. Дефицит другого важного регулятора макрофагального хемотаксиса, макрофагального воспалительного протеина 1 α (MIP-1 α), не показал никакого дефекта заживления [115]. Роль, играемая MIP-1 α в заживлении ран, состоит во влиянии на эффекторную функцию макрофагов (и возможно других типов клеток) вместо того, чтобы просто изменять их количество. У мышей с недостатком CXCR2 (рецептор для мощного хемоаттрактанта нейтрофилов MIP-1 α) показано нарушение привлечения нейтрофилов и макрофагов в очаг раны и сниженная ангиогенная реакция. Эти нарушения привели к значительной задержке закрытия раны [116]. Эта модель отражает ключевую функцию нейтрофилов и макрофагов в заживлении раны и раскрывает роль CXCR2 в хемотаксисе лейкоцитов во время репарации. В воспалительной фазе заживления раны, T лимфоциты появляются в очаге раны. IFN- γ индуцибельный белок-10 и монокин индуцированный IFN- γ являются главными хемоаттрактантами для T-лимфоцитов и регулируют их инфильтрацию в очаг раны. Трансгенная экспрессия индуцибельного белка 10 в кератиноцитах вызвала интенсивную воспалительную фазу, гистологически в основном состоящую из макрофагов и нейтрофилов. Эта фаза оказалась более длительная с дезорганизованными грануляциями и в итоге со сниженными ангиогенезом, реэпителизацией закрытием раны [117]. Удивительно, что количество T-лимфоцитов не было достоверно уменьшено по сравнению с ранами у обычных мышей. Эти данные свидетельствуют о том, что

индуцибельный белок 10 способен нарушать и ухудшать нормальную реакцию заживления. Концепция о том, что увеличенная воспалительная реакция может быть вредна для репарации была также подтверждена при исследовании заживления раны у мышей нокаутированных по IFN- γ . Эта модель показала сниженную воспалительную реакцию в очаге, однако формирование грануляции, ангиогенез и в конечном счете раневое закрытие, был значительно улучшено [118]. Следовательно ИФН- γ – отрицательный регулятор реакции заживления. Также изучалось влияние притока нейтрофилов и макрофагов на репарацию. Исследовали перинатальную репарацию у мышей, с недостатком клеток миелоидного ряда (макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки, эозинофилы) и В-лимфоцитов [119, 120]. У новорожденных мутантов, отмечалось незначительное воспаление в ране. Заживление протекало в те же сроки, что и у интактных мышей, а репарация произошла без рубца по типу эмбрионального заживления раны. Это подтверждает ключевое воздействие воспалительной реакции на заживление. Авторы заключают, что интенсивное воспаление обязательно для эффективной репарации ткани. Однако, в этом исследовании помимо сниженной воспалительной реакции, главную роль могут играть факторы, свойственные эмбриональной среде, и вероятно именно они вносят вклад в фенотип заживления. Исследование роли TGF- β 1 на модели нокаутированных мышей также показало, что воспаление обязательно для заживления и даже задерживает его. TGF- β 1 - центральный полипотентный медиатор репарации ткани, который обеспечивает приток и активацию воспалительных клеток и иммунный супрессивный эффект [105]. Внутриклеточная передача сигналов TGF- β 1 обеспечивается семейством белков Smad. У мышей, дефицитных по Smad3 заживление раны было значительно ускорено несмотря на сниженную лейкоцитарную инфильтрацию [104]. У мышей, генетически дефицитных по секреторному ингибитору лейкоцитарной протеазы, показана задержка заживления кожной раны. Секреторный ингибитор лейкоцитарной протеазы, который экспрессируется в течение репарации, имеет противовоспалительную активность и является

антагонистом провоспалительных медиаторов, синтезируемых макрофагами. Дефицит секреторного ингибитора лейкоцитарной протеазы у этих мышей увеличивал воспалительную реакцию и активность эластазы в очаге, что привело к отсроченному заживлению [121].

Данные Юсопо, 2000г. свидетельствуют, что высокий уровень IL-8/CXCL8 нарушает заживление раны. Уровень этого хемокина был достоверно увеличен при длительно незаживающей ожоговой ране человека по сравнению с обычным заживлением раны кожи. *In vitro* был показан ингибирующий эффект IL-8/CXCL8 на пролиферацию кератиноцитов и контракцию коллагена фибробластами. Предполагается, что высокий уровень этого хемокина может непосредственно замедлить заживление раны [122]. Но по другим данным был отмечен стимулирующий эффект IL-8/CXCL8 на пролиферацию кератиноцитов *in vitro* [123]. Кроме того, *in vivo* местное применение этого хемокина на человеческой коже в эксперименте стимулировало реэпителизацию в результате увеличенной пролиферации кератиноцитов. Таким образом, в целом IL-8 вызывает хронизацию раневого процесса, повышая лишь эпителизацию.

Основываясь на этих данных, можно заключить, что воспаление является главным звеном в заживлении ран и основной точкой приложения для влияния на результат репарации. Сеть медиаторов, которая управляет воспалительной реакцией, очень сложна и вероятно избыточна. Изначально считалось, что медиаторы, прежде всего, обеспечивают регуляцию функций лейкоцитов, однако оказалось, что медиаторы – полипотентны и нелейкоцитарные клеточные диффероны также являются их мишенями в течение заживления кожной раны. Таким образом, необходимы дальнейшие исследования заживления кожной раны на ее молекулярном и клеточном уровне для более подробного понимания раневого процесса. Хотя можно дать четкую оценку степени заживления, основываясь только на морфологическом исследовании, на современном уровне без учета межклеточных взаимодействий этого недостаточно.

Глава 2. Особенности заживления хронических ран

Особенность течения длительно незаживающих ран состоит в нарушении выраженности и длительности фаз раневого процесса при сохранении их последовательности [124].

Хронические раны не протекают через обычные фазы заживления и находятся в состоянии патологического воспаления. В результате этого, процесс заживления отсрочен, неполон и не скоординирован, и впоследствии заканчивается слабым анатомическим и функциональным результатом [125]. Вялотекущая рана может заживать несколько лет, или вообще не заживать. Эти раны вызывают у больных хронический эмоциональный стресс и являются тяжелой ношей как для пациента, так и для системы здравоохранения [126]. Хронические раны чаще возникают у людей старше 60 лет [127]. Так же как и средний возраст населения Земли, количество хронических ран имеет тенденцию к увеличению [128]. Такие раны характеризуются хроническим состоянием и частыми рецидивами. Существуют разные причины возникновения вяло-текущих раневых процессов (табл. 1.4), но большинство вызвано ишемией вследствие сахарного диабета, венозного застоя и сдавления [128, 129].

Причина трофических **артериальных язв** состоит преимущественно в облитерирующем атеросклерозе крупных и средних сосудов и развивающейся вследствие этого ишемии тканей. В общих чертах схему процесса можно представить так: он начинается с повреждения интимы сосудистой стенки, которое вызывает агрегацию тромбоцитов на поврежденном месте, а она в свою очередь увеличивает пролиферацию и иммиграцию гладких мышечных клеток меди и интимы сосудистой стенки. Мышечные клетки выделяют большое количество фибриллярных белков (коллагена и эластина), а также протеогликанов (главные компоненты внеклеточного матрикса), которые за счет аккумуляции липидов превращаются в атеросклеротические бляшки.

Бляшки в свою очередь ведут к стенозированию или даже к обтурации пораженного сосуда, причем степень возникающего расстройства кровоснабжения зависит от степени стеноза и от возможностей коллатерального кровообращения. Это приводит к ишемии и в дальнейшем к нарушениям в межклеточных взаимодействиях [130].

Таблица 1.4

Причины возникновения длительно незаживающих ран

Вид патологии		Заболевания
Сосудистая патология	Артерии	Атеросклероз Артериовенозная мальформация
	Вены	Венозный стаз
	Смешанные	Васкулиты (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, склеродермия, узелковый полиартрит)
	Лимфатическая система	Лимфедема
Сдавление		Поражение позвоночника «Лежачие больные» Пожилые больные
Нейропатия		Диабет Периферическая нейропатия
Гематологические нарушения		Серповидно-клеточная анемия Истинная полицитемия
Травма		Ожоги Обморожения Радиационное воздействие Искусственная травма
Неоплазия		Базальная карцинома Чешуйчатая карцинома Меланома
Другие		Саркоидоз Ожирение Трофическая язва Гангренозная пиодермия Диабетический жировой некробиоз

Согласно классификации, разработанной Найтоном [131], хронические язвы, по степени тяжести делятся на VI стадий.

В начальной стадии своевременное распознавание облегчает терапию и улучшает прогноз, причем в подробном анамнезе следует обратить внимание на типичные признаки перемежающей хромоты и боли при ходьбе.

Согласно модифицированной классификации Фонтена [131], клинические стадии выглядят следующим образом:

- стадия I: бессимптомная, возможна легкая утомляемость;
- стадия IIa: боли начинаются после прохождения дистанции 200 м;
- стадия IIb: дистанция менее 200 м;
- стадия III: боль в покое;
- стадия IV: непрерывная боль, некроз, язва, гангрена.

В связи с нарушением транспортной функции лимфатического русла снижается его резорбционная активность. В поверхностных тканях скапливается большое количество жидкости, мукополисахаридов, белка. Белок, стимулируя развитие соединительной ткани, вызывает гиалиноз стенок мелких лимфатических и кровеносных сосудов, а также капилляров кожи, подкожной клетчатки и фасции, ухудшая тем самым не только лимфо-, но и кровообращение в пораженной конечности. Увеличение внутритканевого давления, вызванное повышенной гидратацией тканей, усугубляет тяжесть расстройств лимфо- и гемодинамики. В результате снижается степень кровенаполнения сосудов микроциркуляторного русла, развивается гипоксия тканей, которая ведет к грубым нарушениям окислительно-восстановительных процессов и межклеточных взаимодействий. Происходит утолщение кожи, подкожной клетчатки и фасции, более выраженное вначале и дистальных отделах конечностей: со временем присоединяются и трофические расстройства. Кожа становится легкоранимой, что в условиях застоя лимфы предрасполагает к развитию рожистого воспаления, хронических язв [132, 133].

Венозные язвы локализуются преимущественно на нижних конечностях, среди хронических ран они занимают 70-90 % [131, 134] и появляются преимущественно у пожилых людей. Они возникают вследствие венозной гипертензии, вызванной нарушением функции венозных клапанов. Венозный

застой, окклюзия капилляров, повреждение эндотелия вызывает ишемию, которая приводит к повреждению ткани и в конечном итоге к язвенному повреждению. Трофическая венозная язва отражает тяжелейшее нарушение обмена веществ в организме, обусловленное хронической венозной недостаточностью. Если венозный приток крови к сердцу нарушен (хроническая венозная недостаточность), из периферических вен оттекает меньше крови, и венозное давление падает. Эта перегрузка вен в порядке обратной связи действует на капилляры концевой части кровяного русла. Обмен веществ в коже и подкожной клетчатке ухудшается. Окончательно страдает и лимфатическая система, которая только в начальных фазах нарушения кровообращения может компенсировать увеличение количества межклеточной жидкости за счет усиленного оттока лимфы. Наиболее ранним симптомом нарушенного оттока крови является отек. Развиваются нарушения кровообращения, дегенерация и воспаление с трофическими изменениями кожи.

Тяжесть, локализация и длительность существования нарушения венозного оттока, а также степень и длительность перегрузки венозной системы нижних конечностей определяют разнообразие симптоматики при венозных заболеваниях. Они объединяются под общим термином "хроническая венозная недостаточность" (ХВН) и обычно делятся по тяжести на три степени.

Первая степень ХВН проявляется в расположенных вокруг голеностопного сустава и над сводом стопы расширенных венозных образований. Одновременно наблюдается отек голеностопного сустава.

Степень II проявляется в гиперпигментации и депигментации кожи, отеке голени в виде белой атрофии (*Capillaris alba*).

Степень III проявляется в форме активной *Ulcus cruris venosum*. Она, как правило, образуется в области голеностопного сустава ("Кулиса Бисгарда"), может развиваться и в других областях голени [135].

Кроме того, существенную роль играет нарушение экспрессии факторов роста приводящее к разбалансировке межклеточных взаимодействий, и как следствие, к хроническому язвенному процессу [136].

Пролежни возникают у людей страдающими заболеваниями, приводящими к резкому ограничению подвижности тела, например параличи. Пролежень - повреждение кожных покровов в результате длительного действия локального давления. Последнее сдавливает капилляры, так что соответствующая область кожи больше не получает достаточного количества крови и кислорода. Уменьшенное кровообращение ведет к накоплению в ткани токсичных продуктов с последующим повышением проницаемости капилляров, расширением сосудов, образованием отека и клеточной инфильтрацией [137]. Такие воспалительные реакции в своей начальной стадии вызывают гиперемиию с ростом капиллярного давления, благодаря чему в это время токсичные продукты обмена еще способны элиминироваться, а клетки кожи сохраняют способность к регенерации, но при условии, что с данной области полностью снята нагрузка. Однако если действие давления продолжается, из-за усиливающейся гипоксии происходит необратимое изменение кожи с образованием некроза. Повреждение проходит в своем развитии различные стадии в зависимости от степени и продолжительности сдавления.

С практической точки зрения, если своевременно снять давление, всегда можно предотвратить развитие пролежней.

Пролежни в принципе могут развиваться на любой части тела. Наибольший риск имеет то место, где давление, создаваемое весом тела, и противодействие со стороны опорной поверхности действуют на область кожи, лежащую над костным выступом и имеющую незначительную прослойку подкожной жировой ткани. В качестве типичных мест локализации можно назвать крестцовую область, пятки, седалищные кости, а также боковые лодыжки. В этих местах возникает до 95% всех пролежней. Наряду с прямым воздействием давления на некоторую область кожи угрозу могут также представлять складки, которые, смещая различные слои кожи относительно друг друга, могут

вызывать пережатие кровеносных сосудов. Пролежни появляются вследствие ишемии, которая возникает когда давление в ткани больше чем давление внутри капилляров, это приводит к прекращению поступления крови в данную область [138].

Частота возникновения хронических ран вследствие **сахарного диабета** возрастает [139]. Сахарный диабет представляет собой системное заболевание с острой и хронической формой течения. Острая форма связана с диабетической комой, хроническая – с тяжелыми отдаленными последствиями. Среди самых серьезных последствий диабета особое место занимает "синдром диабетической стопы" - это связано с тем, что микроангиопатия и нейропатия приводит к угнетению болевой чувствительности и больные долгое время не обращают внимания на развитие небольших ран на нижних конечностях, присоединение к ним инфекции или появление повторных ран [140]. Угнетение иммунной системы, повреждение сосудов, их сдавление препятствует нормальной оксигенации тканей, разбалансировке в межклеточных взаимодействиях и способствуют развитию хронической раны [127].

Местные **лучевые повреждения** возникают в основном у людей, профессионально связанных с источниками ионизирующего излучения, в аварийной ситуации и как результат лучевой терапии у больных.

В соответствии с патофизиологическими изменениями в коже под действием излучения принято выделять несколько различающихся фаз поражения; их степень выраженности в большой мере зависит от условий облучения, видовых и даже линейных различий в отношении времени проявления изменений. Выявлены следующие основные фазы повреждения:

А) Ранняя преходящая эритема, наблюдающаяся в течение нескольких часов после облучения; обычно исчезает через 24-48 час.

Б) Основная эритематозная реакция, которая, как считают, отражает различную степень утери базальных клеток матрикса волосяных фолликулов. В результате этого через 3-6 нед может наступить сухая десквамация, оголение

эпителия (влажная десквамация) или выпадение волос (эпиляция). При сильной и длительной влажной десквамации может развиваться вторичное изъязвление.

В) Поздняя фаза эритемы (между 8 и 20 нед после облучения), связываемая с ишемией дермы и возможным некрозом.

Г) Позднее повреждение кожи, т.е. атрофия, телеангиэктазия и некроз.

В механизме местных лучевых повреждений кожи и, в частности, лучевых язв, наименее изучена воспалительная фаза, не дана четкая оценка воспалительной стадии, ее особенностей, характера и влияния на регенерацию, как и обратная взаимосвязь регенерации с воспалением. В основном изучаются последствия действия ионизирующего излучения, предпринимаются попытки, чаще безуспешные, с помощью различных медикаментозных и хирургических воздействий стимулировать процесс заживления, рассматривая лучевые язвы без связи с общими закономерностями заживления раны.

Слабое звено в знании механизмов местных лучевых повреждений кожи – отсутствие или единичные данные об интеграции клеточных, волокнистых и аморфных образований кожи на всех этапах формирования лучевых повреждений. Не раскрыты механизмы самых ранних нарушений в коже, развивающихся сразу после воздействия ионизирующего излучения. Вместе с тем природа ранних лучевых реакций особенно важна с практической точки зрения, так как они всегда встречаются при проведении лучевой терапии. Патогенетическая цепь повреждение-воспаление-заживление представляет собой закономерные причинно-следственные отношения, в которых каждое предыдущее звено влияет на последующее развитие явлений и, следовательно, на конечный результат процесса. [141, 142].

Для лучевых язв характерна полиморфность воспалительно-репаративных явлений, персистирующие репаративные процессы. Несостоятельность репаративных процессов исследователи объясняют гибелью клоногенных клеток эпидермиса, облитерацией сосудов, развитием фиброзов, нарушением взаимоотношений между эпителиальной и соединительной тканью [143-145].

Гангренозная пиодермия или язвенно-вегетирующая гангренозная пиодермия - воспалительный нейтрофильный дерматоз с явлениями хронической очаговой гангрены кожи неизвестной этиологии, который часто ассоциируется с заболеваниями внутренних органов. Это заболевание относится к неотложным, так как может быстро прогрессировать и вызывает выраженное местное разрушение тканей, приводит к потере трудоспособности. Нозологически речь не идет о пиодермии, как это предполагает общепринятое название "пиодермия". Этиология гангренозной пиодермии до сих пор неизвестна. Предполагается, что в основе заболевания лежит группа функциональных аномалий нейтрофилов неизвестной природы. По сути происходит местная активация лейкоцитов (спонтанная или в рамках феномена патергии) с последующим повреждением тканей. Вместо достаточной инактивации (ингибиторами тканевой протеиназы) происходит дальнейшее вовлечение лейкоцитов и кольцевидное центробежное распространение процесса [146].

Рост доброкачественных и злокачественных **опухолей кожи** и подкожно-жировой клетчатки ведет к разрушению ткани, причем в ходе процесса, длящегося многие месяцы или годы, в ряде случаев могут возникать открытые язвы [146].

Мы привели основные, причины возникновения хронических ран и несмотря на этиологическую гетерогенность, большинство незаживающих ран не проходят через нормальные фазы заживления, вместо этого они остаются в фазе хронического воспаления [147]. Как системные, так и местные факторы вносят вклад в удлинение воспалительной фазы раневого процесса, таким образом, поддерживая каскад тканевых реакций, которые запускают и усиливают агрессивную микросреду.

Системными факторами, приводящими к хроническим ранам, являются: гангренозная пиодермия, диабетическая гипергликемия, увеличенное гидростатическое давление, связанное с венозной болезнью. Местные факторы, которые поддерживают длительный приток нейтрофилов и макрофагов — это

гипоксия ткани, бактериальные компоненты, инородные тела и фрагменты некротической ткани [15, 148]. Бактерии снижают эффективность механизмов репарации организма нарушением взаимодействия матричных клеток или уменьшением воспалительной реакции [149, 150].

В острой ране активизированные нейтрофилы находятся в течение первых 72 часов, тогда как в хронической ране нейтрофилы присутствуют в течение всего процесса заживления [151-154]. Существует несколько причин постоянного наличия в очаге нейтрофилов: например, длительное их задействование и активация вследствие травмы ткани давлением, размножение бактерий, привлечение в очаг лейкоцитов (хемотаксис). Результат длительной активации воспалительного каскада ведет к патологическому воспалительному профилю для хронических ран. Большое количество активизированных лейкоцитов ведет к появлению чрезмерного количества MMP [155-159], особенно MMP-8 и эластазы. В неосложненной ране все MMP ингибируются неспецифическим ингибитором протеиназы α_2 -макроглобулином и небольшим семейством белков, названных тканевыми ингибиторами матричных металлопротеиназ Q. В незаживающей ране, MMP не сбалансированы равным количеством ингибиторов тканевых металлопротеиназ матрицы [160].

В результате этого развивается деградация раны – разрушаются экстрацеллюлярный матрикс, коллаген. Чрезмерное количество воспалительных клеток также меняет профиль цитокинов в ране. Преобладают воспалительные цитокины (IL-1 β , TNF- α) [155, 160], и снижается концентрация факторов, которые вызывают пролиферацию (PDGF) и матричное депонирование (TGF- β) [161]. Следовательно, митогенная активность клеток в хронической ране подавлена [162, 163].

Исход патологического процесса в незаживающей ране – персистирующее воспаление. Нормальные механизмы обратной связи, которые прекращают воспалительную реакцию, прерываются, ведя к бесконтрольной воспалительной петле (рис. 1.2).

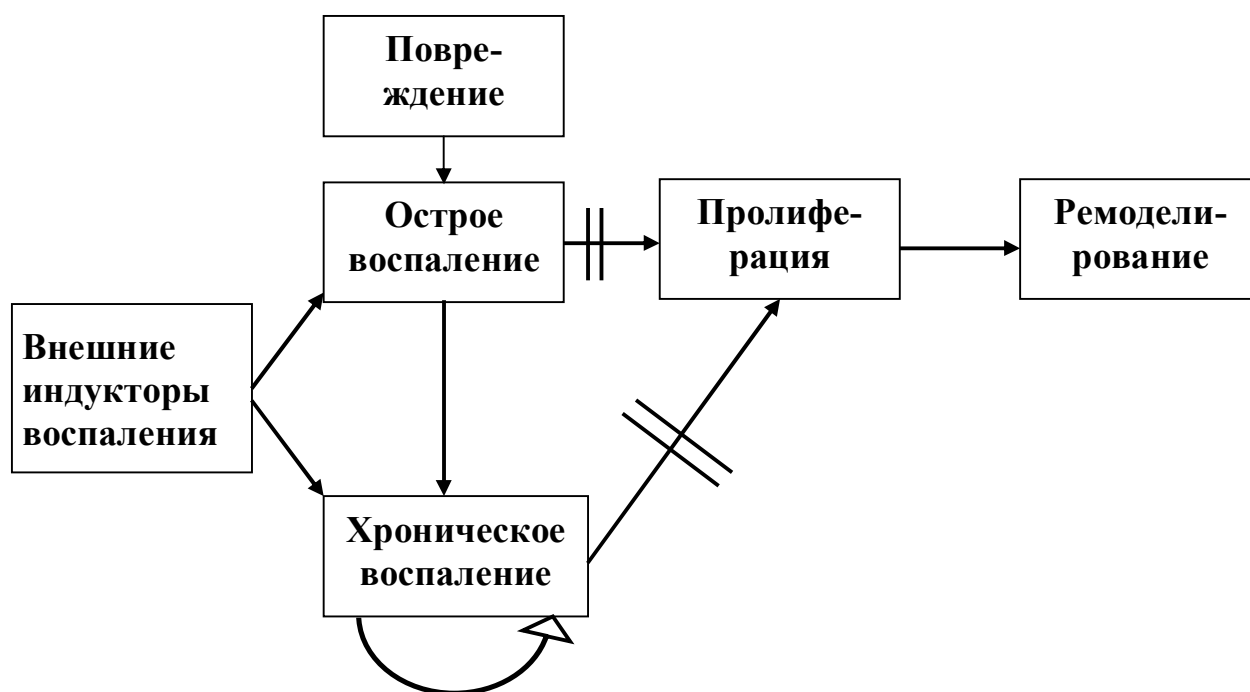


Рис. 1.2 Возникновение «порочного круга» хронического воспаления.

В результате дегрануляции активизированных нейтрофилов в очаг выпускаются ферменты, происходит деградация ткани, которая приводит к привлечению новых нейтрофилов и продолжению цикла. В результате фибробласты неспособны к продукции внеклеточного матрикса, поскольку деградация коллагена протекает быстрее, чем синтез. Бесконтрольная воспалительная реакция тормозит заживление раны. Наряду с изменением воспалительного профиля характерным для хронической раны является нарушение функций фибробластов. Показано, что некоторые фибробласты преждевременно стареют, что нарушает их нормальное функционирование [164]. У таких фибробластов нарушается способность к миграции и снижается способность реагировать на факторы роста. Есть данные о субпопуляции фибробластов в хронических ранах, которые, наоборот, находятся в состоянии гиперсинтеза, однако вырабатываемый ими избыточный коллаген эффективно не депонируется. Возможно, чрезмерное воспаление вследствие большого количества активизированных нейтрофилов заканчивается повышенной синтетической функцией субпопуляции фибробластов. Кроме того, на основе

экспериментов, проведенных *in vivo* и *in vitro* с использованием кожи человека от доноров различного возраста, установлено, что также, важную роль играет соотношение между фибробластами и фиброцитами и оптимальным является – 2:1. Этот сбалансированный уровень необходим для нормального функционирования ткани [165-171].

Как было уже сказано выше, отличительная черта незаживающих ран и следствие постоянной воспалительной реакции в очаге - разбалансированная протеолитическая активность, которая нарушает местные тканевые защитные механизмы. Считают, что неуправляемая протеазная активность является одним из главных патологических механизмов незаживления ран [172-174]. В протеолитически активной среде медиаторы, необходимые для репарации, становятся мишенями для протеаз. Главные ингибиторы протеаз – это ингибитор протеиназы- α_1 и α_2 -макроглобулин, которые, так же как и компоненты временного раневого матрикса фибронектин и витронектин, инактивируются в очаге хронической раны [174-176]. Факторы роста, необходимые для репарации, PDGF или VEGF также являются мишенями для протеаз раны и инактивируются ими [177-180].

Основную роль в окислительном обмене в клетках играет система электронного транспорта, расположенная на внутренней мембране митохондрий и осуществляющая окисление – процесс клеточного дыхания, сопряженный с фосфорилированием, продукцией макроэргических соединений. Окислительное фосфорилирование (ОФ) играет решающую роль в энергетическом обеспечении всех жизненных процессов: биосинтеза, транспорта метаболитов и ионов, деятельности сократительных белков и др. Структурные и ультраструктурные изменения митохондрий происходят в первые минуты после воздействия радиации [181-184]. Разобщение ОФ развивается даже при малых дозах облучения (0,2 – 0,5 Гр). Ранний характер и глубина лучевых нарушений структуры митохондрий, как *in vivo*, так и в экспериментах на изолированных митохондриях, позволяют говорить о первичном характере лучевых повреждений структуры и функций этих

органелл, а значит о жизненно важном для судьбы клетки нарушении ОФ и биоэнергетики [185-187].

Основным поставщиком неорганического фосфора для синтеза макроэргических соединений являются сложные эфиры фосфорной кислоты. Их расщепление, равно как и синтез, происходит под действием фосфатаз. Различают неспецифические фосфатазы, к которым относятся кислая и щелочная фосфатазы (КФ и ЩФ), и специфические, АТФ-азы. Субстратами для последних являются АТФ и нуклеозидтрифосфаты. Фосфатазы относятся к подклассу гидролаз. Гидролазы играют важную роль в обменных процессах в коже в норме и патологии. Традиционно развитие воспаления связывают с усилением протеолиза в тканях. Во внутриклеточном расщеплении объектов, фагоцитируемых лейкоцитами, главную роль играют лизосомальные ферменты лейкоцитов. Высвобождаясь, ферменты катализируют внеклеточный гидролиз биополимеров – нуклеиновых кислот, пептидов, липидов и т.д.; образующиеся продукты расщепления тканей активируют восстановительные процессы [188,189]. Гистохимические исследования показали, что в ранней воспалительной стадии раневого процесса в периферической области раны наблюдается увеличение, а в центральной – уменьшение активности неспецифических и специфических фосфатаз и других ферментов [190]. Увеличение активности гидролаз в очаге кожной раны на протяжении 1-2 сут после нанесения повреждения отмечали и другие исследователи [191-193]. По их мнению, это проявление активации катаболических процессов, направленных на защиту от инфекции, освобождение от некротизированных тканей, которые во многом определяют последующий ход заживления. Значительно более высокая активность ЩФ и КФ в очагах воспаления по сравнению с окружающими тканями, считают, сопряжена с их большим участием в воспалительном процессе [194]. Активность фосфатаз в очагах воспаления связывают в первую очередь с фагоцитами. При затихании воспалительных явлений активность фосфатаз в очаге нормализуется. Результаты экспериментальных исследований показали зависимость степени

активности ЩФ в лейкоцитах от уровня их фагоцитарной активности. Однако этим не исчерпывается участие фосфатаз в воспалении. Не только в лейкоцитах, но и в эндотелии капилляров, в волокнах, среди разрастаний грануляционной ткани обнаруживается значительное повышение активности ЩФ, создающее впечатление об участии ее в процессах отграничения воспалительного очага.

Определению активности фосфатаз в облученной коже посвящены единичные работы. Гистохимическое исследование ЩФ в коже кроликов после местного облучения различными дозами радиоактивного фосфора показало, что при дозе облучения 380 рад у части животных отмечалось увеличение активности фермента в очаге, при возрастании дозы (760-770 рад) разницы в активности ЩФ в облученной и необлученной коже не выявлено [195]. При исследовании дна и краев лучевой язвы, образовавшейся в поздние сроки в результате близкофокусной рентгентерапии, найдены высокая активность ЩФ и несколько более низкая активность КФ; после дистанционной рентгено- и гамматерапии – угнетение КФ в верхних слоях мальпигиева слоя [143].

В патогенезе воспаления большую роль играет ацетилхолинэстераза (АХЭ). С ацетилхолином (АХ), относящимся к группе нейротрансмиттеров, связывают инициальные механизмы воспаления. АХ уменьшает резистентность нервных элементов в очаге раны к травме, содействует ускоренной элиминации продуктов распада нервных волокон и усиливает пролиферацию клеток периферической глии [196]. В условиях экзогенного введения АХ в ране усиливается воспалительная реакция. В области регенерирующих нервных проводников обнаруживается высокая активность холинэстеразы. Установление значения АХЭ в патогенезе лучевых повреждений кожи важно вдвойне, поскольку АХЭ является тиоловым ферментом. Известно, что продукты ионизации в первую очередь окисляют сульфгидрильные (SH-) группы тиоловых соединений клеток и тканей и переводят их в неактивные дисульфидные группы. Это приводит к нарушению каталитической активности тиоловых ферментных систем. SH-группы рассматриваются как естественные

эндогенные протекторы, уровень которых в значительной степени определяет радиочувствительность [197]. Косвенным подтверждением этому являются радиопротекторные свойства множества серосодержащих радиозащитных средств, за счет, как полагают, SH-групп [198,199]. Эффекты отрицательного действия облучения водных растворов аминокислот, белков, ферментов, пуриновых и пиримидиновых оснований, РНК и ДНК оценивают, в первую очередь, по окислению SH-групп [200-203].

Как следует из данных литературы, радиационное нарушение клеточного и тканевого дыхания при общем облучении в решающей степени обусловлено угнетением фофорилирования, его разобщением с дыханием, что ведет к снижению продукции АТФ и энергетическому параличу клетки. Роль фосфатаз в этом процессе до конца не изучена. Неизученным остается вопрос об особенностях реагирования гидролаз и фосфатаз, в частности, в очаге лучевого повреждения. Редкие исследования в этом направлении проводились в клетках воспалительного инфильтрата уже образовавшегося лучевого повреждения. Вместе с тем наличие в коже различных видов клеток, нервных, сосудистых образований требует непременно учета их реакции на локальное лучевое воздействие. Эти исследования особенно актуальны в связи с последними данными, рассматривающими резидентные клетки кожи наряду с клетками гематогенного происхождения как эффекторы воспаления, а также признанием фосфатаз биохимическими индикаторами лучевого поражения [204-205].

Чрезмерное количество протеаз пагубно воздействует на коллаген, таким образом, предотвращая зрелое формирование рубца, а продукты распада стимулируют дальнейшее воспаление. В конечном счете, главное различие в острых и хронических ранах – степень заживления. Время заживления хронической раны значительно отсрочено, и фактически, увеличивается из-за высокой протеазной среды. Несмотря на отличающийся механизм формирования хронической язвы, многими авторами показано сходство заживления всех язв [75, 206]. Таким образом, несмотря на отличия в

механизмах развития различных типов язв, все они имеют общий конечный путь, который ведет к сходным итоговым процессам.

Хроническая рана – микросреда высокой прооксидантной активности [177, 207-209]. Лейкоциты, особенно нейтрофилы, являются богатым источником различных активных форм кислорода (АФК) – супероксид анион, гидроксил радикал, синглетный кислород, перекись водорода [210]. Эндотелиоциты и фибробласты, особенно стареющие, также являются потенциальными источниками для АФК [207, 211]. Значительная роль АФК в патогенезе длительно незаживающих ран показана в различных исследованиях *in vitro* и *in vivo* [177, 212, 213].

Основным субстратом свободнорадикальных процессов являются фосфолипиды мембран клеток и клеточных органелл. Непосредственное взаимодействие свободных радикалов с этими соединениями вызывает увеличение концентрации гидроперекисей жирных кислот и белков, встроенных в клеточные мембраны. Это приводит к нарушению структурной организации биомембран, изменению физико-химических свойств полимерных молекул, нарушению активного и пассивного транспорта ионов, а также к затруднению переноса протонов по дыхательной цепи митохондрий и, как следствие, к развитию гипоксических изменений в тканях. Широкий спектр повреждающего действия продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – радикалов и перекисей – в мембранах проявляется в снижении их стабильности вплоть до полного разрушения, что, например, при повреждении лизосом приводит к выходу лизосомальных ферментов в цитоплазму, где чрезмерное накопление перекисных продуктов снимает детоксикационные возможности микросомальных мембран [214, 215]. Все это приводит к деструкции клеток, снижению репарационных возможностей тканей и их структур и развитию необратимых процессов, составляющих основу развития патологических состояний. Первыми промежуточными продуктами ПОЛ являются гидроперекиси и диеновые конъюгаты (ДК), затем образуются альдегиды и кетоны, из которых наиболее известны тиобарбитуровой кислоты активные

продукты (ТБК-АП), которые считаются маркерами повреждения. При длительной активации ПОЛ и вовлечении в процесс белков биомембран образуются шиффовые основания, основная составная часть липофусцина – пигмента старения [200].

Антиоксидантную систему (АОС) составляют специализированные ферменты, участвующие в инактивации конкретных продуктов ПОЛ. К ним относятся: супероксиддисмутаза (СОД), ограничивающая образование свободных форм кислорода [200], каталаза (Кат), разлагающая перекись водорода [216], глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза, участвующие в утилизации гидроперекисей липидов [217]. Не вступая прямо в ферментативные реакции, ферменты АОС, тем не менее, оказывают влияние на их интенсивность, инактивируя либо инициаторы, либо продукты цепной реакции и тем самым уменьшают возможность разветвления цепей.

Кроме того, АФК способны повреждать сигнальные пути передачи информации, повреждая клеточные мембраны и структурные белки экстрацеллюлярного матрикса, что приводит к активации факторов транскрипции, которые регулируют экспрессию провоспалительных цитокинов (IL-1, -6, и TNF- α), хемокинов и протеолитических ферментов, включая ММП и сывороточные протеазы [208].

Таким образом, нарушение баланса в прооксидантно-антиоксидантной системе считают одним из главных факторов развития хронической раны. А показатели уровня ПОЛ и АОС свидетельствуют о продолжении или стихании воспалительной реакции.

Таким образом, в ране любой этиологии основными маркерами хронизации будут цитокиновый профиль, состояние прооксидантно-антиоксидантной системы, активность металлопротеиназ и клеточный состав очага.

К сожалению комплексная, мультимасштабная, многокомпонентная, иерархическая природа хронической раны к настоящему времени недооценена. Ученые и клиницисты сосредоточились в основном на изучении индивидуальных цитокинов и факторов роста и/или их влиянии на

определенные клетки *in vitro*, вне раны и организма [218-222]. Система заживления раны состоит из многократных уровней организации: многочисленные типы клеток (фибробласты, нейтрофилы, макрофаги, и т.д), межклеточные медиаторы (цитокины, хемокины, гормоны, факторы роста, и т.д), синтезируемые продукты (коллаген, протеогликаны, и т.д), и ферменты (ММР и ингибиторы тканевых матричных металлопротеиназ). Различные типы клеток могут продуцировать определенные цитокины и повреждаться теми же самыми цитокинами (многоуровневые пути взаимодействий). В результате сигнал в системе может быть либо быстро усилен, либо подавлен. Петли обратной связи, которые управляют запуском и окончанием процесса, активизированного сигналом клетки, нелинейны (зависят более чем от одного фактора). Поведение клеток определено не только текущим состоянием раны, но также и индивидуальными рецепторами, которые активизируются на ранних временных отрезках раневого процесса. Нормальный процесс заживления раны состоит из большого количества отдельных, но взаимодействующих между собой событий и реакций организма, включая микроциркуляторный транспорт кислорода, иммунные и воспалительные реакции, метаболические изменения и нейроэндокринную модуляцию [127, 223, 224]. Все эти межклеточные взаимодействия регулируются цитокинами. Среди них, как уже упоминалось в главе 1, первостепенную роль играют IL-1 β , TNF- α и IL-8 [16, 23, 28, 71].

С высоты сегодняшних знаний о механизмах развития раны рассматривать каждую из взаимодействующих между собой реакций как отдельный и независимый механизм, вовлеченный в развитие раневого процесса не корректно. События, ведущие к заживлению, следует рассматривать через призму взглядов на раневой процесс как сложнейшую нелинейную систему. Кроме того, внутриклеточные проводящие пути передачи сигналов также являются сложной системой (иерархии подсистем). В пределах каждой клетки есть множество проводящих путей, которые, активизируясь рецептором, усиливают сигнал. Наряду с этим, существует другое множество проводящих путей, которые непосредственно направлены друг против друга, что ведет к

уменьшению реакций (многоуровневое взаимодействие). Таким образом, раневой процесс правильнее рассматривать как сложную систему, составленную из компонентов, в свою очередь, являющихся самостоятельно сложными системами [225, 226]. Еще одно важное понятие в нормальном заживлении раны – обратная связь. Для скоординированного заживления раны каждая фаза процесса заживления должна не только выполнить свою функцию и завершиться, но также и инициировать следующую стадию. Кроме того, каждая последующая фаза, достигнув критической точки, в которой она не зависит от предыдущей фазы, должна иметь способность выключить ее. Таким образом, возникает положительная обратная связь, которая необходима для продолжения процесса. Переключение с помощью положительных и отрицательных петель обратных связей позволяет прогрессировать процессу заживления раны и предотвращает ингибирование продвижения в следующую фазу. Механизм, с помощью которого различные фазы ингибируют и инициируют друг друга, – это экспрессия факторов роста и цитокинов. Каждая участвующая в заживлении клетка способна к ответу и экспрессии множества факторов, которые позволяют формировать петли положительной и отрицательной обратной связи для контроля концентрации и активности клеток [223].

В хронических ранах отклонение от физиологического процесса заживления раны предотвращает нормальное закрытие раны. Несмотря на различную этиологию, еще раз хочется подчеркнуть, что все длительно незаживающие раны имеют сходные «траектории» заживления и воспалительные профили. В хронической ране нейтрофилы – преобладающий тип клеток с большим количеством протеаз и воспалительных цитокинов. Из-за чрезмерного воспаления раневой процесс не в состоянии прогрессировать от преобладания воспалительной фазы до преобладания пролиферативной фазы. Рана не способна «созреть», и дезорганизованная внеклеточная матрица вместе со свободными продуктами распада инициирует дальнейшее воспаление. В результате хроническая язва остается в воспалительной фазе, которая не

обеспечивает достаточный импульс, чтобы переключить процесс к следующей фазе заживления раны. Эффект хронического воспаления – дальнейшая деструкция ткани и ухудшение течения хронической раны, и в результате – персистирующее воспаление и предотвращение продвижения раневого процесса к заживлению. Баланс между деградацией и синтезом ткани смещен в сторону деградации, заканчивающейся нарушенным заживлением раны. Для успешного заживления мало замедлить воспалительный цикл – рана должна перейти в пролиферативную фазу. Ингибирования нейтрофилов и их продуктов для этого недостаточно, рана должна войти в состояние самоподдерживающейся репарации ткани, с восстановленными межклеточными связями. Ключом к решению этой задачи, по нашему мнению, может быть создание микросреды, в которой рана будет вынуждена оставить хроническую воспалительную фазу, переключиться на пролиферативную фазу и, впоследствии, на фазу ремоделирования. Главным же **инструментом** в создании микросреды могут быть метаболические препараты, способные наладить межклеточные взаимоотношения и восстановить местный гомеостаз.

Глава 3. Основные принципы фармакотерапии длительно незаживающих ран

Поскольку персистирующее воспаление – причина слабого заживления хронических ран, большинство методов лечения нацелено на ослабление воспаления. Хирургическая обработка длительно незаживающих язв практиковалась с начала XX века [227], особенно успешно после открытия В.П. Филатовым в 1917 г. кожного стебля [143]. Классическая хирургическая обработка раны направлена на удаление некротической ткани и уменьшение протеазной активности, таким образом, переключая рану в фазу заживления. Если активность воспалительной реакции впоследствии снижается, рана

способна прогрессировать и начинать заживать [228, 229]. К сожалению, при наличии противопоказаний хирургическое вмешательство невозможно и тогда консервативное ведение раны остается единственным видом терапии.

Консервативная терапия обязательно должна проводиться с учетом причины возникновения хронической раны (сахарный диабет, гангренозная пиодермия, лучевое повреждение) и фазы раневого течения. Наиболее проблематичной является третья фаза. Ее лечение должно состоять как из системной терапии, так и из местной.

Системная терапия включает в себя витаминотерапию, иммуностимуляторы, антиоксиданты, антиагреганты, вазодилататоры и др.

В нашей стране, согласно классификации АТС [230], существует целая группа местных средств, применяющихся для лечения ран и язвенных поражений. Активным веществом препаратов «Бепантен» (Bayer Consumer Care) и «Пантестин-Дарница» (Дарница) является декспантенол — провитамин В5. Его действие на кожу сходно с действием пантотеновой кислоты (в клетках эпителия декспантенол быстро трансформируется в этот витамин), однако декспантенол лучше резорбируется при местном применении. Пантотеновая кислота — составная часть кофермента А, который в виде ацетил КоА играет главную роль в клеточном метаболизме. Пантотеновая кислота необходима для формирования и регенерации кожи и слизистых оболочек.

Раствор Куриозин (Gedeon Richter) содержит гиалуроновую кислоту — биополимер мукополисахаридного типа, который является структурным элементом соединительной ткани и важнейшим компонентом кожи (до 55%). Вследствие выраженной способности связываться с водой образует дисперсионный матрикс с молекулами воды, что имеет значение для поддержания эластичности и тонуса кожи. Усиливает миграцию фибробластов. В процессе тканевой регенерации повышается местная концентрация гиалуроновой кислоты, что создает оптимальные условия для активации, миграции и пролиферации клеток, участвующих в регенерации тканей. Вследствие усиления ангиогенеза улучшается местная микроциркуляция. При

патологических процессах концентрация гиалуроновой кислоты в тканях снижается, а клеточная пролиферация и регенерация тканей замедляются. Местное применение гиалуроновой кислоты способствует ускорению этих процессов, а значит и естественному заживлению раны.

Диоксизоль-Дарница (Дарница) – комбинированный лекарственный препарат для местного применения. Входящий в его состав диоксидин оказывает выраженное антибактериальное действие, в основе которого лежит способность повреждать ДНК бактерий. В результате такого воздействия замедляется синтез бактериальных нуклеаз, нарушается ультраструктура бактериальной клетки, происходит утолщение клеточной оболочки и нарушение структуры мембран. Цитостатическое действие препарата опосредуется воздействием на участки генома, ответственного за синтез экзоферментов, обуславливающих вирулентность, с чем связана способность препарата препятствовать развитию резистентности у микроорганизмов. Диоксизоль-Дарница обладает сильным местноанестезирующим и умеренным гиперосмолярным действием, купирует раневое и перифокальное воспаление, стимулирует процессы репарации и активность фагоцитов в ране.

Ацербин (Montavit) содержит кислоту яблочную, кислоту бензойную и кислоту салициловую. Препарат оказывает антисептическое, анальгетическое и ранозаживляющее действие, уменьшает образование экссудата и способствует формированию корки.

Кислота салициловая оказывает выраженное некролитическое действие; способствует формированию здоровых грануляций и эпителизации ткани.

Кислота яблочная оказывает положительный эффект на процессы метаболизма и экссудации в ране. Способствует выведению углекислоты из раны, предупреждает алкализацию раны, оказывает положительный эффект на лечебный процесс, предотвращает инфицирование раневой поверхности и стимулирует процессы регенерации ткани.

Антибактериальные и фунгицидные свойства бензойной и салициловой кислот также способствуют процессу регенерации ткани.

Особый интерес вызывает 2 % винбороновая мазь (2-фенил-3-карбетокси-4-диметиламиноэтил-5-оксибензофурана гидрохлорид), которая при доклиническом исследовании показала ценные фармакологические свойства – противовоспалительное, обезболивающее, антиоксидантное, противоишемическое, противомикробное, иммуностимулирующее и рекомендована для лечения ран различной этиологии, однако необходимы дальнейшие ее клинические испытания [231].

К сожалению наличие такого количества средств не решают проблемы эффективного лечения хронических ран. Недостаточная фармакологическая активность, развитие толерантности и высокая возможность появления выраженных аллергических реакций [230, 232] ограничивают возможность использования большинства препаратов. Поэтому поиск новых эффективных препаратов при длительно незаживающих раневых процессах остается актуальной проблемой фармакологии. Об также этом свидетельствуют множество литературных данных, посвященных разработке новых подходов к лечению хронических ран.

Прогресс современной фармакологии направлен на поиск препаратов типа метаболитов. Еще в 1933 году академиком Филатовым был предложен метод тканевой терапии [233]. Тканевые препараты легко проникают сквозь клеточные мембраны и биологические барьеры, в результате чего быстро осуществляется полнота их фармакологического эффекта. Во внутриклеточных средах препараты расщепляются на составляющие их компоненты, которые легко выводятся из организма. В противовес ксенобиотикам, которые насильственно изменяют функции определенных биохимических систем, препараты тканевой терапии создают в организме наиболее благоприятные условия к проявлению его собственных защитных механизмов и компенсаторных возможностей, возвращая нарушенные обменные реакции к физиологическим [234, 235].

Вместе с тем у истоков идеи метаболической терапии, также стояла и школа выдающегося отечественного фармаколога А.И. Черкеса. Лечение

препаратами типа метаболитов имеют свою специфику и может проводится в течение длительного времени. При этом, как правило, не происходит ослабления эффектов традиционных лекарственных средств, назначаемых на фоне метаболической терапии. Обычно диапазон доз, в котором проявляется лечебное действие интермедитов и эндогенных биорегуляторов, довольно широк, что определяет безопасность их применения. При этом важно подчеркнуть, что выбор оптимальных доз, исключающих негативный эффект «обратной связи», требует индивидуального подхода и понимания сущности лечебного эффекта.

В настоящее время дефицит внимания к проблемам фармакологии метаболитотропных средств все еще существует, несмотря на то, что актуальность неспецифической фармакопрофилактики бесспорна, а потенциал экспериментальной биохимической фармакологии достаточно велик [236].

Единой классификации метаболических препаратов не существует, но возможно условное разделение их на группы в зависимости от происхождения и механизма действия:

1. Средства, влияющие на энергетический обмен:
 - а. Макроэргические соединения и их компоненты: *АТФ, АТФ-лонг, аденозин, инозин, креатинфосфат*
 - б. Субстраты цикла трикарбоновых кислот: препараты янтарной кислоты (*лимонтар, мексидол, яктон*), малоновой кислоты (*малонат цитруллина, калия малонат*)
 - г. Компоненты дыхательной цепи: *рибофлавин, никотиамид, цитохром С, убихинон*
2. Средства, влияющие на липидный обмен:
 - а. Субстраты и модуляторы: фосфолипиды (*эсенциале*), *липин, карнитин, милдронат*
 - б. Антиоксиданты: *тиотриазолин, кверцетин, супероксиддисмутаза* и др.
3. Средства, влияющие на белковый обмен:

- а. Пуриновые и пиримидиновые основания: *метиурацил, фолиевая кислота, калия оротат, нуклеинат натрия, инозин.*
 - б. Полипептиды, дипептиды и аминокислоты: *метионин, таурин, аргинин, глицин, даларгин, глутаргин, цитрааргинин, церебролизин, цереброкурин, пропес, актовегин*
 - в. ГАМК и ее производные: *аминалон, ноофен, пантогам, мемоплант*
 - г. Гормональные и антигормональные препараты
 - д. Ферменты и антиферменты
 - е. Витамины и антивитамины
4. Биогенные стимуляторы:
- а. Растительного происхождения: *алоэ, биосед, альтан* и др.
 - б. Животного происхождения: *солкосерил, комбутек, экстракт плаценты, плазмол, хонсурид, румалон* и др.
 - г. Препараты неорганических объектов: *торфот, гуминат, ФиБС* и др.

Учитывая, повышение регенеративных свойств организма под влиянием тканевых препаратов, их давно начали успешно применять для ускорения заживления ран.

Алоэ (Aloe; син.: столетнее дерево, столетник) - многолетнее вечнозеленое растение сем. лилейных, из листьев и боковых побегов. Линимент алоэ (Linimentum Aloes) назначают наружно при ожогах, а также для предупреждения и лечения поражений кожи при лучевой терапии.

Биосед (Biosedum) - водный экстракт из травы очитка большого. Применяется при ожогах и свежих помутнениях роговицы, травматических иридоциклитах, пародонтозе, переломах костей, трофических язвах конечностей, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки.

Комбутек (Combutecum) - препарат, получаемый из ахилловых сухожилий или обрубков шкур крупного рогатого скота. Представляет собой пластины белого и светло-кремового цвета, пористой структуры, толщиной 6-10 мм, практически нерастворим в воде. Стимулирует процессы заживления ран, ускоряет рост грануляционной ткани и эпителизацию, впитывает раневое

отделяемое. Применяют при ожогах II и IIIa степени, трофических язвах и ранах, а также для подготовки трофических язв и ран к кожной аутопластике.

Плазмол (Plasmolum) - препарат, получаемый из крови человека. Применяют в качестве обезболивающего и неспецифического гипосенсибилизирующего средства при невралгиях, невритах, радикулитах и других заболеваниях периферической нервной системы, а также при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, бронхиальной астме, хрон. воспалительных процессах, артритах.

Сок каланхоэ (Succus Kalanchoes) - сок из свежих листьев и зеленой части стеблей растения каланхоэ. Обладает противовоспалительными свойствами, способствует очищению ран и язв от некротических масс и быстрой эпителизации раневой и язвенной поверхности. Применяют наружно для лечения трофических язв голени, пролежней, свищей, для подготовки ран к наложению вторичных швов.

Солкосерил (Solcoseryl) - экстракт крови крупного рогатого скота, освобожденный от белка. Применяют для улучшения обменных процессов и ускорения регенерации тканей при трофических язвах голени, гангрене, ожогах, язвах после лучевой терапии, при пересадке кожи, трофических поражениях роговицы, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки.

Хонсурид (Chonsuridum) - препарат, получаемый из гиалиновых хрящей трахеи крупного рогатого скота. Содержит хондроитинсерную кислоту, которая участвует в образовании основного вещества соединительной ткани. Применяют наружно для ускорения репаративных процессов при нарушении грануляции и эпителизации ран, а также при трофических язвах и пролежнях [237].

Наиболее популярный препарат, для лечения ран, – метилурацил ускоряет репаративные процессы в различных клетках и тканях. За счет этого достигается более раннее начало восстановления процессов при травматических, лучевых, химических и трофических нарушениях [238-240]. Пиримидиновые производные (пентоксил, метилурацил, цитозин и др.)

применяются с целью стимуляции репаративных процессов. Данные синтетические препараты по своей химической структуре близки к природным пиримидиновым основаниям, входящим в состав молекулы нуклеиновых кислот [241]. Известно, что нуклеиновые кислоты и продукты их распада являются стимуляторами роста и размножения клеток. Пиримидиновые производные стимулируют клеточные, гуморальные факторы иммунитета, обладают противовоспалительными свойствами, ускоряют заживление ран, улучшают функцию печени, стимулируют кроветворение, предотвращают развитие послеожоговой анемии, гипо-и диспротеинемии, способствуют уменьшению распада белков и ускоряют переход катаболической фазы в анаболическую [242].

При помощи метилурацила в условиях эксперимента и при использовании в клинике удается ускорить течение репаративных процессов в различных клетках, тканях. За счет этого достигается более раннее появление восстановительных процессов при травматических, лучевых и химических повреждениях. Под его влиянием происходит ускорение пополнения белков и форменных элементов после кровопотери, усиление лечебного эффекта почти всех противомикробных и некоторых противоопухолевых препаратов, повышение фагоцитарной активности макрофагов и клеток ретикуло-эндотелиальной системы, изменение чувствительности некоторых опухолей, нормальных клеток и тканей к действию ионизирующей радиации, повышение стойкости к кислородному голоданию [241, 243]. Местно при ранах, ожогах, трофических язвах используют 10 % метилурациловую мазь [1, 232, 244].

Большого внимания заслуживает мазь «Тиотриазолина 2 %» (Червона зірка), основным компонентом которой является 5-метил-1,2,4-триазолин-5-тиоацетат, имеющий противоишемическое, мембраностабилизирующее, антиоксидантное и иммуномодулирующее действие [245]. Препарат проявляет репаративные свойства, доказана его эффективность при для стимуляции процессов заживления в полости рта [246], при действии ионизирующего и ультрафиолетового излучения на кожу [247].

Сотрудники Государственного Санкт-Петербургского научно-исследовательского института особо чистых биопрепаратов разработали препарат «Хитоскин» [248], который представляет собой пористую пластину (губку) из очищенных природных полимеров хитозана и коллагена, содержит антисептик и противовоспалительные лекарственные вещества: бета-каротин липосомальный или антиоксидантный фермент супероксиддисмутазу. Хитозан уже применяется во всем мире как местное средство при комплексном лечении трофических и лучевых язв, пролежней, длительно незаживающих ран [249].

Кроме того, передовыми в мире являются методы, направленные на стимуляцию и обеспечение регенерации ткани с использованием факторов роста, клеток и тканей. Что касается факторов роста, то их эффективность строго связана с моментом введения и состоянием микросреды раны. Например, фактор роста кератиноцитов оказался эффективен для стимуляции эпителизации при лучевых мукозитах и абсолютно неэффективен для стимуляции эпителизации при других видах хронических ран [250]

В случае с клетками и тканями также существует множество проблем. Каждая культура ткани высоко специфична и будет эффективна только при определенном состоянии раневого ложа и причины возникновения хронической раны. Так, клинические исследования биоинженерных тканей (Graftskin, Organogenesis) показали разную эффективность при лечении венозных язв и ран при сахарном диабете [251, 252]. Единственный фактор роста, который оказался клинически эффективным – рекомбинантный PDGF. Эта терапия, однако, имела ограниченную клиническую ценность, поскольку в отношении хронических ран она оказывалась неэффективной. Вероятная причина – постоянное наличие чрезмерного количества протеаз, которые разрушали PDGF, и TGF- β [253]. Существуют предположения, что эффективно будет вернуть цитокиновый каскад в хорошо выраженную воспалительную фазу и тогда пролиферация станет более полноценной или наоборот – применить экзогенные цитокины и факторы роста для переключения развития раны с воспалительного на пролиферативное течение [254]. Теоретически, альтерация

молекулярной среды раны может прервать воспалительный цикл и начать нормальный процесс заживления раны. Цитокиноterapia может быть успешной, если воспалительная и протеазная микросреда будут находиться под контролем. Продукты дегрануляции нейтрофилов также представляют потенциальную фармакологическую цель для изменения чрезмерного воспаления. Были идентифицированы более 50 различных продуктов в гранулах нейтрофила, но только немногие играли значительную роль непосредственно в раневом процессе [210]. Нейтрофил-зависимая эластаза и MMP-8 обладают способностью разрушить широкий диапазон макромолекул соединительной ткани. Коллагеназы – ключевые ферменты в распаде внеклеточной матрицы. Считается, что эти ферменты могут также играть роль в патогенезе хронических ран, не только разрушая синтетические продукты фибробластов и факторов роста, таких как TGF- β и PDGF, но также и важные компоненты раны, такие как фибронектин, α_1 -антипротеаза, и α_2 макроглобулин [176, 255].

Очень перспективным может быть применение синтетических ингибиторов матричных металлопротеиназ – тетрациклинов. Ингибирующая концентрация для доксициклина – приблизительно 25 ммоль/л для MMP-8, и 300 ммоль/л для MMP-1 [256]. Следовательно, производные тетрациклина могут уменьшить активность MMP и эластазы [257-259]. Как только протеолитическая среда незаживающей раны будет подавлена, продукция матричных компонентов сможет продолжить развитие грануляции, контракции, эпителизации и заживления.

Таким образом, эффективная терапия, направленная на заживление хронической раны должна разрушить порочный провоспалительный круг. Разрывание про- и противовоспалительных путей в репарации ткани может быть эффективным способом защиты новой регенеративной ткани от повреждения, вызванного хроническим воспалением незаживающей раны. Как уже было сказано выше, препараты, действующие на какое-либо одно звено этого сложного процесса малоэффективны. Поэтому, перспективными

препаратами могут оказаться биологически активные стимуляторы, препараты, содержащие различные природные соединения биологически активных веществ: органические кислоты, аминокислоты, витамины, гормоны, медиаторы, микроэлементы и другие соединения. Их действие не направлено на какой-то определенный медиатор или какую-то отдельную клетку, они обладают многофакторным неспецифическим действием на организм человека. Вещества, входящие в состав этих препаратов обладают одновременно и пластическими и регуляторными свойствами [260]. Путем изменения регуляции внутренней среды организма эти препараты включают механизмы, направленные на поддержание физиологических параметров гомеостаза, повышают компенсаторно-восстановительные процессы, общую резистентность и иммунологическую реактивность, активируют адаптационно-трофические функции органов и систем. Возможно, такие лекарственные средства смогут создать микросреду в ране, способную разорвать порочный круг хронического воспаления и инициировать пролиферацию с дальнейшей репарацией.

Для фармакотерапевтической коррекции длительно незаживающих ран мы выбрали нейрометаболический препарат природного происхождения «Церебролизин» (Ebewe Pharma, Австрия), который содержит комплекс пептидов, полученных из головного мозга свиньи, собственную супероксиддисмутазу и очень богатый микроэлементный состав [261]. Этот препарат обладает нейропротективным, антиоксидантным и нейротрофическим эффектами, совокупность которых проявляется мембраностабилизирующим, ростостимулирующим и метаболическим влиянием. Церебролизин уже давно используется в клинике в качестве препарата для лечения таких заболеваний как, ишемический инсульт, деменция, болезнь Альцгеймера [262]. Основными механизмами действия активной пептидной фракции церебролизина являются регуляция энергетического метаболизма мозга, собственное нейротрофическое влияние и модуляция активности эндогенных факторов роста, взаимодействие с системами нейропептидов и нейромедиаторов [263, 264] Экспериментально

показано, что церебролизин, с одной стороны, уменьшает потребность мозга в кислороде, формируя его повышенную резистентность к факторам ишемии-гипоксии, а с другой - усиливает аэробный метаболизм, достоверно снижая уровень лактата в нервной ткани [265]. Стимуляция энергетического метаболизма церебролизином отличается особой гибкостью: всегда обеспечивает оптимальный уровень АТФ в нейронах, гарантирует их от гиперпродукции макроэргических связей, что позволяет клеткам адекватно реагировать на энергозависимые задачи, такие как синтез белков и нейротрансмиттеров, функционирование ионных каналов и др.

Установлены антиоксидантные свойства препарата, обусловленные торможением процессов свободнорадикального окисления и перекисного окисления липидов, а также положительным влиянием на гомеостаз микроэлементов (магния, калия, селена, марганца, ванадия), обладающих антиоксидантными свойствами [266].

В 70-х годах было продемонстрировано достоверное действие церебролизина на постнатальное развитие головного мозга, связанное со значительным усилением синтеза белков и полипептидов, активацией митохондрий в нейронах, модуляцией соотношения ДНК/РНК [267]. Под влиянием препарата происходят ускорение дифференциации отдельных слоев мозговой ткани, усиление роста и образования капиллярной сети [268].

Изучение механизмов действия церебролизина показало, что каждый из пептидов препарата выполняет специфические трофическую и модуляторную функции: одни пептиды обладают самостоятельными нейротрофическими свойствами, другие индуцируют синтез эндогенного фактора роста нервов в астроцитах [269]. Наряду с этим пептиды церебролизина активно взаимодействуют с нейротрансмиттерными системами, повышая функциональное взаимодействие нейронов и клеток глии, улучшая синаптическую передачу и пластичность ткани мозга. Нейротрофические эффекты препарата обуславливают повышенную выживаемость клеток мозга в

условиях прекращения их нейротрофической поддержки со стороны клеток-мишеней и недостаточности кислорода и глюкозы [270].

Установлена способность церебролизина повышать экспрессию гена транспортера глюкозы (GLUT-1) через гематоэнцефалический барьер и, таким образом, увеличивать ее транспорт к головному мозгу в условиях экспериментальной ишемии [271, 272]. Показано, что нейротрофические свойства церебролизина связаны с защитой цитоскелета нейронов вследствие ингибирования кальций-зависимых протеаз, в том числе кальпаина, и увеличения экспрессии микротубулярного кислого протеина 2 (MAP2) [273]. Наряду с этим церебролизин увеличивает аффинность связывания BDNF с его рецепторами [274].

Влияние препарата на trk-B рецепторы нейротрофинов может свидетельствовать о вовлечении его в регуляцию естественных факторов роста. В экспериментальных исследованиях выявлена способность церебролизина предотвращать гиперактивацию микроглии и снижать продукцию ИЛ-1 β и других провоспалительных цитокинов, что отражает влияние препарата на выраженность местной воспалительной реакции и процессов оксидантного стресса в ишемизированной зоне мозга [275].

На наш взгляд, именно, эти свойства Церебролизина будут способствовать также и заживлению хронической раны любой этиологии. Более того, имеются свидетельства положительного действия комбинаций препаратов, включающих «Церебролизин», на больных с тяжелыми формами лучевых поражений, глубокими распространенными лучевыми фиброзами, осложненными плекситами и невритами [276].

Другой метаболитотропный препарат «Пропес» (ЧП НИР, Украина), имеет сходный состав с церебролизином: комплекс пептидов и свободных аминокислот из эмбрионов крупного рогатого скота. Препарат обладает выраженным антиоксидантным эффектом, повышает показатели естественного и Т-клеточного иммунитета, тормозит рост опухолевого процесса, кроме того, применяется в качестве средства сопровождения терапии больных со

злокачественными новообразованиями, для профилактики гипоплазии кроветворения, гнойно-септических осложнений, рекомендован при оперативных вмешательствах и для стимуляции регенерации при острых язвах пищеварительного тракта [230, 277].

Нами также предлагается особый путь введения этих препаратов – обкалывание вокруг раны, что обеспечивает создание максимальной и длительно сохраняющейся концентрации в тканях, окружающих рану, по сравнению с другими способами введения. Более того, учитывая то, что одним из патогенетических звеньев развития хронической раны является нарушение микроциркуляции в зоне повреждения, создающее препятствие для поступления препаратов в ткани из сосудистого русла, данный путь введения наиболее эффективный. При лечении язв, карбункулов, фурункулов, витилиго и длительно незаживающих ран такой метод используется довольно часто [278, 279].

Глава 4. Эффективность лечения местных лучевых повреждений кожи АТФ, церебролизином, румалоном, андекалином в эксперименте

Современные представления о механизмах действия ионизирующего излучения свидетельствуют, как уже указывалось в главе 2, об угнетении процессов фосфорилирования, энергитическом параличе клеток и значении ферментов-фосфатаз в этом процессе. В то же время гидролазы играют важную роль в воспалительной стадии раневого процесса. Поэтому исследование фосфатаз, АХЭ-азы, сульфгидрильных групп в различных структурных элементах кожи представляет самостоятельный интерес для изучения патогенеза хронической раны, вызванной местным облучением и может служить доказательством успешной фармакотерапии метаболитотропными препаратами.

4.1. Фосфатазы, ацетилхолинэстераза, SH-группы в очаге повреждения при применении АТФ.

Как сравнительно эффективный метод местного лечения больных с лучевыми повреждениями кожи было предложено использовать инъекции АТФ по периферии очага “для улучшения биоэнергетических процессов”, руководствуясь, скорее, эмпирическим нежели патогенетическим подходом [278, 279]. Мы попытались обосновать эффективность этого метода, прежде всего, в эксперименте. Для оценки эффективности терапевтических мероприятий помимо клинических наблюдений использовали определение фосфатаз, АХЭ, SH-групп в очаге поражения, основываясь на полученных данных об уязвимости этих звеньев в ответ на действие ионизирующего излучения, а также современных рекомендациях использовать фосфатазы в качестве биохимического индикатора лучевого поражения [204]. Во всех случаях, лечение начиналось при сформировавшейся язве, после отторжения

некротических тканей. По периметру очага повреждения на границе между поврежденной и нормальной кожей производили инъекции АТФ по 0,5 мл в 4 точках через день. Продолжительность лечения зависела от площади очага и составила 15-20 сеансов введения АТФ. В качестве контрольной группы использовались животные с лучевыми поражениями без применения лечебных мероприятий.

Длительность самопроизвольного заживления лучевых язв у морских свинок составляла 2,5-3 месяца. Спустя 4-5 месяцев кожа оставалась депигментированной, рост волос не возобновлялся. Длительность заживления при лечении АТФ составила 37-40 дней. При этом полное заживление и эпителизация раневой поверхности наступило у 50 % морских свинок, у остальных 50 % в течение этого срока сократилась площадь дефекта на 80 % ,произошло размягчение участков фиброза. Спустя 3-4 месяца возобновился рост волос, появилась пигментация.

Как следует из табл. 4.1, до начала лечебных мероприятий активность АТФ-азы (рН 7,2) в области края раны была значительно повышена в сравнении с контролем как в базальном слое эпидермиса, так и в нервных волокнах. По мере удаления от центра очага активность энзима снижалась до уровня, близкого к контролю. Аналогичные изменения были обнаружены и в активности АТФ-азы при рН 9,4 (табл. 4.2): существенное повышение в базальных клетках и нервных волокнах в области края раны и уровень, близкий к физиологическим колебаниям, по периферии.

После окончания курса лечения в сроки, соответствующие клиническому заживлению, активность АТФ-азы (при рН 7,2 и 9,4) значительно понижалась по сравнению с обнаруженной в разгар лучевого повреждения и приближалась к показателям контрольной группы. Лишь активность АТФ-азы при рН 7,2 в базальном слое эпидермиса, хотя и снижалась по сравнению с выявленной в разгар клинического поражения, все же оставалась выше контроля.

Таблица 4.1

Активность аденозинтрифосфатазы при pH 7,2 в очаге до и после лечения АТФ у морских свинок ($M \pm m$)

Сроки исследования	Структурные элементы кожи	
	Базальный слой эпидермиса	Нервные волокна
Контроль	2,743±0,513	2,643±0,476
<i>До лечения:</i> край язвы	4,083±0,217**^^++	3,833±0,389**^^++
периферия	3,158±0,514	3,000±0,426
<i>После лечения</i>	3,267±0,314*	2,942±0,150

Примечания:

Достоверность различий с контролем: * - 95% ($P < 0,05$), ** - 99% ($P < 0,01$)

Достоверность различий между краем язвы и периферией: ^ - 95% ($P < 0,05$), ^^ - 99% ($P < 0,01$)

Достоверность различий до и после лечения: + - 95% ($P < 0,05$), ++ - 99% ($P < 0,01$)

Активность ЩФ была повышенной в эпителии волосяных фолликулов и зернистом слое эпидермиса по краю раны в сравнении с контролем (табл.4.3). По периферии очага в эпителии волосяных фолликулов активность фермента приближалась к контролю, а в зернистом слое, хотя и была ниже чем в области края язв, но превышала контроль. После лечения активность ЩФ снижалась по сравнению с обнаруженной до лечения, восстанавливалась до уровня контроля в эпителии волосяных фолликулов, но все же была выше, чем в контроле, в зернистом слое.

Показатели активности КФ до начала лечения в области края раны и по ее периферии были увеличены в базальном и зернистом слоях эпидермиса (табл. 4.4). Степень повышения активности имела такую же направленность, как и для других ферментов, – более выраженное увеличение в области края раны и

Биохимические индикаторы лучевого поражения – фосфатазы – определяли в клоногенных слоях – базальном слое и эпителии волосяных фолликулов.

Таблица 4.4

Активность кислой фосфатазы в очаге до и после лечения АТФ у морских свинок ($M \pm m$)

Сроки исследования	Структурные элементы кожи	
	Базальный слой эпидермиса	Зернистый слой эпидермиса
Контроль	2,000±0,113	1,900±0,129
<i>До лечения:</i> край язвы	2,900±0,217** ⁺	3,500±0,522** ^{^^++}
периферия	2,592±0,370**	2,250±0,452*
<i>После лечения</i> центр	2,617±0,194**	2,250±0,302*
периферия	2,167±0,121**	1,992±0,262

Примечания:

Достоверность различий с контролем: * - 95% (P<0,05), ** - 99% (P<0,01)

Достоверность различий между краем язвы и периферией: ^ - 95% (P<0,05), ^^ - 99% (P<0,01)

Достоверность различий до и после лечения: ⁺ - 95% (P<0,05), ⁺⁺ - 99% (P<0,01)

Как следует из табл.4.7, эффективность сочетанного применения АТФ и румалона выше, чем только АТФ. Активность ЩФ в эпителии волосяных фолликулов в результате комбинированного применения АТФ и румалона (I вариант лечения) значительно уменьшалась по сравнению с таковой до лечения и не отличалось от активности у интактных животных (табл. 4.8). Аналогичная направленность наблюдалась и со стороны других фосфатаз – КФ и – АТФ-азы – в базальном слое эпидермиса: уменьшение активности с высокой степенью достоверности по сравнению с обнаруживаемой до начала лечения, в разгар образования язвы, с восстановлением до уровня контроля при клиническом улучшении. Количество SH-групп увеличивалось до контрольного уровня, достоверно отличалось от обнаруженного до лечения (см. табл. 4.8).

Эффективность консервативного лечения местных лучевых повреждений кожи
у морских свинок

Вид лечения	Эффективность заживления				
	Отсутствие раневого дефекта	Уменьшение площади раневого дефекта	Размягчение фиброза	Без изменения	Ухудшение
АТФ	5 (50%)	5 (50%)	10 (100%)	—	—
АТФ + румалон	7 (70%)	3 (30%)	10 (100%)	—	—
АТФ+ церебролизин	8 (80%)	2 (20%)	10 (100%)	—	—
АТФ + андекалин	6 (60%)	4 (40%)	10 (100%)	—	—
Аплл. димек-сида	—	2 (20%)	6 (60%)	1 (10%)	1 (10%)
Без лечения	—	2 (20%)	—	8 (80%)	—

Содержание SH-групп было низким, на уровне, установленном до начала лечения (см. табл.4.8).

Следовательно, наиболее выраженный клинический эффект, подтвержденный биохимическими индикаторами лучевого поражения (и гистологической динамикой очага), дают местные лечебные мероприятия, включающие введение биоэнергетических, субстратсодержащих лекарственных препаратов непосредственно в очаг путем инъекций на границе здоровой и поврежденной тканями.

Таблица 4.8

Активность фосфатаз, содержание SH - групп в очаге лучевого поражения в процессе консервативной терапии местных повреждений кожи у морских свинок ($M \pm m$)

Показатели	До лечения	После местного воздействия					Контроль
		АТФ	АТФ + румалон	АТФ + церебролизин	АТФ + андекалин	Аппликации димексида	
ЩФ (эпителий волосяных фолликулов)	4,176 $\pm 0,387^*$	2,750 $\pm 0,320^{*\wedge}$	2,630 $\pm 0,153^\wedge$	2,431 $\pm 0,230^\wedge$	2,950 $\pm 0,195^\wedge$	3,851 $\pm 0,414^*$	2,571 $\pm 0,450$
КФ (базальный слой эпидермиса)	2,900 $\pm 0,217^*$	2,617 $\pm 0,194^{**}$	2,210 $\pm 0,175^\wedge$	2,013 $\pm 0,160^\wedge$	2,311 $\pm 0,181^{*\wedge}$	2,750 $\pm 0,321^*$	2,000 $\pm 0,115$
АТФ-аза при pH 7,2 (базальный слой эпидермиса)	4,083 $\pm 0,217^*$	3,267 $\pm 0,314^*$	2,815 $\pm 0,211^\wedge$	2,735 $\pm 0,301^\wedge$	3,250 $\pm 0,345^\wedge$	3,850 $\pm 0,453^*$	2,743 $\pm 0,513$
АТФ-аза при pH 9,4 (базальный слой эпидермиса)	4,225 $\pm 0,277^*$	3,608 $\pm 0,080^{**}$	3,010 $\pm 0,220^\wedge$	3,000 $\pm 0,180^\wedge$	3,115 $\pm 0,218^\wedge$	3,780 $\pm 0,319^*$	2,914 $\pm 0,261$
SH - группы (эпителий волосяных фолликулов)	1,750 $\pm 0,463^*$	2,230 $\pm 0,183^{*\wedge}$	2,431 $\pm 0,201^\wedge$	2,787 $\pm 0,115^{\wedge\wedge}$	2,231 $\pm 0,117^{*\wedge}$	1,951 $\pm 0,125^*$	2,957 $\pm 0,215$

Примечания:

Достоверность различий с контролем: * - 95% ($P < 0,05$), ** - 99% ($P < 0,01$)

Достоверность различий до и после лечения: \wedge - 95% ($P < 0,05$), $\wedge\wedge$ - 99% ($P < 0,01$)

Глава 5. Оценка фармакотерапевтической эффективности церебролизина и пропеса при хроническом раневом процессе в эксперименте

Приведенные в предшествующей главе результаты успешного применения метаболитотропных препаратов для лечения лучевых повреждений кожи все же не могут служить доказательством фармакотерапевтического эффекта каждого из них и лишь отчасти вскрывают механизм их действия.

Для современной доказательной базы фармакотерапевтического эффекта метаболитотропных препаратов мы провели оценку эффективности двух препаратов этой группы – церебролизина и пропеса.

5.1. Динамика местных проявлений заживления и общих реакций организма под влиянием церебролизина и пропеса

Исследование выполнено на наиболее удобном объекте для моделирования длительно незаживающих ран и проведения местных лечебных мероприятий – морских свинок. В качестве модели хронического раневого процесса использовали местное лучевое повреждение кожи, как наиболее тяжелое и трудно поддающееся лечению. Для этого использовали однократное локальное рентгеновское облучение области бедра в дозе 60 Гр [283].

«Церебролизин» вводили двумя способами: паравульнарно и внутримышечно. Паравульнарное введение проводили через день в дозе 1 мл/кг из 3-4 точек по периметру очага на границе между поврежденной и здоровой тканью – всего 10 введений. Внутримышечное введение осуществляли в бедро, противоположное очагу повреждения. Курс лечения и дозы соответствовали паравульнарному введению – 10 введений через день в дозе 1 мл/кг. «Пропес» вводили паравульнарно и внутримышечно в дозе 1 мл/кг по такой же схеме, что и «Церебролизин». Мазь «Метилурациловая» наносилась на всю поверхность раны ежедневно.

Животные были распределены на 7 групп: первая группа – интактные; вторая – морские свинки с вялотекущим раневым процессом, которым лечение

не проводилось; третья, четвертая, пятая, шестая и седьмая группы – животные с длительно незаживающим раневым процессом, которым применяли соответственно мазь «Метилурациловая», препарат «Церебролизин», вводимый внутримышечно и паравульнарно и препарат «Пропес», вводимый внутримышечно и паравульнарно. Начало и длительность лечения во всех группах было одинаковым. Животные выводились из эксперимента на 21-е сутки – по окончании курса лечения и на 35-е сутки – для контроля отдаленных последствий.

В результате местного облучения кожи области задней поверхности бедра у морских свинок через 20-24 часа развивалась гиперемия очага, длившаяся одни сутки. На протяжении последующих пяти суток область облучения оставалась бледной. К 6-7-м суткам отмечалась повторная гиперемия очага. К 10-м суткам у большинства животных отмечалась десквамация с появлением струпа, очаг уплотнялся. Через 25-30 суток после облучения сформировались язвы площадью $78,5 \pm 1,6$ мм². На 40-е сутки после облучения дефект покрывался плотным, коричневого цвета струпом, кожа вокруг бледная, без выраженного отека, очень плотная. Наблюдение над животными в течение 2-х месяцев показало, что самопроизвольное заживление раны не наступает (рис. 5.1, табл. 5.1).

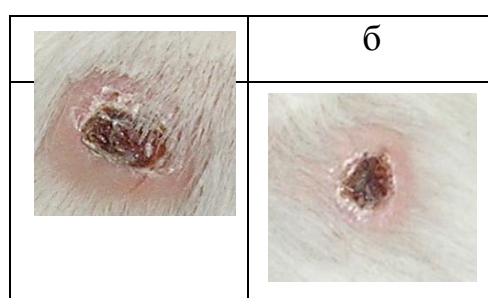


Рис.5.1. Хроническая лучевая язва задней поверхности бедра морских свинок на 30-е (а) и 40-е (б) сутки после облучения

После 20-дневного курса лечения сформировавшейся язвы кожи мазью «Метилурациловая» можно было наблюдать случаи полной эпителизации дефекта у 43 % морских свинок с последующей вторичной деэпителизацией.

Кожа вокруг язвы была бледной на протяжении всего периода лечения. При пальпации отмечалось плотное дно и края язвы (рис. 5.2, см. табл. 5.1).

В процессе внутримышечного лечения препаратом «Пропес» отмечалось появление гиперемии вокруг язвы на 6-7-е сутки. После окончания лечения в 83 % случаев наблюдалась эпителизация язвы с уменьшением плотности ее дна, в остальных – площадь дефекта уменьшалась, при этом наблюдалась вторичная деэпителизация (рис. 5.3, см. табл. 5.1).

Таблица 5.1

Клиническая эффективность лечения хронической раны у морских свинок

Характер опыта	Местные проявления заживления после начала лечения, % животных					Появление гиперемии	Отторжение струпа
	21-е сутки		35-е сутки				
	отсутствие раневого дефекта	без заживления	отсутствие раневого дефекта	наличие язвенности	без заживления		
Контроль	0	100	0	-	100	Не наблюдалось	-
Мазь Метилурациловая	43	57	14	29	57	Не наблюдалось	18-20 сутки
Пропес, внутримышечное введение	83	17	33	50	17	6-7 сутки	12-14 сутки
Пропес, паравульнарное введение	83	17	92	0	8	3 сутки	10-12 сутки
Церебролизин, внутримышечное введение	83	17	33	50	17	5-7 сутки	12-14 сутки
Церебролизин, паравульнарное введение	75	25	92	0	8	4-6 сутки	10-12 сутки

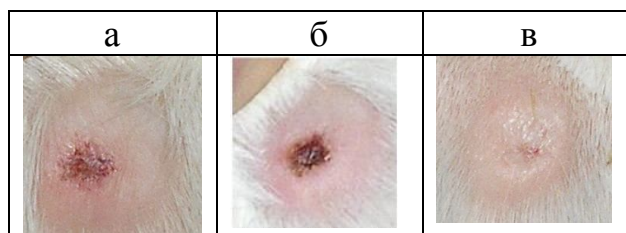


Рис. 5.2. Хроническая лучевая язва задней поверхности бедра морских свинок в динамике лечения мазью «Метилурациловая» на 7-е (а), 14-е (б) и 21-е (в) сутки

При паравульнарном введении пропеса выраженная гиперемия кожи вокруг язвы возникала уже на 3-й день лечения, степень ее нарастала до 6-го дня и продолжала быть на том же уровне до 10-го дня. При этом уплотнение дна

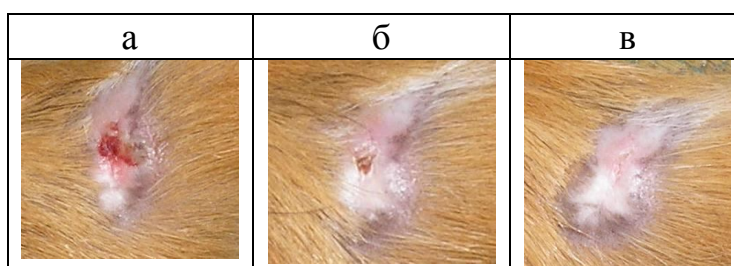


Рис. 5.3. Хроническая лучевая язва задней поверхности бедра морских свинок в динамике внутримышечного лечения пропесом на 7-е (а), 14-е (б) и 21-е (в) сутки

язвы выразительно уменьшалось, к концу курса лечения у 83 % животных произошла полная эпителизация дефекта, а к 35-м суткам у 92 %, вторичной деэпителизации не наблюдалось (рис. 5.4, см. табл. 5.1).

Курс лечения внутримышечными инъекциями препарата «Церебролизин» обуславливал появление небольшой перифокальной гиперемии через 5-7 дней. Заживление к концу лечения происходило у 83 % животных с последующей вторичной деэпителизацией раневого очага (рис. 5.5, см. табл. 5.1).

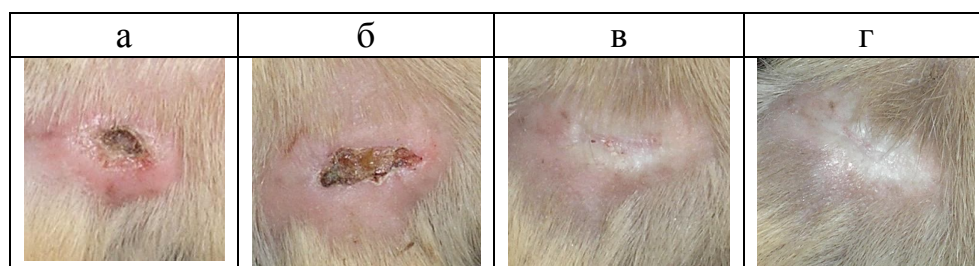


Рис. 5.4. Хроническая лучевая язва задней поверхности бедра морских свинок в динамике паравульнарного лечения пропесом на 7-е (а), 14-е (б), 21-е (в), 35-е (г) сутки

Паравульнарное введение церебролизина обусловило появление выраженной перифокальной гиперемии на 4-6 сутки, размягчение дна язвы,

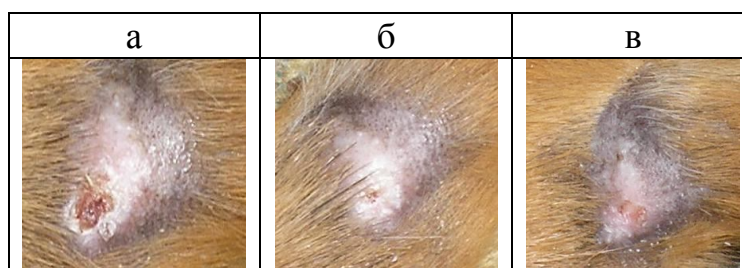


Рис. 5.5. Хроническая лучевая язва задней поверхности бедра морских свинок в динамике внутримышечного лечения церебролизинном на 7-е (а), 14-е (б) и 21-е (в) сутки

определяемое пальпаторно (рис. 5.6, см. табл. 5.1). Полная эпителизация язвы к концу курса лечения произошла у 75 % животных, отмечался один случай вторичной дезэпителизации. Через две недели после окончания лечения уже 92 % участков бывших изъязвлений были эпителизованы. Цвет участка становился розовым, при пальпации – мягкий, но несколько плотнее окружающей ткани (см. рис. 5.6, см. табл. 5.1).

На протяжении всего исследования во всех экспериментальных группах изменений в поведенческих реакциях, активности, весе, а также нарушений со стороны желудочно-кишечного тракта (аппетит, дефекация), мочеполовой системы (уринация) по сравнению с интактными животными не наблюдалось.

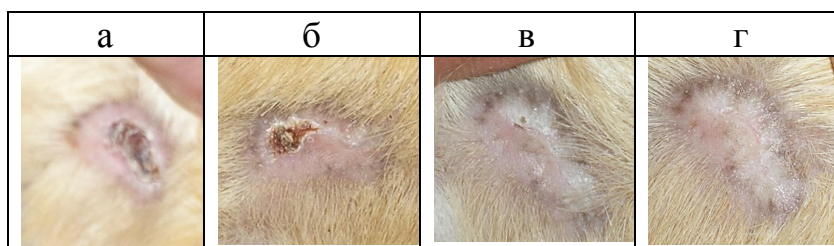


Рис. 5.6. Хроническая лучевая язва задней поверхности бедра морских свинок в динамике паравульнарного лечения церебролизином на 7-е (а), 14-е (б), 21-е (в), 35-е (г) сутки

Таким образом, исследуемые препараты влияют на процесс заживления хронической раны в разной степени. Применение церебролизина и пропеса паравульнарно при длительно незаживающем раневом процессе стимулирует заживление с дальнейшим размягчением очага и его полной эпителизацией к 35-м суткам без повторного изъязвления. Внутримышечное применение церебролизина и пропеса уступает паравульнарному, но превышает эффект мази «Метилурациловая». Ранозаживляющий эффект церебролизина несколько запаздывает по сравнению с пропесом.

5.2. Влияние церебролизина и пропеса на состояние процессов ПОЛ в раневом очаге и периферической крови

Учитывая важную роль процессов пероксидации в патогенезе хронической раны, одной из задач исследования явилось изучение процессов ПОЛ в раневом очаге и периферической крови при фармакотерапии хронических ран. Кроме того, показатели ПОЛ в очаге будут особенно ценны, так как в клинике изучение данных показателей возможно только в крови.

В раневом очаге у облученных морских свинок, которым лечение не проводилось, на 65-67-е сутки после облучения уровень ДК был $5,360 \pm 0,245$ (табл. 5.2), что 3,1 раза больше, чем у интактных животных (рис. 5.7, а). При этом уровень ТБК-АП равнялся $1,920 \pm 0,121$ (см. табл. 5.2), или в 4,6 раза выше по сравнению с интактными свинками (рис. 5.7, б).

В крови у животных этой группы содержание ДК было $35,900 \pm 0,869$ (см. табл. 5.2), т.е. выше, чем у интактных в 2,1 раза (см. рис. 5.7, а), а содержание ТБК-АП ($10,200 \pm 0,668$) было выше в 8,8 раз (см. рис. 5.7, б).

**Перекисное окисление липидов в очаге и крови морских свинок после
лечения мазью «Метилурациловая» (M±m)**

Группа	Кожа		Кровь	
	ДК, мкмоль/г белка	ТБК-АП, мкмоль/г белка	ДК, мкмоль/л	ТБК-АП, мкмоль/л
Интактные	1,750±0,094	0,422±0,032	35,900±0,869	1,160±0,037
Без лечения	5,360± 0,245 ^{###}	1,920± 0,121 ^{###}	74,300± 3,690 ^{###}	10,200± 0,668 ^{###}
Мазь «Метилурацило- вая»	4,700±0,224	1,400±0,089 ^{**}	49,700± 1,620 ^{***}	4,050± 0,376 ^{***}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с интактными животными (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

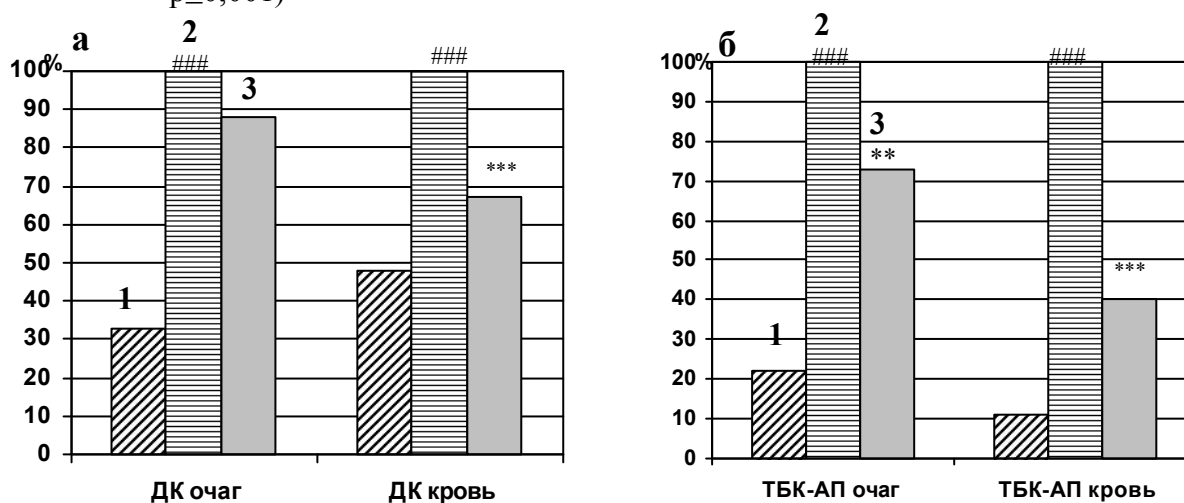


Рис. 5.7. Содержание первичных (а) и вторичных (б) продуктов ПОЛ в очаге и крови морских свинок при лечении мазью «Метилурациловая»

Примечания:

1. 1 – интактные; 2 – без лечения; 3 – мазь «Метилурациловая».
2. Достоверность различий по сравнению с интактными животными (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

На 21-е сутки после начала лечения мазью «Метилурациловая» в раневом очаге уровень ДК не изменялся, а ТБК-АП – уменьшался на 27 % (см. рис. 5.7, б) и был равен $1,400 \pm 0,089$ (см. табл. 5.2). В то же время в крови отмечалось снижение содержания ДК до $49,700 \pm 1,620$ и ТБК-АП до $4,050 \pm 0,376$, что соответственно на 33 % и 60 % меньше по сравнению с группой животных без лечения (см. табл. 5.2, рис. 5.7, а, б).

В результате внутримышечного лечения хронической раны пропесом в очаге отмечалось снижение обоих показателей ПОЛ по сравнению с уровнем до лечения и при лечении мазью «Метилурациловая» (рис. 5.8, а, б). При этом ДК снижались до $3,850 \pm 0,134$ (табл. 5.3), что на 29 % меньше, чем до лечения (см. рис. 5.8, а), а ТБК-АП – до $0,948 \pm 0,020$ (см. табл. 5.3), что меньше на 51 % (см. рис. 5.8, б).

Таблица 5.3

Перекисное окисление липидов в очаге и крови морских свинок после внутримышечного введения пропеса ($M \pm m$)

Группа	Очаг		Кровь	
	ДК, мкмоль/г белка	ТБК-АП, мкмоль/г белка	ДК, мкмоль/л	ТБК-АП, мкмоль/л
Без лечения	$5,360 \pm 0,245$	$1,920 \pm 0,121$	$74,300 \pm 3,690$	$10,200 \pm 0,668$
После лечения пропесом	$3,850 \pm 0,134^{***,^}$	$0,948 \pm 0,020^{***,^^}$	$37,900 \pm 3,760^{***}$	$2,800 \pm 0,610^{***,^}$

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.2) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).

В крови показатель ДК снижался до $37,900 \pm 3,760$ (см. табл. 5.3), что составляло 51 % от уровня до лечения (см. рис. 5.8, а). Уровень ТБК-АП понижался по сравнению с группой без лечения и при лечении мазью «Метилурациловая». При этом он составлял $2,800 \pm 0,610$ (см. табл. 5.3) или 27 % относительно уровня до лечения (см. рис. 5.8, б).

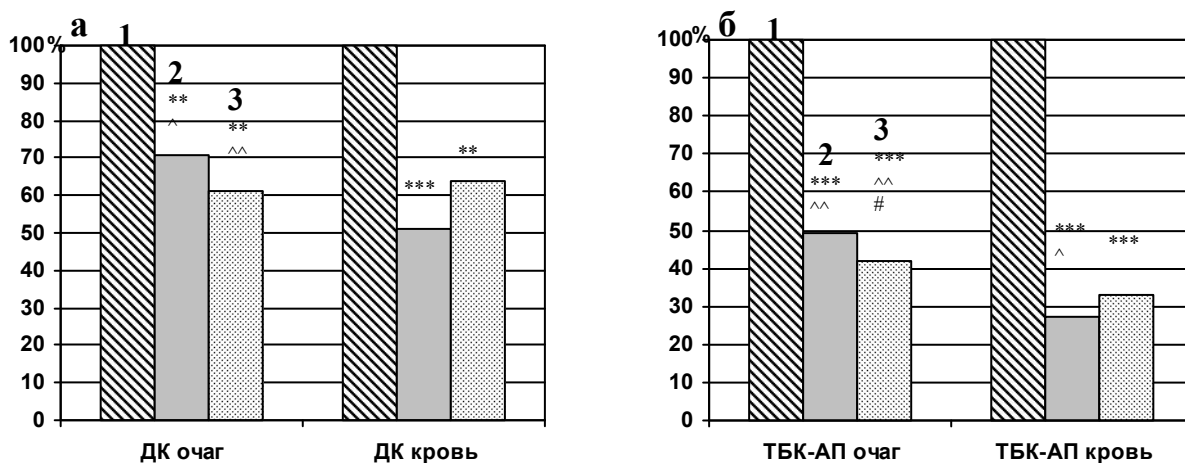


Рис. 5.8. Уровень первичных (а) и вторичных (б) продуктов ПОЛ морских свинок до и после лечения пропесом

Примечания:

- 1 – без лечения; 2 – внутримышечное введение; 3 – паравульнарное введение
2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.2) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
4. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей пропес внутримышечно (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

При паравульнарном введении пропеса, на 21-е сутки после начала лечения уровень ДК в очаге был равен $3,250 \pm 0,314$ (табл. 5.4), составляя 61 % от такового до лечения (см. рис. 5.8, а). Содержание ТБК-АП равнялось $0,812 \pm 0,040$ (см. табл. 5.4) или 43 % от уровня группы животных, которым лечение не проводилось. В дальнейшем (на 35-е сутки после начала лечения) существенных изменений состояния ПОЛ не обнаруживалось. В очаге

наблюдалось снижение содержания ДК ($2,890 \pm 0,252$) и ТБК-АП ($0,780 \pm 0,044$) по сравнению с аналогичными показателями группы без лечения. Примечательно, что оба эти показателя уменьшались не только по сравнению с группой без лечения, но и с группой животных, которым применяли мазь «Метилурациловую», более того уровень ТБК-АП был достоверно меньше, чем при внутримышечном введении.

В крови на 21-е сутки продукты ПОЛ снижались (см. табл. 5.4), составляя 65 % и 34 % соответственно относительно группы до лечения (см. рис. 5.8, а). Через две недели наблюдения уровень ДК ($36,600 \pm 2,520$) и ТБК-АП ($2,150 \pm 0,326$) оставался неизменным (см. табл. 5.4, рис. 5.9).

Таблица 5.4

Перекисное окисление липидов в динамике заживления в очаге и крови морских свинок после паравульнарного введения пропеса ($M \pm m$)

Группа	Очаг		Кровь	
	ДК, мкмоль/г белка	ТБК-АП, мкмоль/г белка	ДК, мкмоль/л	ТБК-АП, мкмоль/л
Без лечения	$5,360 \pm 0,245$	$1,920 \pm 0,121$	$74,300 \pm 3,690$	$10,200 \pm 0,668$
21-е сутки	$3,250 \pm 0,314$ ^{***, ^^}	$0,812 \pm 0,040$ ^{***, ^^, ^^}	$47,300 \pm 4,950$ ^{**}	$3,380 \pm 0,591$ ^{***}
35-е сутки	$2,890 \pm 0,252$ ^{***}	$0,780 \pm 0,044$ ^{***}	$36,600 \pm 2,520$ ^{***}	$2,150 \pm 0,326$ ^{***}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.2) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

При внутримышечном введении церебролизина на 21-е сутки после начала лечения в очаге отмечалось снижение обоих показателей по сравнению с уровнем без лечения, кроме того, содержание ДК снижалось и по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая».

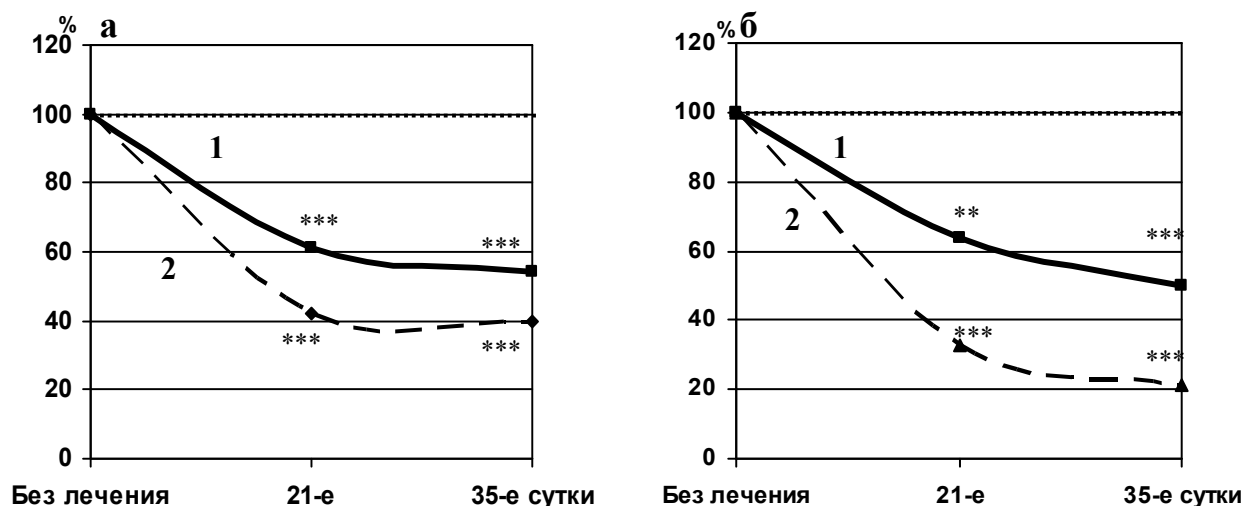


Рис. 5.9. Содержание продуктов ПОЛ в очаге (а) и крови (б) у морских свинок в динамике лечения пропесом

Примечания:

1. 1 – ДК; 2 – ТБК-АП.

2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

При этом концентрация ДК снижалась до $2,940 \pm 0,167$ (табл. 5.5), что на 45 % меньше (рис. 5.10, а), а ТБК-АП – до $1,240 \pm 0,065$ (см. табл. 5.5), что на 35 % меньше (рис. 5.10, б), чем до лечения.

В крови, по сравнению с группой без лечения, показатели ДК и ТБК-АП не изменялись (см. табл. 5.5), превышая при этом показатели группы, получавшей мазь «Метилурациловая».

Перекисное окисление липидов в очаге и крови морских свинок после внутримышечного введения церебролизина ($M \pm m$)

Группа	Очаг		Кровь	
	ДК, мкмоль/г белка	ТБК-АП, мкмоль/г белка	ДК, мкмоль/л	ТБК-АП, мкмоль/л
Без лечения	5,360±0,245	1,920±0,121	74,300±3,690	10,200±0,668
После лечения церебролизином	2,940±0,167 ^{***,^^^}	1,240±0,065 ^{**}	78,000±1,920 ^{^^}	8,570±0,539 ^{^^}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.2) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$)

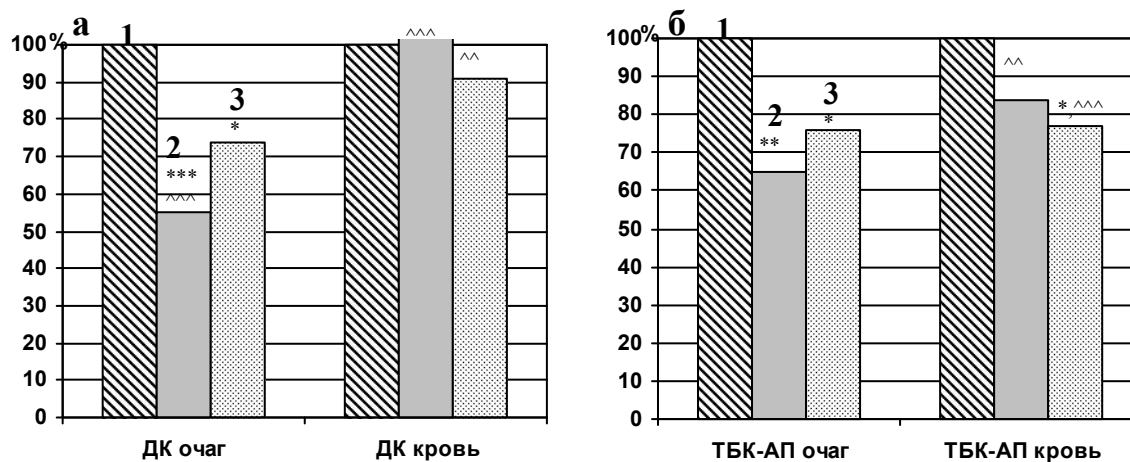


Рис. 5.10. Уровень первичных (а) и вторичных (б) продуктов ПОЛ морских свинок до и после лечения церебролизином

Примечания:

1. 1 – без лечения; 2 – внутримышечное введение; 3 – паравульварное введение.
2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.2) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).

При паравульнарном введении церебролизина, на 21-е сутки после начала лечения, уровень ДК и ТБК-АП в очаге снижался. При этом ДК был равен $3,990 \pm 0,411$ (табл. 5.6), составляя 74 % от концентрации до лечения (рис. 5.11, а). Содержание ТБК-АП составляло $1,460 \pm 0,020$ (см. табл. 5.6) или 65 % от уровня группы животных, которым лечение не проводилось (см. рис. 5.11, а). При изучении показателей ПОЛ через две недели (на 35-е сутки после начала лечения церебролизином) были обнаружены существенные изменения. Содержание ТБК-АП ($1,060 \pm 0,080$) неуклонно снижалось по сравнению с таковым на 21-е сутки после начала введения церебролизина (см. табл. 5.6) и составляло 55 % относительно группы без лечения (см. рис. 5.11, б). Содержание ДК не изменялось. При сравнении с группой, получающей мазь «Метилурациловую», эти показатели были выше (см. табл. 5.6).

Таблица 5.6

Перекисное окисление липидов в динамике заживления в очаге и крови морских свинок после паравульнарного введения церебролизина
($M \pm m$)

Группа	Очаг		Кровь	
	ДК, мкмоль/г белка	ТБК-АП, мкмоль/г белка	ДК, мкмоль/л	ТБК-АП, мкмоль/л
Без лечения	$5,360 \pm 0,245$	$1,920 \pm 0,121$	$74,300 \pm 3,690$	$10,200 \pm 0,668$
21-е сутки	$3,990 \pm 0,411^*$	$1,460 \pm 0,020^*$	$67,900 \pm 4,040^{\wedge\wedge}$	$7,870 \pm 0,383^{*,\wedge\wedge}$
35-е сутки	$4,020 \pm 0,432^*$	$1,060 \pm 0,080^{**,\#}$	$54,000 \pm 3,460^{**,\#}$	$4,750 \pm 0,360^{**,\#\#\#}$

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.2) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

В крови на 21-е сутки уровень ДК не изменялся, а ТБК-АП – снижался и составлял $7,870 \pm 0,383$ (см. табл. 5.6) или 77 % относительно группы без лечения. В дальнейшем отмечалось снижение обоих показателей ПОЛ по сравнению с уровнем на 21-е сутки после начала лечения. Содержание ДК ($54,000 \pm 3,460$) и ТБК-АП ($4,750 \pm 0,360$) снижалось, составляя 73 % и 47 % соответственно относительно группы, не получавшей лечения (см. табл. 5.6, рис. 5.11, б).

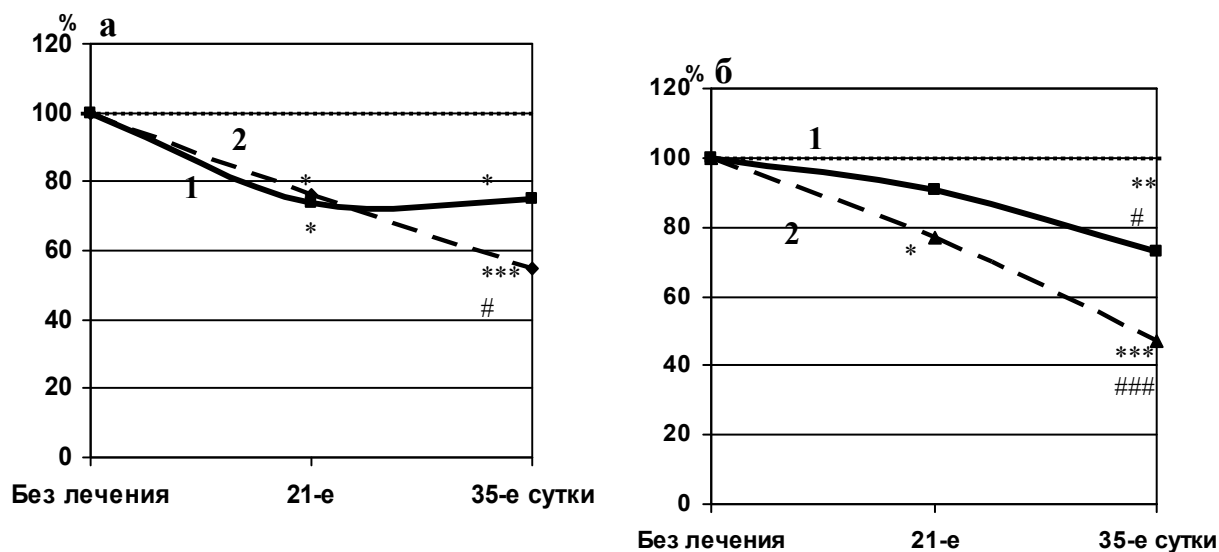


Рис. 5.11. Содержание продуктов ПОЛ в очаге (а) и крови (б) у морских свинок в динамике лечения церебролизином

Примечания:

1. 1 – ДК; 2 – ТБК-АП.

2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

Из полученных данных следует, что при хронической ране динамика изменений окислительных процессов в крови и в очаге идентична. Это согласуется с литературными данными о роли продуктов ПОЛ в патогенезе хронической раны, полученными, в том числе, и на других моделях раневого процесса [177, 209, 212].

Под влиянием мази «Метилурациловая» уменьшается активация процессов ПОЛ, что проявляется снижением ТБК-АП в очаге и крови и ДК в крови.

Под влиянием пропеса, независимо от пути введения, наблюдается более выраженное снижение процессов ПОЛ, чем под воздействием мази «Метилурациловая». Внутримышечное введение вызывает уменьшение вторичных продуктов ПОЛ в очаге и крови и первичных в очаге; паравульнарное – наиболее значительно уменьшает концентрацию вторичных продуктов ПОЛ в очаге. Заслуживает внимания и тот факт, что на 35-е сутки содержание продуктов ПОЛ остается неизменным и в очаге и в крови, это говорит о переходе процесса в стабильную фазу и о стихании воспалительного процесса.

Под влиянием церебролизина также происходит снижение процессов пероксидации, как при внутримышечном, так и при паравульнарном пути введения. Внутримышечное введение церебролизина оказывает положительный эффект на очаг, где концентрация ДК снижается значительно, чем при лечении мазью «Метилурациловая». Паравульнарное введение препарата снижает процессы ПОЛ, особенно на 35-е сутки. Эти данные свидетельствуют о наличии деструктивных процессов на 21-е сутки, к 35-м суткам катаболические процессы уменьшаются, что, вероятно, может быть связано с переходом воспаления в пролиферативно-регенеративную стадию.

Обращает на себя внимание тот факт, что паравульнарное введение пропеса и церебролизина приводит к однонаправленным изменениям в динамике ПОЛ, причем действие церебролизина оказывается несколько отсроченным.

5.3. Влияние церебролизина и пропеса на состояние АОС в раневом очаге и периферической крови

Кинетику ПОЛ невозможно исследовать без сопоставления с мощностью защитных АОС, способных эффективно ограничивать ПОЛ, удерживать процесс на постоянно низком уровне, совместимом с нормальной жизнедеятельностью, среди которых наиболее важную роль играют ферменты АОС клетки. Нарушение баланса в прооксиданто-антиоксидантой системе считают одним из главных факторов развития хронической раны. А показатели уровня ПОЛ и АОС свидетельствуют о продолжении или стихании воспалительной реакции. Поэтому, наряду с оценкой состояния процессов ПОЛ, одной из задач исследования стало параллельное изучение ферментов АОС в раневом очаге и периферической крови при фармакотерапии хронической раны, а для объективизации изменений про-антиоксидантного равновесия изучался интегральный показатель – фактор антиоксидантного состояния или антиоксидантный коэффициент (АК) [284].

Исследование АОС у морских свинок с хроническим раневым процессом показало, что и в очаге и в крови активность антиоксидантных ферментов ниже по сравнению с интактными животными. При этом в очаге активность СОД ($28,800 \pm 0,450$) снижалась на 11 % (табл. 5.7, рис. 5.12, а), а активность Кат ($0,256 \pm 0,024$) уменьшалась еще интенсивнее – в 1,8 раза (рис. 5.12, б). В крови активность СОД ($50,700 \pm 1,510$) уменьшалась на 14 %, а активность Кат ($0,256 \pm 0,024$) – на 43 % (см. табл. 5.7; рис. 5.12, а).

При изучении антиоксидантного коэффициента оказалось, что у облученных животных, которым лечение не проводилось, отмечается его снижение в очаге и крови (табл. 5.8).

На 21-е сутки после лечения мазью «Метилурациловая» активность Кат в очаге ($0,790 \pm 0,056$) повысилась в 3,1 раза по сравнению с активностью Кат у животных, которым лечение не проводилось (см. табл. 5.7, рис. 5.12, а, б). Активность СОД в очаге не изменялась (см. рис. 5.12, а).

Активность ферментов АОС в очаге и крови морских свинок после лечения мазью «Метилурациловая» (M±m)

Группа	Кожа		Кровь	
	СОД, % блокирования	Кат, мккат/г белка	СОД, % блокирования	Кат, мккат/л
Интактные	28,800±0,450	0,452±0,021	50,700±1,510	3,450±0,235
Без лечения	26,000±1,140 [#]	0,256±0,024 ^{###}	44,300±0,697 ^{##}	2,420±0,580 [#]
Мазь «Метилурациловая»	25,500±1,340	0,790±0,056 ^{***}	40,400±0,838	3,350±0,221

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с интактными животными (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$),
2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$)

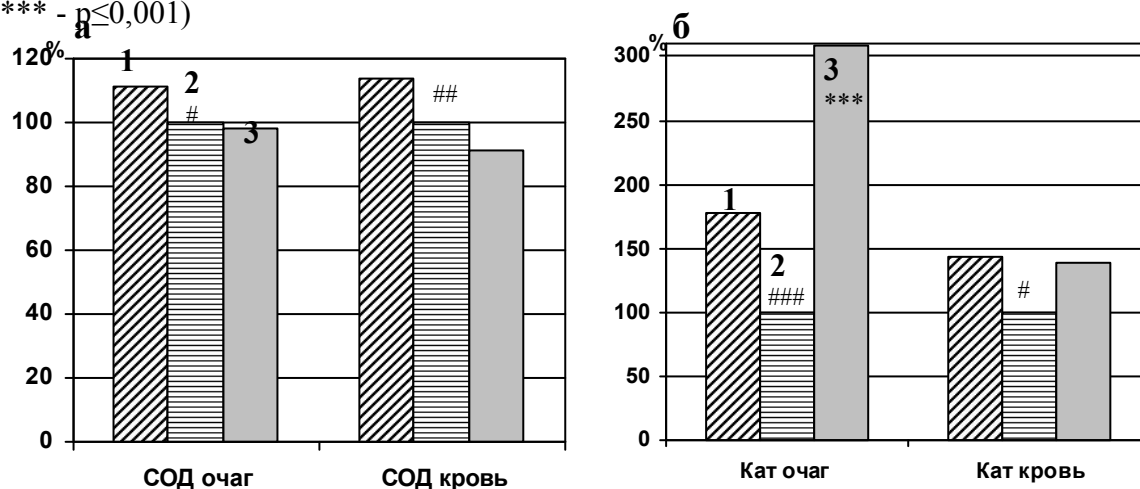


Рис. 5.12. Содержание СОД (а) и Кат (б) в крови и очаге у морских свинок при лечении мазью «Метилурациловая»

Примечания:

1. 1 – интактные; 2 – без лечения; 3 – мазь «Метилурациловая»
2. Достоверность различий по сравнению с интактными (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$),
3. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$)

Активность энзимов в крови в результате лечения мазью «Метилурациловая» оставалась по-прежнему низкой (см. рис. 5.12, а, б).

Антиоксидантный коэффициент увеличился по сравнению с таковым у животных без лечения, как в очаге, так и в крови (см. табл. 5.8).

Таблица 5.8

**Антиоксидантный коэффициент в очаге и крови морских свинок
после лечения мазью «Метилурациловая» (M±m)**

Группа	Очаг	Кровь
	СОД*Кат/ТБК-АП, усл.ед.	СОД*Кат/ТБК-АП, усл.ед.
Интактные	31,40±2,31	150,00±6,25
Без лечения	3,56±0,50 ^{###}	24,20±3,56 ^{###}
Мазь «Метилурациловая»	14,80±1,74 ^{***}	34,00±2,37 [*]

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с интактными (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

На 21-е сутки после внутримышечного введения пропеса в очаге активность СОД не изменялась (табл. 5.9), активность Кат была увеличена в 2,7 раза (рис. 5.13, б) по сравнению с группой животных без лечения.

В крови активность СОД была ниже на 22 %, чем у животных, которым лечение не проводилось (рис. 5.13, а), а активность Кат не менялась. Эти показатели составляли соответственно 34,400±1,280 и 1,760±0,154 (см. табл. 5.9).

При изучении АК (табл. 5.10) оказалось, что в очаге морских свинок отмечается повышение такового по сравнению с группой животных, которым

лечение не проводилось, в крови достоверных изменений не обнаружилось.

Необходимо отметить, что относительно группы животных,

Таблица 5.9

Активность ферментов АОС в очаге и крови морских свинок после внутримышечного введения пропеса ($M \pm m$)

Группа	Очаг		Кровь	
	СОД, % блокирования	Кат, мккат/г белка	СОД, % блокирования	Кат, мккат/л
Без лечения	26,000±1,140	0,256±0,024	44,300±0,697	2,420±0,580
После лечения пропесом	26,500±1,800	0,680±0,028***	34,400±1,280***	1,760±0,154

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.7) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).

которым проводилось лечение мазью «Метилурациловая», каких-либо изменений не было.

Таблица 5.10

Антиоксидантный коэффициент в очаге и крови морских свинок после внутримышечного введения пропеса ($M \pm m$)

Группа	Очаг	Кровь
	СОД*Кат/ТБК-АП	СОД*Кат/ТБК-АП
Без лечения	3,56±0,50	24,20±3,56
После лечения пропесом	19,30±2,10***	25,40±5,06

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.8) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).

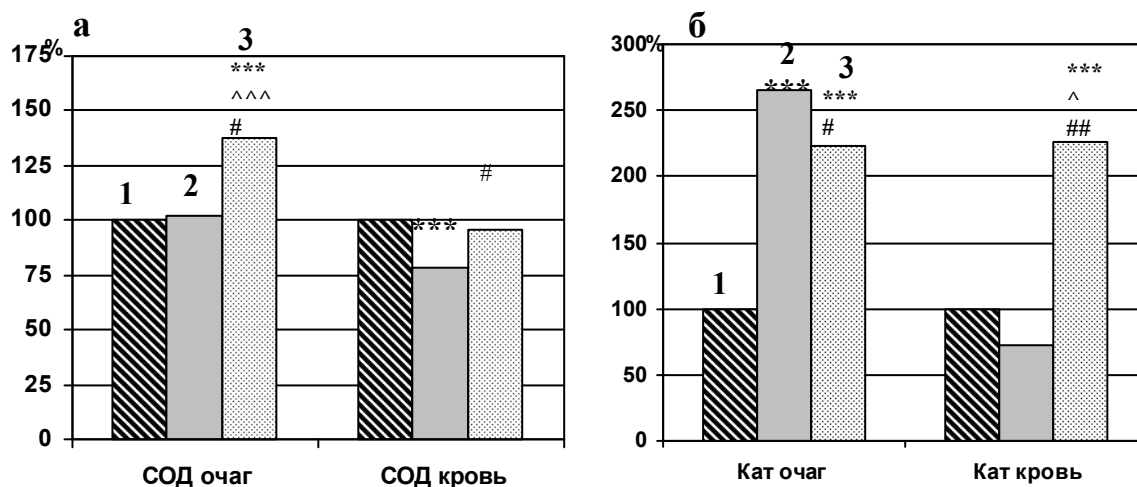


Рис. 5.13. Содержание СОД (а) и Кат (б) в очаге и крови у морских свинок при лечении пропесом

Примечания:

- 1 – без лечения; 2 – внутримышечное введение; 3 – паравульнарное введение.
- Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
- Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.7) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
- Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей пропес внутримышечно (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

Курс паравульнарного введения пропеса привел к повышению активности СОД ($36,000 \pm 0,808$) на 38 %, и Кат ($0,572 \pm 0,036$) – в 2,2 раза в очаге (табл. 5.11, рис. 5.13, а, б). При этом активность СОД была выше, чем в группе животных, которым применяли мазь «Метилурациловую» (см. табл. 23.11) и которым вводили пропес внутримышечно (см. рис. 5.13, а). На 35-е сутки активность Кат в очаге ($0,520 \pm 0,075$) была выше, чем до лечения в 2 раза (рис. 5.14, а), но по сравнению с 21-ми сутками не изменилась (см. табл. 5.11). Активность СОД ($30,400 \pm 2,080$) уменьшилась по сравнению с 21-ми сутками (см. рис. 5.14, а).

В крови у этой же группы животных активность СОД ($42,500 \pm 2,510$) не изменялась (см. табл. 3.11), а Кат ($5,470 \pm 1,010$) увеличивалась в 2,3 раза (рис. 5.14, б) по сравнению с животными без лечения. Активность Кат была выше, чем у животных, получавших мазь «Метилурациловая», и при внутримышечном введении пропеса (см. рис. 5.13, б). На 35-е сутки активность обоих ферментов снизилась по сравнению с 21-ми сутками (рис. 5.14 а, б).

Таблица 5.11

Активность ферментов АОС в очаге и крови морских свинок в динамике заживления после паравульнарного введения пропеса ($M \pm m$)

Группа	Очаг		Кровь	
	СОД, % блокирования	Кат, мккат/г белка	СОД, % блокирования	Кат, мккат/л
Без лечения	$26,000 \pm 1,140$	$0,256 \pm 0,024$	$44,300 \pm 0,697$	$2,420 \pm 0,580$
21-е сутки	$36,000 \pm 0,808^{***, \wedge \wedge}$	$0,572 \pm 0,036^{***}$	$42,500 \pm 2,510$	$5,470 \pm 1,010^{***, \wedge}$
35-е сутки	$30,400 \pm 2,080^{\#}$	$0,520 \pm 0,075^{**}$	$37,300 \pm 1,640^{\#\#}$	$2,250 \pm 0,691^{\#\#\#}$

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.7) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

При изучении АК (табл. 5.12) в очаге на 21-е сутки после начала паравульнарного введения пропеса отмечалось повышение фактора антиоксидантного состояния не только относительно группы животных без

лечения, но и относительно группы, получавших мазь «Метилурациловая»; на 35-е сутки наблюдалась тенденция к уменьшению АК.

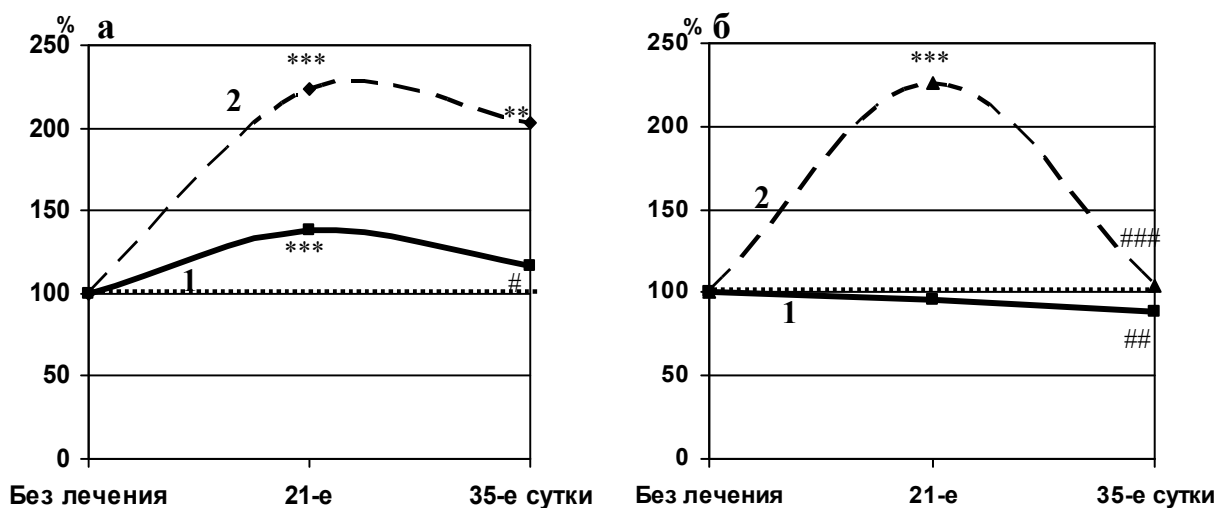


Рис. 5.14. Активность ферментов АОС в очаге (а) и крови (б) у морских свинок в динамике заживления раны при лечении пропесом

Примечания:

1. 1 – СОД; 2 – Кат.

2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

В крови наблюдалась схожая картина: на 21-е сутки после начала паравульнарного введения пропеса отмечалось повышение фактора антиоксидантного состояния относительно группы животных без лечения и группы, получавших мазь «Метилурациловая»; на 35-е сутки наблюдалась тенденция к уменьшению АК.

Антиоксидантный коэффициент в динамике заживления в очаге и крови морских свинок после паравульнарного введения пропеса ($M \pm m$)

Группа	Очаг	Кровь
	СОД*Кат/ТБК-АП	СОД*Кат/ТБК-АП
Без лечения	3,56±0,50	24,20±3,56
21-е сутки	25,60±1,88 ^{***,^^}	70,90±13,00 ^{***,^}
35-е сутки	21,40±4,40 ^{***}	46,00±15,80 ^{***}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.8) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

Внутримышечный путь введения церебролизина на 21-е сутки характеризовался повышением активности СОД на 36 %, активность Кат увеличивалась в 2,3 раза (рис. 5.15, а, б). При этом активность СОД составляла $35,400 \pm 1,350$, а Кат – $0,588 \pm 0,030$ (табл. 5.13). Кроме того, активность СОД была выше, чем у группы животных, которым применяли мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.13).

В крови активность СОД ($45,400 \pm 2,230$) не изменялась (см. табл. 5.13). Активность Кат ($5,360 \pm 0,439$) повышалась по сравнению с уровнем без лечения в 2,2 раза (рис. 5.15, б). При этом активность обоих ферментов была выше, чем при лечении мазью «Метилурациловая» (см. табл. 5.13).

**Активность ферментов АОС в очаге и крови морских свинок после
лечения внутримышечного введения церебролизина (M±m)**

Группа	Очаг		Кровь	
	СОД, % блокирования	Кат, мккат/г белка	СОД, % блокирования	Кат, мккат/л
Без лечения	26,000±1,140	0,256±0,024	44,300±0,697	2,420±0,580
После лечения цереброли- зином	35,400± 1,350 ^{***,^^}	0,588± 0,030 ^{***}	45,400±2,230 [^]	5,360± 0,439 ^{***,^^}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.7) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).

АК увеличивался в очаге (табл. 5.14), не превышая таковой у группы животных, которым применялась мазь «Метилурациловая»; в крови достоверных изменений не обнаруживалось.

Таблица 5.14

**Антиоксидантный коэффициент в очаге и крови морских свинок
после внутримышечного введения церебролизина (M±m)**

Группа	Очаг	Кровь
	СОД*Кат/ТБК-АП	СОД*Кат/ТБК-АП
Без лечения	3,56±0,50	24,20±3,56
После лечения церебролизином	17,10±1,42 ^{***}	28,30±1,84

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.2) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).

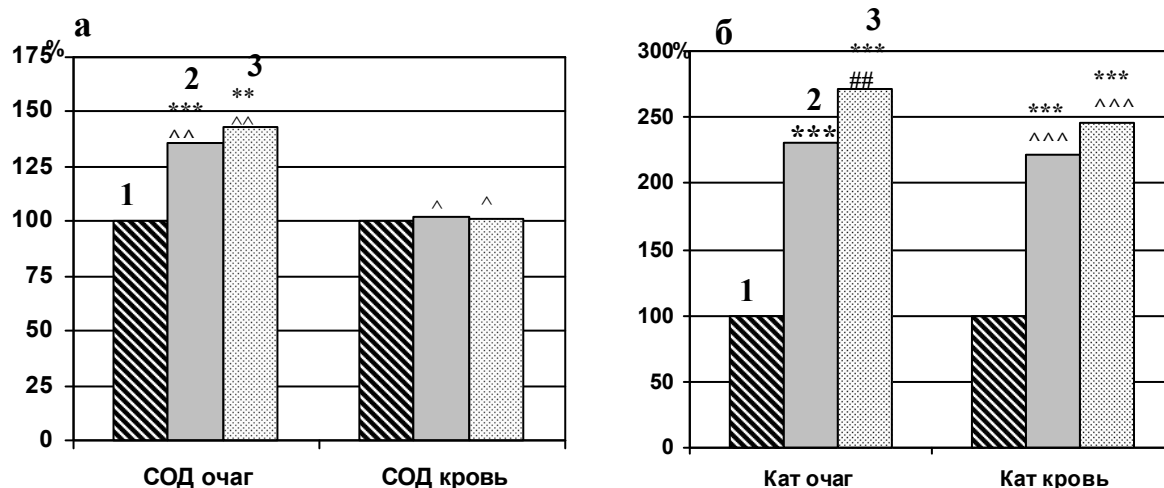


Рис. 5.15. Активность СОД (а) и Кат (б) в очаге и крови у морских свинок при лечении церебролизином

Примечания:

- 1 – без лечения; 2 – внутримышечное введение; 3 – паравулнарное введение.
- Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
- Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.7) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$),
- Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей церебролизин внутримышечно (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$)

Паравулнарное введение церебролизина привело к повышению исследуемых ферментов АОС (см. рис. 5.15, а, б). В очаге активность СОД составляла $37,200 \pm 2,070$ (табл. 5.15), что превышало на 43 % таковую в группе животных без лечения (см. рис. 5.15, а). Активность Кат была выше, чем у животных, которым лечение не проводилось, в 2,7 раза (см. рис. 5.15, б) и равнялась $0,694 \pm 0,044$ (см. табл. 5.15). Необходимо отметить, что активность СОД была выше, чем у животных, которым применяли мазь «Метилурациловую», а активность Кат была выше, чем при внутримышечном введении церебролизина (см. рис. 5.15, а). Через 14 дней после окончания курса паравулнарного введения церебролизина (35-е сутки после начала курса) в

очаге оба исследуемых фермента были активнее, чем в группе без лечения, причем СОД – в 1,8 раза, а Кат – в 3,3 раза (рис. 5.16, а). Активность СОД составила $46,600 \pm 3,290$, Кат – $0,846 \pm 0,021$ (см. табл. 5.15). Сравнение с активностью энзимов на 21-е сутки после начала лечения показало, что на 35-е сутки она стала достоверно выше как для СОД, так и для Кат (см. рис. 5.16, а).

В крови в результате лечения активность СОД не изменялась (см. табл. 5.15). Активность Кат увеличивалась в 2,5 раза (см. рис. 5.9, б) и составила $5,940 \pm 0,411$ (см. табл. 5.15). При этом уровень активности обоих ферментов был выше, чем у животных, которым применяли мазь «Метилурациловую» (см. рис. 5.9, а, б). Через две недели активность ферментов АОС осталась на том же уровне (см. рис. 5.16, б)

Таблица 5.15

Активность ферментов АОС в очаге и крови морских свинок в динамике заживления после паравульнарного введения церебролизина (M±m)

Группа	Очаг		Кровь	
	СОД, % блокирования	Кат, мккат/г белка	СОД, % блокирования	Кат, мккат/л
Без лечения	$26,000 \pm 1,140$	$0,256 \pm 0,024$	$44,300 \pm 0,697$	$2,420 \pm 0,580$
21-е сутки	$37,200 \pm 2,070^{**,\wedge}$	$0,694 \pm 0,044^{***}$	$44,600 \pm 1,200^{\wedge}$	$5,940 \pm 0,411^{***,\wedge\wedge}$
35-е сутки	$46,600 \pm 3,290^{***,\#}$	$0,846 \pm 0,021^{***,\#\#}$	$48,400 \pm 1,180^*$	$6,760 \pm 0,449^{***}$

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.7) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

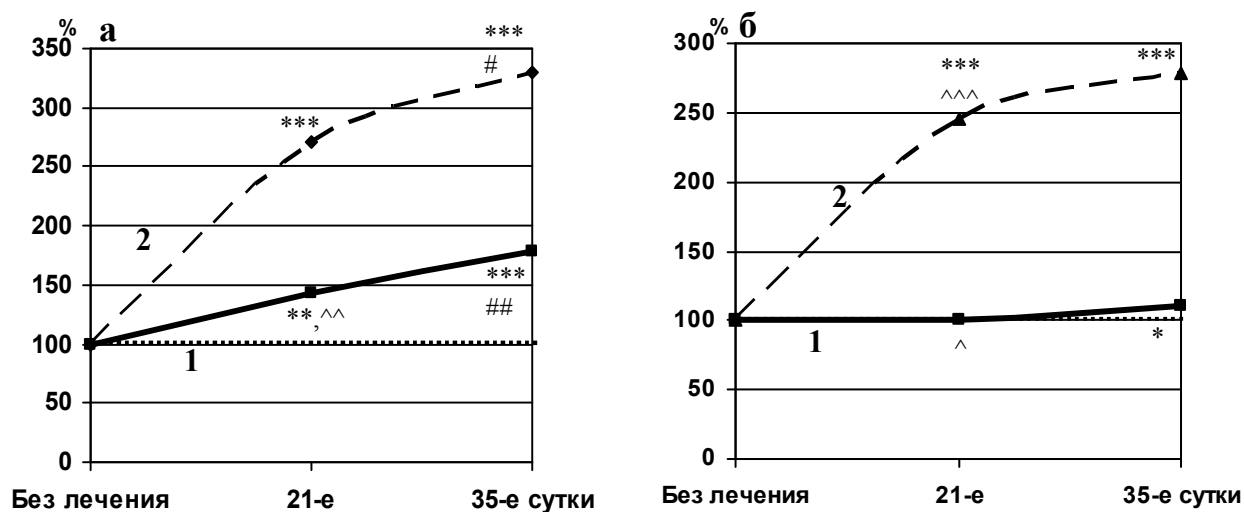


Рис. 5.16. Активность ферментов АОС в очаге (а) и крови (б) у морских свинок в динамике заживления раны при лечении церебролизином

Примечания:

1. 1 – СОД; 2 – Кат

2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

АК в очаге и крови (табл. 5.16) в динамике заживления на 21-е сутки повышался по сравнению с группой без лечения, а на 35-е сутки увеличивался по сравнению с 21-ми.

Таким образом, у животных с хроническим раневым процессом в очаге и крови активность ключевых ферментов АОС, а также АК, снижается, что согласуется с литературными данными об активности антиоксидантных ферментов при хроническом раневом процессе, полученными, в том числе, и на других моделях [177, 209, 212].

Применение мази «Метилурациловая» оказало некоторое положительное влияние, выраженное в повышении активности Кат в раневом очаге и повышении АК в очаге и крови.

Схожая картина наблюдается при внутримышечном введении пропеса: повышается активность Кат и АК в очаге.

Таблица 5.16

Антиоксидантный коэффициент в динамике заживления в очаге и крови морских свинок после паравульнарного введения церебролизина (M±m)

Группа	Очаг	Кровь
	СОД*Кат/ТБК-АП	СОД*Кат/ТБК-АП
Без лечения	3,56±0,50	24,20±3,56
21-е сутки	20,40±4,91 ^{***}	33,80±2,29 [*]
35-е сутки	37,90±3,23 ^{***,##}	69,50±4,28 ^{***,###}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.8) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$)

Паравульнарное введение пропеса привело к повышению активности антиоксидантных ферментов в очаге и Кат в крови. При сравнении с мазью «Метилурациловая» отмечается более выраженный эффект, который проявляется в повышении активности СОД в очаге и Кат в крови, а также увеличении АК в очаге и крови. Внутримышечное введение показало более низкую активность ферментов СОД и Кат в крови и СОД в очаге. При изучении активности ферментов АОС на 35-е сутки после начала лечения установлено, что активность ферментов СОД и Кат в крови, а также СОД в очаге достоверно понижается, а Кат в очаге остается на том же уровне, АК также имеет

тенденцию к уменьшению. Это свидетельствует о снижении активности воспалительного процесса и его переходе в пролиферативно-репаративную фазу.

Под влиянием внутримышечного введения церебролизина активность обоих ферментов в очаге и Кат в крови повышается, АК в очаге увеличивается. Внутримышечное введение церебролизина оказалась эффективнее, чем применение мази «Метилурациловой», что выражается в более высокой активности СОД в очаге и крови и Кат в крови.

Паравульнарное применение церебролизина вызвало увеличение активности антиоксидантных ферментов в очаге и Кат в крови. Сравнение с мазью «Метилурациловая» показало достоверное возрастание СОД в крови, и в очаге, а также Кат в крови. Данный путь введения вызвал более выраженную активацию Кат в очаге по сравнению с внутримышечным. При изучении в отдаленные сроки (14-е сутки после окончания курса лечения) отмечается нарастание активности обоих ферментов в очаге; в крови же их уровень остается стабильным. АК нарастает с 21-х по 35-е сутки в очаге и крови. Это свидетельствует об активации защитно-приспособительных реакций организма, что, в свою очередь, является предпосылкой для перехода воспаления в пролиферативно-регенераторную фазу.

При сравнении паравульнарного введения пропеса и церебролизина наблюдается однонаправленность влияния на АОС, но при лечении ПП этот процесс происходит несколько быстрее, что выражается в уменьшении активности ферментов и показателя АК к 35-м суткам.

Внутримышечное введение пропеса и церебролизина, безусловно, оказало достаточно выраженный эффект, но он оказался меньше, чем при паравульнарном введении. Это может быть связано в определенной степени с недостаточным кровоснабжением очага повреждения и вследствие этого – с недостаточной поставкой необходимых веществ.

5.4. Влияние церебролизина и пропеса на содержание цитокинов в очаге и периферической крови

Как уже было сказано выше, провоспалительные цитокины IL-1 α , IL-1 β , IL-6 и TNF- α являются центральными медиаторами в течение различных кожных воспалительных процессов [16, 111] и наряду с IL-8 являются маркерами хронизации раневого процесса [122]. Поэтому для точного определения фазы раневого процесса и «направления» заживления мы посчитали необходимым определить уровни IL-1 β , TNF- α и IL-8 в очаге и крови.

У интактных животных в очаге не обнаруживался IL-1 β и IL-8, а уровень TNF- α был минимальным (табл. 5.17). В крови наблюдалась подобная картина: цитокины TNF- α и IL-8 не определялись, а уровень IL-1 β был очень мал (табл. 5.18). Это подтверждает данные о появлении и возрастании IL-1 β , TNF- α и IL-8 только при патологических процессах [285].

Таблица 5.17

Содержание цитокинов в очаге у морских свинок после лечения хронического раневого процесса мазью «Метилурациловая» (M \pm m)

Группа	Цитокины		
	IL-1 β , пг/мл	TNF- α , пг/мл	IL-8, пг/мл
Интактные	0	0,27 \pm 0,09	0
Без лечения	66,30 \pm 3,99 ^{###}	120,00 \pm 3,50 ^{###}	19,20 \pm 1,12 ^{###}
Мазь «Метилурациловая»	38,20 \pm 1,77 ^{***}	78,20 \pm 2,98 ^{***}	27,10 \pm 1,77 ^{***}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с интактными (# - p \leq 0,05; ## - p \leq 0,01; ### - p \leq 0,001).
2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - p \leq 0,05; ** - p \leq 0,01; *** - p \leq 0,001).

При исследовании цитокинов у животных с хроническим раневым процессом в очаге их содержание возрастало: IL-1 β – 66,30 \pm 3,99, TNF- α – 120,00 \pm 3,50 и IL-8 – 19,20 \pm 1,12. (см. табл. 5.17).

Таблица 5.18

Уровень цитокинов в крови морских свинок при лечении хронического раневого процесса мазью «Метилурациловая» (M \pm m)

Группа	Цитокины		
	IL-1 β , пг/мл	TNF- α , пг/мл	IL-8, пг/мл
Интактные	0,656 \pm 0,060	0	0
Без лечения	5,050 \pm 0,356 ^{###}	1,630 \pm 0,212 ^{###}	0,762 \pm 0,072 ^{###}
Мазь «Метилурациловая»	2,940 \pm 0,189 ^{**}	1,670 \pm 0,203	0,434 \pm 0,024 ^{**}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с интактными (# - p \leq 0,05; ## - p \leq 0,01; ### - p \leq 0,001).
2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - p \leq 0,05; ** - p \leq 0,01; *** - p \leq 0,001).

В крови уровень цитокинов также увеличивался: IL-1 β – 5,050 \pm 0,356, TNF- α – 1,630 \pm 0,212 и IL-8 – 0,762 \pm 0,072. (см. табл. 5.18).

После 21 дневного курса лечения мазью «Метилурациловая» в очаге у морских свинок наблюдалось снижение уровня IL-1 β до 58 % и TNF- α до 65 %. Уровень IL-8, напротив, повышался и составлял 141 % относительно группы без лечения (рис. 5.17, а).

В крови также отмечалось снижение уровня IL-1 β до 58 %. Уровень TNF- α оставался неизменным, а количество IL-8 уменьшалось до 57 % (рис. 5.17, б).

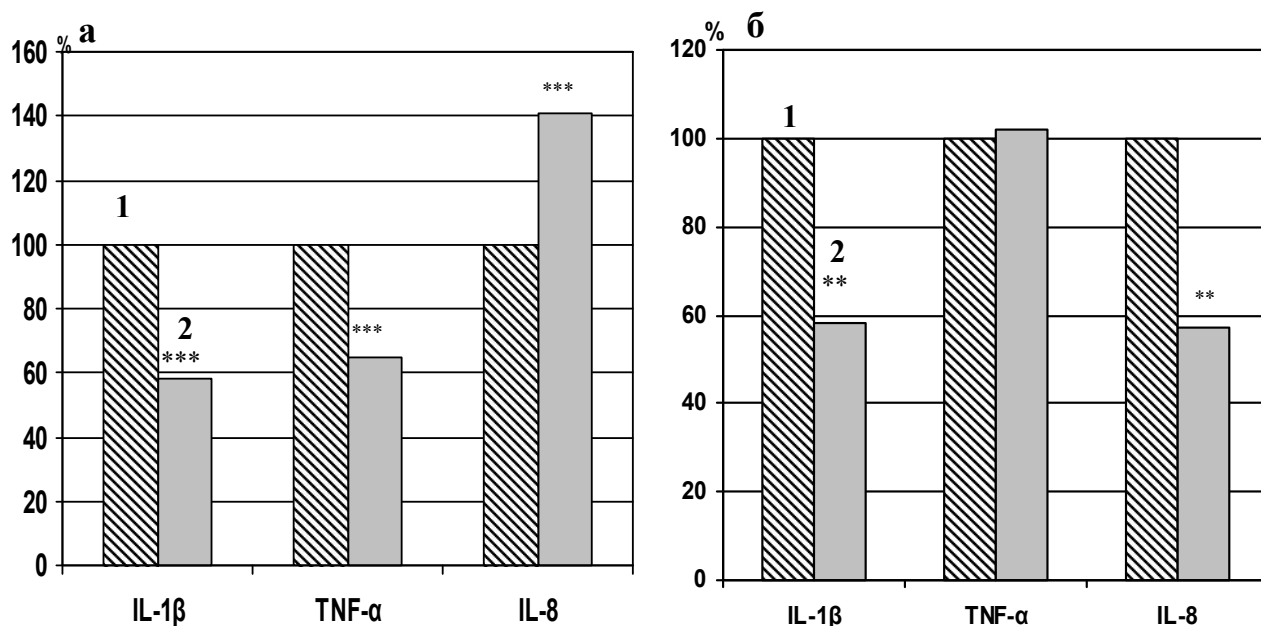


Рисунок 5.17. Содержание IL-1β, TNF-α и IL-8 (а) в очаге и (б) в крови морских свинок до и после лечения мазью «Метилурациловая»

Примечания:

1. 1 – без лечения; 2 – после лечения мазью «Метилурациловая».

2. Достоверность различий по сравнению с группой до лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).

После курса паравульнарного введения пропеса (на 21-е сутки от начала лечения) в раневом очаге отмечалось снижение уровня исследуемых цитокинов (табл. 5.19). При этом относительно группы животных, которым лечение не проводилось, уровень IL-1β составлял 63%, уровень TNF-α – 57%, IL-8 – 61% (рис. 5.18, а). Примечателен тот факт, что по сравнению с лечением мазью «Метилурациловая» количество TNF-α и IL-8 было достоверно ниже. Проведенный корреляционный анализ между показателями провоспалительных интерлейкинов и свободнорадикальных процессов в очаге выявил высокую степень корреляционной зависимости между IL-1β и ТБК-АП ($r=0,80$), IL-1β и ДК ($r=0,86$), TNF-α и ТБК-АП ($r=0,91$) и TNF-α и ДК ($r=0,86$).

Уровень цитокинов в очаге у морских свинок в динамике заживления при лечении хронического раневого процесса пропесом ($M \pm m$)

Группа	Цитокины		
	IL-1 β , пг/мл	TNF- α , пг/мл	IL-8, пг/мл
Без лечения	66,30 \pm 3,99	120,00 \pm 3,50	19,20 \pm 1,12
21-е сутки	42,00 \pm 2,02 ^{***}	68,00 \pm 3,23 ^{***,^}	11,70 \pm 0,94 ^{**,^^}
35-е сутки	37,20 \pm 1,43 ^{***}	53,30 \pm 1,41 ^{***,##}	7,40 \pm 0,29 ^{***,##}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.17) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

В крови в результате лечения пропесом наблюдалось снижение уровня IL-1 β и TNF- α , уровень IL-8 не изменялся (табл. 5.20). При этом IL-1 β составлял 59 %, TNF- α – 56 % относительно уровня группы животных без лечения (рис. 5.12, б). Необходимо отметить, что уровень TNF- α был ниже, чем при лечении мазью «Метилурациловая» (см. табл. 5.20).

В более отдаленные сроки (35-е сутки после начала лечения) в результате паравульнарного лечения пропесом в очаге отмечалось снижение уровня всех исследуемых цитокинов (см. табл. 5.19). Относительно группы животных, которым лечение не проводилось, уровень IL-1 β был 56 %, TNF- α – 44 %, IL-8 – 39 % (см. рис. 5.18, а).

Уровень цитокинов в крови морских свинок в динамике заживления при лечении хронического раневого процесса пропесом (M±m)

Группа	Цитокины		
	IL-1 β , пг/мл	TNF- α , пг/мл	IL-8, пг/мл
Без лечения	5,050±0,356	1,630±0,212	0,762±0,072
21-е сутки	2,980±0,226 ^{**}	0,906±0,038 ^{**,^^}	0,666±0,036
35-е сутки	1,850±0,076 ^{***,##}	0,554±0,048 ^{**,###}	0,392±0,030 ^{**,###}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.18) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$)

Более того, уровень цитокинов TNF- α и IL-8 снижался по сравнению с уровнем на 21-е сутки (см. табл. 5.19).

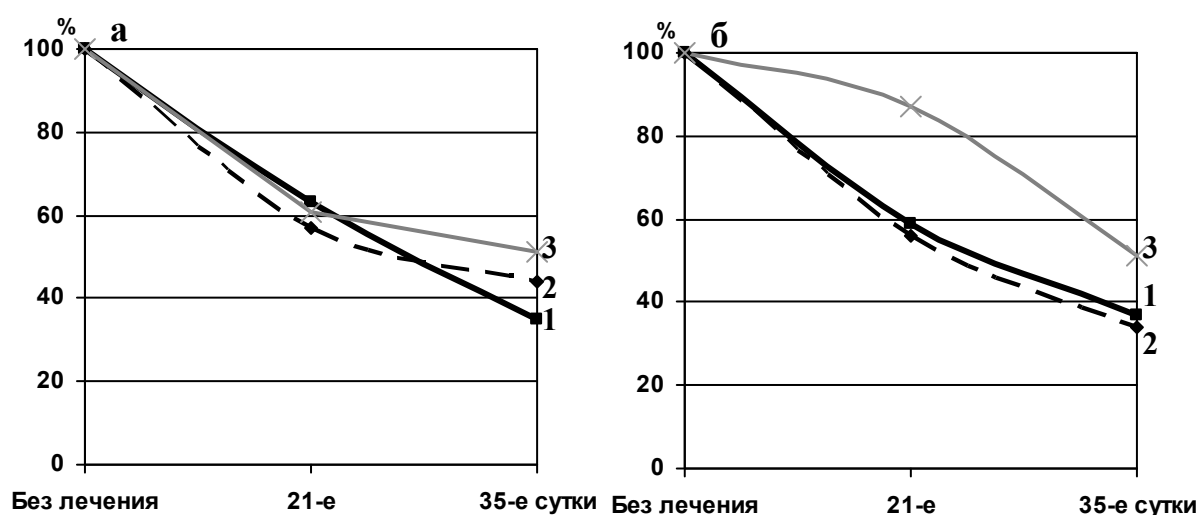


Рис. 5.18. Содержание цитокинов в очаге (а) и крови (б) у морских свинок с хроническим раневым процессом при лечении пропесом в динамике заживления

Примечание. 1 – IL-1 β ; 2 – TNF- α ; 3 – IL-8.

В крови обнаруживалось снижение уровня всех цитокинов не только по сравнению с группой животных, которым лечение не проводилось, но и с группой животных, у которых материал был взят на 21-е сутки после начала лечения (см. табл. 5.20). Относительно животных без лечения, уровень IL-1 β составлял 37 %, TNF- α – 34 %, а IL-8 – 51 % (см. рис. 5.18, б).

В результате паравульнарного введения церебролизина на 21-е сутки после начала лечения в очаге отмечалось уменьшение количества всех исследуемых цитокинов (табл. 5.21). Относительно животных, которым не проводилось лечение, уровень IL-1 β составлял 77 %, TNF- α – 73 %, а IL-8 – 55 % (рис. 5.19, а). При сравнении с мазью «Метилурациловая» наблюдалось снижение уровня IL-8 (см. табл. 5.21).

Таблица 5.21

Уровень цитокинов в очаге у морских свинок в динамике заживления при лечении хронического раневого процесса церебролизином (M \pm m)

Группа	Цитокины		
	IL-1 β , пг/мл	TNF- α , пг/мл	IL-8, пг/мл
Без лечения	66,30 \pm 3,99	120,00 \pm 3,50	19,20 \pm 1,12
21-е сутки	51,30 \pm 2,91 [*]	87,50 \pm 1,95 ^{***}	10,60 \pm 0,47 ^{***,^^^}
35-е сутки	46,50 \pm 2,19 ^{**}	79,20 \pm 1,11 ^{***,##}	4,27 \pm 0,28 ^{***,###}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - p \leq 0,05; ** - p \leq 0,01; *** - p \leq 0,001).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.18) (^ - p \leq 0,05; ^^ - p \leq 0,01; ^^ - p \leq 0,001).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - p \leq 0,05; ## - p \leq 0,01; ### - p \leq 0,001).

В крови, как и в очаге, в результате лечения церебролизином уровень IL-1 β уменьшался до 31 %, уровень TNF- α – до 51 %, а уровень IL-8 – до 62 % (рис. 5.19, б). Кроме того, уровень IL-1 β и TNF- α был значительно ниже, чем в

группе животных, которым применяли мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.22).

Таблица 5.22

Уровень цитокинов в крови морских свинок в динамике заживления при лечении хронического раневого процесса церебролизином ($M \pm m$)

Группа	Цитокины		
	IL-1 β , пг/мл	TNF- α , пг/мл	IL-8, пг/мл
Без лечения	5,050 \pm 0,356	1,630 \pm 0,212	0,762 \pm 0,072
21-е сутки	1,570 \pm 0,178 ^{***,^^^}	0,824 \pm 0,035 ^{**,^^}	0,472 \pm 0,069 [*]
35-е сутки	1,040 \pm 0,056 ^{***}	0,828 \pm 0,059 ^{**}	0,838 \pm 0,024 ^{##}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл. 5.18) (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).

На 35-е сутки от начала лечения в очаге уровень всех цитокинов был ниже, чем у животных без лечения (см. табл. 5.21). При этом IL-1 β составлял 70 %, TNF- α – 66 %, а IL-8 – 22 % (см. рис. 5.19, а). По сравнению с 21-ми сутками можно отметить, что количество TNF- α и IL-8 снизилось (см. табл. 5.21). Корреляционный анализ между уровнем провоспалительных цитокинов и показателями активности ферментов АОС в очаге показал тесную обратную корреляционную связь между IL-1 β и Кат ($r = -0,75$); TNF- α и СОД ($r = -0,80$); TNF- α и Кат ($r = -0,92$).

В крови на 35-е сутки отмечалось снижение уровня IL-1 β до 21 % и TNF- α до 51 %, уровень IL-8 повышался до 110 % в сравнении с группой без лечения (см. табл. 5.22, рис. 5.13, б). Как следует из данных, представленных в табл.

5.22, уровень IL-1 β и TNF- α в динамике заживления не изменился, количество IL-8 повысилось.

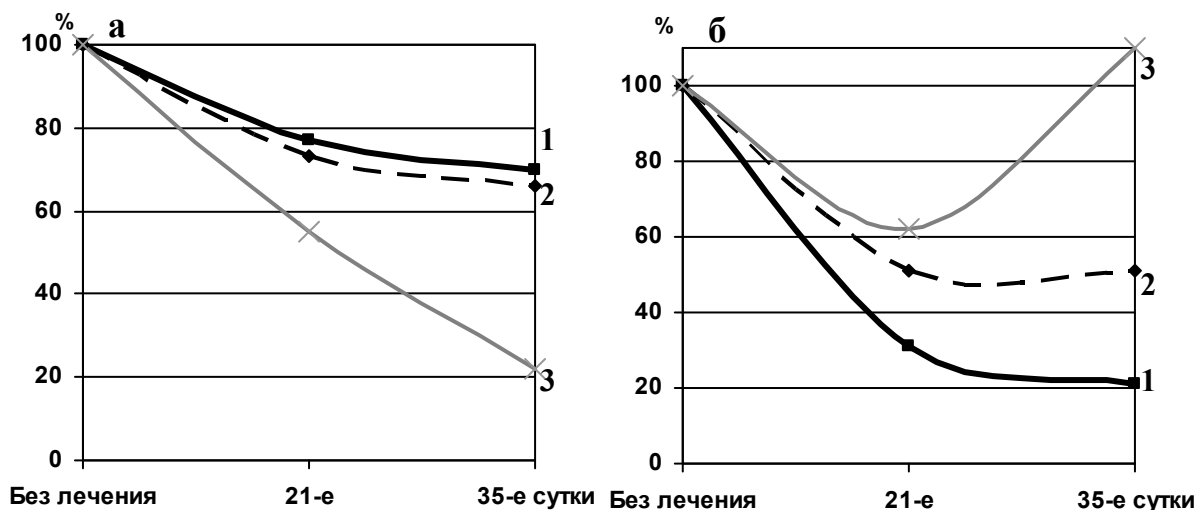


Рис. 5.19. Содержание цитокинов в очаге (а) и крови (б) у морских свинок с хроническим раневым процессом при лечении церебролизином в динамике заживления

Примечание. 1 – IL-1 β ; 2 – TNF- α ; 3 – IL-8

Таким образом, хронический раневой процесс сопровождается повышением уровня IL-1 β , TNF- α и IL-8 в очаге и крови, что свидетельствует о генерализованной активации клеток иммунной системы [209].

Мазь «Метилурациловая» оказывает некоторый противовоспалительный эффект, снижая уровень IL-1 β и TNF- α в очаге и IL-1 β и IL-8 в крови, но резко повышенный уровень IL-8 в очаге и отсутствие снижения уровня TNF- α в крови говорит в пользу продолжающегося хронического воспаления.

Применение пропеса сопровождается снижением уровня провоспалительных интерлейкинов IL-1 β и TNF- α и в очаге и в крови, причем снижение содержания TNF- α оказывается более выраженным, чем при лечении мазью «Метилурациловой». Хотя в крови уровень хемокина IL-8 не изменяется, в очаге он значительно снижается. Продолжающееся снижение (35-е сутки) в

очаге и крови провоспалительных цитокинов в динамике заживления под влиянием пропеса свидетельствует о стихании воспалительной фазы раневого процесса.

Церебролизин вызывает значительное снижение содержания всех цитокинов в очаге и крови, причем количество провоспалительных IL-1 β и TNF- α в крови оказывается меньше, чем при применении мази «Метилурациловой». В динамике заживления (35-е сутки) тенденции к дальнейшему снижению уровня цитокинов, как при применении пропеса, не наблюдается.

5.5. Морфологические изменения в раневом очаге при применении церебролизина и пропеса

Для изучения пролиферативной активности и ангиогенеза в ране мы изучали морфологические изменения в раневом очаге. Окраска гематоксилином и эозином применялась для определения количественного клеточного состава в ране, окраска по Ван-Гизон для определения количественного и качественного (оптическая плотность) состава коллагеновых волокон, метод Эйнарсона использовали для окраски нуклеиновых кислот хромовым крапплаком галлоцианина, ШИК-реакция – для определения функционального состояния клеток очага, для исследования степени активности ангиогенеза мы использовали метод определения количества новых эндотелиоцитов (CD34), причем двумя способами: иммунопероксидазной и иммуногистохимической реакциями [286-289].

Кожа интактной морской свинки (рис. 5.20) имеет эпидермис, представленный 3-4 слоями эпителиоцитов, причем эпителиоциты базального слоя – с овальным ядром – занимают не вертикальное, а, скорее, горизонтальное положение относительно поверхности кожи, что прямо указывает на низкую пролиферативную активность эпителиоцитов эпидермиса. Базальная мембрана эпидермиса при постановке ШИК-реакции хорошо просматривается, тонкая, четкая. Сосочковый слой дермы представлен рыхло расположенными

тонкими коллагеновыми волокнами, хорошо прокрашивающимися в красный цвет при окраске препаратов пикрофуксином по Ван Гизон. Капилляров немного, их эндотелиоциты темные, уплощенные.

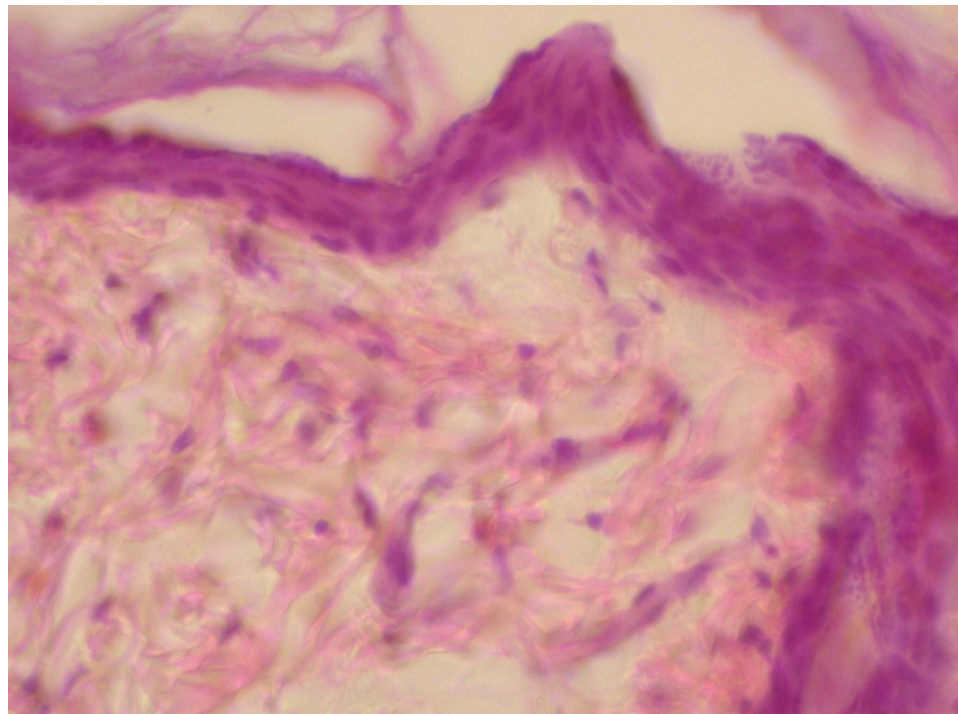


Рис. 5.20. Кожа интактной морской свинки. Эпидермис располагается в несколько слоев, в сосочковом слое небольшое количество лейкоцитарной инфильтрации, рыхлое расположение дермы. Окраска гематоксилином и эозином $\times 400$.

В небольшом количестве присутствуют лейкоциты: макрофаги, лимфоциты, тканевые базофилы. Коллаген более глубоких слоев располагается плотнее, волокна толще, окраска по Ван Гизон – интенсивно красная. Оптическая плотность коллагена в верхней части сетчатого слоя дермы на препаратах, окрашенных пикрофуксином по Ван-Гизон, составляет $0,377 \pm 0,014$ усл.ед. опт. пл. (табл. 5.23). Таким образом, чем ближе оптическая плотность коллагена в ране будет к интактной, тем состоятельней заживление.

Таблица 5.23

**Оптическая плотность коллагена на препаратах, окрашенных
пикрофуксином по Ван-Гизон, при лечении хронической раны у морских
свинок ($M \pm m$)**

Экспериментальная группа	Оптическая плотность коллагена, усл.ед. опт. пл.
Интактные	0,377±0,014
Без лечения	0,174±0,008 ^{***}
Мазь «Метилурациловая»	0,192±0,009
Внутримышечное введение пропеса	0,253±0,012 ^{##,^^}
Внутримышечное введение церебролизина	0,243±0,007 ^{##,^^}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с интактными (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).

При микроскопическом исследовании длительно незаживающей раны отмечается наличие участка кожи без эпидермиса (рис. 5.21). Эпидермис на периферии язвы выглядит сходящим «на нет», т.е. на небольшом отдалении от дефекта ядра базальных эпидермоцитов располагаются частоколом, что отражает наличие более интенсивного пролиферативного процесса по сравнению с интактной кожей. Однако ближе к дефекту эпидермоциты базального слоя располагаются горизонтально, при отсутствии эпидермоцитов шиповатого слоя.

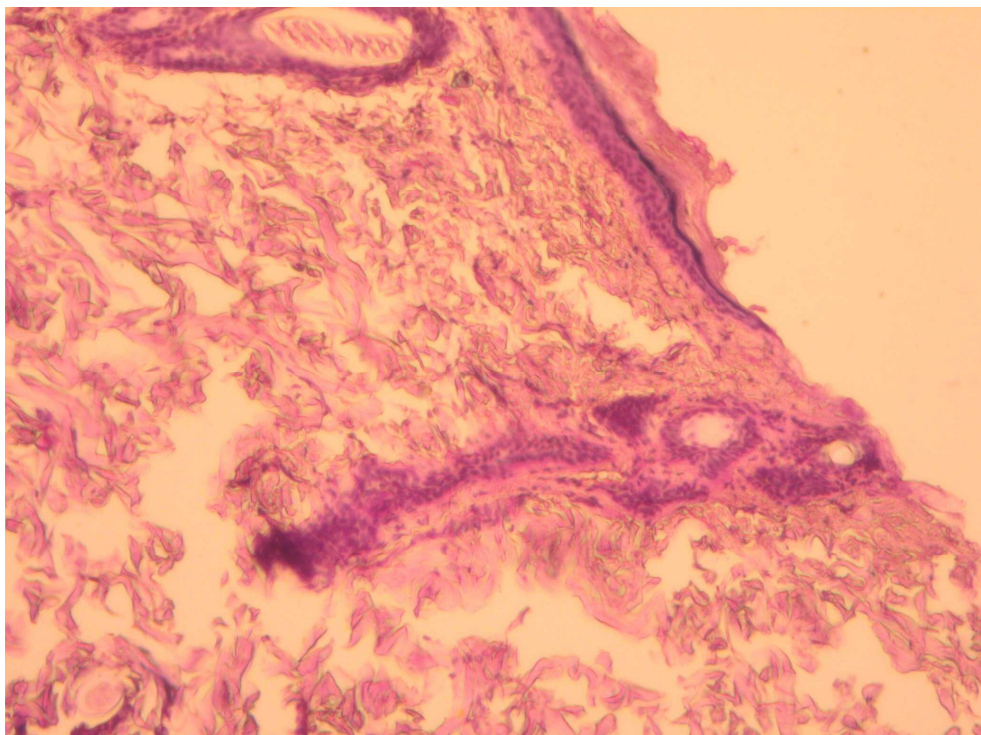


Рис. 5.21. Область раны морской свинки без лечения. Эпидермис сходит «на нет». Дерма отечная, collagen некротизирован. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

Эти клетки имеют пикнотичное ядро, что соответствует состоянию некробиоза. Базальная мембрана эпидермиса в этих участках отсутствует. Иногда можно увидеть отслаивающийся, гибнущий край новообразованного эпидермиса (рис. 5.22). Ниже располагающаяся дерма уплотнена, капилляров в сосочковом слое мало, макрофаги и лимфоциты единичны. Дно язвы представлено поврежденным collagenом: набухшим, сливающимся в общую массу, местами с сохранившейся фуксинофилией (рис. 5.23). Оптическая плотность collagenа на препаратах, окрашенных пикрофуксином по Ван-Гизон, резко уменьшена и составляет $0,174 \pm 0,008$ усл. ед. опт. пл. (см. табл. 5.23) Местами collagenовая масса пикринофильна. Какие-либо клеточные элементы отсутствуют.

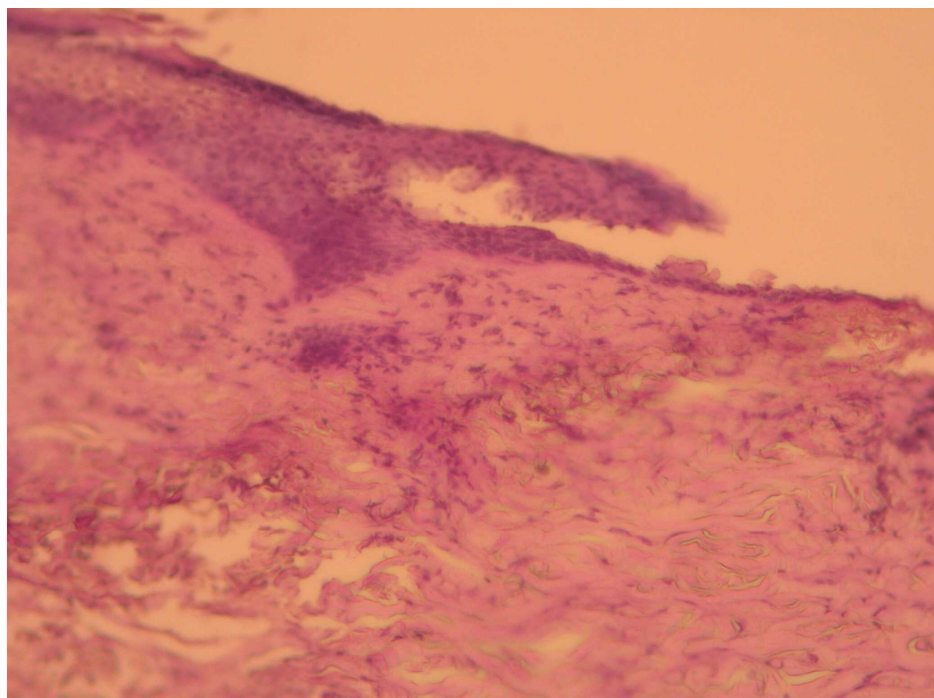


Рис. 5.22 Область раны морской свинки без лечения. Отслоившийся эпидермис. Отек и некроз дермы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

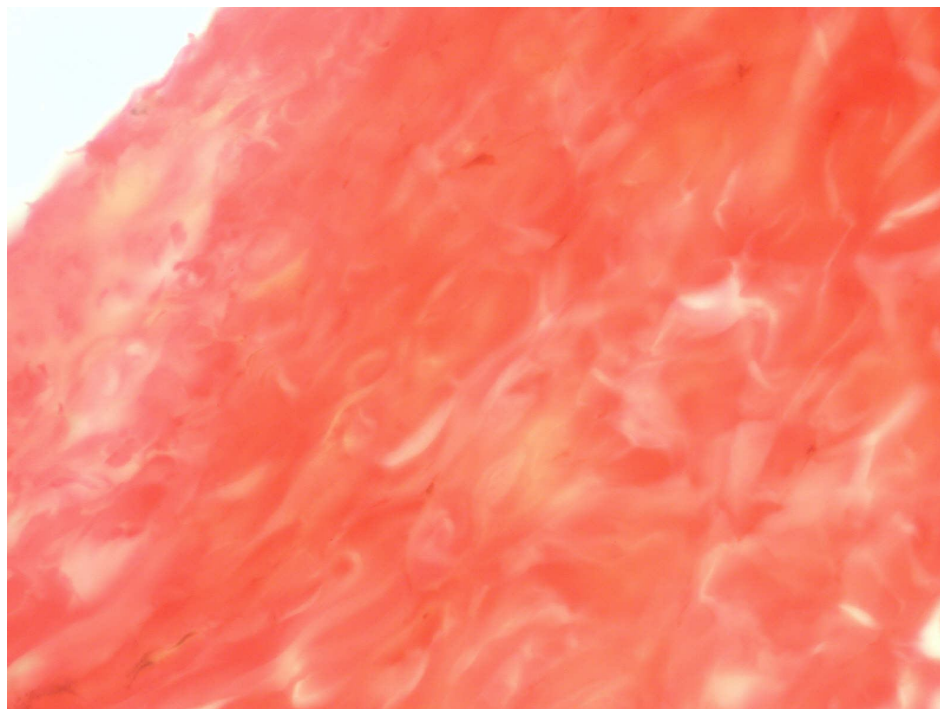


Рис. 5.23. Область раны морской свинки без лечения. Некротизированный коллаген на уровне центра язвы. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизон. Ув. $\times 400$.

У животных с темной шерстью и, следовательно, с большим содержанием меланина в эпидермисе (что сыграло, очевидно, защитную роль при облучении), размеры язвы и степень повреждения эпителия менее выражены, а пролиферация эпителия более активна.

После 20-ти дневного курса лечения длительно незаживающей раны кожи мазью «Метилурациловая» отмечается выраженная гиперпролиферация эпителиоцитов эпидермиса. При этом, как видно на микропрепарате, он легко отслаивается от подлежащей дермы (рис. 5.24), что можно объяснить недостаточной дифференцировкой эпителиоцитов и отсутствием продукции ими коллагена II типа и других белков, необходимых для построения базальной мембраны эпидермиса.

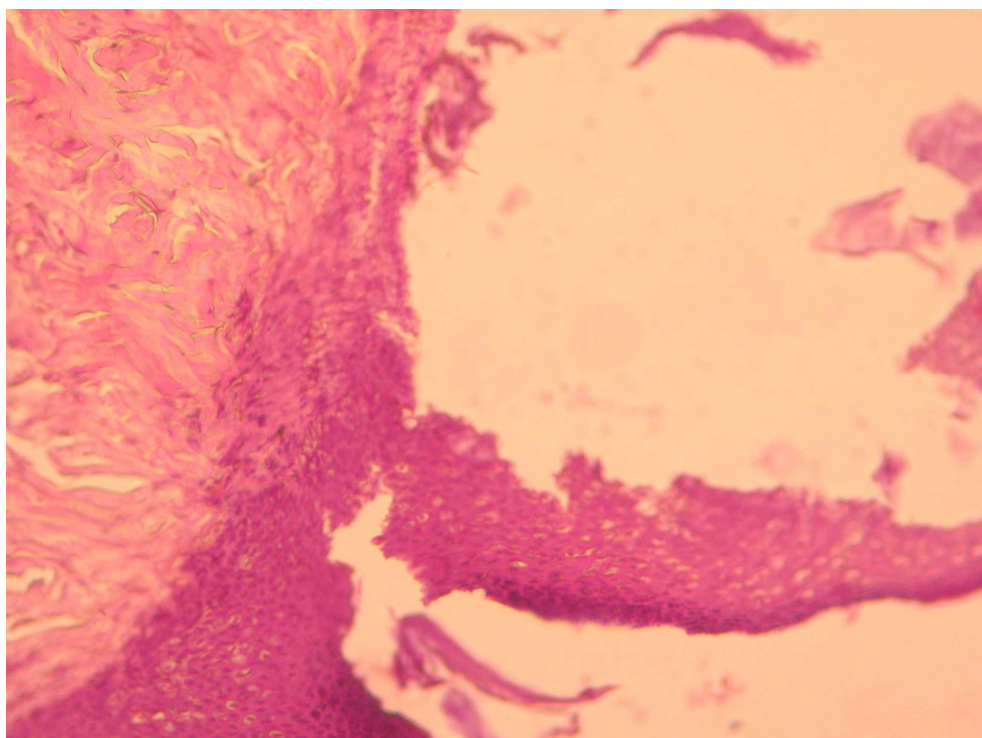


Рис. 5.24. Область раны морской свинки после лечения мазью «Метилурациловая». Участок новообразованного эпидермиса отслоился. Окраска гематоксилином и эозином $\times 100$.

С другой стороны, возможно отсутствие нормального питания эпителия, для чего необходима достаточная васкуляризация сосочкового слоя дермы. В других случаях этой же группы в микропрепарате наблюдается отсутствие

эпидермиса, покрывающего дефект, т.е. уже произошло повторное «открытие» язвы или тонкий слой эпидермиса (рис. 5.25). При этом эпителий по периметру язвы выглядит пролиферирующим и сходящим «на нет».

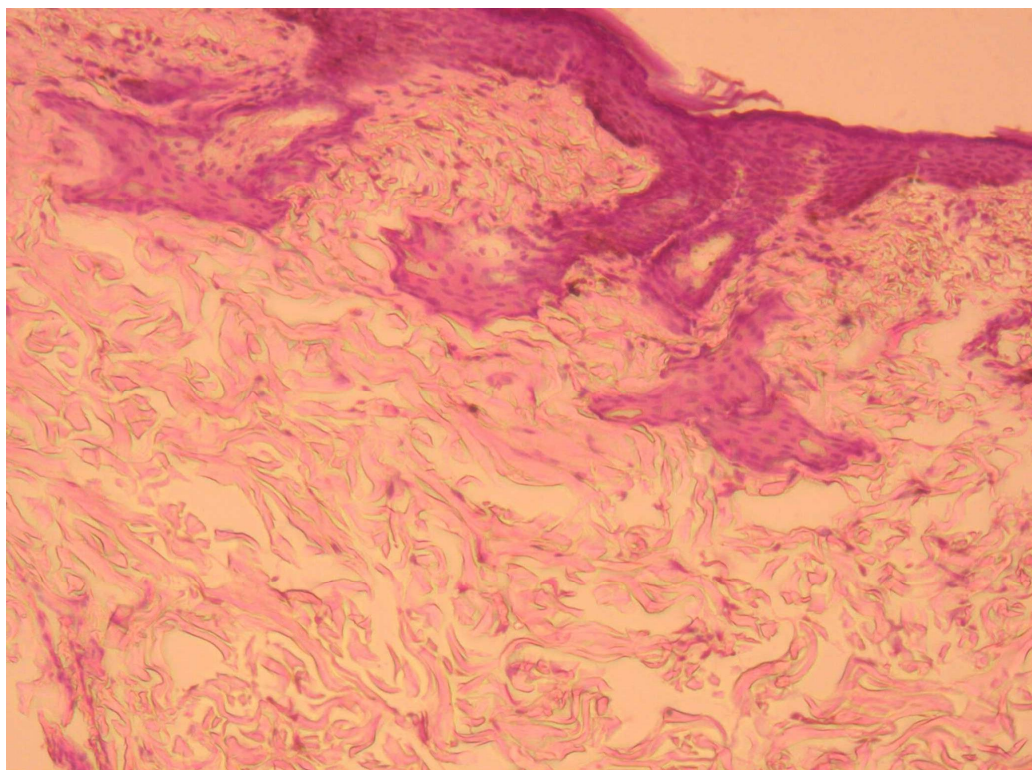


Рис. 5.25. Область раны морской свинки после лечения мазью «Метилурациловая». Участок эпителизации раневой поверхности. Коллаген дермы некротизирован. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

Непосредственно в зоне язвы коллаген в поверхностных слоях плотный, гомогенный, компактный, что свойственно состоянию его коагуляционного некроза. Оптическая плотность этого слоя коллагена на препаратах, окрашенных пикрофуксином по Ван-Гизон, незначительно выше, чем у животных в группе без лечения: соответственно $0,192 \pm 0,009$ и $0,174 \pm 0,008$ усл. ед. опт. пл. (см. табл. 5.23). Из гистологической картины видно, что это повышение показателя связано не с накоплением нового коллагена, а уплотнением старого, некротизированного. В нижних слоях дермы коллаген набухший, отечный. Клеточные элементы в дерме отсутствуют. По границе дефекта поверхностные слои дермы имеют макрофаги в несколько большем количестве, чем в группе сравнения, располагающиеся вокруг единичных

капилляров, однако ядра их эндотелиоцитов гиперхромны, сильно уплощены. В нашем исследовании для изучения ангиогенеза мы посчитали нужным определить наличие в очаге CD34 клеток, также косвенным показателем развития микроциркуляторного русла (МЦР) будет содержание IL-8. При постановке иммуногистохимической реакции с моноклональными антителами (МКА) CD34 отмечено небольшое количество эндотелиоцитов с экспрессией CD34 (рис. 5.26).

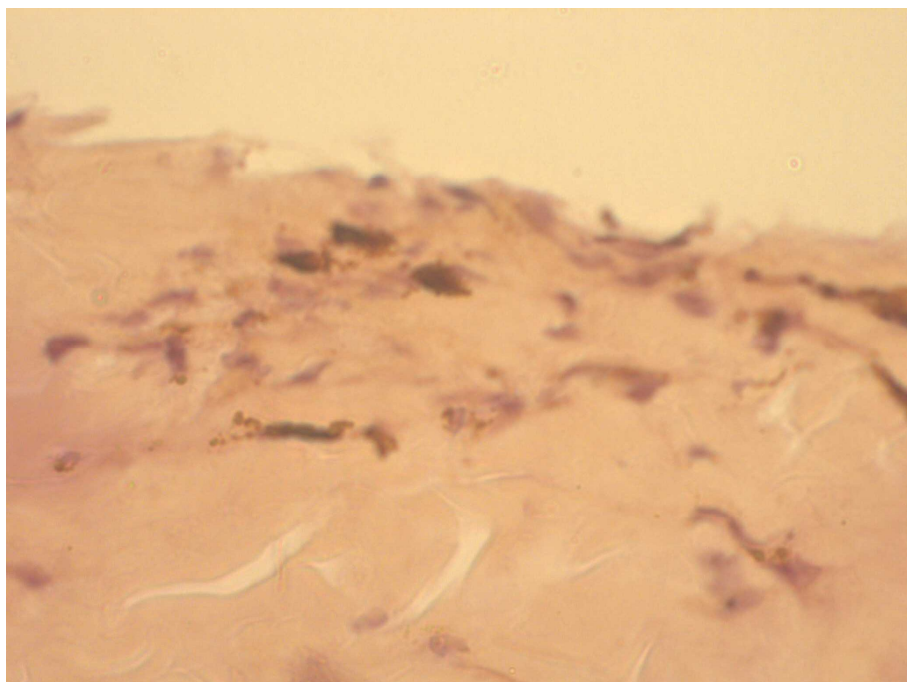


Рис. 5.26. Участок регенерирующей дермы с единичными эндотелиоцитами с экспрессией CD34. Иммунопероксидазная реакция с МКА CD34, выявление иммунных комплексов кроличьими антителами к IgG морских свинок, меченных ФИТЦ. Ув. 400. Морская свинка, после применения мази «Метилурациловая», 21-е сутки.

В случаях более успешной эпителизации раны субэпителиальное пространство заполнено новообразованным коллагеном, еще плохо воспринимающим фуксин, а в глубине располагается некротизированный коллаген (рис. 5.27).

Таким образом, под влиянием мази «Метилурациловая» отмечена активация пролиферативного процесса эпителиоцитов эпидермиса, однако морфофункциональное состояние дермы, некротизированного коллагена изменяется мало, т.к. нет стимуляции новообразования капилляров, а значит, поступления макрофагов, необходимых для утилизации некротических масс и питания эпителия.

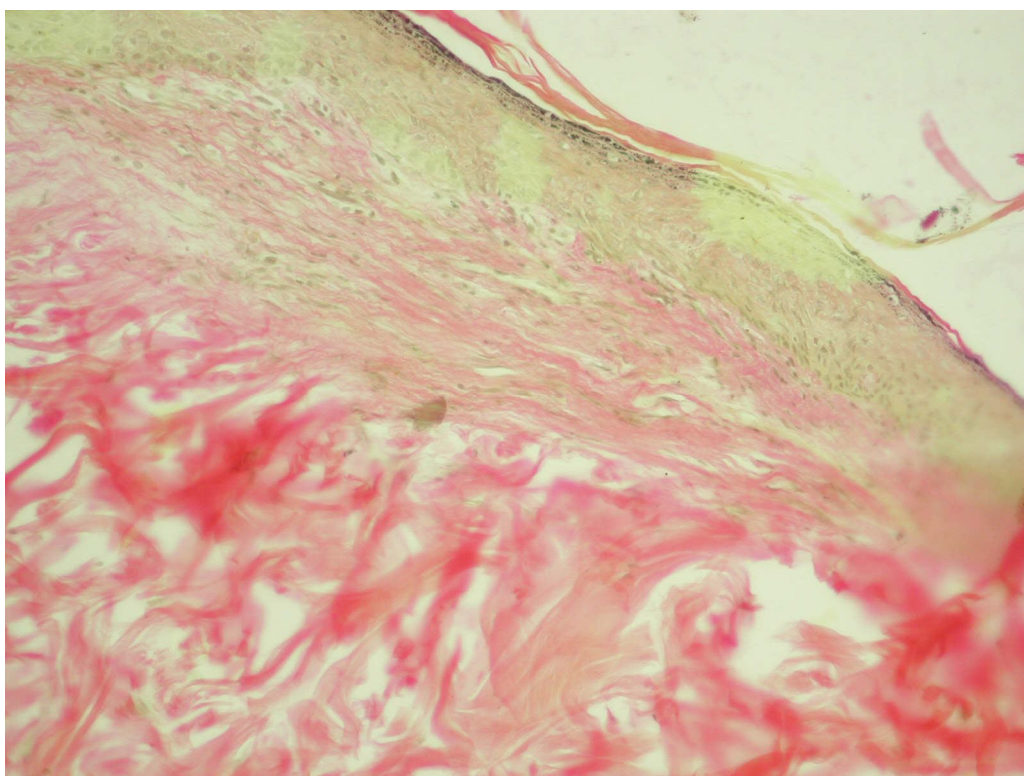


Рис. 5.27. Область раны морской свинки после лечения мазью «Метилурациловая». Участок с гиперпролиферирующим эпидермисом и тонким слоем вновь образованного коллагена. В глубине – некротизированный коллаген. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизон. Ув. $\times 200$.

После 20-ти дневного курса лечения длительно незаживающей раны кожи пропесом (внутримышечное введение) микроскопически эпителий активно пролиферирует, и в случаях полного закрытия дефекта формирует базальную мембрану, за исключением центральных участков. Состояние дермы в участке бывшего изъязвления можно оценить как частичное обновление. В

субэпидермальных отделах имеются сосуды микроциркуляторного русла, выраженная макрофагальная инфильтрация, фибробласты (рис. 5.28).

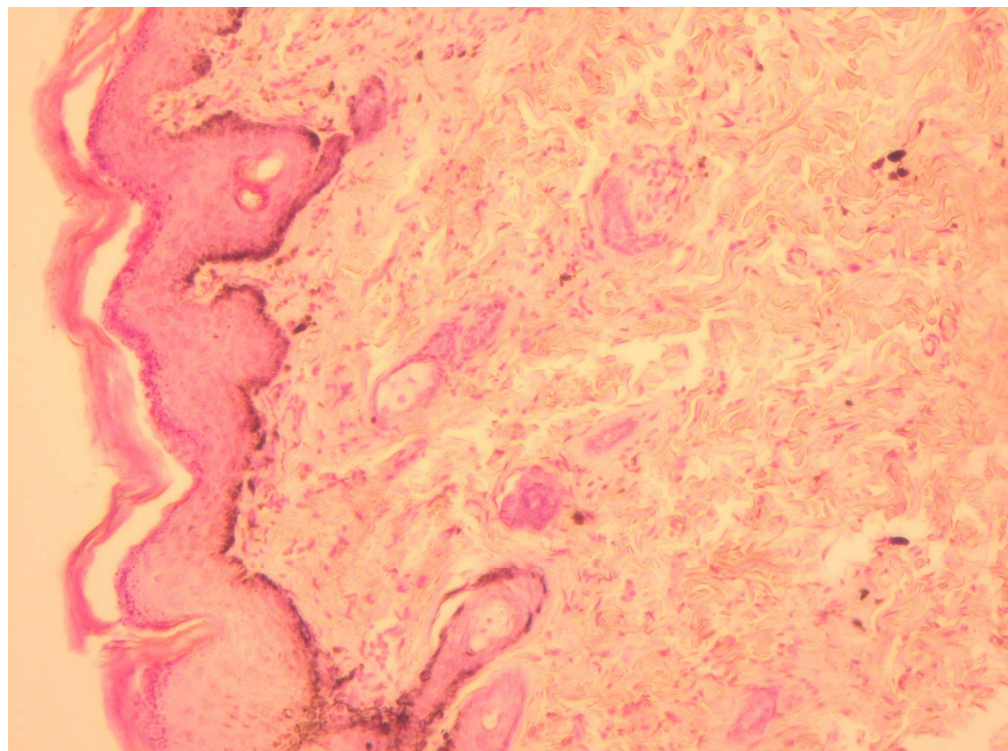


Рис. 5.28. Область раны морской свинки после внутримышечного лечения прополисом. Толстый слой эпидермиса с формированием сосочков. Признаки обновления дермы, ее инфильтрация лейкоцитами, наличие фиброцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

Иммуногистохимически выявлена повышенная экспрессия гликопротеида эндотелиоцита CD34 (рис. 5.29). Необходимо отметить, что толщина новообразованной дермы гораздо выраженнее, чем в отдельных случаях с лечением язвы мазью «Метилурациловая». Коллагеновые волокна располагаются как параллельно поверхности кожи, так и извилисто. Волокна имеют четкие границы, фуксинофильны при окраске по Ван Гизон (рис. 5.30). Оптическая плотность коллагена на препаратах, окрашенных пикрофуксином по Ван-Гизон, больше чем у животных, которым применяли мазь «Метилурациловая», и составляет $0,253 \pm 0,012$ усл. ед. опт. пл. (см. табл. 5.23). При этом, очевидно, что это новообразованный коллаген. Однако в глубине дермы сохраняются гомогенные участки с пикринофилией.

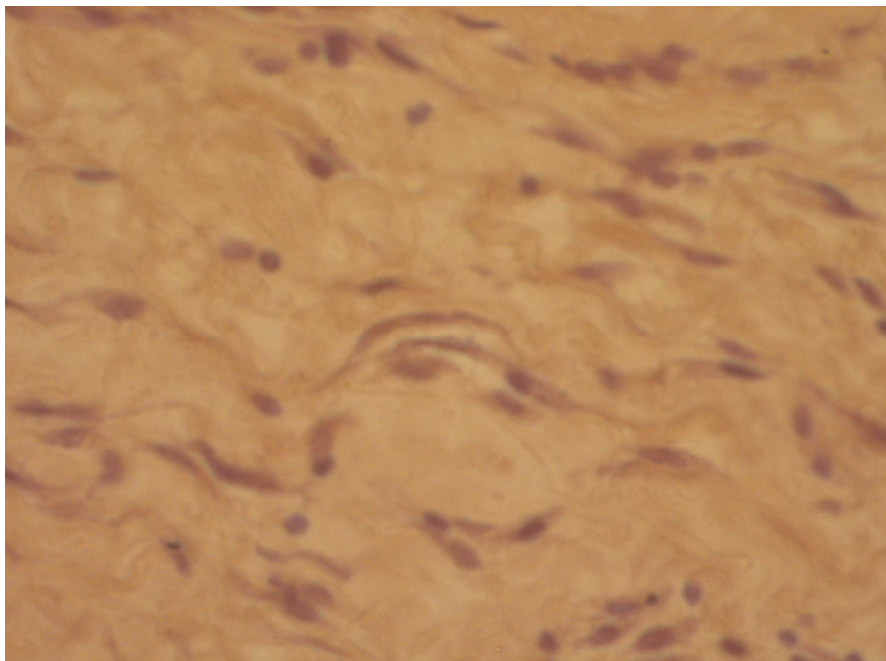


Рис. 5.29. Высокая экспрессия CD34 в субэпителиальной ткани. Иммунопероксидазная реакция с МКА CD34, выявление иммунных комплексов кроличьими антителами к IgG морских свинок, меченных ФИТЦ. Ув. 400. Морская свинка, после внутримышечного введения пропеса, 21-е сутки.

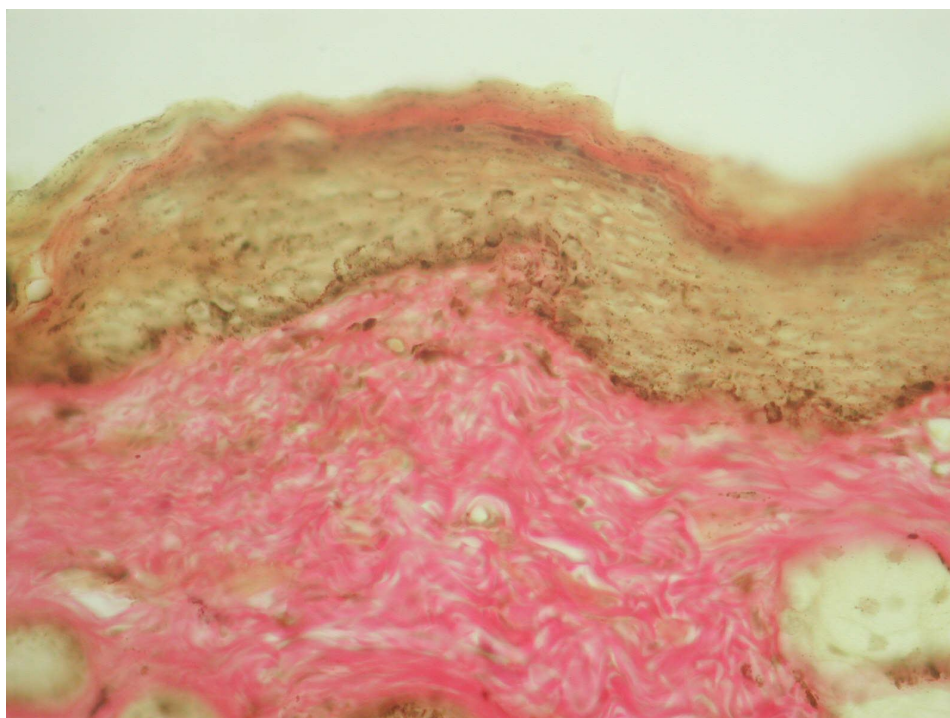


Рис. 5.30. Область раны морской свинки после внутримышечного лечения пропесом. Интенсивная окраска коллагена фуксином в субэпидермальной зоне. Окраска по Ван-Гизон $\times 400$.

После курса лечения пропесом (паравульнарное введение) микроскопически обнаруживается, что участок ранее имевшего место изъязвления покрыт толстым слоем эпидермиса, причем базальные клетки располагаются «частоколом», много шиповатых клеток. Базальная мембрана тонкая, четкая, но ближе к центру просматривается фрагментарно. Состояние дермы в одних случаях можно также оценить как полную регенерацию: в поверхностных слоях коллагеновые волокна тонкие, располагаются рыхло, в других – как формирование рубца в замещение предшествовавшей грануляционной ткани (рис. 5.31). Присутствуют многочисленные капилляры и более крупные сосуды, в разной степени представлены макрофаги. О хорошей васкуляризации дермы при данном способе лечения свидетельствует обнаружение местами обильной макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации (рис. 5.32).

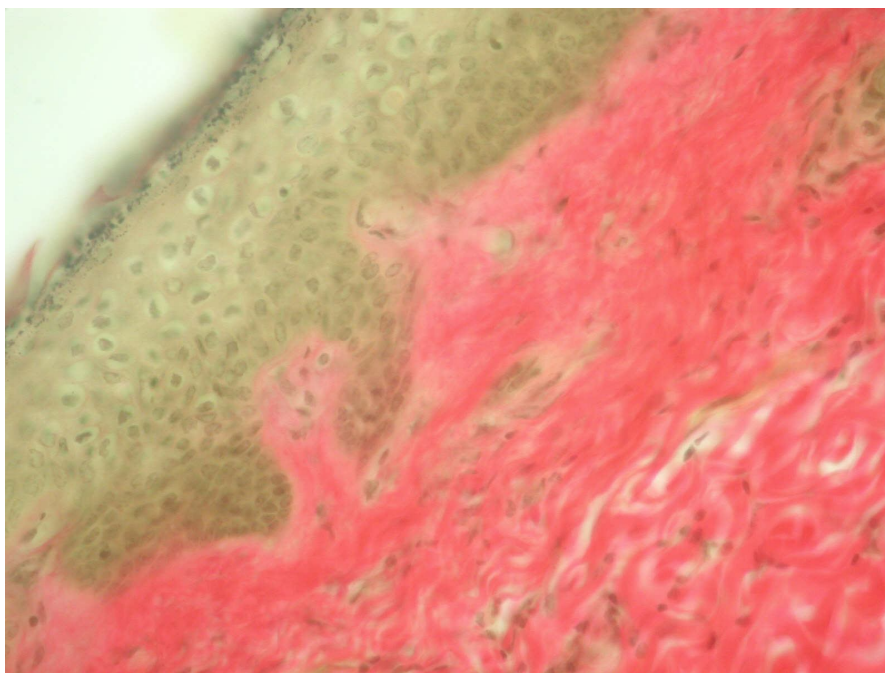


Рис. 5.31. Область раны морской свинки после паравульнарного лечения пропесом. Гиперпролиферация эпидермиса с формированием сосочков. Интенсивно фуксинофильный коллаген в сосочковом слое. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизон. Ув. $\times 400$.

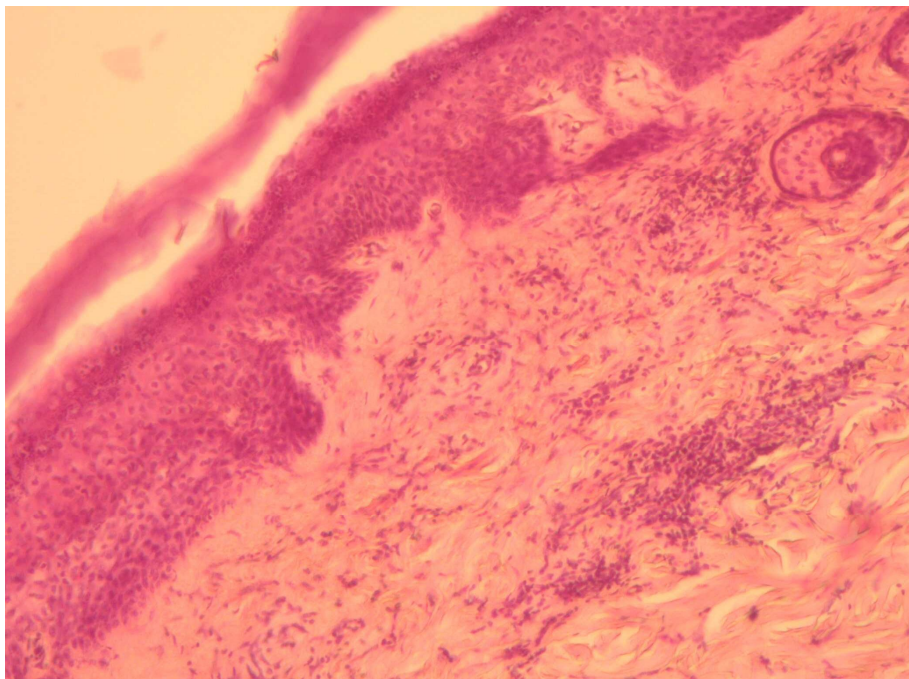


Рис. 5.32. Область раны морской свинки после паравульнарного лечения пропесом. Участок зажившей раны с наличием обильной макрофагально-лимфоцитарной инфильтрацией в субэпителиальном слое. Окраска гематоксилином и эозином $\times 100$.

В более глубоких слоях фуксинофильные толстые коллагеновые волокна располагаются как параллельно, так и с «закрутами». Между ними обнаруживаются фибробласты и фиброциты. Оптическая плотность такого коллагена существенно больше, чем при лечении мазью «Метилурациловая» в тот же срок развития раневого процесса: соответственно $0,289 \pm 0,017$ и $0,192 \pm 0,009$ усл. ед. опт. пл. (см. табл. 5.23, табл. 5.24). О более зрелом состоянии новообразованной дермы свидетельствует обнаружение крупных сосудов с экспрессией CD34 (рис. 5.33).

Через две недели после описываемого состояния деэпителизации зажившего дефекта не произошло (см. рис. 5.4). Эпидермис выглядит переходящим от пролиферации к покою, т.е. у половины животных

Таблица 5.24

**Оптическая плотность коллагена на препаратах окрашенных
пикрофуксином по Ван-Гизон при паравульнарном лечении хронической
раны пропесом и церебролизином ($M \pm m$)**

Экспериментальная группа	Оптическая плотность коллагена, усл.ед. опт. пл.
Без лечения	0,174±0,008
«Пропес» 21-е сутки	0,289±0,017 ^{**,##}
«Пропес» 35 сутки	0,338±0,014 ^{***}
«Церебролизин» 21-е сутки	0,179±0,013
«Церебролизин» 35-е сутки	0,282±0,017 ^{**,^^}

Примечания:

1. Достоверность различий по сравнению с группой без лечения (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$).
2. Достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь «Метилурациловая» (см. табл.5.24) (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$; ### - $p \leq 0,001$).
3. Достоверность различий по сравнению с 21-ми сутками (^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ - $p \leq 0,001$).

эпидермис более толстый и гиперплазированный по сравнению с интактными животными (рис. 5.34), у другой половины – более тонкий, чем у вышеуказанных животных, аналогичный состоянию эпидермиса у интактных животных. Базальная мембрана эпидермиса тонкая, четкая, хорошо выраженная при постановке ШИК-реакции. Субэпидермально рыхло располагаются тонкие коллагеновые волокна, довольно многочисленные

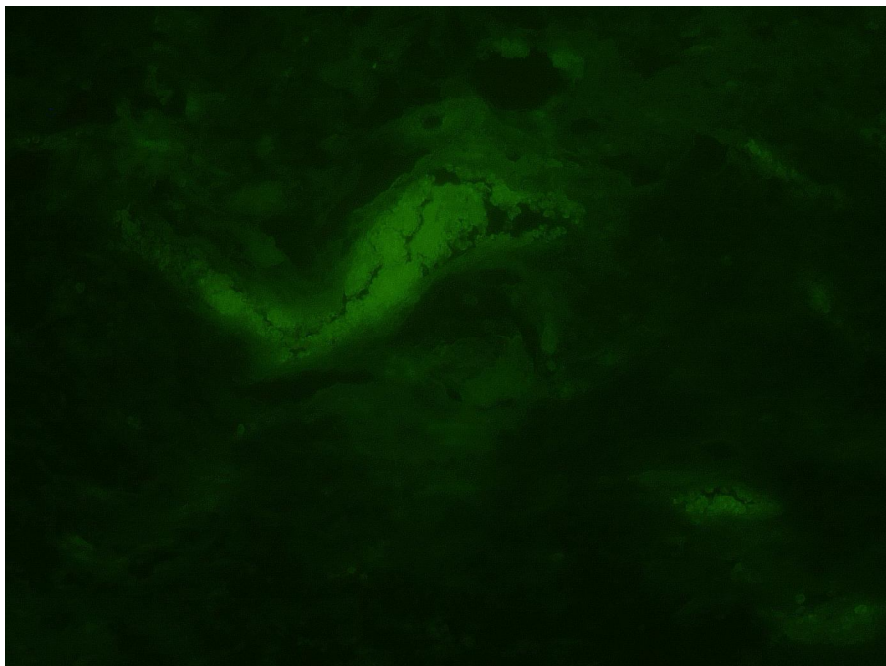


Рис. 5.33. Наличие крупных сосудов, экспрессирующих CD34 в новообразованной дерме. Иммуногистохимическая реакция с МКА CD34, выявление иммунных комплексов кроличьими антителами к IgG морских свинок, меченных ФИТЦ. Ув. 100. Морская свинка, после паравульнарного введения пропеса, 21-е сутки.

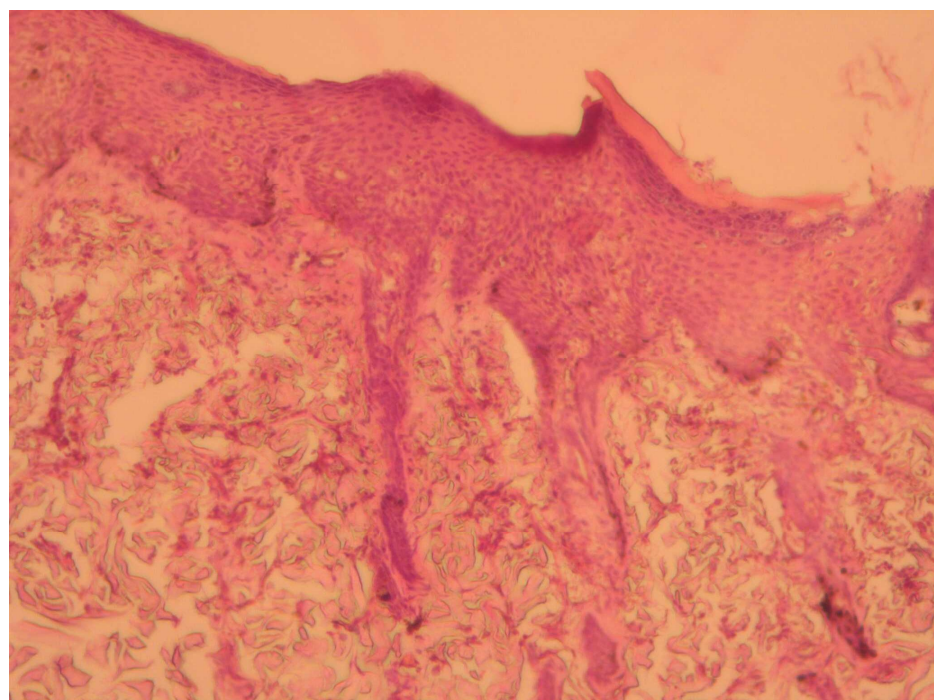


Рис. 5.34. Область раны морской свинки через 14 суток после окончания паравульнарного лечения пропесом. Участок зажившей раны с толстым эпидермисом и сформировавшимися волосяными фолликулами. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

капилляры и макрофаги (рис. 5.35). Коллаген глубоких участков дермы – это толстые, плотно уложенные волокна, отек отсутствует. Оптическая плотность коллагена приближается к таковой у интактных животных: соответственно $0,338 \pm 0,014$ и $0,377 \pm 0,014$ усл. ед. опт. пл. (см. табл. 5.23, 5.24).

При сравнении лечения хронической язвы пропесом относительно лечения мазью «Метилурациловая» можно отметить более стойкое заживление при лечении пропесом, причем, если при лечении мазью основной положительный эффект касался пролиферативной активности эпителия, при лечении пропесом – как эпителия (в большей степени), так и дермы. Паравульнарное введение пропеса оказывается эффективнее внутримышечного.

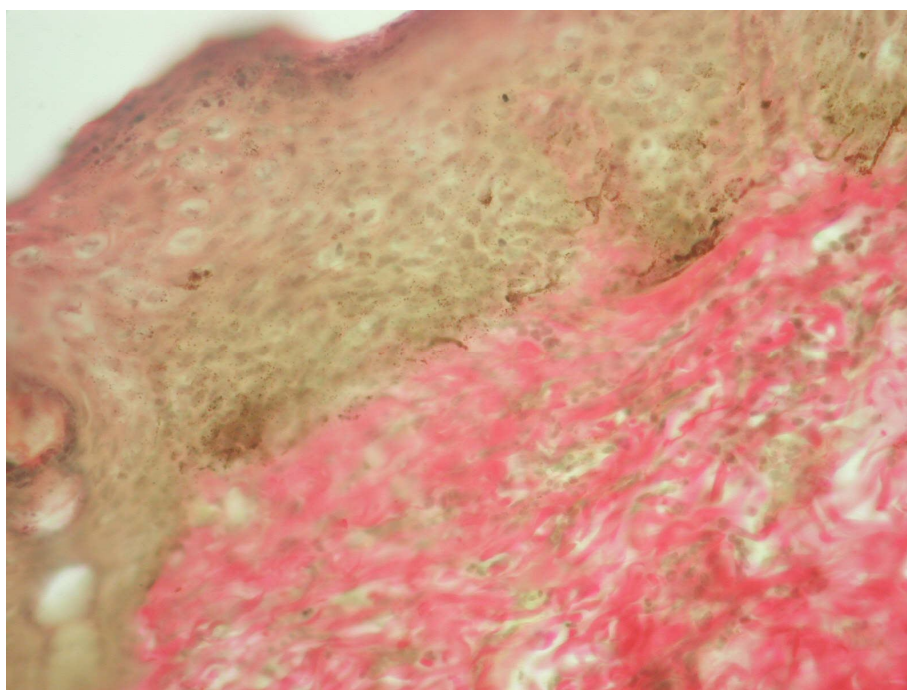


Рис. 5.35. Область раны морской свинки через 14 суток после окончания паравульнарного лечения пропесом. Толстый слой эпидермиса. Новоброзованный коллаген с многочисленными капиллярами между волокнами. Окраска по Ван-Гизон. Ув. $\times 400$.

Микроскопическое исследование препаратов кожи после проведенного внутримышечного курса лечения церебролизином на 21-е сутки обнаружило наличие широкого пласта новообразованного эпителия, однако часто с явлениями гидропической дистрофии, апоптоза, местами отмечается

отслаивание эпителиального пласта (рис. 5.36). Базальная мембрана эпидермиса сформирована не везде. В поверхностных слоях дермы обращает внимание значительное развитие сосудов микроциркуляторного русла с выраженной перивазальной макрофагально-лимфоцитарной инфильтрацией. Иммуногистохимическая реакция на CD34 показала наличие многочисленных единичных эндотелиоцитов, что свидетельствует об их принадлежности капиллярам (рис. 5.37). Некротизированные остатки коллагена практически отсутствуют (рис. 5.38). Новообразованный коллаген в разных местах дает разной степени интенсивности фуксинофилию. Оптическая плотность коллагена на препаратах, окрашенных пикрофуксином по Ван-Гизон, составляет $0,243 \pm 0,007$ усл. ед. опт. пл., т.е. аналогично таковому показателю при внутримышечном введении пропеса (см. табл. 5.23).

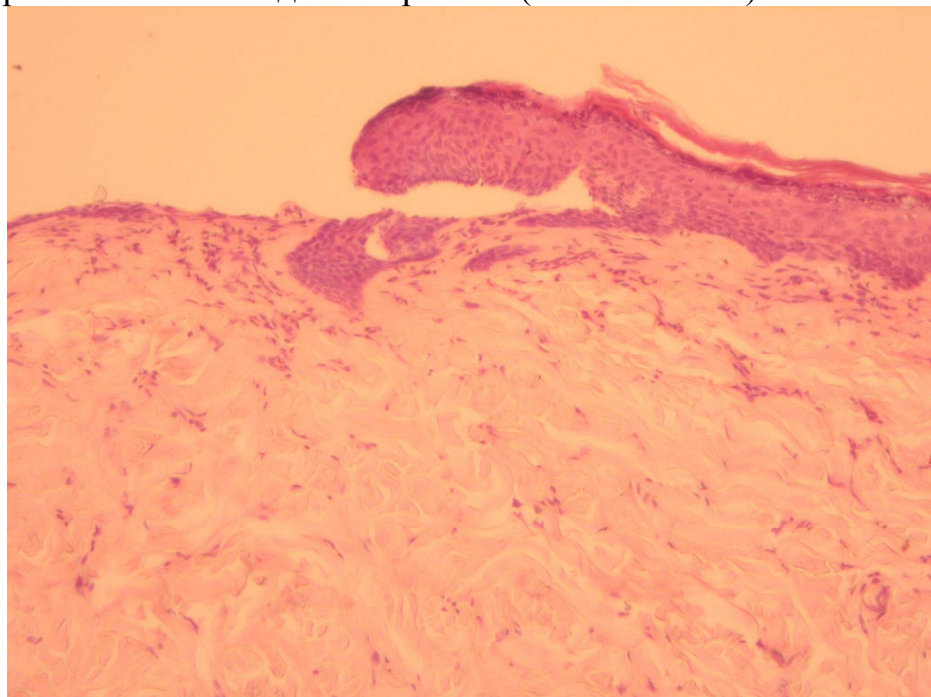


Рис. 5.36. Область раны морской свинки после внутримышечного лечения церебролизином. Полное закрытие дефекта. Частичное отслаивание эпидермиса, нижележащий коллаген васкуляризирован с лейкоцитарными инфильтратами. Окраска галлоцианином по Эйнарсону. Ув. $\times 100$.

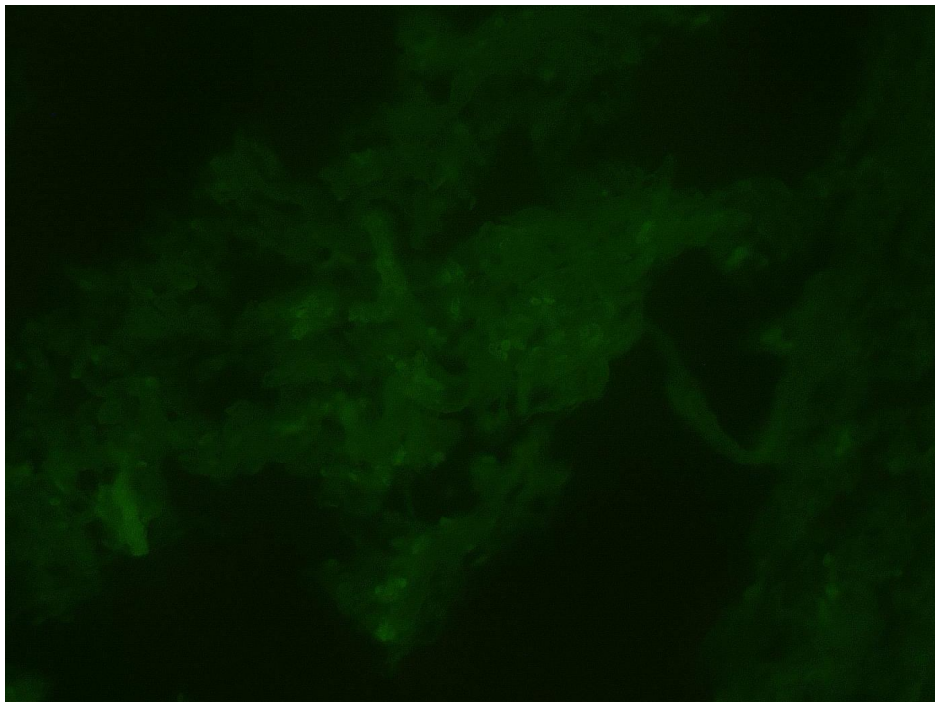


Рис. 5.37. Экспрессия CD34 в единичных эндотелиоцитах мелких сосудов. Иммуног-истохимическая реакция с МКА CD34, выявление иммунных комплексов кроличьими антителами к IgG морских свинок, меченных ФИТЦ. Ув. 100. Морская свинка, после внутримышечного введения церебролизина, 21-е сутки.

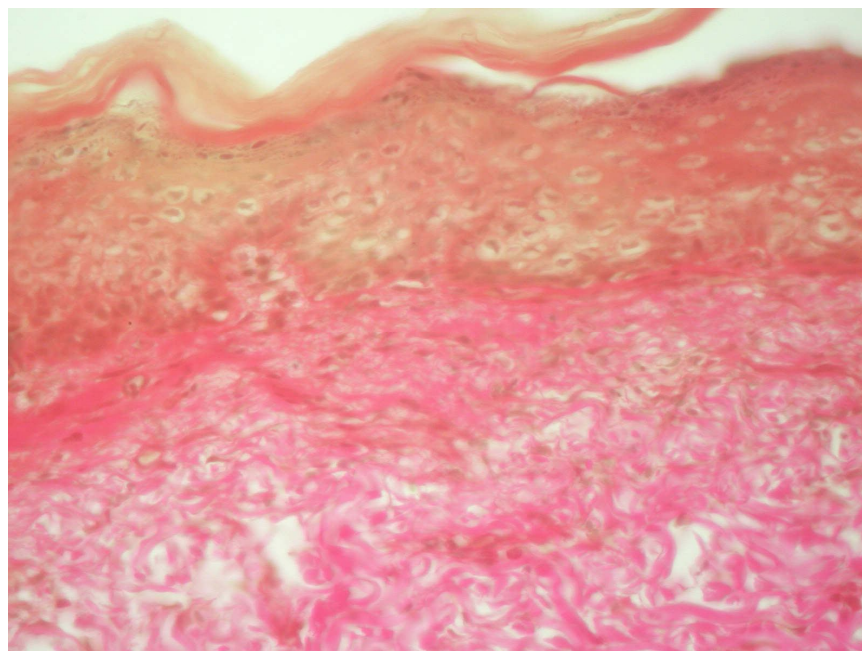


Рис. 5.38. Область раны морской свинки после внутримышечного лечения церебролизинном. Толстый слой эпидермиса. Вновь образованный коллаген в субэпидермальном слое. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизон. Ув. $\times 400$.

При микроскопии препаратов кожи после курса лечения церебролизином (паравульнарно) в случаях полной эпителизации (рис. 5.39) отмечены признаки гиперпролиферации эпителия с формированием толстого пласта, однако в эпителиоцитах встречаются явления гидропической дистрофии. Базальная мембрана сформирована, за исключением небольших очагов ее отсутствия. В части случаев субэпителиальная дерма имеет характерные для сосочкового слоя признаки: много сосудов микроциркуляторного русла, в том числе артериол, венул, представлены тонкие извитые коллагеновые волокна, отмечается также наличие обильных клеточных элементов: макрофаги, лимфоциты, тканевые базофилы (рис. 5.40).

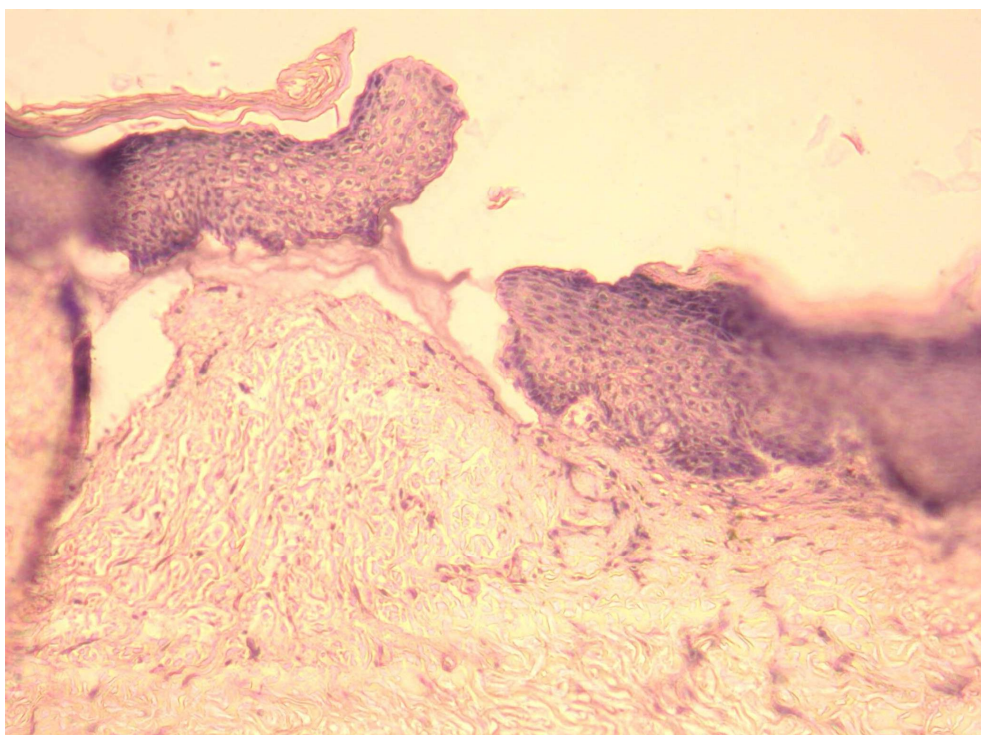


Рис. 5.39. Область раны морской свинки после паравульнарного лечения церебролизином. Смыкание эпителиальных пластов, растущих с противоположных сторон язвы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

Сильная экспрессия CD34 при постановке иммуногистохимической реакции с МКА CD34 маркирует новообразованные артериолы и венулы (рис. 5.41, 5.42). Фибробласты в этом слое и в более глубоком выглядят активными. Тем не

менее, в глубоких отделах дермы иногда обнаруживаются фокусы пикринофилии, что свойственно состоянию колликвационного некроза коллагена.

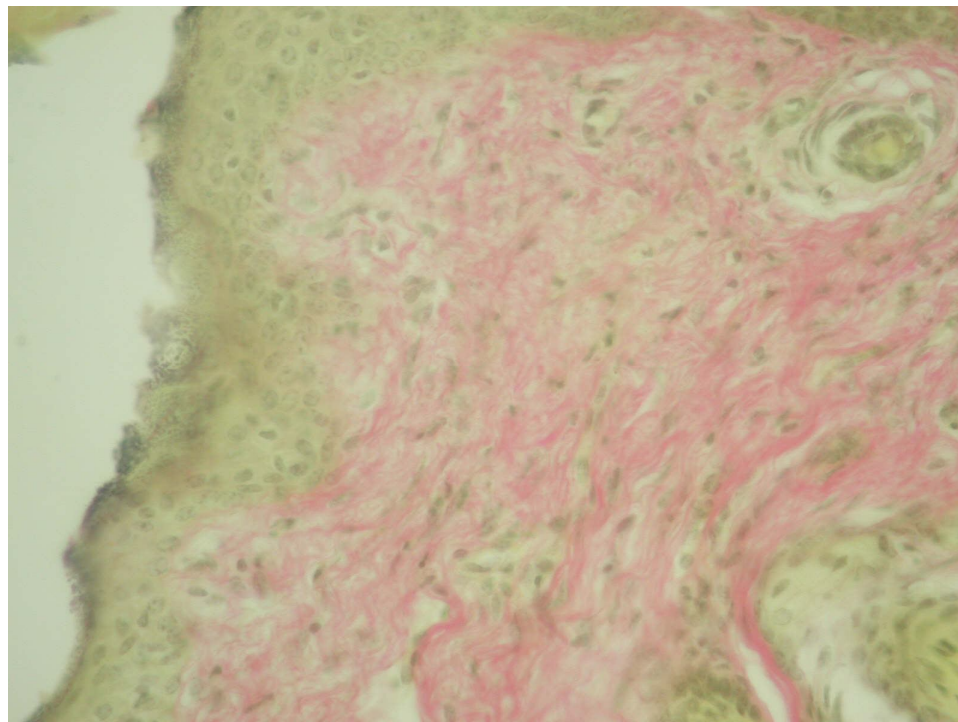


Рис. 5.40. Участок полной эпителизации раны морской свинки после паравульнарного лечения церебролизином. Субэпителиальная дерма с большим количеством сосудов и клеточных элементов. Окраска по Ван-Гизон. Ув. $\times 400$.

Оптическая плотность коллагена на препаратах, окрашенных пикрофуксином по Ван-Гизон существенно меньше, чем в тот же срок при использовании пропеса: $0,179 \pm 0,013$ усл. ед. опт. пл. (см. табл. 5.24). Возможно, это связано с тем, что процесс очищения и регенерации при использовании о протекает медленнее, чем при пропесе, и в данный срок еще продолжается утилизация старого, погибшего коллагена.

Через две недели после курса лечения церебролизином (паравульнарно) микроскопически наблюдался толстый пласт эпителия над бывшей раной, часто с явлениями гидропической дистрофии и апоптоза.

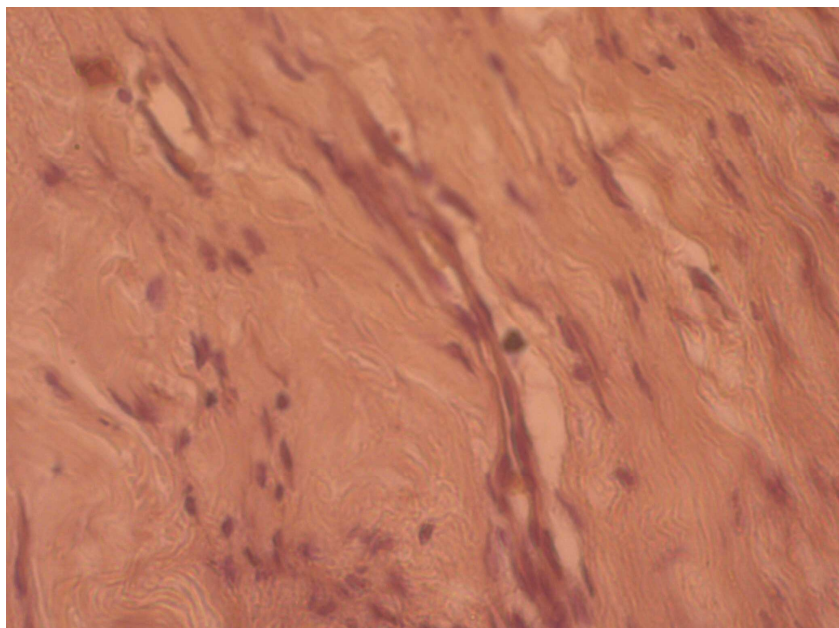


Рис. 5.41. Экспрессия CD34 в артериолах и венулах после паравульнарного введения церебролизина (21-е сутки). Иммуно-пероксидазная реакция с МКА CD34, выявление иммунных комплексов кроличьими антителами к IgG морских свинок, меченных ФИТЦ. Ув. 400.

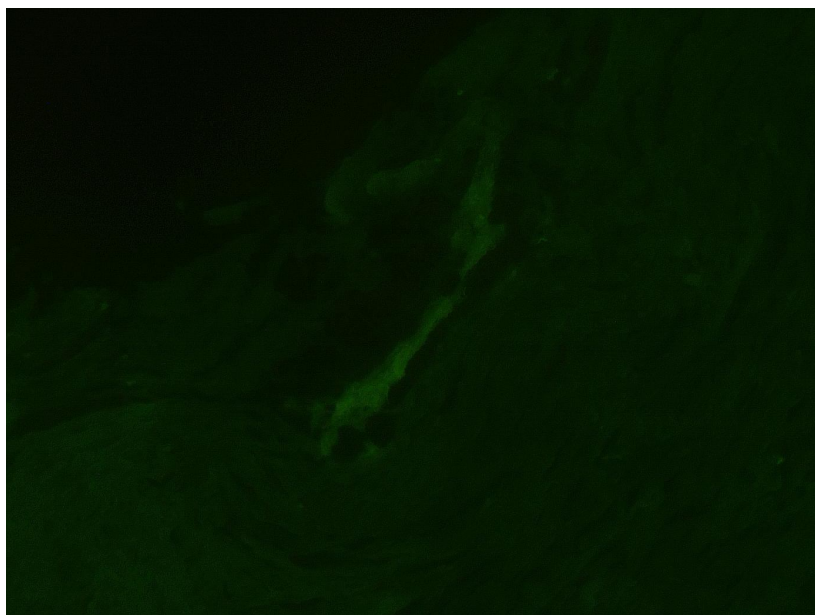


Рис. 5.42. Экспрессия CD34 в артериолах и венулах после паравульнарного введения церебролизина (21-е сутки). Иммуногисто-химическая реакция с МКА CD34, выявление иммунных комплексов кроличьими антителами к IgG морских свинок, меченных ФИТЦ. Ув. 100.

Базальная мембрана сформирована (рис. 5.43). Поверхностный слой дермы – с тонкими коллагеновыми волокнами, расположенными беспорядочно.

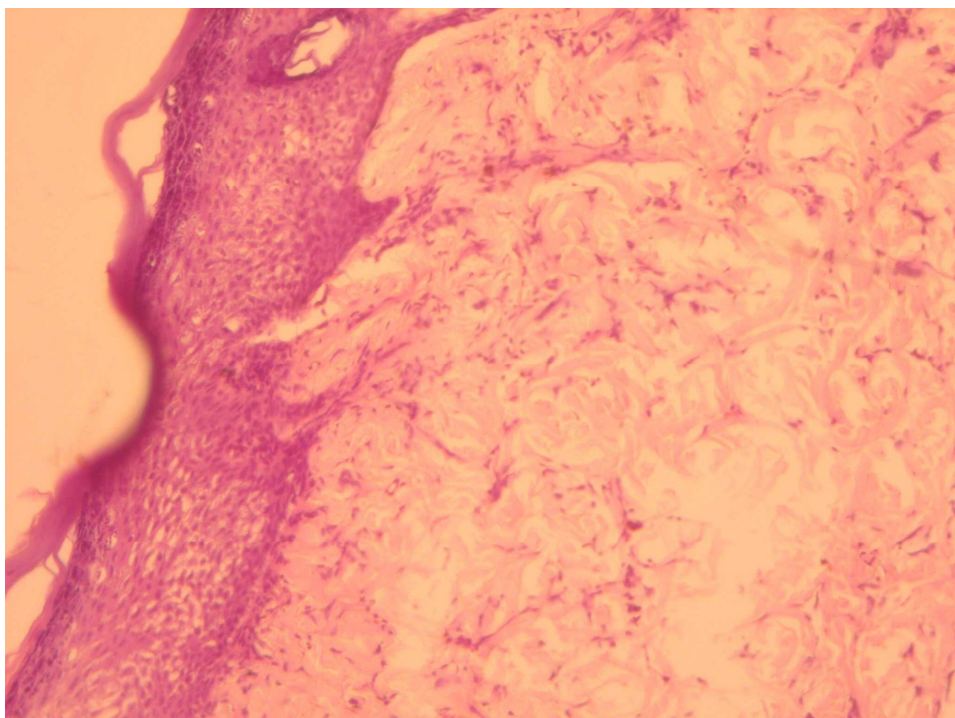


Рис. 5.43. Область раны морской свинки через 14 суток после окончания паравульнарного лечения церебролизином. Толстый слой эпителия покрывает бывшую рану. Нижний край эпидермиса ровный. В субэпидермальных участках – многочисленные клеточные элементы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

Здесь же отмечены многочисленные сосуды микроциркуляторного русла (МЦР) и небольшие периваскулярные макрофагально-лимфоцитарные инфильтраты (рис. 5.44). Глубокие слои дермы – с толстыми, плотно уложенными коллагеновыми волокнами (рис. 5.45). Общая плотность расположения коллагена в раневом участке больше по сравнению с окружающими участками. Однако кое-где в глубине дермы отмечается наличие фокусов пикринофилии.

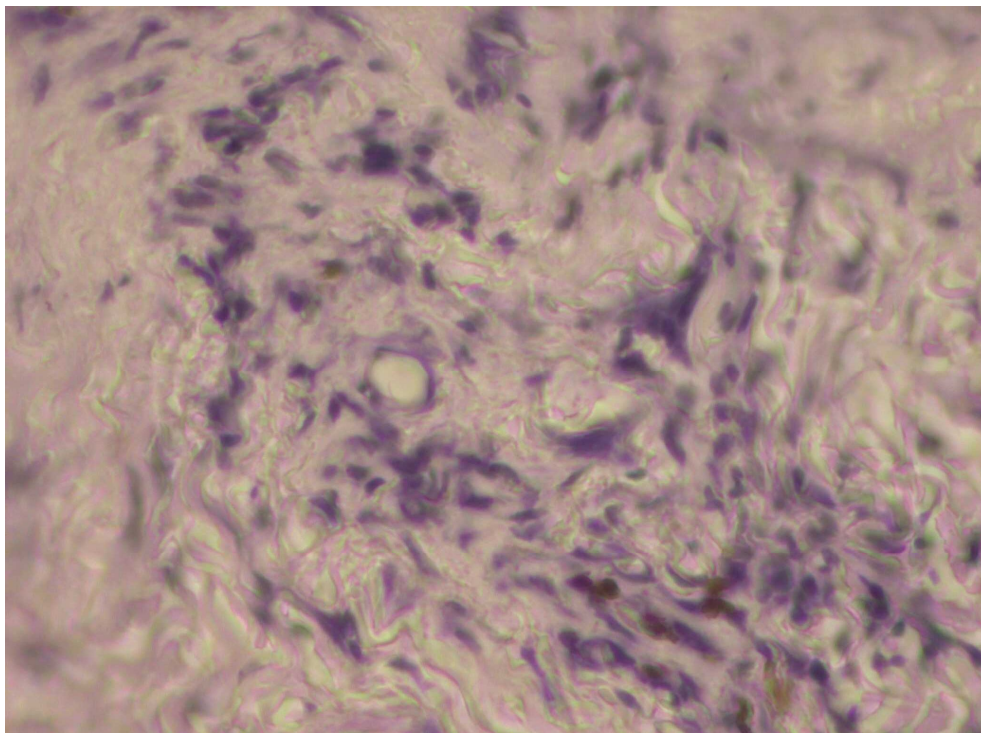


Рис. 5.44. Область раны морской свинки через 14 суток после окончания паравульнарного лечения церебролизином. Сосуды МЦР дермы с макрофагально-лимфоцитарным инфильтратом. Окраска галлоцианином по Эйнарсону. Ув. $\times 400$.

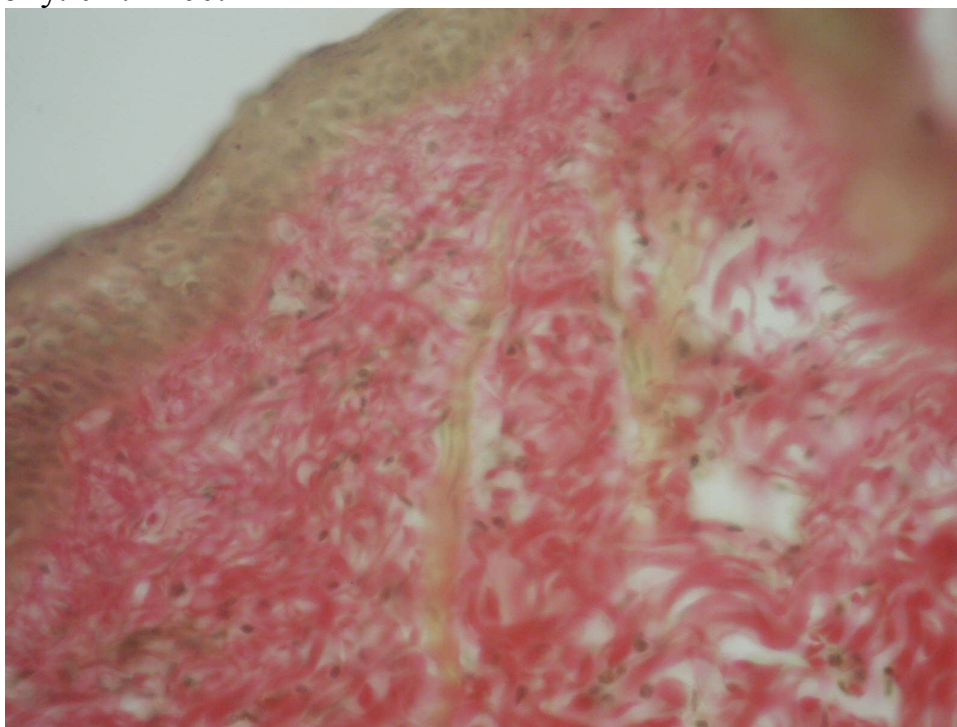


Рис. 5.45. Область раны морской свинки через 14 суток после окончания паравульнарного лечения церебролизином. дерма фуксинофильна, коллагеновые волокна имеют четкие контуры. Окраска по Ван-Гизон. Ув. $\times 400$.

Таким образом, лечение хронической язвы кожи церебролизином стимулирует процесс эпителизации раны и васкуляризации дермы, последнее является условием успешной утилизации поврежденного коллагена, синтеза нового коллагена и жизнеспособности образованного эпителия. Наблюдение за течением воспалительного процесса показало, что при паравульнарном введении раствора церебролизина отмечается более выраженная перифокальная гиперемия, что свидетельствует о более интенсивном воспалительном процессе, по сравнению с внутримышечным введением.

При изучении гистологической картины лучевой язвы кожи, леченой церебролизином в сравнении с лечением мазью «Метилурациловая» и пропесом, удалось выявить следующие особенности. Мазь «Метилурациловая» ведет к стимуляции пролиферации эпителиоцитов эпидермиса, но образующийся эпидермальный покров не стоек и легко отслаивается, гибнет. Причиной этого, очевидно, является отсутствие пролиферации эндотелиоцитов капилляров и восстановительных процессов в дерме и, в связи с этим, отсутствие питания эпителия. Лечение пропесом обусловило быстрое развитие интенсивной воспалительной реакции с полноценным 3-м периодом, т.е. эпителизацией и восстановлением коллагена с появлением в дерме многочисленных сосудов МЦР, что является благоприятным моментом относительно устойчивости эпидермиса. При использовании церебролизина лучевая язва кожи также подвергается заживлению, однако скорость процессов утилизации некротических масс и восстановления ткани меньше, чем при использовании пропеса, превосходя при этом по качеству заживления препарат мазь «Метилурациловая».

Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что при хроническом раневом процессе мазь «Метилурациловая» улучшает состояние окислительно-восстановительного баланса, скорее всего, за счет активной пролиферации эпидермиса. Подтверждением этому служит и некоторое снижение уровня провоспалительных цитокинов вследствие применения мази, обусловленное процессами активной пролиферации эпителия. Эпидермоциты в

данном случае являются основными продуцентами цитокинов. Для активизации пролиферации эпидермоциты вынуждены компенсаторно уменьшать экспрессию провоспалительных цитокинов и активно синтезировать цитокины, необходимые для пролиферативных процессов. Это подтверждается высоким уровнем IL-8 в очаге. Rennekampff H.O. et al., 2000 на модели хронической раны показали, что местное применение больших доз IL-8 привело к гиперпролиферации эпидермиса при абсолютном отсутствии каких-либо изменений в самой дерме. Высокий уровень хемокина IL-8 косвенно свидетельствует о наличии гипоксии в очаге [71]. Ввиду недостаточной васкуляризации клетки не в состоянии синтезировать коллаген, необходимый для построения базальной мембраны, чем обусловлены повторные изъязвления. Следовательно, мазь «Метилурациловая» действительно обладает ранозаживляющим действием, но очевидна несостоятельность этого заживления, обусловленная пролиферацией одного только эпителия.

Внутримышечное введение пропеса и церебролизина показало более выраженный эффект, выше, чем при лечении мазью «Метилурациловая», но уступающий паравульнарному введению.

При паравульнарном введении пропеса активация ферментов антиоксидантной системы и высокий АК были отмечены только на 21-е сутки после начала лечения, к 35-м суткам активация ферментов и АК снижались, что свидетельствует о восстановлении окислительно-восстановительного гомеостаза вследствие нормализации микросреды очага. Уровень всех изучаемых цитокинов в очаге и крови также снижался. Учитывая, что в норме провоспалительные цитокины в коже и крови отсутствуют, а повышенный уровень IL-1 β , TNF- α и IL-8 является одним из маркеров хронического раневого процесса [16], можно утверждать, что раневой процесс переходит на траекторию классического течения. Необходимо отметить, что в результате лечения пропесом восстановленная кожа имеет эпидермис и коллаген, аналогичный таковому у интактных животных. Крупные сосуды, экспрессирующие CD34, и низкий уровень IL-8 свидетельствует о

завершающемся ангиогенезе. Таким образом, можно констатировать, что паравульнарное введение пропеса обеспечивает полное заживление раны, качественно превосходящее заживление мазью «Метилурациловая».

Фармакодинамическим эффектом паравульнарного введения церебролизина явилась активация местных проявлений воспаления в виде гиперемии, но запаздывающей и менее выраженной, чем при паравульнарном введении пропеса. Эта особенность подтверждается запаздыванием (по сравнению с препаратом «Пропес») и основных биохимических, морфологических и иммуноморфологических критериев заживления. При этом их качество (конечный результат) остается схожим. Так, уровень продуктов ПОЛ в очаге и крови снижается, и эта тенденция продолжает неуклонно расти до 35-х суток после начала лечения. Активность ферментов АОС и уровень АК также продолжают нарастать в отдаленные сроки, свидетельствуя о продолжении утилизации некротической ткани. Введение церебролизина стимулирует процесс эпителизации раны и васкуляризации дермы, что является обязательным условием успешной утилизации поврежденного, синтеза нового коллагена и жизнеспособности образованного эпителия. Хотя оптическая плотность коллагена ниже, чем при лечении пропесом, очевидна тенденция к ее увеличению – новый коллаген не разрушается, а созревает. Наличие очагов некроза в глубоких слоях дермы совпадает с высоким уровнем цитокинов, которые продолжают оставаться востребованными для завершения очистки очага от некротических масс. Повышенный уровень IL-8 в крови и сильная экспрессия CD34 свидетельствуют об активном ангиогенезе, который обеспечивает необходимое кровоснабжение. Следовательно, можно констатировать переход раневого процесса в русло физиологического, который, в итоге, завершается нормальным заживлением.

Таким образом, церебролизин и пропес оказались эффективнее при лечении хронического раневого процесса (независимо от пути введения), чем мазь «Метилурациловая». Более быстрое действие пропеса по сравнению с церебролизином, видимо, обусловлено дополнительной неспецифической

активацией иммунной системы, которая повлекла за собой более выраженный воспалительный ответ, вследствие которого заживление произошло быстрее. Оба препарата имеют животное происхождение и, кроме всего прочего, содержат комплексы аминокислот и полипептидов, что, по-видимому, и является ключевым моментом в ранозаживляющем действии. Создается микросреда, богатая пластическими и регуляторными веществами, приводящая к изменениям в регуляции внутренней микро- (очаг) и макро- (организм) среды.

Результаты исследований доказывают, что метаболитотропные препараты животного происхождения «Пропес» и «Церебролизин» восстанавливают параметры гомеостаза, а значит, повышают компенсаторно-восстановительные процессы, общую (неспецифическую) резистентность и иммунологическую реактивность, активируют адаптационно-трофические функции органов. Исследуемые препараты создают особую микросреду в ране, которая обеспечивает переход хронического воспаления в физиологическое русло и инициирует пролиферацию с дальнейшей репарацией. Если сопоставить действие исследуемых препаратов на процессы ПОЛ, АО-систему и систему цитокинов, то прослеживается (Рис. 5.46) четкая содружественность изменений показателей. Это подтверждается тесной корреляционной связью между показателями прооксидантно-антиоксидантной системы и количеством цитокинов в очаге. Кроме того, если активность воспалительного процесса в данные сроки сравнить с развитием «нормального» раневого процесса (см. рис. 1.1), то видно, что процессы, в целом, повторяют друг друга. Таким образом, препараты пропес и церебролизин оказывают комплексное действие на хроническое воспаление, разрывают «порочный круг» и перестраивают течение раневого процесса в «нормальное русло», которое, как подтверждают данные морфологии заканчивается успешной регенерацией.

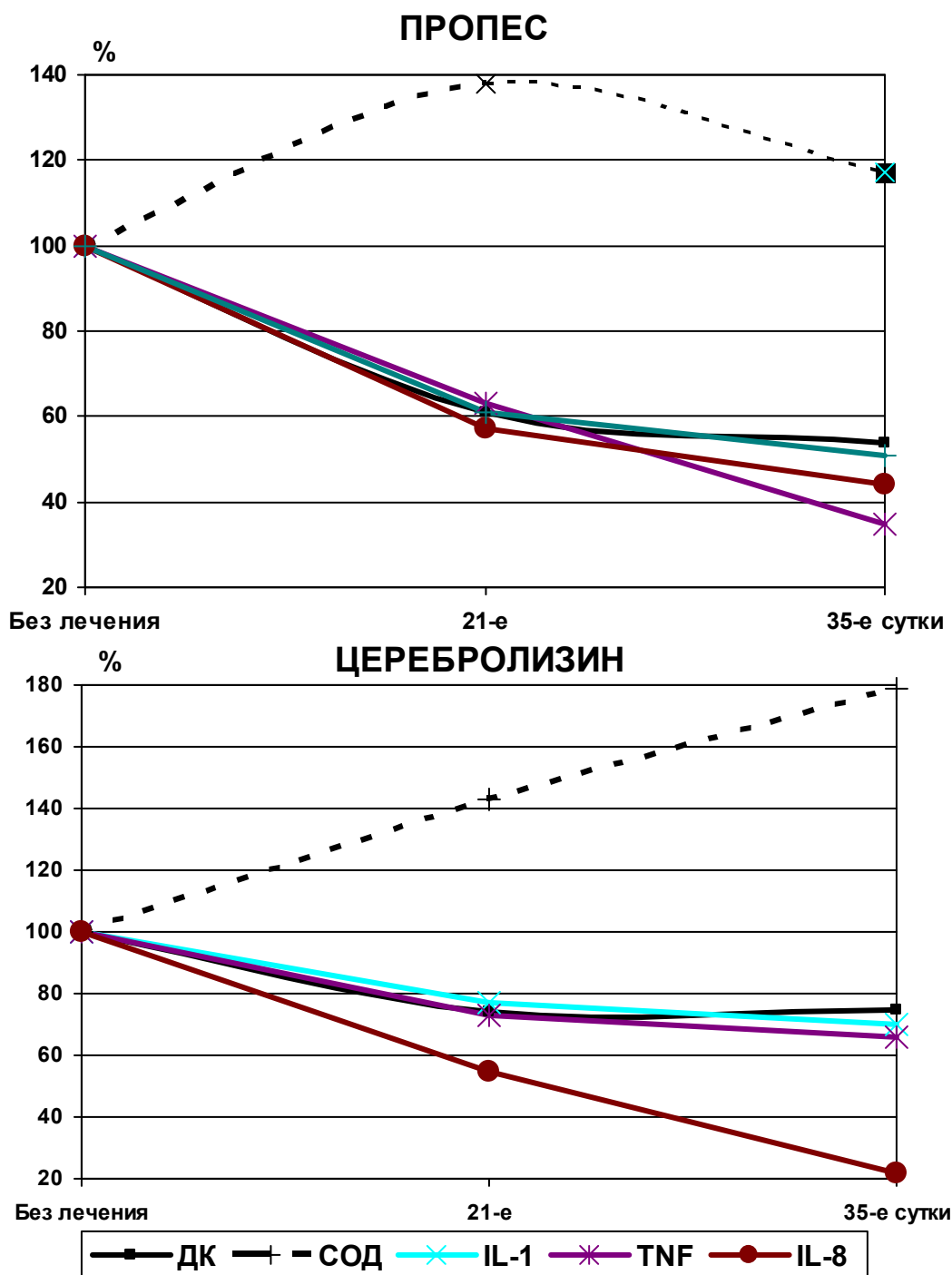


Рис. 5.46. Динамика развития воспалительного процесса в хронической ране при действии пропеса и церебролизина

Глава 6.

Опыт применения метаболитотропных препаратов для лечения местных лучевых повреждений в клинике.

Под наблюдением находилось 148 больных с лучевыми реакциями и повреждениями кожи различной локализации и степени тяжести – пациентов клиники Харьковского научно-исследовательского института медицинской радиологии им. С.П. Григорьева. 45 больных поступили в клинику впервые, 103 повторно. Лучевая терапия проводилась по поводу различных онкологических и неонкологических заболеваний: рак кожи различной локализации, рак молочной железы, рак щитовидной железы, лимфогранулематоз подмышечный, паховых лимфоузлов, тимома, экзема, тератома стопы, ангиома кожи лица.

Лучевые реакции и повреждения кожи развивались вследствие рентгенотерапии, облучения на гамма-терапевтических установках “Луч-1”, “Рокус-М”, некоторые больные получали комбинированное и сочетанное лечение.

При поступлении в клинику больные часто были ослаблены, с явлениями нарушений нервной системы, изменениями со стороны периферической крови (анемия, лейкопения). Как правило пациенты находились в состоянии средней тяжести. Клиническая картина лучевых повреждений была разнообразна: лучевые язвы с плотными коллоидными краями, некротическим дном или вялыми грануляциями на фоне лучевого фиброза. Эти изменения сочетались с плекситами, невритами, нарушениями опорно-двигательного аппарата, слоновостью конечностей. У другой группы больных лучевые повреждения были в виде обширных лучевых фиброзов хрящевой плотности с множественными телеангиоэктазиями, депигментированными и гиперпигментированными участками с бородавчатыми разрастаниями, и плотно спаянными корками в центральной части лучевого фиброза. Лучевые фиброзы подмышечных областей сопровождалась плекситами, слоновостью

верхних конечностей, лучевые фиброзы паховой области – слоновостью нижних конечностей.

Для лечения путем инъекций в область очага лучевого повреждения отбирались только те больные, у которых после тщательного клинического, цитологического и радионуклидного обследования не было выявлено продолжения онкологического заболевания.

Условными критериями местного лечебного эффекта служили: “заживление” (полное рубцевание язвы и размягчение фиброза, исчезновение болей), “значительное улучшение” (уменьшение площади, объема поражения, заполнение язвы грануляциями, рубцевание язвы, размягчение фиброза на значительном участке, уменьшение болей), “улучшение” (заполнение язвы грануляциями, размягчение фиброза по протяженности и в глубину, уменьшение болей, чувства “стягивания” в зоне лучевого повреждения).

Местное лечение всех без исключения пациентов проводилось на фоне традиционной общеукрепляющей, гемостимулирующей, десенсибилизирующей терапии в зависимости от общего состояния больного (гемотрансфузии, витаминотерапия, введение гамма-глобулина, алое, АТФ, кокарбоксылазы, ретаболила и др).

Распределение больных по виду местного лечения представлено в таблице 6.1. При лечении лучевых язв в течение курса, кроме инъекций лекарственных веществ в область очага, накладывались мазевые повязки; лечение начиналось во второй фазе раневого процесса, после отторжения некротических масс.

Андекалин применяли при лечении лучевых повреждений кожи (язв, фиброзов) по разработанной нами схеме, путем ежедневных инъекций препарата по границе очага поражения. Курс продолжался в течение 17-35 дней с ежедневными разовыми инъекциями андекалина в количестве 40 ЕД с последовательным смещением по границе очага на 2-3 см [290]. Эффективность лечебного эффекта андекалина представлена в табл. 8.9 и включала полное рубцевание и размягчение фиброза более чем у 50 % пациентов, значительное

улучшение более чем у 30 % и улучшение у остальных. Данный способ оказался наиболее эффективным при лечении фиброзов, неглубоких язв.

Таблица 6.1

Эффективность лечения больных с местными лучевыми повреждениями

Вид лечения	Кол-во больных	Выздоровление		Значительное улучшение		Улучшение		Без изменений		Ухудшение
		n	%	n	%	n	%	n	%	
Андекалин	45	23	51,1	14	31,1	8	17,7	—	—	—
АТФ +андекалин	30	19	63,3	10	33,3	1	3,3	—	—	—
АТФ +лидаза	20	11	55	8	40	1	5	—	—	—
АТФ +лидаза +румалон +церебролизин	29	14	48	14	48	1	4	—	—	—
Аппликации димексида	14	—	—	—	—	5	36	9	64	—
АТФ +аппликации димексида	10	4	40	2	20	4	40	—	—	—

n - абсолютное количество больных

Более выраженный лечебный эффект достигался при сочетании инъекций андекалина и АТФ по разработанной методике (см. табл. 6.1). По периметру очага лучевого поражения на границе поврежденных и здоровых участков ежедневно вводили по 40 ЕД андекалина и 1 мл АТФ. Курс лечения составил 15-25 дней. Способ оказался эффективным как в отношении лучевых язв, так и фиброзов. В 63,3 % случаев наступало полное рубцевание и рассасывание уплотненных фиброзированных участков, у 33,3 % больных отмечалось значительное улучшение и у 3,3 % - улучшение.

Разработанный способ местного введения лекарственных веществ мы использовали также, применив АТФ в комбинации с лидазой. Лидаза, содержащая гиалуронидазу и увеличивающая проницаемость тканей [291], применяется для лечения лучевых фиброзов электрофоретическим методом

[292, 143]. Препарат вводили ежедневно описанным способом в дозе 64 ЕД в комбинации с АТФ в дозе 1 мл на границе здоровой и поврежденной кожи курсом в 20-25 дней. Эффективность лечения АТФ в комбинации с лидазой представлена в табл. 8.9. У 55 % больных полное размягчение фиброза и рубцевание язвенной поверхности, значительное улучшение – у 40 % и улучшение у остальных. Следует отметить, что в отличие от введения лидазы электрофоретическим способом, аллергических реакций при предлагаемом способе введения препарата отмечено не было.

При особо тяжелых формах лучевых поражений - глубоких, обширных лучевых фиброзах, осложненных плекситами, невритами применяли инъекции по границе очага повреждения растворами АТФ, румалона, церебролизина и лидазы [293]. При этом ежедневно вводили по 1 мл раствора АТФ, румалона, церебролизина и 64 ЕД лидазы. Курс лечения составлял 15-25 дней, (в среднем 18 дней), количество курсов - 2, в отдельных случаях - 3. Полное размягчение участка лучевого фиброза (кожи, подкожной клетчатки, подлежащих тканей), исчезновение болей, восстановление функции конечности или увеличение объема движений в суставе (если в зону облучения попали нервные сплетения, сустав), наблюдалось у 48 % больных, значительное размягчение участка фиброза, кожи и подлежащих тканей по протяженности и в глубину, уменьшение болей отмечалось у 48 % больных; размягчение участка лучевого фиброза (кожи и подлежащих тканей), уменьшение болей – у 4 % больных (см. табл.6.1).

Важно отметить, что все 29 больных многократно были пролечены многочисленными способами, в том числе и широко применяемыми, считающимися наиболее эффективными, - аппликациями димексида 20-25 – 50% раствора с экспозицией от 30 мин до 2 часов [292]. При этом наблюдалось улучшение у 36 % больных и отсутствие положительной динамики - у остальных (см. табл.6.1).

Успешные местные лечебные мероприятия приводили не только к положительным сдвигам в очаге лучевого повреждения, но и способствовали

восстановлению функций нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной системы, устранению различного рода болевых синдромов, не связанных непосредственно с очагом лучевого повреждения.

Исследование метаболитов соединительной ткани, проведенное у больных с лучевыми повреждениями и установленным диагнозом лучевая язва, лучевой фиброз кожи и подлежащих мягких тканей, показало, что у больных с лучевыми язвами суточная экскреция ГУК с мочой была резко увеличена, составляя 252,6 % от контроля (табл.6.2, рис.6.1). В то же время у больных с лучевыми фиброзами выведение ГУК было в пределах физиологических колебаний. Уровень СК в крови пациентов обеих групп был резко повышен (см. табл.6.2, рис 6.1). У больных с лучевыми язвами он оказывался выше, нежели у больных с лучевыми фиброзами, – составив соответственно 387 % и 263 % от контроля. В результате успешно проведенного консервативного лечения у больных с лучевыми язвами экскреция ГУК снижалась до нормальных величин. У больных с лучевыми фиброзами при наличии объективного улучшения отмечалось возрастание экскреции ГУК с мочой до 200 %. Содержание сиаловых кислот снижалось у больных обеих групп, но в разной степени: у больных с фиброзами – до нормальных величин, у больных с язвами оставалось все же на 50 % выше контроля (см. табл. 6.2, рис. 6.1).

Таблица 6.2

Сиаловые, гексуроновые кислоты и оксипролин у больных с местными лучевыми повреждениями до и после лечения ($M \pm m$)

Показатели	Контроль (здоровые)	Лучевые язвы		Лучевые фиброзы	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
СК (мг%)	135,1 ±9,0	523,0 ±79,0**	200,0 ±14,0^	355,0 ±27,0**	139,0 ±23,52^
ГУК (мкмоль/сут)	26,6 ±2,1	67,2 ±6,0**	27,1 ±2,2^^	26,3 ±1,6	51,3 ±3,9*^
Оксипролин (мг/сут)	15,01 ±0,8	23,3 ±1,57*	14,73 ±0,68^	14,03 ±0,73	15,2 ±0,67

Достоверность различий с контролем: * - 95% ($P < 0,05$), ** - 99% ($P < 0,01$)

Достоверность различий до и после лечения: ^ - 95% ($P < 0,05$), ^^ - 99% ($P < 0,01$)

Как видно из данных таблицы 6.2 и рис. 6.1, содержание оксипролина в суточной моче достигло наивысших показателей до лечения у больных с лучевыми язвами, составляя 155 % от контроля. Необходимо отметить, что этот показатель подвержен значительным индивидуальным колебаниям: при среднем значении 23 мг/сут пределы колебаний у различных пациентов составили 11,2-60,7 мг/сут. В результате лечения экскреция оксипролина с мочой снижалась и практически не отличалась от контроля у пациентов с лучевыми язвами (см. табл. 6.2, рис. 6.1). Исходное содержание оксипролина в суточной моче больных с фиброзами было почти на уровне контроля и достоверно ниже, чем у больных с лучевыми язвами до лечения. После проведенного лечения уровень оксипролина достоверно не изменялся.

Индивидуальный анализ каждого случая лучевой язвы показал прямую зависимость исходного уровня оксипролина со степенью распространенности очага, а также связь между сокращением выведения оксипролина с мочой и уменьшением очага в результате лечения. Такой же анализ у больных с

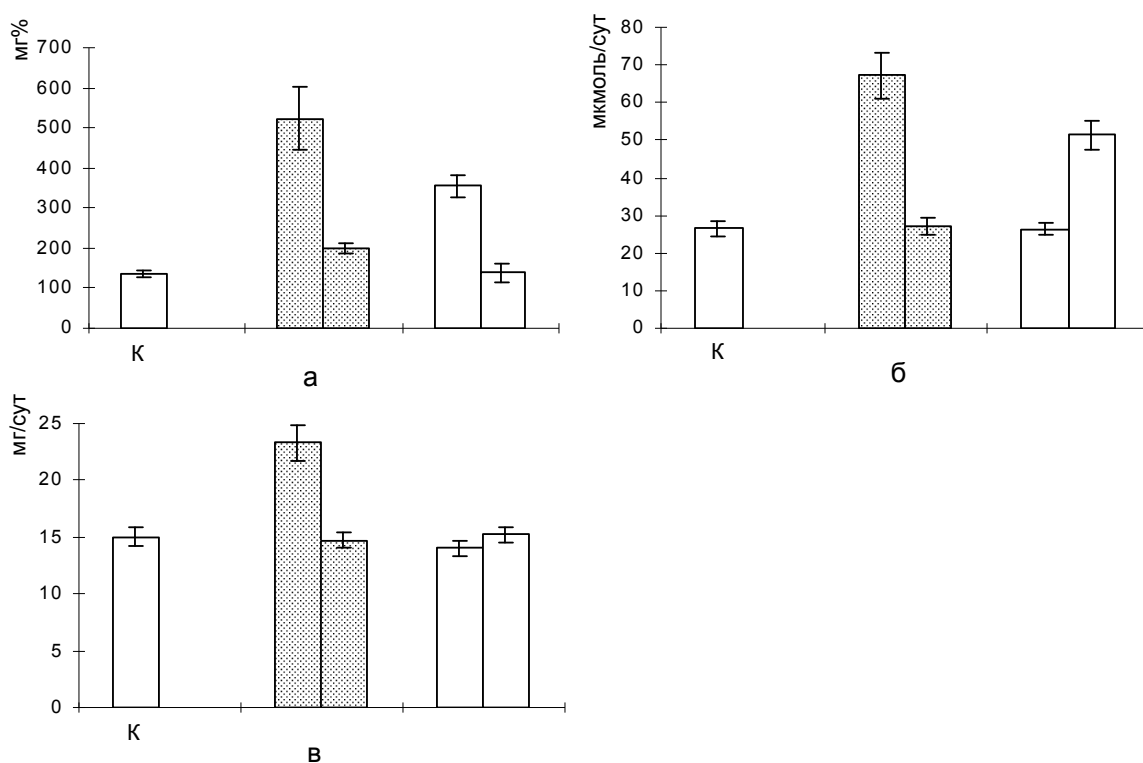


Рис. 6.1 Содержание сиаловых кислот в крови (а), гексуроновых кислот (б) и оксипролина (в) в моче у пациентов с лучевыми язвами (заштрихованные) и лучевыми фиброзами.

лучевыми фиброзами позволил выявить следующие тенденции: у больных с исходно низким уровнем оксипролина в моче в результате лечения отмечалось повышение его экскреции, у больных с изначально высоким уровнем экскреции оксипролина выведение оксипролина с мочой снижалось. В среднем же это дало уровень контроля.

Результаты иммунологических исследований у больных с лучевыми язвами и лучевыми фиброзами представлены в табл.6.3. Отмечалось снижение количества лейкоцитов, лимфоцитов, Е-розеткообразующих лимфоцитов в сравнении с нормой в обеих группах. Бласттрансформационная активность лимфоцитов также была снижена. Значимых различий в показателях клеточного иммунитета у больных с лучевыми язвами и лучевыми фиброзами не обнаружено.

В результате проведенного лечения у больных с лучевыми фиброзами обнаруживалось увеличение количества лейкоцитов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов, образующих общие, активные и гигантские розетки. У больных с лучевыми язвами активации Т-системы иммунитета по средним показателям в результате лечения не отмечалось. Учитывая высокую вариабельность показателей иммунологического статуса у больных, был проанализирован индивидуальный эффект проведенного лечения. Установлено, что у больных лучевыми фиброзами наблюдалась активация всех иммунологических показателей, у больных с лучевыми язвами - увеличение количества Т-активных розеткообразующих клеток и усиление функциональной активности Т-лимфоцитов.

Совершенно очевидно, что разработанные методы и методы традиционной консервативной терапии направлены на достижение одной цели – создание высоких концентраций лекарственных веществ в очаге. Однако достигается эта цель разными способами. На наш взгляд, имеется по крайней мере 2 принципиальных отличия. Первая особенность – путь введения. Ранее подмечено, что способ лечения любых ран и язв с помощью аппликаций

обладает рядом отрицательных свойств [1], среди которых – кратковременность воздействия. В результате эффективность лечения резко снижается. Инъекции лекарственных веществ вокруг очага поражения (на границе со здоровой тканью) позволяют пролонгировать действие лекарственных препаратов. Большое значение имеет введение препаратов на границе с неповрежденными тканями где, согласно нашим гистологическим исследованиям, сохраняются живые клетки в клоногенном неповрежденном эпителии базального слоя и волосяных фолликулов. Подведение к ним субстратсодержащих веществ, дефицит которых наблюдается в очаге, и является, по-видимому, стимулом к восстановлению метаболизма и размножению клеток эпителия.

Вторая особенность разработанных методов – использование определённых лекарственных веществ. Биосинтетические процессы вообще происходят за счет энергии АТФ. Нарушение синтеза АТФ – один из механизмов действия ионизирующей радиации. Расстройства биоэнергетических процессов вследствие поражения дыхательной цепи приводят к острому дефициту АТФ в очаге лучевого поражения. Недостаток энергии для функционирования систем репарации и выполнения функций приводит к гибели клеток. Дезэнергизация мембран относится к пусковым механизмам их деградации и активации ПОЛ в мембранах. АТФ является универсальным стабилизатором митохондриальных мембран [294, 295]. Поэтому функции АТФ – не только обеспечение и регуляция энергетических процессов, столь необходимых для репарации, но и стабилизирующее действие на мембраны клеток, а значит и нормализация ПОЛ в мембранах. Стабилизирующая функция АТФ на мембраны тимоцитов подтверждена *in vitro* [291].

Таблица 6.3

Показатели Т-системы иммунитета у больных с местными лучевыми повреждениями до и после лечения (M±m)

Показатели	Контроль (здоровые)	Лучевые язвы		Лучевые фиброзы	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	6,1±0,40	5,38±0,41	4,22±0,44**	3,86±0,30**	4,68±0,80
Лимфоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	2,10±0,10	1,23±0,15**	1,00±0,29**	1,15±0,22**	1,35±0,32*
Е-РОК общие ($\times 10^9/\text{л}$)	1,20±0,02	0,68±0,08***	0,42±0,12***	0,57±0,09***	0,84±0,05*
Е-РОК активные ($\times 10^9/\text{л}$)	0,30±0,02	0,16±0,04**	0,16±0,03**	0,19±0,05	0,27±0,05
Е-РОК гигантские ($\times 10^9/\text{л}$)	0,40±0,02	0,16±0,03***	0,10±0,04***	0,08±0,02***	0,17±0,04***^
РБТЛ (усл. ед.)	151,8±9,8	79,5±20,5**	85,0±14,8**	96,5±23,9*	73,7±20,1**

Достоверность различий с контролем: * - 95% (P<0,05), ** - 99% (P<0,01), *** - 99% (P<0,001)

Достоверность различий до и после лечения: ^ - 95% (P<0,05)

Показано, что действие высоких доз излучения (10^3 – 10^4 Гр) на мембраны вызывает снижение структурной жесткости белков, вследствие чего мембраны становятся более доступны для АТФ и, видимо, других веществ. Кроме того, в ранних работах, проведенных на кафедре патофизиологии ХНМУ Р.У. Липшиц, показано, что АТФ в качестве медиатора воспаления обладает мощными хемотаксическими свойствами [296, 297], привлекая в очаг лучевого поражения лейкоциты – основные эффекторы воспаления.

Комбинация АТФ с румалоном, церебролизином, андекалином также является патогенетически обоснованной. Румалон и церебролизин относятся к средствам, влияющим на тканевой обмен. Румалон содержит экстракт из костного мозга и хрящей молодых животных.

Андекалин (брадикинин), который относится к сердечно-сосудистым средствам и известен своим влиянием на микроциркуляцию, является ничем иным как очищенным экстрактом поджелудочной железы свиней. Таким образом, эти препараты являются биогенными стимуляторами и субстратсодержащими веществами. Имеются все основания предполагать, что эти препараты в условиях нарушенной проницаемости мембран легко проникают в клетки. Аминокислоты и их дериваты являются физиологическими ингибиторами деградации белка и обладают регуляторными свойствами [298]. *In vitro* показано, что каждая отдельная аминокислота может оказывать тормозящий эффект только в очень высоких (нефизиологических концентрациях). Смесь же аминокислот-регуляторов в значительно более низких дозах подавляет повышенную деградацию белка в лизосомах изолированных гепатоцитов [299, 300]. На перфузируемой печени ингибирующий эффект достигается смесью всех аминокислот в концентрации, в 4 раза превышающей наблюдаемую в плазме. Наоборот, удаление аминокислот из среды инкубации существенно усиливает деградацию белка. Феномен неспецифической регуляции активности ферментов низкомолекулярными веществами и субстратами описан как универсальный механизм вне зависимости от природы повреждающего

агента и доказан при действии ионизирующей радиации в модельных системах [301]. Так же как и АТФ, румалон, андекалин и церебролизин, являясь биологически активными веществами, привлекают в рану фагоциты.

Что касается димексида, то он показал эффективность в отношении фиброзов. Низкий ранозаживляющий эффект димексида в целом объясняется прежде всего, по нашему мнению, его противовоспалительными свойствами. В очаге лучевого повреждения воспалительный компонент которого изначально вялый, применение димексида патогенетически не обосновано. Раздражающий и сенсibiliзирующий побочные эффекты препарата [1] также ограничивают его применение при лучевых поражениях кожи. Довольно быстрое высыхание повязок с димексидом не позволяет осуществить основной принцип лечения лучевых повреждений – создание в очаге высоких концентраций препарата на протяжении длительного времени.

Таким образом, у больных с лучевыми повреждениями отмечается угнетение Т-клеточного иммунитета до начала лечения. Проводимое лечение оказывается более эффективным в группе больных с лучевыми фиброзами. Угнетение Т-клеточного иммунитета, которое не всегда поддается коррекции, может быть связано с основным онкологическим заболеванием в анамнезе, а также с реакцией на комбинированное лечение, включающее лучевую и цитостатическую терапию.

Итак, местная консервативная терапия лучевых повреждений кожи разной локализации и степени тяжести (развившихся вследствие применения различных источников ионизирующего излучения), проводимая путем введения энергетически богатых, субстратсодержащих лекарственных веществ (АТФ, андекалин, румалон, церебролизин, лидаза порознь и в комбинации) непосредственно в очаг лучевого поражения на фоне общеукрепляющей, гемостимулирующей и десенсибилизирующей терапии, является патогенетически обоснованной и достаточно эффективной в сравнении с другими методами консервативного лечения в эксперименте и клинике. Доказательством преимущества этих методов лечения и способов

введения лекарственных веществ является тот факт что большинство больных до начала терапевтических мероприятий неоднократно лечились общепринятыми методами, оказавшимися мало- или неэффективными.

Местный клинический эффект (рубцевание язвы, уменьшение площади раневого дефекта, размягчение фиброза, уменьшение и исчезновение болей) сопровождался улучшением общего состояния больных – восстановлением функций нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной систем и др.

Эффективность предлагаемых способов местного консервативного лечения подтверждается восстановлением активности биохимических индикаторов лучевых поражений – фосфатаз – в очаге повреждения, модулирующим влиянием вводимых в очаг лекарственных веществ на соединительную ткань (что, в свою очередь, доказывается тестами для прогнозирования эффективности лечения местных лучевых повреждений кожи и подлежащих тканей, основанных на определении активности регенерационного процесса по содержанию гексуриновых и сиаловых кислот, экскреции оксипролина) и Т-систему иммунитета.

Проведенные нами исследования раскрывают новые механизмы действия уже известных метаболитотропных препаратов и, следовательно, расширяют показания к их применению, в частности пополняют арсенал лекарственных средств, эффективных при хроническом раневом процессе. Учитывая влияние метаболитотропных препаратов на неспецифические звенья патогенеза раневого процесса, можно предполагать возможность их успешного применения независимо от этиологии, но с обязательным учетом фазы раневого процесса.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Раны и раневая инфекция. Руководство для врачей. / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костючонок. – М.: Медицина, 1990. – 592 с.
2. Szycher M, Lee SJ Modern wound dressings: a systematic approach to wound healing // J Biomater Appl. – 1992. – 7 – p. 142–213.
3. Jeter K.F., Tittle T.E. Wound dressings of the nineties: indications and contraindications // Clin Podiatr Med Surg. – 1991. – 8. – p.799–816.
4. Чаруковский А. Военно-походная медицина. – Спб., 1836. – Ч. 1. – С. 205 – 218.
5. Пирогов Н.И. Начала общей военно-полевой хирургии. – М.: Изд-во АН СССР, 1941-1944. – Т.1-2.
6. George G. Wound management. – Richmond: PJB Publications, 1996.
7. Gamgee J.S. Absorbent and medicated surgical dressings. – Lancet. – 1880. – V.1. – p.127–128.
8. M. Bradley et al. Systematic reviews of wound care management: (2) Dressings and topical agents used in the healing of chronic wounds // Health Technology Assessment. – 1999. – Vol. 3. – No. 17 (Pt 2). – 143 p.
9. Бурденко Н.Н. Обозрение современных способов лечения ран. Собр. соч. – М.: Изд-во АМН СССР, 1952. – Т.2. – С.206-210.
10. Howes E., Sooy J., Harvey S. The healing of wound as determined by their tensile strength // J. M. A. A. – 1929. – Vol.92 – P. 42-45.
11. Фенчин К.М. Заживление ран – К.: Здоров'я, 1979. – 166 с.
12. Общая хирургия: учебник. / Я.В. Волколаков.– 1-е изд. – Рига: Звайгзне, 1989. – 617с.
13. Stadelmann W.K., Digenis A.G. and Tobin G.R. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. The American Journal of Surgery. – 1998. – V.176(2). – P. 26S-38S.

14. Martin P. Wound healing – aiming for perfect skin regeneration // *Science*. – 1997. – V.276. – P.75–81.
15. Garcia Y., Wilkins B., Collighan R.J., Griffin M., Pandit A. Cutaneous Towards development of a dermal rudiment for enhanced wound healing response // *Biomaterials*. – 2008. – V. 29(7). – P. 857–868.
16. Werner S., Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines // *Physiol. Rev.* – 2003. – V.83. – P.835–870.
17. Branski L.K., Gauglitz G.G., Herndon D.N., et al. A review of gene and stem cell therapy in cutaneous wound healing // *Burns*. Jul 4 2008
18. Simpson D.M., Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair. A study with antineutrophil serum // *J. Clin. Invest.* – 1972. – V.51. – P.2009–2023.
19. Leibovich S.J., Ross R. The role of the macrophage in wound repair // *Am. J. Pathol.* – 1975. – V.78. – P.71–100.
20. Theoret C.L. Update on wound repair // *Clinical Techniques in Equine Practice*. – 2004. – V.3(2). – P.110-122.
21. Шехтер А.Б., Серов В.В. Воспаление и регенерация // *Воспаление. Руководство для врачей / Под ред. В.В. Серова, В.С. Паукова*. – М.: Медицина, 1995. – 640 с.
22. Клименко Н.А. О единстве повреждения и защиты в воспалении // *Врач. практика*. – 1998. - №6. – С.4-8.
23. Martin P., Leibovich S.J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly // *Trends in Cell Biology*. – 2005. – V.15(11). – P.599-607.
24. Szpaderska A., Egozi E.I., Gamelli R.L., DiPietro L.A. The effect of thrombocytopenia on dermal wound healing // *J. Invest. Dermatol.* – 2003. – V.120. – P.1130–1137.
25. Kulidjian A.A., Inman R., Issekutz T.B. Rodent models of lymphocyte migration // *Semin. Immunol.* – 1999. – V.11. – P.85–93.
26. Gillitzer R., Goebeler M. Chemokines in cutaneous wound healing // *J. Leukoc. Biol.* – 2001. – V.69. – P.513–521.

27. Esche C., Stellato C., Beck L.A. Chemokines: key players in innate and adaptive immunity // *J. Invest. Dermatol.* – 2005. – V.125. – P.615–628.
28. Engelhardt E., Toksoy A., Goebeler M., Debus S. et al. Chemokines IL-8, GRO α , MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phase-specific infiltration of leukocyte subsets in human wound healing // *Am. J. Pathol.* – 1998. – V.153. – P.1849–1860.
29. Weiss S.J. Tissue destruction by neutrophils // *N. Engl. J. Med.* – 1989. – V.320. – P.365–376.
30. Muller M.J., Hollyoak M.A., Moaveni Z., La T. et al. Retardation of wound healing by silver sulfadiazine is reversed by Aloe vera and nystatin // *Burns.* – 2003. – V.29(8). – P.834-836.
31. Theilgaard-Monch K., Knudsen S., Follin P., Borregaard N. The transcriptional activation of program of human neutrophils in skin lesions supports their important role in wound healing // *J. Immunol.* – 2004. – V.172. – P.7684–7693.
32. Dovi J.V., He K., DiPietro L.A. Accelerated wound closure in neutrophil-depleted mice // *J. Leukoc. Biol.* – 2003. – V.73. – P.448–455.
33. Daley J.M., Reichner J.S., Mahoney E..J, Manfield L. et al. Modulation of macrophage phenotype by soluble products released from neutrophils // *J. Immunol.* – 2005. – V. 174. – P. 2265–2272.
34. Peters T., Sindrilaru A., Hinz B., Hinrichs R. et al. Wound healing defect of CD18 $_{-/-}$ mice due to a decrease in TGF- β 1 and myofibroblast differentiation // *EMBO J.* – 2005. – V.24. – P.3400–3410.
35. Kuijpers T.W., Van Lier R.A., Hamann D., De Boer M. et al. LAD1/variant. A novel immunodeficiency syndrome characterized by dysfunctional beta2 integrins // *J Clin. Invest.* – 1997. – V.100. – P.1725–1733.
36. Greenhalgh D.G. The role of apoptosis in wound healing // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* – 1998. – V.30(9). – P. 1019-1030.

- 37.Santoro M.M. and Gaudino G. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing // *Experimental Cell Research*. – 2005. – V.304(1). – P.274-286.
- 38.Midwood K.S., Williams L.V., and Schwarzbauer J.E. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 2004. – V.36(6). – P.1031-1037.
- 39.Issekutz A.C., Chuluyan H.E., Lopes N. CD11/CD18-independent transendothelial migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes: involvement of distinct and unique mechanisms. *J. Leukoc. Biol.* – 1995. – V.57. – P.553–561.
- 40.Cotran R.S., Mayadas-Norton T. Endothelial adhesion molecules in health and disease // *Pathol. Biol.* – 1998. – V.46. – P.164–170.
- 41.DiPietro L.A., Burdick M., Low Q., Kunkel S.L. et al. MIP-1a as critical macrophage chemoattractant in murine wound repair // *J. Clin. Invest.* – 1998. – V.101. – P.1693–1698.
- 42.Frank S., Kampfer H., Wetzler C., Stallmeyer B., Pfeilschifter J. Large induction of the chemotactic cytokine RANTES during cutaneous wound repair: a regulatory role for nitric oxide in keratinocyte-derived RANTES expression // *Biochem. J.* – 2000. – V.1. – P.265–273.
- 43.Wetzler C., Kampfer H., Stallmeyer B., Pfeilschifter J. et al. Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair // *J. Invest. Dermatol.* – 2000. – V.115. – P.245–253.
- 44.Gordon S. Alternative activation of macrophages // *Nature*. – 2003. – V.3. – P.23–35.
- 45.Pinhal-Enfield G., Ramanathan M., Hasko G., Vogel S. et al. An angiogenic switch in macrophages involving synergy between TLR 2, 4, 7, and 9 and adenosine A2A receptors // *Am. J. Pathol.* – 2003. – V.163. – P.711–721.

- 46.Ramanathan M., Giladi A., Leibovich S.J. Regulation of VEGF gene expression in murine macrophages by nitric oxide and hypoxia // *Exp. Biol. Med.* – 2003. – V.228. – P.697–705.
- 47.Karin M., Lawrence T., Nizet V. Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer // *Cell.* – 2006. – V.124. – P.823–835.
- 48.DiPietro L.A., Polverini P.J. Role of the macrophage in the positive and negative regulation of wound neovascularisation // *Am. J. Pathol.* – 1993. – V.143. – P.678–684.
- 49.Fox A., Smythe J., Fisher N., Tyler M.P. et al. Mobilization of endothelial progenitor cells into the circulation in burned patients // *Br. J. Surg.* – 2008. – V. 95(2). – P. 244–251
- 50.Mori R., Kondo T., Ohshima T., Ishida Y. et al. Accelerated wound healing in TNF receptor p55-deficient mice with reduced leukocyte infiltration // *FASEB J.* – 2002. – V.16. – P.963–974.
- 51.Nagaoka T., Kaburagi Y., Hamaguchi Y., Hasegawa M. et al. Delayed wound healing in the absence of intercellular adhesion molecule-1 or L-selectin expression // *Am. J. Pathol.* – 2000. – V.157. – P.237–247.
- 52.Sandeman S.R., Allen M.C., Liu C., Faragher R.G.A et al. Human keratocyte migration into collagen gels declines with in vitro ageing // *Mechanisms of Ageing and Development* – 2000. – V.119(3). – P.149-157.
- 53.Stashak T.S., Farstvedt E., Othic A. Update on wound dressings: Indications and best use // *Clinical Techniques in Equine Practice.* – 2004. – V.3(2). – P.148-163.
- 54.Bartkova J., Gron B., Dabelsteen E., Bartek J. Cell-cycle regulatory proteins in human wound healing // *Archives of Oral Biology.* – 2003. – V.48(2). – P.125-132.
- 55.Trautmann A., Toksoy A., Engelhardt E., Brocker E.B. et al Mast cell involvement in normal human skin wound healing: expression of MCP-1 is

- correlated with recruitment of mast cells which synthesize IL-4 in vivo // *J. Pathol.* – 2000. – V.190. – P.100–106.
- 56.Звягинцева Т.В. Реакция тучных клеток в воспалительной стадии раневого процесса // *Медицинский реферативный журнал.* – 1984. – №10. – С.53.
- 57.Звягинцева Т.В. Тучные клетки и их роль в формировании радиоиндуцированных повреждений кожи // *Экспериментальная и клиническая медицина.* – 1999. – № 2. – С.173-176.
- 58.Звягинцева Т.В., Липшиц Р.У., Цераидис Г.С. Морфофункциональное состояние тучных клеток кожи вне очага экспериментальной раны // *Вестник дерматологии и венерологии.* – 1986. – №6. – С.25-30.
- 59.Mori R., Shaw T.J., Martin P. et al. Molecular mechanisms linking wound inflammation and fibrosis: knockdown of osteopontin leads to rapid repair and reduced scarring // *J. Exp. Med.*– 2008. – V.205(1). – P. 43-51.
- 60.Sato Y., Ohshima T., Kondo T. Regulatory role of endogenous IL-10 in cutaneous inflammatory response of murine wound healing // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* – 1999. – V.265. – P.194–199.
- 61.Wang Z., Gao Z., Shi Y., Sun Y. et al. Inhibition of Smad3 expression decreases collagen synthesis in keloid disease fibroblasts // *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* – 2007. – V. 60(11). – P. 1193-1199.
- 62.Ashcroft G.S. Bidirectional regulation of macrophage function by TGF- β // *Microbes and Infection.* – 1999. – V.1. – P.1275–1282.
- 63.Teder P., Vandivier R.W., Jiang D., Liang J. et al. Resolution of lung inflammation by CD44 // *Science.* – 2002. – V.296. – P.155–158.
- 64.Jiang D., Liang J., Fan J., Yu S. et al. Regulation of lung injury and repair by Toll-like receptors and hyaluronan // *Nat. Med.* – 2005. – V.11. – P.1173–1179.
- 65.McQuibban G.A., Gong J.H., Tam E.M., McCulloch C.A. Inflammation dampened by gelatinase A cleavage of monocyte chemoattractant protein- 3 // *Science.* – 2000. – V.289. – P.1202–1206.

66. McQuibban G.A., Gong J.H., Wong J.P., Wallace J.L. Matrix metalloproteinase processing of monocyte chemoattractant proteins generates CC chemokine receptor antagonists with anti-inflammatory properties in vivo // *Blood*. – 2002. – V.100. – P.1160–1167.
67. Braun S, Hanselmann C, Gassmann MG, Auf dem Keller U, Born-Berclaz C, Chan K et al. Nrf2 transcription factor, a novel target of keratinocyte growth factor action which regulates gene expression and inflammation in the healing skin wound // *Mol. Cell Biol*. – 2002. – V.22. – P.5492–5505.
68. Ponc M., Haverkort M., Soei Y., Kempenaar J. Use of human keratinocyte and fibroblast cultures for toxicity studies of topically applied compounds // *J. Pharm. Sci*. – 1990. – Vol.79, N4. – P.312-316.
69. Lansdown A.B.G., Sampson B., Rowe A. Experimental observations in the rat on the influence of cadmium on skin wound repair // *International Journal of Experimental Pathology*. – 2001. – V.82, №1. – P.35-41.
70. Ochoa O., Torres F.M., Shireman P.K. Chemokines and diabetic wound healing // *Vascular*. – 2007. – V.15(6). – P.350-355.
71. Амчиславский Е.И., Соколов Д.И., Старикова Э.А., Фрейдлин И.С. Цитокиновый контроль ангиогенеза // *Медицинская иммунология*. – 2003. - №5. – с. 493-506.
72. Ruszczak Z. Effect of collagen matrices on dermal wound healing // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2003. – V.55, №12. – P.1595-1601.
73. Robson M.C., Burns B.F., Phillips L.G. Wound repair: principles and applications / In: Ruberg RL, Smith DJ, eds. *Plastic Surgery: A Core Curriculum*. – St. Louis, Mo. – Mosby-Year Book. – 1994. – P.3-30.
74. Steed D.L. The role of growth factors in wound healing // *Surg Clin North Am*. – 1997. – V.77(3). – P.575-586.
75. Robson M.C., Hill D.P., Woodske M.E. et al. Wound healing trajectories as predictors of effectiveness of therapeutic agents // *Arch Surg*. – 2000. – V.135(7). – P.773-777.

76. Sciavolino P.J., Vilek J. Regular article Regulation of metallothionein gene expression by TNF- α and IFN- γ in human fibroblasts // *Cytokine*. – 1995. – V. 7. – I.3. – P.242-250.
77. Шехтер А.Б. Репаративный рост и инволюция соединительной ткани как ауторегуляторный процесс // *Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология)*. – М.: Медицина, 1981. – С.258-284.
78. Eichler M.J., Carlson M.A.. Modeling dermal granulation tissue with the linear fibroblast-populated collagen matrix: A comparison with the round matrix model // *Journal of Dermatological Science*. – 2005. – V.41(2). – P.97-108.
79. Bayram Y., Deveci M., Imirzalioglu N., Soysal Y. et al.. The cell based dressing with living allogenic keratinocytes in the treatment of foot ulcers: a case study // *British Journal of Plastic Surgery*. – 2005. – V.58(7). – P.988-996.
80. Witte M.B. Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair // *The American Journal of Surgery*. – 2002. – V.183(4). – P.406-412.
81. Deodhar A.K., Rana R.E. Surgical physiology of wound healing: a review // *Journal of Postgraduate Medicine*. – 1997. – V.43. – P.52-56.
82. Fishel R.S., Barbul A., Beschorner W.E., Wasserkrug H.L., Efron G. Lymphocyte participation in wound healing: morphologic assessment using monoclonal antibodies // *Ann Surg*. – 1987. – V.206. – P.25–29.
83. Engelhardt E., Toksoy A., Goebeler M., Debus S., Brocker E., Gillitzer R. Chemokines IL-8, GRO α , MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phase-specific infiltration of leukocyte subsets in human wound healing // *Am J Pathol*. – 1998. – V.153. – P.1849–1860.
84. Baggiolini M. Chemokines and leukocyte traffic // *Nature*. – 1998. – V.392. – P.565–568.

85. Rossi D., Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors // *Annu Rev Immunol.* – 2000. – V.18. – P.217–242.
86. Ishida Y., Kondo T., Takayasu T., Iwakura Y., Mukaida N. The essential involvement of cross-talk between IFN-g and TGF-b in the skin wound healing process // *J Immunol.* – 2004. – V.172. – P.1848–1855.
87. Azouz A., Razzaque M.S., El-Hallak M., Taguchi T. Immunoinflammatory responses and fibrogenesis // *Med Electron Microsc.* – 2004. – V.37. – P.141.
88. Park J.E., Barbul A. Understanding of the role of immune regulation in wound healing // *Am J Surg.* – 2004. – V. 187(Suppl). – P.11S–16S.
89. Yellin M.J., Winikoff S., Fortune S.M., Baum D., Crow M.K., Lederman S. Ligation of CD40 on fibroblasts induces CD54 (ICAM-1) and CD106 (VCAM-1) up-regulation and IL-6 production and proliferation // *J Leukoc Biol.* – 1995. – V.58. – P.209–216.
90. Henn V., Slupsky J.R., Grafe M., Anagnostopoulos I., Forster R., Muller-Berghaus G. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells // *Nature.* – 1998. – V.391. – P.591–594.
91. Kaufman J., Graf B.A., Leung E.C., Pollock S.J. et al. Fibroblasts as sentinel cells: role of the CD40-CD40 ligand system in fibroblast activation and lung inflammation and fibrosis // *Chest.* – 2001. – V.120. – P.S53–S55.
92. Jameson J., Ugarte K., Chen N., Yachi P. et al. A role for skin gdT cells in wound repair // *Science.* – 2002. – V.296. – P. 747–749.
93. Sharp L.L., Jameson J.M., Cauvi G., Havran W.L. Dendritic epidermal T cells regulate skin homeostasis through local production of IGF1 // *Nat Immunol.* – 2005. – V.6. – P.73–79.
94. Jameson J., Cauvi G., Sharp L.L., Witherden D.A., Havran W.L. Gammadelta T cell-induced hyaluronan production by epithelial cells regulates inflammation // *J Exp Med.* – 2005. – V.201. – P.1269–1279.
95. Bayat A., McGrouther D.A., Ferguson M.W.J. Skin scarring // *BMJ.* – 2003. – V.326. – P.88–92.

96. Harty M., Neff A.W., King M.W., Mescher A.L. Regeneration or scarring: an immunologic perspective // *Dev Dyn.* – 2003. – V.226. – P.268–279.
97. Bullard K.M., Longaker M.T., Lorenz H.P. Fetal wound healing // *World. J. Surg.* – 2003. – V.27. – P.54–61.
98. Reed M.J., Cooper L., Wood W., Stramer B. et al. Wound healing and inflammation: embryos reveal the way to perfect repair // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* – 2004. – V.359. – P.777–784.
99. Adolph V.R., DiSanto S.K., Bleacher J.C., Dillon P.W. et al. The potential role of the lymphocyte in fetal wound healing // *J. Pediatr. Surg.* – 1993. – V.28. – P.1316–1320.
100. Dillon P.W., Keefer K., Blackburn J.H., Houghton P.E. The extracellular matrix of the fetal wound: hyaluronic acid controls lymphocyte adhesion // *J. Surg. Res.* – 1994. – V.57. – P.170–173.
101. Whitby D.J., Ferguson M.W. Immunohistochemical localization of growth factors in fetal wound healing // *Dev. Biol.* – 1991. – V.147. – P.207–215.
102. Liechty K.W., Kim H.B., Adzick N.S., Crombleholme T.M. Fetal wound repair results in scar formation in IL-10-deficient mice in a syngeneic murine model of scarless fetal wound repair // *J Pediatric Surg.* – 2000. – V.35. – P.866–873.
103. Ashcroft G.S., Dodsworth J., Boxtel E., Horan M., Ferguson M.W. Estrogen accelerates cutaneous wound healing associated with an increase in TGF- β 1 levels // *Nat Med.* – 1997. – V.3. – P.1209–1215.
104. Ashcroft G.S., Yang X., Glick A.B., Weinstein M., Letterio J.J., Mizel D.E. et al. Mice lacking Smad3 show accelerated wound healing and an impaired local inflammatory response // *Nat Cell Biol.* – 1999a. – V. 1. – P.260–266.
105. Ashcroft G.S. Bidirectional regulation of macrophage function by TGF- β // *Microbes and Infection.* – 1999b. – V.1. – P.1275–1282.
106. Ashcroft G.S., Greenwell-Wild T., Horan M., Wahl S.M., Ferguson M.W. Topical estrogen accelerates cutaneous wound healing in aged humans

- associated with an altered inflammatory response // *Am J Pathol.* – 1999c. – V.155. – P.1137–1146.
107. Ashcroft G.S., Mills S.J., Lei K., Gibbons L. et al. Estrogen modulates cutaneous wound healing by downregulating macrophage migration inhibitory factor // *J Clin Invest.* – 2003. – V. 111. – P.1309–1318.
108. Margolis D.J., Knauss J., Bilker W. Hormone replacement therapy and prevention of pressure ulcers and venous leg ulcers // *Lancet.* – 2002. – V.23. – P.675–677.
109. Ashcroft G.S., Horan M.A., Ferguson M.W. Ageing alters the inflammatory and endothelial adhesion molecule profiles during human cutaneous wound healing // *Lab Invest.* – 1998. – V.78. – P.47–58
110. Ashcroft G.S., Mills S.J., Ashworth J.J. Ageing and wound healing // *Biogerontology.* – 2002. – V.3. – P.337–345.
111. Hubner G., Brauchle M., Smola H. et al. Differential regulation of pro-inflammatory cytokines during wound healing in normal and glucocorticoid-treated mice // *Cytokine.* – 1996. – V.8. – P.548–556.
112. Ishida Y., Kondo T., Kimura A., Matsushima K. et al. Absence of IL-1 receptor antagonist impaired wound healing along with aberrant NF-kappaB activation and a reciprocal suppression of TGF-beta signal pathway // *J. Immunol.* – 2006. – V.176. – P.5598–5606.
113. Gallucci R.M., Someonova P.P., Matheson J.M., Kommineni C., Guriel J.L. et al. Impaired cutaneous wound healing in IL-6-deficient and immunosuppressed mice // *FASEB J.* – 2000. – V.14. – P.2525–2531.
114. Lusier A.D. Chemokines-chemotactic cytokines that mediate inflammation // *N Engl J Med.* – 1998. – V.338. – P.436–445.
115. Low Q.E.H., Drugea I.A., Duffner L.A., Quinn D.G. et al. Wound healing in MIP-1a (–/–) and MCP-1 (–/–) mice // *Am J Pathol.* – 2001. – V. 159. – P.457–463.

116. Devalaraja R.M., Nanney L.B., Qian Q., Du J., Yu Y., Devalaraja M.N. et al. Delayed wound healing in CXCR2 knockout mice // *J Invest Dermatol.* – 2000. – V.115. – P.234–244.
117. Luster A.D., Cardiff R.D., MacLean J.A., Crowe K., Granstein R.D. Delayed wound healing and disorganized neovascularization in transgenic mice expressing the IP-10 chemokine // *Proc Ass Am Phys.* – 1998. – V.110. – P.183–196.
118. Ishida Y., Kondo T., Takayasu T., Iwakura Y., Mukaida N. The essential involvement of cross-talk between IFN-g and TGF-b in the skin wound healing process // *J Immunol.* – 2004. – V. 172. – P.1848–1855.
119. McKercher S.R., Torbett B.E., Anderson K.L., Henkel G.W., et al. Targeted disruption of the PU.1 gene results in multiple hematopoietic abnormalities // *EMBO J.* – 1996. – V.15. – P.5647–5658.
120. Eming S.A. et al. Inflammation in Wound Repair null mouse – tissue repair is not dependent on inflammatory cells // *Curr Biol.* – V.13. – P.1122–1128.
121. Ashcroft G.S, Lei K., Longenecker G., Kulkarni A.B. et al. SLPI mediates non-redundant functions necessary for neonatal wound healing // *Nat Med.* – 2000. – V.6. – P.1147–1153.
122. Iocono J.A., Collieran K.R., Remick D.G., Rillespie B.W. et al. Interleukin-8 levels and activity in delayed-healing human thermal wounds // *Wound Repair Regen.* – 2000. – V.8. – P.216–225.
123. Rennekampff H.O., Hansbrough J.F., Kiessig V., Dore C. et al. Bioactive interleukin-8 is expressed in wounds and enhances wound healing // *J. Surg. Res.* – 2000. – V.93. – P.41–54.
124. Falanga V. The chronic wound: impaired healing and solutions in the context of wound bed preparation // *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* – 2004. – V.32(1). – P.88-94.
125. Lazarus G.S., Cooper D.M., Knighton D.R., et al. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing // *Arch. Dermatol.* – 1994. – V.130. – P.489-493.

126. Augustin M. Maier K. Psychosomatic aspects of chronic wounds. *Dermatology and Psychosomatics*. – 2003. – V.4. – P.5-13.
127. Mustoe T. Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy // *The American Journal of Surgery*. – 2004. – V.187. – I.5, S. 1. – P.S65-S70.
128. Supp D.M., Boyce S.T. Engineered skin substitutes: practices and potentials // *Clinics in Dermatology*. – 2005. – V.23. – I.4. – P.403-412.
129. Nwomeh B.C., Yager D.R., Cohen I.K. Physiology of the chronic wound // *Clin. Plast. Surg.* – 1998. – V.25. – P.341-356.
130. Failla G., Campo S., Ardita G., et al. Proteases and chronic leg ulcers // *Minerva Cardioangiol.* – 2008. – V.56(4). – P.409-415.
131. Богачев В.Ю., Богданец Л.И. Венозные трофические язвы / 50 лекций по хирургии. Под ред. В.С. Савельева. – 2003. – С. 122—130.
132. Moffatt C.J., Franks P.J., Doherty D.C. et al. Lymphoedema: an underestimated health problem // *Q. J. Med.* – 2003. – V.96. –P.731-738.
133. Mortimer P.S., Levick J.R. Chronic peripheral oedema: the critical role of the lymphatic system // *Clin. Med.* – 2004. – V.4(5). – P.448-453.
134. Snyder R.J. Treatment of nonhealing ulcers with allografts // *Clinics in Dermatology*. – 2005. – V.23, I. 4. – P.388-395.
135. McGuckin M., Waterman R., Brooks J., et al. Validation of venous leg ulcer guidelines in the United States and United Kingdom // *Am J Surg.* – 2002. – V.183(2). – P.132-137.
136. Trent J.T., Falabella A., Eaglstein W.H. Venous ulcers: pathophysiology and treatment options // *Ostomy Wound Manage.* – 2005. – V.51(5). – P. 38-54.
137. Alvarez O.M., Fernandez-Obregon A., Rogers R.S., et al. Chemical debridement of pressure ulcers: a prospective, randomized, comparative trial of collagenase and papain/urea formulations // *Wounds*. – 2000. – V.12(2). – P.15-25.

138. Thomas D.R., Diebold M.R., Eggemeyer L.M. A controlled, randomized, comparative study of a radiant heat bandage on the healing of stage 3–4 pressure ulcers: A pilot study // Journal of the American Medical Directors Association. – 2005. – V.6, I. 1. – P. 46-49.
139. Velander P.E., Theopold C., Gheerardyn R., Bleiziffer O. Autologous cultured keratinocytes suspensions accelerate re-epithelialization in the diabetic pig // Journal of the American College of Surgeons. – 2004. – V. 199, I.3, S.1. – P.58.
140. Moreo K. Understanding and overcoming the challenges of effective case management for patients with chronic wounds // The Case Manager. – 2005. – V. 16, I. 2. – P.62-67.
141. Бардычев М.С., Кацалап С.Н. Местные лучевые повреждения: особенности патогенеза, диагностика и лечение // Вопросы онкологии. - 1995. – Т.41, №2. – С.99.
142. Осложнения лучевой терапии у онкологических больных. / Иваницкая И.И., Кисличенко А.А., Геринштейн И.Г. и др. – К.: Здоров'я, 1989. – 180с.
143. Бардычев М.С., Цыб А.Ф. Местные лучевые поражения. – М.: Медицина, 1985. – 240С.
144. Лушников Е.Ф. Излучения // Воспаление. Руководство для врачей / Под ред. В.В. Серова, В.С. Паукова. – М.: Медицина, 1995. – С.445-454.
145. Звягинцева Т.В. Рентгеновское и γ -излучения при взаимо-действии с биологиче-скими объектами. / "Квантово-биологическая теория. Под общ. редакцией Бойко В.В. Красноголовца М.А. - Харьков "Факт". – 2003. – С.408-499
146. Fowler E. Chronic wounds: an overview. Chronic wound care ffidited by D. Krasner. Health Management Publications, Inc. King of Prussia, Pennsylvania 1990; 12—18.
147. Loots M.A., Lamme E.N., Zeegelaar J., Mekkes J.R. Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous

- ulcers versus acute wounds // *J. Invest. Dermatol.* – 1998. – V.111. – P.850–857.
148. Eming S.A., Smola H., Krieg T. The treatment of chronic wounds: current concepts and future aspects // *Cells Tissues Organ.* – 2002. – V.172. – P.105–117.
149. Chavakis T., Hussain M., Kanse S.M., Peters G. et al. Staphylococcus aureus extracellular adherence protein serves as anti-inflammatory factor by inhibiting the recruitment of host leukocytes // *Nat. Med.* – 2002. – V.8. – P.687–693.
150. Athanasopoulos A., Economopoulou M., Orlova V., Song K. et al. The extracellular adherence protein (Eap) of Staphylococcus aureus inhibits wound healing by interfering with host defense and repair mechanisms // *Blood.* – 2006. – V.107. – P.2720–2727.
151. Diegelmann R.F. Excessive neutrophils characterize chronic pressure ulcers // *Wound Repair Regen.* – 2003. – V.11. – P.490-495.
152. Palolahti M., Lauharanta J., Stephens R.W. et al. Proteolytic activity in leg ulcer exudates // *Exp. Dermatol.* – 1993. – V.2. – P.29-37.
153. Piaggese A., Viacava P., Rizzo L., et al. Semiquantitative analysis of the histopathological features of the neuropathic foot ulcer: effects of pressure relief // *Diabetes Care.* – 2003. – V.26. – P.3123-3128.
154. Lobmann R., Schultz G., Lehnert H. Proteases and the diabetic foot syndrome: mechanisms and therapeutic implications // *Diabetes Care.* – 2005. – V.28. – P.461-471.
155. Page-McCaw A., Ewald A.J., Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2007. – V. 8(3). – P. 221-233.
156. Nwomeh B.C., Liang H.X., Diegelmann R.F. et al. Dynamics of the matrix metalloproteinases MMP-1 and MMP-8 in acute open human dermal wounds // *Wound Repair Regen.* – 1998. – V.6. – P.127-134.

157. Wysocki A.B., Staiano-Coico L., Grinnell F. Wound fluid from chronic leg ulcers contains elevated levels of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 // *J. Invest. Dermatol.* – 1993. – V.101. – P.64-68.
158. Yager D.R., Zhang L.Y., Liang H.X. et al. Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids // *J. Invest. Dermatol.* – 1996. – V.107. – P.743-748.
159. Lobmann R., Ambrosch A., Schultz G. et al. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients // *Diabetologia.* – 2002. – V.45. – P.1011-1016.
160. Mast B., Schultz G. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds // *Wound Repair Regen.* – 1996. – V.4. – P.420-441.
161. Cooper D.M., Yu E.Z., Hennessey P. et al. Determination of endogenous cytokines in chronic wounds // *Ann. Surg.* – 1994. – V.219. – P.688-692.
162. Falanga V. Growth factors and chronic wounds: the need to understand the microenvironment // *J. Dermatol.* – 1992. – V.19. – P.667-672.
163. Bennett N.T., Schultz G.S. Growth factors and wound healing: Part II. Role in normal and chronic wound healing // *Am. J. Surg.* – 1993. – V.166. – P.74- 81.
164. Brem H., Stojadinovic O., Diegelmann R. et al. Molecular markers of surgical debridement in patients with chronic wounds identify healing edges // *J. Mol. Med.* – 2007. – V.13(1-2). – P.30-39.
165. Rodemann H.P., Baniberg M. Cellular basis of radiation -induced fibrosis. // *Radiotherapy and Oncol.*- 1995.- V.33 - N2. - P.83-90.
166. Bayreuther K., Francz P.L., Pödeimann H.P. Fibroblasts in normal and pathological terminal differentiation ageing apoptosis and transformation. // *Arch. Gerontol. Geriatr.*-1992.- V.3. - P.47-74.
167. Bayreuther K., Rodemann H.P., Francz P.L. et al. Differentiation of fibroblast stem cells. // *J. Cell Sci* - 1988-- V.10. - P.115-130.

168. Rodemann H.P., Bayreutheze K., Dittmann K., et al. Selective enrichment in biochemical characterization of 7 human skin fibroblast cell types in vitro. // *Exp. Cell. Res.* - 1989.- V.180. - P.84-93.
169. Rodemann H.P. Differential degradation of intracellular proteins in human skin fibroblasts of mitotic and mitomycin C -induced postmitotic differentiation states in vitro // *Differentiation.* - 1989.- V-42.- P. 37-43.
170. Bumann J., Santo-Hoeltje L., Loffler H. et al. Radiation -induced alterations of the proliferation dynamics of human skin fibroblasts after-repeated irradiation in the subtherapeutic dose range // *Strahlenther.Onkol.* - 1995.- V. 1- P. 35-41.
171. Rodemann H.P. Differential gene expression, protein synthesis and degradation in ageing fibroblasts. In: *Cell and Tissue Culture Models for Dermatological Research.* Ed.: A.Bernd, Springer - Verlag- Berlin, Heidelberg, New-York, 1993.- P.272-278.
172. Palolathi M., Lauharanta J., Stephens R.W., Kuusela P. et al. Proteolytic activity in leg ulcer exudates // *Exp. Dermatol.* – 1993. – V.2. – P.29–37.
173. Harris I.R., Yee K.C., Walters C.E., Cunliffe W.J. et al. Cytokine and protease levels in healing and nonhealing chronic venous ulcers // *Exp. Dermatol.* – 1995. – V.4. – P.342–349.
174. Barrick B., Campbell E.J., Owen C.A. Leukocyte proteinases in wound healing: roles in physiologic and pathologic processes // *Wound Rep. Reg.* – 1999. – V.7. – P.410–422.
175. Grinnell F., Ho C., Wysocki A. Degradation of fibronectin and vitronectin in chronic wound fluid: analysis by cell blotting, immunoblotting and, cell adhesion assays // *J. Invest. Dermatol.* – 1992. – V.98. – P.410.
176. Grinnell F., Zhu M. Fibronectin degradation in chronic wounds depends on the relative levels of elastase, $\alpha 1$ —proteinase inhibitor, and $\alpha 2$ -macroglobulin // *J. Invest. Dermatol.* – 1996. – V.106. – P.335–341.
177. Wlaschek M., Scharffetter-Kochanek K. Oxidative stress in chronic venous leg ulcers // *Wound Rep. Reg.* – 2005. – V.13. – P.452–461.

178. Lauer G., Sollberg S., Cole M., Flamme I., Mann K. et al. Expression and proteolysis of VEGF is increased in chronic wounds // *J. Invest. Dermatol.* – 2000. – V.115. – P.12–18.
179. Lauer G., Sollberg S., Cole M., Krieg T., Eming S.A. Generation of a novel proteolytic resistant VEGF165 variant by a site directed mutation at the plasmin sensitive cleavage site // *FEBS Lett.* – 2002. – V.531. – P.309–313.
180. Roth D., Piekarek M., Christ H., Paulsson M., Krieg T. et al. Plasmin modulates VEGF-A mediated angiogenesis during wound repair // *Am. J. Pathol.* – 2006. – V.168. – P.670–684.
181. Бак З.М. Химическая защита от ионизирующей радиации. – М.: Мир, 1968. – 263с.
182. Ван Беккум Д. Окислительное фосфорилирование в некоторых радиочувствительных тканях после облучения // *Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм.* - М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1968. – С.109-112.
183. Структурные изменения митохондрий при облучении // *Проблемы биоэнергетики в облученном организме.* – М.: Атомиздат, 1997. – С.117-127.
184. Манойлов Ю.С. Изменение физических свойств гемопротеидов при действии ионизирующего излучения. – Там же, 1977. – С.10-96.
185. Nagyí A., Chance B., Cadenas E. Reactive oxygen intermediates in biochemistry // *Annu. Rev. Biochem.* – 1986. – V.55. – P.137-166.
186. Манойлов Ю.С. Изменение физических свойств гемопротеидов при действии ионизирующего излучения. – Там же, 1977. – С.10-96.
187. Панских Н.И., Хмиль М.В., Исследование АТФ-азной активности митохондрий печени крыс под действием ионизирующей радиации в условиях гипоксической гипоксии // *Биохимический механизм действия ионизирующей радиации.* – Вест. сер. биол. – 1982. – вып.3. – С.77-81.

188. Кузин М.И., Шимкевич Л.Л. Патогенез раневого процесса // Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костючонок. – М.: Медицина, 1990. – С.90-124.
189. Peacock B., Van Winkle W. Wound Repair. – Philadelphia-London-Toronto: W.B. Saunders, 1976. – 699p.
190. Raekallio J. Enzyme histochemistry of wound healing. – Stuttgart: Fischer, 1970. – 187p.
191. Чомаков М. Гистохимические изменения активности щелочной и кислой фосфатаз при колото-резаных ранах у белых крыс // Folia med. – 1972. – Т.14, №2. – С.137-143.
192. Raekallio J. Enzyme histochemistry in Wound Healing. – Stuttgart Portland: Fischer Verl., 1970. – 151s.
193. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: Руководство / АМН СССР; Л.И. Аруин, А.Г. Бабаева, В.Б. Гельфанд и др. / Под ред. Д.С. Саркисова. – М.: Медицина, 1987. – С.87-89.
194. Агеев А.К. Гистохимия щелочной и кислой фосфатаз человека в норме и патологии. – Л.: Медицина, 1969. – 144с.
195. Задорожный Б.А., Звягинцева М.В. Лучевые повреждения кожи. – К.: Здоров'я, 1966. – С.83.
196. Грабовий О.М. Вплив нейротрансмітерів на іннервацію ран // Метеріали II конгресу патофізіологів України присвяченого 100-річчю від дня народження акад. М.М. Сиротиніна. – Фізіол. журн. – Т.42, №3-4. – 1996. – С.98.
197. Граевский Э.Я. Сульфгидрильные группы и радиочувствительность. – М.: Атомиздат. – 1969. – 145с.
198. Куна П. Химическая радиозащита. – М.: Медицина, 1989. – 192с.
199. Сараева В.В. Окисление органических соединений под действием ионизирующих излучений. – М.: Изд-во Московского университета, 1991. – 264с.

200. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. / Под ред. Ю.А. Зозули. – К.: Чернобыль-интеринформ, 1997. – 420 с.
201. Барабой В.А., Белошицкий П.В., Красюк А.Н., Коркач В.И. Кислородозависимые процессы в облученном организме // Фізіол. журн. – 1994. – Т.40, №3-4. – С.116-128.
202. Зайцева О.В., Жуков В.И., Бондаренко А.А. Использование биохемилюминесценции и фосфорисценции при изучении влияния химических факторов производственной среды на организм // Первая респ. конф. “Новые физические методы в медицине”. – Ворошиловоград. – 1990. – С.20-21.
203. Берзин И.В., Диков М.М., Осипов А.В. и др. Стабилизация лабильной к окислению SH-группы формиатдегидрогеназы поликатионом // Исследования в области ферментативного катализа и инженерной энзимологии. Избранные труды. – М.: Наука, 1990. – С.186-194.
204. Радиобиологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭС / Серкиз Я.И., Пинчук В.Г., Пинчук Л.Б. и др. – К.: Наукова думка, 1992. – 172 с.
205. Влияние низких доз ионизирующей радиации и других факторов окружающей среды на организм / Руднев М.И., Варецкий В.В., Береговская Н.Н. и др. – К.: Наукова думка, 1994. – С.84-110.
206. Steed D.L. Wound-healing trajectories // Surg. Clin. North Am. – 2003. – V.83. – P.547-555.
207. Mendez M.V., Stanley A., Parker H.Y., Shon K. et al. Fibroblasts cultured from venous ulcers display cellular characteristics of senescence // J. Vasc. Surg. – 1998. – V.28. – P.876–883.
208. Wenk J., Foitzik A., Achterberg V., Sabiwalsky A., Dissemond J. et al. Selective pick-up of increased iron by deferoxamine-coupled cellulose abrogates the iron-derived induction of matrix-degrading MMP1 and lipid

- peroxidation in human dermal fibroblasts in vitro: a new dressing concept // *J. Invest. Dermatol.* – 2001. – V.116. – P.833–839.
209. James T.J., Hughes M.A., Cherry G.W., Taylor R.P. Evidence of oxidative stress in chronic venous ulcers // *Wound Rep. Reg.* – 2003. – V.11. – P.172–176.
210. Weiss S.J. Tissue destruction by neutrophils // *N. Engl. J. Med.* – 1989. – V.320. – P.365–376.
211. Lotze M.T., Zeh H.J., Rubartelli A., Sparvero L.J. et al. The grateful dead: damage-associated molecular pattern molecules and reduction/oxidation regulate immunity // *Immunol. Rev.* – 2007. – V. 220. – P. 60-81.
212. Звягинцева Т.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная активность в очаге кожной раны, вызванной радиационным и механическим воздействием // *Експериментальна і клінічна медицина.* – 2000. – №1. – С.44-47.
213. Звягинцева Т.В., Рузин Г.П., Желнин Е.В. Окислительно-антиоксидантные процессы в слизистой оболочке полости рта и периферической крови при общем фракционном облучении. // *Експериментальна і клінічна медицина* – 2003. - №2. – С. 160-163.
214. Parihar A., Parihar M.S., Milner S., Bhat S. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury // *Burns.* – 2008. – V. 34(1). – P. 6-17.
215. Portugal M., Barak V., Ginsburg I., Kohen R. Interplay among oxidants, antioxidants, and cytokines in skin disorders: present status and future considerations // *Biomed. Pharmacother.* – 2007. – V. 61(7). – P. 412-422.
216. Cohen G. Catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and cytochrom P-450 // *Enzymes in the nervous system.* – N.Y.; Oxford: Raven press, 1983. – V.4. – P.315-330.
217. Harlan I.M., Levine L.D., Calahan K.S., Schwartz B.R. Glutathion redux cycle protects cultured endothelial cells against lysis by extracellularly generated hydrogen peroxide // *J. Clin. Invest.* – 1984. – V.73. – P.706-714.

218. Будагов Р.С., Ульянова Л.П. Участие интерлейкина -6 в патогенезе комбинированных радиационно-термических поражений // Медицинская иммунология. – 2002. – Т.4., №2. – С.117.
219. Mimura Y., Ihn H., Jinnin M., Asano Y. et al. Epidermal growth factor induces fibronectin expression in human dermal fibroblasts via protein kinase C delta signaling pathway // J. Invest. Dermatol. – 2004. – V.122(6). – P.1390-1398.
220. Nawshad A., LaGamba D., Hay E.D. Transforming growth factor beta (TGFbeta) signalling in palatal growth, apoptosis and epithelial mesenchymal transformation (EMT) // Arch. Oral. Biol. – 2004. – V.49(9). – P.675-89.
221. Cromack D.T., Porras-Reyes B., Mustoe T.A. Current concepts in wound healing: growth factor and macrophage interaction // J. Trauma. – 1990. – V.30. – P.129-133.
222. Maintzer M. Thinking in complexity: the complex dynamics of matter mind and mankind. – Berlin: Springer-Verlag Berlin, 1996. – 145p.
223. Menke N.B., Ward K.R., Witten T.M., Bonchev D.G. et al. Impaired wound healing // Clinics in Dermatology. – 2007. – V.25. – P.19–25.
224. Сотникова Е.П. Перспективы разработки и применения тканевых препаратов / III Национальный съезд фармакологов Украины „Фармакология 2006 – шаг в будущее”, 17-20 октября. – Тезисы докладов. – Одесса, 2006. – С.93.
225. Jensen H.J. Self-organized criticality: emergent complex behavior in physical and biological systems / Cambridge, England: Cambridge University Press. – 1998. – 547p.
226. Witten T.M. A return to time, cells, systems and aging: III. Critical elements, hierarchies, and Gompertzian dynamics // Mech. Ageing Dev. – 1985. – V.32. – P.141-177.
227. Holzknacht G.. Deutger Röntgenkongress. Bericht über die 33. – 1925. – p.138-150.

228. Freedman G., Cean C., Duron V., Tarnovskaya A. et al. Pathogenesis and treatment of pain in patients with chronic wounds // *Surg. Technol. Int.* – 2003. – V.11. – P.168-179.
229. Lee K.F., Ennis W.J., Dunn G.P. Surgical palliative care of advanced wounds. // *Am. J. Hosp. Palliat. Care.* – 2007. – V.24(2). – P.154-160.
230. Компендиум 2006 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2006. – 1664с.
231. Г.І. Степанюк, О.О. Пентюк, Р.П. Піскун та ін. Вінборон – лікарський засіб з політропними фармакологічними ефектами. – Вінниця: Континент-Прим, 2007. – 248с.
232. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Москва: ООО «Новая Волна», Издание 15-е. – 2008, – 1200 с.
233. И.М.Логай, В.П.Соловьева, Е.П.Сотникова Тканевая терапия по методу академика В.П.Филатова, основные направления и перспективы ее развития// *Офтальмологический журнал.*-1995.-№2.-С.68-72.
234. Лотош Т.Д. Гуммат натрия из торфа как фактор повышения неспецифической резистентности организма: Автореф. дис... канд. биол. наук. – Одесса, 1985. – 29с.
235. Соловьева В.П. Влияние тканевых препаратов по В.П. Филатову на повышение защитных свойств организма: Автореф. дис... д-ра. биол. наук. – Одесса, 1972. – 31с.
236. Мазур И.А., Чекман И.С., Беленичев И.Ф. и др. Метаболитотропные препараты. – Запорожье, 2007. – 309с.
237. Краткая медицинская энциклопедия, т.1. Гл. ред. академик Б.В. Петровский. Изд . второе. М., Изд. «Советская энциклопедия», 1989, 624с.
238. В.М. Ковальов, В.І. Чуешов, О.А. Рубан, В.Д. Рибачук, Г.Ю. Чуешова. Актуальність створення комбінованої мазі з гексаметилентетраміном для лікування інфекційних ускладнень вогнепальних опікових ран // *Вісник фармації.* – 2002. – №2. – С.55-57.

239. В.П. Кривоногов, Г.А. Толстиков, И.Р. Ахунов и др. Кинетические закономерности окисления метилурацила в реакции Эльбса // Хим.-фармац.журн. – 1997. - №12. – С.36-39.
240. О.Г. Черкасова, Ю.Я. Харитонов, В.И. Николаев и др. Физико-химическое исследование магнитного наполнителя мазей на вазелино-ланолиновой основе с метилурацилом и диоксидином // Хим.-фармац. журн. – 1992. - №5. – С.12-15.
241. А.Ф. Исмагилова, А.Е. Белов, Ф.С. Зарудий и др. Влияние некоторых производных пиримидина на репаративную регенерацию кожи лабораторных животных при стрессе // Эксперим. и клин. фармакология. – 2000. - №5. – С.3-7.
242. Исмагилова А.Ф., Зарудий Ф.С., Лазарева Д.Н. Повышение эффективности антибиотикотерапии производными пиримидина при репаративной регенерации кожи у крыс // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – Т.43, №3. – С.24-25.
243. В.В. Зобов, Л.А. Березинский, В.С. Резник, В.Д. Акамсин Биологическая активность фосфорилированных производных 6-метилурацила // Хим.-фарм. журн. – 2002. – Т.36, №22. – С.21-22.
244. Коньков Д.Г., Степанюк Г.І., Балан Т.М. Характеристика репаративного та знеболювального ефектів метилурацилової мазі в експерименті // Клін. та експерим. патологія. – 2003. – Т.ІІ, №1. – С.30-32.
245. Піняжко О.Р. Репаративні та нефропротекторні властивості тіотриазоліну та його нових лікарських форм: Автореф. дис....докт.мед.наук: 14.03.05-фармакологія / Інститут фармакол. і токсікол. К., 2002. – 26с.
246. Звягинцева Т.В, Соколова И.И, Желнин Е.В., Шаповалов О.В. Применение препарата «мазь тиотриазолина 2%» для стимуляции процессов заживления в полости рта у больных, получивших

- облучение низкими дозами радиации // Успехи современного естествознания. – 2008. - №10. – Москва. - С. 106.
247. Миронченко С.И. Протекторный эффект мази тиотриазолина при действии ионизирующего и ультрафиолетового излучения / Збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів „Медицина третього тисячоліття”. Харків, 20-21 січня 2009р. – С.13
248. Раневое покрытие “Хитоскин”. (1998) Свидетельство на полезную модель 8608 РФ, № 98107798, Бюл. № 12.
249. Shi C., Zhu Y., Ran X., Wang M., Su Y., Cheng T. Therapeutic potential of chitosan and its derivatives in regenerative medicine // J Surg Res. – 2006. – V.133(2). – P.185-192.
250. Frechette J.P., Martineau I., Gagnon G. Platelet-rich plasmas: growth factor content and roles in wound healing // J Dent Res. – 2005. – V.84(5). – P.434-439.
251. Falanga V., Sabolinski M. A bilayered living skin construct (APLIGRAF) accelerates complete closure of hard-to-heal venous ulcers // Wound Repair Regen. – 1999. –V.7(4). – P.201-207.
252. Sabolinski M.L., Alvarez O., Auletta M., Mulder G., Parenteau N.L. Cultured skin as a 'smart material' for healing wounds: experience in venous ulcers // Biomaterials. – 1996. – V.17(3). – P.311-320.
253. Yager D.R., Chen S.M., Ward S., Olutoye O.O. et al. The ability of chronic wound fluids to degrade peptide growth factors is associated with increased levels of elastase activity and diminished levels of proteinase inhibitors // Wound Repair Regen. – 1997. – V.5. – P.23-32.
254. Parenteau N. L., Hardin-Young J. The Biological Mechanisms Behind Injury and Inflammation: How They Can Affect Treatment Strategy, Product Performance, and Healing // Wounds. – 2007. – V.19(4). – P.87-96.
255. Rao C.N., Ladin D.A., Liu Y.Y. et al. Alpha 1–antitrypsin is degraded and nonfunctional in chronic wounds but intact and functional in acute wounds:

- the inhibitor protects fibronectin from degradation by chronic wound fluid enzymes // *J. Invest. Dermatol.* – 1995. – V.105. – P.572-578.
256. Suomalainen K., Halinen S., Ingman T. et al. Tetracycline inhibition identifies the cellular sources of collagenase in gingival crevicular fluid in different forms of periodontal diseases // *Drugs Exp. Clin. Res.* – 1992. – V.18. – P.99-104.
257. Thompson R.W., Baxter B.T. MMP inhibition in abdominal aortic aneurysms. Rationale for a prospective randomized clinical trial // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1999. – V.878. – P.159-178.
258. Curci J.A., Petrinc D., Liao S. et al. Pharmacologic suppression of experimental abdominal aortic aneurysms: a comparison of doxycycline and four chemically modified tetracyclines // *J. Vasc. Surg.* – 1998. – V.28. – P.1082-1093.
259. Greenwald R.A., Moak S.A., Ramamurthy N.S. et al. Tetracyclines suppress matrix metalloproteinase activity in adjuvant arthritis and in combination with flurbiprofen, ameliorate bone damage // *J. Rheumatol.* – 1992. – V.19. – P.927-938.
260. Георгієвський В.П., Чайка Л.О., Шеїн А.Т., Лібіна В.В. та ін. Амінокислоти – фармакологічні та біофармацевтичні аспекти застосування // Тези Міжнародного медико-фармацевтичного конгресу „Ліки та життя”, 15-18 лютого. – Київ (Україна). – 2005. – С. 36.
261. Громова О.А., Панасенко О.М., Скальный А.В. Элементный анализ и ферментативная антиокислительная активность нейрометаболических препаратов природного происхождения // *Фармация.* – 2001. – №1, С.21-23.
262. Molloy D.W., Standish T.I. Clinical experience with Cerebrolysin // *J Neural Transm Suppl.* – 2000. – V.59 – P.293-300.
263. Windisch M. Cerebrolysin. / EBEVE Pharmaceuticals. – Austria. – 1994. – P.14-22.
264. Sugra Y. et al. Cerebrolysin // *J Brain and nerve.* – 1993; 45 (4): 325-331.

265. Виндиш М. Церебролизин - последние результаты в оценке мультимодального действия препарата. / В кн.: 3-й Международный симпозиум по церебролизину. - М. - 1991. - С. 81-86.
266. Громова О.А., Авдеенко Т.В., Бурцев Е.М. Структурный анализ ноотропов природного происхождения // Неврология и психиатрия. - 1998. - №1. - С. 36-37.
267. Sommer H., Quandt J. Schweiz Arch // J Neurol Neurochir Psychiatr. - 1973. - V. 112. - P. 373.
268. Karasek F. In: 2nd Sowjet-Osterrich Symp. - 1975. - P.34.
269. Акрас А. Церебролизин: общие сведения. / В кн.: 3-й международный симпозиум по церебролизину. - М. - 1991. - С.5.
270. Windisch M., Piswanger A. // Neuropsychiatry. - 1987. - V.1(2). - P.83-88.
271. Bowes M.P., Zivin J.A., Rothlein R. Monoclonal Antibody to the ICAM-1 Adhesion Site Reduces Neurological Damage in a Rabbit Cerebral Embolism Stroke Model // Exp Neurol. - 1993. - V.119. - P. 215-219.
272. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Myasoedov N.F. et al. Neuroprotective effects of glycine for therapy of acute ischaemic stroke // Cerebrovasc Dis. - 1999. - V. 9. - P.126.
273. Hutter-Paier L., Grygar E. Antiapoptotic effects of the peptidergic drug Cerebrolysin on primary cultures of embryonic chick cortical neurons Journal Of Neural Transmission. - 2001. - V.108. - P.459-474.
274. Harrer G. The biological effects of cerebral hydrolysates; preliminary report // Dtsch Med Wochenschr. - 1954. - V.79. - P. 983.
275. Mahadic S.P., Hawver D.B., Hangung B.K. et al. GM 1 Ganglioside treatment after global ischemia protects changes in membrane // J Neurosci Res. - 1989. - V.24(3). - P.402-412.
276. Звягинцева М.В., Звягинцева Т.В. Способ лечения лучевых повреждений, преимущественно лучевых фиброзов. Бюлл. изобретений. 1992. №4.

277. Бобров О.Е., Найштетик В.Я., Мендель Н.А. Первый опыт применения препарата пропес в хирургии // Науковий вісник ужгородського університету. – 1995. - №3. – С.34-38.
278. Реабилитация больных с лучевыми поражениями кожи и мягких тканей: Информационное письмо: Сост. М.В. Звягинцева, Л.А. Френкель. протокол КНИРОН №2 от 7.02.85. – Киев, 1985. – вып 3. 3с.
279. Методика лечения радиационных поражений мягких тканей: Информационное письмо: Сост. М.В. Звягинцева, Л.А. Френкель, Н.Е. Узленкова. протокол КНИРОН №2 от 20.01.88. – Киев, 1988. – Вып.3 по проблеме “Рентгенология и радиология”. 3с.
280. Львовская Е.И., Волчегорский И.А. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов //Вопр.мед.хим. – 1991. - №2.- С. 37-39.
281. Михайлов С.В. Экспериментально-клиническое обоснование возможности сохранения жизнеспособности ткани при огнестрельных переломах: - Автореф.. дисс. канд. мед. Наук. - С-Пб., 1996, с. 3-18.
282. RU 2053783 C1, 10.02.1996. RU 2185792 C2, 27.07.2002. Клигуненко Е.Н. и др. Местное применение перфторана в комплексном лечении длительно заживающих ран, в кн.: Перфторорганические соединения в биологии и медицине. - Пушино, 1999, с. 146-149.
283. Звягинцева Т.В. Моделювання місцевих променевих пошкоджень шкіри // Фізіологічний журнал. – 1998. – Т.44, №56. – С.106-112.
284. Овсянникова Л.М., Чумак А.А., Носач О.В., Альохіна С.М. та ін. Методи оцінки вільнорадикального окислення та антиоксидантної системи організму у клінічній практиці (Методичні рекомендації). Київ – 2006. – 25С.
285. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и патологии // Иммунология. – 1997. - №6. – с.7-13.
286. Буданцев А.Ю. Основы гистохимии: Учебное пособие (компьютерный вариант). - Пушино: Пушинский гос. ун-т, 2008.

287. Пирс Э. Гистохимия. – М.: Изд-во иностранной литературы, 1962. – 962с
288. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. – Ленинградское отделение: Медицина, 5-е издание. – 1969г. – 422с.
289. Ташке К. Введение в количественную морфологию. – Издательство Академии Социалистической республики Румынии. – 1980г. – 191с.
290. А.с. 1761147 СССР, МКИ А61К35/39. Способ лечения лучевых повреждений, преимущественно лучевых фиброзов / М.В. Звягинцева, Т.В. Звягинцева (СССР). - №4751467/14; Заявл. 23.10.89; Оpubл.15.02.92, Бюл.№ 34 – 2с.
291. Древаль В.И., Влияние АТФ и ионизирующего излучения на структуру плазматических мембран // Биополимеры и клетка. – 1992. – Т8, №1. – С.78-81.
292. Бардычев М.С., Кацалап С.Н., Курпешева А.К., Мухамеджанов И.Х., Пасов В.В., Петрик Б.Д. Диагностика и лечение местных лучевых повреждений // Медицинская радиология. – 1992. –Т.37, №11-12.- С. 22-28.
293. А.с. 1767734 СССР, МКИ А61К35/28, А61К35/36, А61К37/48. Способ лечения тяжелых форм поздних местных лучевых повреждений / М.В. Звягинцева, Т.В. Звягинцева (СССР). - №4849394/14; Заявл. 9.07.90.
294. Береговская Н.Н. Савич А.В., Майборода Р.Е., Чеботарев Е.Е. Биофизические механизмы функционирования и генетический контроль биоэнергетики при действии ионизирующей радиации и химических факторов // Влияние низких доз ионизирующей радиации и других факторов окружающей среды на организм. – К.: Наукова думка, 1994. – С.30-33.
295. Поливода Б.И., Конев В.В., Попов Г.А. Биофизические аспекты радиационного поражения биомембран. – М.: Энергоатомиздат, 1990. – 160с.

296. Альперн Д.Е., Липшиц Р.У. Медиаторы воспаления // Архив патологии. - 1966. - №4. - С.3-13.
297. Альперн Д.Е. Воспаление (вопросы патогенеза). М.: Медгиз, 1959, - 263 с.
298. Короленко Т.А. Катаболизм белка в лизосомах. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1990. – 189с.
299. Seglen P.O., Gordon P.B., Schwaze P.E. Isolation, characterization and use of hepatocytes. – N.Y.: Elsevier Biomedical, 1983. – P.153-163.
300. Seglen P.O. Lysosomes: Their role in protein breakdown. – L. etc.: Acad.Press, 1987. – P.371-414.
301. Эйдус Л.Х. О механизме инициации эффектов малых доз // Мед. радиол. и радиац. безопасность. – 1996. - №1. – С.5-11.