

УДК: 616-001.4+611-018.1

Регенерация глубоких резаных ран кожи при различных вариантах местной терапии

Еськова А.Ю.¹, Большакова О.В.², Голубинская Е.П.²,
Кубышкин А.В.², Бессалова Е.Ю.², Фомочкина И.И.²

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² Медицинская академия имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского». 295000, Симферополь, б-р Ленина, д. 5/7

Актуальность. Глубокие резаные раны являются одной из наиболее распространенных травм при авариях и, по-прежнему, остаются глобальной проблемой общественного здравоохранения. Несмотря на многочисленные успехи в терапии ран, все еще существует необходимость поиска и разработки новых препаратов для их местного лечения. **Цель** — определить возможности применения местной терапии трансглутаминазой микробного происхождения (МТГ) с вспомогательной экспериментальной субстанцией авторской фитوماзи при моделировании полнослойных резаных ран на основании изучения особенностей морфогенеза регенераторных процессов кожи. **Методы.** В эксперименте на 150 белых мышах самцах исследована динамика регенераторных процессов кожи в группах: без лечения; при использовании препарата Солкосерил и авторской фитوماзи; а также ее комбинации с ферментом МТГ в различных концентрациях. Применяли комплекс морфологических методов, направленных на изучение структуры кожи на органном, тканевом, клеточном и субклеточном уровнях организации: макроскопический метод — для описания и измерения размеров повреждений; гистологические методы на светооптическом уровне — для качественной оценки морфологических преобразований кожи; метод трансмиссионной электронной микроскопии — для выявления ультраструктурных преобразований различных клеток эпидермиса и дермы. **Результаты.** Наиболее эффективным препаратом для заживления полнослойных резаных ран по итогам визуальной оценки и гистологического исследования является комбинация фитوماзи с МТГ в концентрации 0,1%, что подтверждается остановкой кровотечения и образованием фибринового сгустка в 3 раза быстрее, чем в других экспериментальных и контрольной группах; ранним началом эпителизации (на 3 сутки эксперимента), окончательным завершением регенераторных процессов к 10 суткам, что свидетельствует о перспективах использования трансглутаминаза в хирургии и эстетической медицине. **Заключение.** Применение инновационной методики местной терапии глубоких резаных ран кожи ферментом микробной трансглутаминазой с вспомогательной экспериментальной субстанцией авторской фитوماзи характеризуется ранним началом эпителизации, что свидетельствует о перспективах использования трансглутаминаза в хирургии и эстетической медицине. В то же время, механизмы репарации должны быть дополнительно исследованы в серии клинических испытаний.

Ключевые слова: кожа, рана, регенерация, клетки соединительной ткани, трансглутаминаза микробного происхождения.

Для цитирования: Еськова А.Ю., Большакова О.В., Голубинская Е.П., Кубышкин А.В., Бессалова Е.Ю., Фомочкина И.И. Регенерация глубоких резаных ран кожи при различных вариантах местной терапии. Патогенез. 2018; 16(1): 34–41

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.01.34-41

Для корреспонденции: Фомочкина Ирина Ивановна, e-mail: fomochkina_i@mail.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: Авторы выражают благодарность за предоставленное оборудование гистологической лаборатории с иммуногистохимией и электронной микроскопией (сканер Aperio CS2) Центра коллективного пользования «Молекулярная биология» Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

Поступила: 12.10.2017

Regeneration of deep cut wounds of the skin with different options of local treatment

Yeskova A.Yu.¹, Bolshakova O.V.², Golubinskaya Ye.P.²,
Kubyshkin A.V.², Bessalova Ye.Yu.², Fomochkina I.I.²

¹ I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya Str. 8, Bldg. 2, Moscow 119991, Russian Federation

² S.I.Georgievsky Medical Academy of the V.I.Vernadsky Crimean Federal University.

Bulvar Lenina 5/7, Simferopol 295000, Russian Federation

Background. Deep cut wounds are one of the most common injuries in accidents and still remain a global public health problem. Despite much success in treatment of wounds searching for and developing new medicines for local treatment are still relevant. The study objective was to test a possibility of local treatment with microbial transglutaminase (MTG) supplemented with an auxiliary experimental substance of the author's herbal ointment by studying morphogenesis of skin regenerative processes on a model of full-thickness cut wounds. **Methods.** We studied the dynamics of skin regenerative processes using the following groups: no treatment; a standard treatment with the medicine Solcoseryl in combination with the author's ointment; the ointment alone; and the ointment in combinations with the enzyme MTG at different concentrations. A set of morphological methods was used for studying the skin structure at organ, tissue, cell, and subcellular levels in experiments on 150 white male mice. The methods included macroscopic description and measurement of skin lesions; histological methods at the light-optical level for qualitative evaluation of skin morphologic changes; and transmission electron microscopy for identifying ultrastructural transformations of different epidermal and dermal cells. **Results.** Visual evaluation and histological study showed that the most effective treatment for healing of full-thickness cut wounds was 0.1% MTG as evidenced by arrest of bleeding and formation of a fibrin clot, which occurred three times faster than in other experimental and control groups; an early onset of epithelialization on day 3 of the experiment; and the completion of regenerative processes by day 10, which suggested prospective benefits of using transglutaminases in surgery and aesthetic medicine. **Conclusions.** The innovative local treatment of deep cut wounds of the skin with microbial transglutaminase supplemented with an auxiliary experimental substance of the author's herbal ointment is characterized by an early onset of epithelialization, which suggested prospective benefits of using transglutaminases in surgery and aesthetic medicine. At the same time, mechanisms of reparation need further investigation in clinical trials.

Key words: skin, wound, regeneration, connective tissue cells, enzyme microbial transglutaminase.

For citation: Yeskova A.Yu., Bolshakova O.V., Golubinskaya Ye.P., Kubyshev A.V., Bessalova Ye.Yu., Fomochkina I.I. [Regeneration of deep cut wounds of the skin with different options of local treatment]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(1): 34–41 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.01.34-41

For correspondence: Fomochkina Iryna Ivanovna, e-mail: fomochkina_i@mail.ru.

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments: The authors are grateful for the provided histological laboratory equipment with immunohistochemistry and electron microscopy (scanner Aperio CS2) of the Center for Collective Use, «Molecular Biology» of S.I. Georgievsky Medical Academy of the V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

Received: 12.10.2017

Введение

Раны являются одним из видов повреждений, чрезвычайно распространённых как в мирное, так и в военное время [1]. В подавляющем большинстве всех раневых повреждений фиксируются резаные раны [2]. Несмотря на достижения молекулярной биологии, возможности лабораторного синтеза факторов роста клеток, современного уровня развития тканевой инженерии, проблема восстановления утраченного кожного покрова при повреждениях различной этиологии до сих пор по-прежнему актуальна. Развитие биофармацевтики и биомедицины — одна из основных тенденций на мировом рынке биотехнологий [3]. Поиск новых недорогих в производстве биотехнологических лекарственных средств, предназначенных для коррекции раневого процесса и лечения ран, представляется актуальным и своевременным [4, 5]. Одним из перспективных направлений является использование трансглутаминазы (ТГ) — ферментов, образующих прочные химические связи, в клетках и межклеточном веществе. ТГ микробного происхождения (МТГ) представляют наибольший практический интерес для расширения возможностей хирургии в области лечения ран. В связи с этим, *цель исследования* — определить возможности применения местной терапии МТГ с вспомогательной экспериментальной субстанцией авторской фитомазы при моделировании полнослойных резаных ран на основании изучения особенностей морфогенеза регенераторных процессов кожи.

Материалы и методы исследования

Эксперимент выполнен на 150 взрослых самцах белых мышей в возрасте 90 суток с массой тела 18–20 г. Содержание животных и эксперимент проводили в соответствии с международными нормами; на проведение работы было получено разрешение комитета по этике ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского» (протокол № 2 от 11 сентября 2015 г.) [6]. Болезненные манипуляции (нанесение раны, выведение животных из эксперимента) проводили под 3–5% ингаляционным наркозом изофлурана. Выбрасывали шерсть в межлопаточной области, по трафарету наносили контуры раны размером 1,0 x 1,0 см и с помощью анатомических ножниц с закруглёнными концами и хирургического пинцета, выделяли полнослойный кожный лоскут до собственной фасции. Операцию проводили в стерильных условиях. Все раны оставались открытыми до окончания опыта. Ранозаживление оценивали на 1, 3, 5, 7, 10 и 21 день. Мышам подопытных групп (n = 120) сразу же после операции и в дальнейшем ежедневно на поверхность раны наносили по 0,2 г мази в зависимости от принадлежности к определённой серии. С целью изучения эффективности заживления полнослойных ран при использовании различных экспериментальных комплексов в качестве препарата сравнения выбрали Солкосерил — стандартизированный депротеинизированный диализат крови телят. Период заживления ран в различных группах мышей вели по-разному: в группах сравнения 1) без лечения (n = 30) или 2) с использованием общепринятого препарата Солкосерил (n = 30); в группах инноваци-

онной терапии мышей лечили местно с использованием 3) авторской фитомазы ($n = 30$) или комбинацией фитомазы с ферментом МТГ в двух различных концентрациях — 4) 0,1% ($n = 30$) и 5) 0,03% ($n = 30$). Контролем для всех экспериментальных серий служили лабораторные животные без лечения на аналогичных этапах исследования (группа 1). На каждом из пяти этапов (3, 5, 7, 10 и 21 день) выводили из эксперимента по 6 особей в каждой из пяти серий для морфологических исследований. Контуры резаной раны 1 раз в два дня зарисовывали на прозрачной плёнке. Плёнку сканировали на приборе UmaxAstra, 4500. Statistica 10 позволила рассчитать площадь в динамике.

Применен комплекс морфологических методов исследования. После декапитации под наркозом, у мышей выделяли кожный лоскут на границе со здоровой тканью. После макроскопического описания, брали фрагмент кожи для гистологического исследования, его фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили через батарею спиртов восходящей концентрации и заключали в парафин, по общепринятым методикам. Срезы 4—5 мкм окрашивали обзорными методами — гематоксилином и эозином и пикрофуксином по Ван Гизону. Для исследования и получения цифровых фотографий микропрепаратов использовали лабораторный микроскоп Leica DM2000 (Германия) с фотокамерой. До того, как поместить кожный лоскут в 10% раствор формалина, из него выделяли кусочки объемом 1 мм³ для электронной микроскопии. Пробоподготовку проводили по стандартной методике: фиксация в 2,5% растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере с pH 7,2—7,4 на протяжении 12 часов при температуре 4°C, промывка в 0,1 М фосфатном буфере 3 раза по 10, 20, 30 минут, дофиксация 1% раствором тетраоксида осмия на 0,1% фосфатном буфере 1,5—2 часа. Обезвоживание материала осуществляли в спиртах возрастающей концентрации, затем заливали в смесь эпоксидных смол с полимеризацией в термостате. Из блоков смол на ультрамикротоме ЛКБ-460 изготавливали полутонкие срезы толщиной 0,5—1,5 мкм, которые окрашивали толудиновым синим по общепринятой методике. Также готовили ультратонкие срезы с окраской уранилацетатом и цитратом свинца. Срезы просматривали и фотографировали на трансмиссионном электронном микроскопе РЕМ-106.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием рекомендуемых статистических методик с помощью пакета прикладной программы Statistica (StatSoft Inc. США, версия 10.0). Для анализа вида распределений применялись критерии Шапиро—Уилка и Лиллиефорса, межгрупповые различия оценивали с помощью F-критерия в процедуре дисперсионного анализа ANOVA.

Проанализировав лечебные свойства различных растений, распространенных на территории Российской Федерации, мы пришли к заключению, что наиболее перспективными для создания фитопрепарата отечественного производства могут быть экстракты трав, обладающих выраженным ранозаживляющим, противовоспалительным и ангиопротекторным действием: зверобоя продырявленного, вероники лекарственной, лопуха, чернокорня лекарственного. Кроме того, яичное масло, масло виноградных косточек и лепестков белой лилии в комбинации с яичным маслом и пчелиным воском. Эти составляющие, помимо репаративного эффекта, могут обеспечить высокую плас-

тичность мази и биодоступность действующих компонентов в кожу и подлежащие ткани. Таким образом, комбинация данных веществ в авторской фитомазе может обеспечить комплексный подход в лечении раневого процесса кожных покровов с учетом фаз его развития и профилактики возможных осложнений. Данная мазь изготовлена авторами и использована как эффективное самостоятельное средство и база для включения фермента трансглутаминазы (использовали порошок «ЭлайТ-актив100») в различных концентрациях как метода инновационной терапии. Введение фермента МТГ делает структуру мази гелеобразной, что удобно для использования уже на первом этапе ранозаживления. МТГ является нетоксичным вспомогательным технологическим веществом. Рекомендуемая дозировка 0,03—0,10% по отношению к общей массе. В соответствии с постановлением (ЕС) № 1272/2008 максимальное содержание трансглутаминазы в конечной смеси, при котором она попадает под определение «опасного вещества», должно превышать 1%. По свидетельству о государственной регистрации RU.77.99.88.009.E.011298.07.12 от 11.07.2012 г., порошок «ЭлайТ-актив 100» произведён в соответствии с документами Российской Федерации ТУ 9199-049-48470548-07 с изменениями №№ 1-4; изготовитель (производитель) — ЗАО «Компания Милорд» (Московская область); соответствует единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору в Российской Федерации — Протоколы исследований экспертного заключения НИИ питания РАМН №72/Э-1086/и-12 от 14.06.2012 г., ТИ.

Результаты и их обсуждение

Морфология раневого процесса показала типичную смену фаз: альтерация, регенерация и реорганизация рубца с эпителизацией. При заживлении ран вторичным натяжением выявлена синхронизация процессов созревания грануляционной ткани и эпителизации, лежащая в основе раневой контракции. Микроскопические изменения носят стереотипный характер, однако имеют различную степень выраженности и динамику смены альтеративных процессов на репаративные. На ранних этапах изменения у всех животных имела место поверхностная зона альтерации с очаговыми отложениями фибрина. В подлежащих и окружающих тканях — зона обширных кровоизлияний, геморрагической инфильтрации и отека, кроме того — полнокровие сохранных сосудов, с наличием периваскулярных лейкоцитарных и круглоклеточных инфильтратов. На поздних этапах развиваются и созревают соединительнотканые элементы, происходит эпителизация.

Морфологические особенности заживления резаных ран у мышей контрольной группы, не получавших местной терапии

Макроскопически у животных контрольной группы на третьи сутки с поверхности раны выделяется серозный или серозно-геморрагический экссудат. Гистологически выражены альтеративные процессы: наличие лейкоцитарно-некротического детрита либо струпа на поверхности раны, обширные поля некроза, диффузная инфильтрация лейкоцитами и нейтрофилами с тенденцией к распространению в глубжележащие ткани. Большинство сосудов гиперемированы либо запустевают, могут быть парализи-

чески расширены. В участках сохранного эпидермиса по периферии от раневого канала определяется акантоз, в сосочковом слое дермы — образование коллагеновых волокон при разрушении эластического каркаса.

На пятые сутки выявлено уменьшение выраженности экссудативных проявлений и преобладание пролифератив-

ных процессов, что выражается очищением поверхности раны, появлением грануляций, образованием молодой соединительной ткани, коллагеновых волокон, появлением булавовидных утолщений нервных волокон. Сохранившиеся воспалительные явления проявляются в виде гиперемии, диффузной лейкоцитарной инфильтрации глубоких

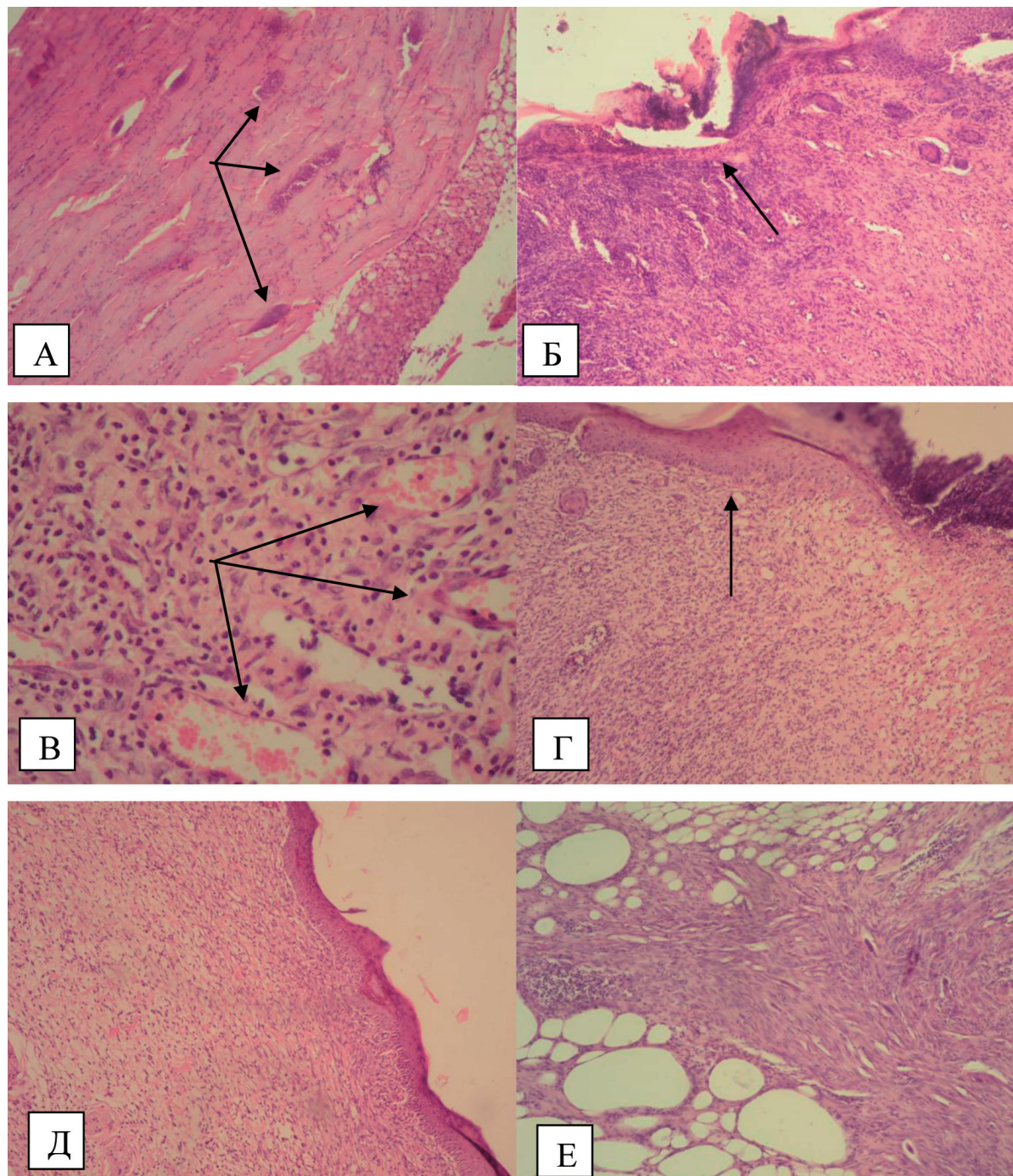


Рис. 1. Морфологическая характеристика ран мышей различных групп при изучении методом световой микроскопии. Окраска гематоксилином и эозином. А, Б, Г, Д — ув. 40, В, Е — ув. 100.

А — 5-е сутки, контроль, микроабсцессы мышечной ткани (стрелки), некроз жировой клетчатки;

Б — 7-е сутки, контроль, частичное отторжение струпа «подрастающим» эпителием (стрелка). Грануляционная ткань с диффузной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией;

В — 3-и сутки, фитомазь, грануляционная ткань с диффузной инфильтрацией лейкоцитами, макрофагами, фибробластами, множество сосудов (стрелки);

Г — 5-е сутки, МТГ 0,03%, краевая эпителизация раневого дефекта (стрелка), разрастание грануляционной ткани;

Д — 10-е сутки, МТГ 0,1%, полная эпителизация рубцовой ткани;

Е — 10-е сутки, Солкосерил, сформированная плотная рубцовая ткань с очаговыми лимфоцитарными инфильтратами.

слоев дермы, иногда с формированием микроабсцессов в мышечной ткани, выраженного отека (рис. 1, А).

На седьмые сутки после ранения прогрессируют репаративные изменения. Гистологическая картина характеризуется процессами разрастания грануляционной ткани с явлениями нарушения кровообращения и диффузной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией, большим количеством макрофагов и фибробластов. Начинается эпителизация: во всех случаях определяется отторжение струпа и пролиферация мальпигиева слоя эпидермиса (рис. 1, Б). Процесс очищения раны и созревания соединительной ткани длится долго: начальные признаки эпителизации в краях раны определяются на 10-е сутки. В поздние сроки, на 21-й день, завершенная эпителизация имеется лишь у 40% животных, дифференцировка эпителиального регенерата неравномерная. Замедленное отторжение струпа сочетается с воспалением и нарушением кровообращения в дне раны.

Морфологические особенности заживления резаных ран у мышей подопытной группы, получавших лечение Солкосерилом

На третьи сутки отделяемого из раны нет. Воспалительный процесс сопровождается начальными явлениями регенерации эпидермиса с сохранением признаков экссудативно-пролиферативных реакций в более глубоких слоях кожи. На пятые сутки наблюдается инверсия воспалительных проявлений в сторону пролиферации. К седьмым суткам у большинства животных отмечается уменьшение гиперемии и отека по периферии раневого канала; рана сухая, без отделяемого, края неправильной формы, стянуты светло-розовой тканью. Микроскопически определяется нарастание количества и плотности хаотично переплетающихся коллагеновых волокон, с большим количеством фибробластов, макрофагов и лимфоцитов между ними. Сосуды паралитически расширены, часть с явлениями периваскулярного очагового отека. Происходит эпителизация ран. У большинства мышей раны заживают первичным натяжением. В 15% наблюдений — через нагноение с образованием рубцов на 10—21-е сутки (рис. 1, Е).

Морфологические особенности заживления резаных ран у мышей подопытной группы, получавших лечение авторской фитомазью

К третьим суткам после проведения эксперимента выявлены альтеративные проявления: наличие обширной зоны отложения фибрина на поверхности с четким демаркационным валом, состоящим из большого количества лейкоцитов и нейтрофилов, а также начальные признаки регенерации мальпигиевого слоя эпидермиса по периферии раневого канала (рис. 1, В). В подлежащих тканях — умеренно выраженный отек, очаговые полиморфно-клеточные инфильтраты дермы. Характерен рост тонкостенных капилляров, окруженных большим количеством лимфоцитов, плазмочитов, макрофагов, а также фибробластов с формированием тонких хаотично направленных коллагеновых волокон.

К пятым суткам у большинства животных отмечается уменьшение гиперемии и отека по периферии раневого канала: рана сухая, без отделяемого, края неправильной звездчатой формы, к седьмым суткам стянуты выступающей светло-розовой рубцовой тканью. На 7-е сутки про-

исходит формирование десмосом и активная эпителизация раны (рис. 2, Б). На 10—21-е сутки репаративные процессы в большинстве случаев совпадают с таковыми в группе с использованием мази Солкосерил и в среднем имеют тенденцию к завершению на 10-е сутки. На ультраструктурном уровне выявлено отсутствие плотных контактов между клетками. Наличие области раны, свободной от эпителиального покрова, стимулирует пролиферацию и миграцию эпидермальных клеток. Кератиноциты, прилегающие к области повреждения, участвуют в процессе раневого заживления. Действуют на пролиферацию и миграцию фибробластов и продукцию компонентов межклеточного матрикса.

Морфологические особенности заживления резаных ран у мышей подопытной группы, получавших лечение авторской фитомазью с МТГ 0,1%

Важной особенностью острого периода у мышей из групп, где применяли МТГ в разных концентрациях, является быстрая остановка кровотечения (не более 1,5—2,5 минут) в сравнении с другими экспериментальными группами (не менее 5 минут). В указанных группах отмечается образование плотных фибриновых масс сразу после нанесения препарата, после визуально отмечается уменьшение отека окружающих тканей с сохранением выраженной гиперемии по периферии раневого канала.

На третьи сутки струп отсутствует, а раневая поверхность выполнена грануляционной тканью розово-красного цвета. Отмечается наличие поверхностной зоны альтеративных изменений с наличием умеренно выраженного отека подлежащей клетчатки, гиперемии сосудов с очаговой паравазальной лейкоцитарной инфильтрацией либо краевым внутрисосудистым «стоянием» лейкоцитов. У всех животных определяется отложение большого количества фибрина, который фактически заполняет раневой дефект.

Основным качественным отличием репаративных процессов на третьи сутки после эксперимента является наличие обширных зон разрастания большого количества тонкостенных сосудов капиллярного типа с наличием активных фибробластов, продуцирующих тонкие хаотично направленные коллагеновые волокна. Следует отметить появление в умеренно выраженном очаговом клеточном инфильтрате большого числа макрофагов и лимфоцитов. Во всех микропрепаратах исследуемой группы в ранние сроки определяется появление начальных признаков эпителизации в виде пролиферации эпидермоцитов базального слоя к центру раневого канала, что выражается в «подрастании» многослойного плоского эпителия под струп с последующим его отделением.

Наиболее значимым показателем эффективности заживления на 5-е сутки является значительное уменьшение площади раны (таблица). На пятые сутки, в отличие от мышей других групп, гистологическая картина характеризуется преобладанием третьей фазы заживления раневого процесса, дифференцировкой сосудов, определяется большое количество все еще разнонаправленных коллагеновых волокон, с незначительным количеством фиброцитов. Характерно синхронное развитие эпителиального и соединительнотканного регенератов с их дифференцировкой.

На седьмые сутки развитие соединительной ткани достигает максимальной скорости по сравнению с другими

группами мышей. На электронограммах выявляются зрелые элементы клеток и межклеточного вещества (рис. 2, А, В). Присутствуют как фибробласты высокой степени дифференцировки, так и малодифференцированные клетки. Дифференцированные фибробласты имеют отростчатую форму. Ядра клеток просветлены, в них преобладает эухроматин, а гетерохроматин располагается небольшими тонкими участками вдоль кариолеммы и в виде мелких кариосом. Ядра фибробластов имеют многочисленные инвагинации. Интенсивно электронноплотные ядрышки прилежат к кариолемме, которая содержит много ядерных пор. Перинуклеарное пространство небольшое, равномерной ширины, а наружная ядерная мембрана густо покрыта рибосомами. Цитоплазма содержит небольшие округлые и овальные митохондрии, имеющие просветленный матрикс и короткие редкие кристы. В цитоплазме обнаруживаются также отдельные мелкие везикулы с электронноплотным содержимым.

Малодифференцированные фибробласты имеют округлую форму без отростков. Ядра клеток овальной

формы, а гетерохроматин занимает большую площадь, чем в дифференцированных фибробластах. В цитоплазме обнаруживается большое количество свободных рибосом. Эндоплазматическая сеть и митохондрии развиты слабо. Клетки сохраняют способность к пролиферации и начинают осуществлять синтез компонентов межклеточного вещества — коллагена и гликозаминогликанов. Способность юных фибробластов к направленной миграции определяет их важную роль в репаративных процессах, в частности, в заживлении ран [7—10]. Отмечаются признаки активации белкового синтеза: инвагинации ядра, преобладание эухроматина, прилегание ядрышек к кариолемме, хорошее развитие гранулярной эндоплазматической сети, большое содержание полисом в гиалоплазме, просветленный матрикс митохондрий. В межклеточном веществе отмечается большое количество коллагеновых волокон и секреторных гранул различной электронной плотности. Среди фибробластов выявлены клетки в стадии митоза, что свидетельствует о высокой пластичности соединительной ткани. Встречаются одиночные молодые

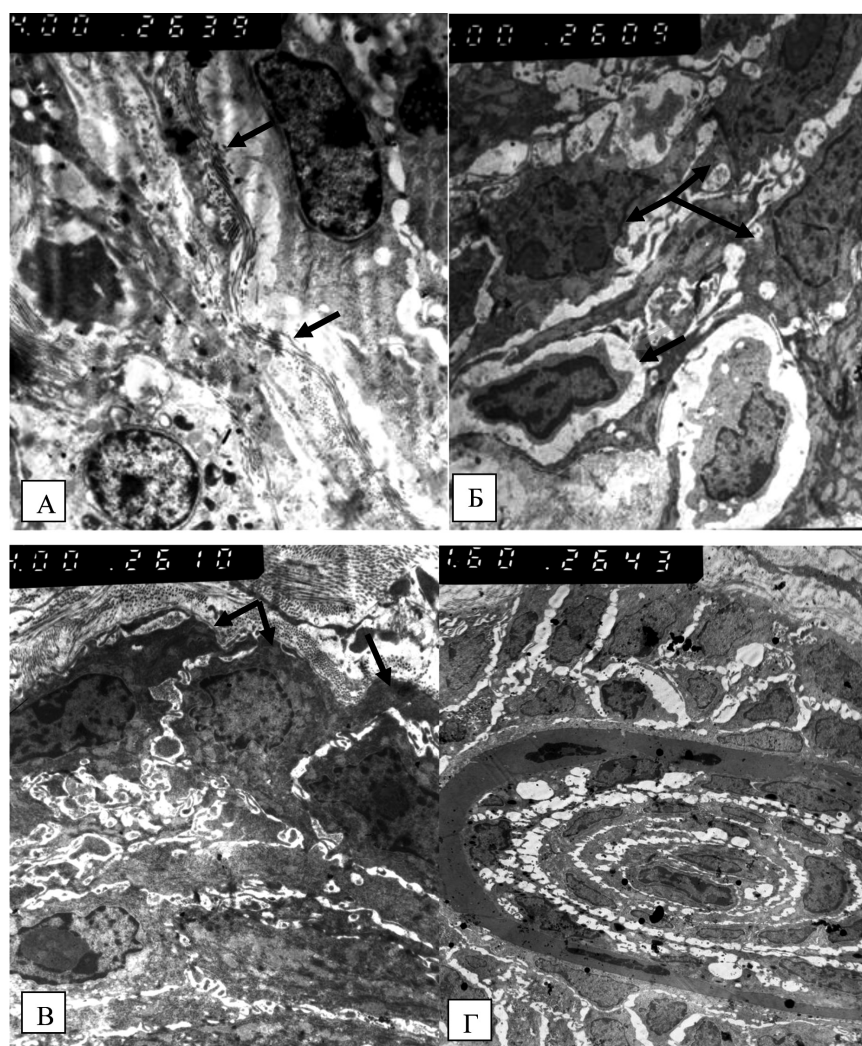


Рис. 2. Морфологическая характеристика кожи мышей различных групп при изучении методом трансмиссионной электронной микроскопии. Ув. 4000: А — 7-е сутки, фитомазь, в фрагменте эпидермиса и дермы происходит формирование десмосом (стрелки)%; Б — 7-е сутки, МТГ 0,1%, группа фибробластов различной степени дифференцировки (стрелки) — сверху дифференцированные, внизу — молодой фибробласт; В — 7-е сутки, МТГ 0,1%, группа дифференцированных фибробластов (стрелки), с признаками функциональной активации синтетических процессов — коллагеновые волокна в верхней части рисунка, над стрелками; Г — 14-е сутки, МТГ 0,1%, Волос типичного строения — полноценная эпителизация с восстановлением волосяного покрова.

Динамика площади раневой поверхности в эксперименте

Группы	День эксперимента (площадь раны, см ²)					
	1 (M ± m)	3 (M ± m)	5 (M ± m)	7 (M ± m)	10 (M ± m)	21 (M ± m)
Контроль (n = 30)	1,00 ± 0,10	1,39 ± 0,10	1,39 ± 0,10	1,19 ± 0,08	0,90 ± 0,07	0,01 ± 0,02
Солкосерил (n = 30)	1,00 ± 0,10	1,29 ± 0,08	1,12 ± 0,09	0,82 ± 0,07	0,31 ± 0,06	0,00 ± 0,02
Фитомазь (n = 30)	1,00 ± 0,06	1,11 ± 0,07*	0,91 ± 0,08*	0,71 ± 0,06*	0,21 ± 0,05*	0,00 ± 0,02
МТГ 0,1% (n = 30)	1,00 ± 0,08	0,82 ± 0,08*	0,50 ± 0,06*	0,20 ± 0,05*	0,01 ± 0,09*	—
МТГ 0,03% (n = 30)	1,00 ± 0,01	0,99 ± 0,01*	0,79 ± 0,07*	0,40 ± 0,06*	0,12 ± 0,07*	0,01 ± 0,03

Примечание. * p<0,05 — достоверность различий по отношению к контролю; n — количество животных; M — среднее значение; m — среднеквадратичное отклонение

клетки с крупным лопастным ядром. Их цитоплазма умеренно просветлена, содержит мелкие митохондрии обычной структуры или с частично разрушенными кристами, отмечена некоторая обедненность органеллами. Появление таких фибробластов можно рассматривать как результат активации клеточной регенерации. Кроме молодых клеток, на электронограмме находятся фибробласты с признаками активного белкового синтеза: крупные ядрышки, инвагинации ядра, преобладание эухроматина, большое количество ядерных пор, хорошее развитие гранулярной эндоплазматической сети.

У большей части животных данной группы тенденция к полному заживлению видна уже к 10-м суткам эксперимента (рис. 1, Д). На 14-е сутки происходит восстановление волосяного покрова (рис. 2, Г).

Морфологические особенности заживления резаных ран у мышей подопытной группы, получавших лечение авторской фитомазью с МТГ 0,03%

В группе с применением средства МТГ-0,03% на третьи сутки определяются участки отслоения плотного струпа, на месте которого визуализируются поля разрастания мелкозернистой грануляционной ткани розового цвета. Отделяемое из раны отсутствует. Сохраняются явления отека и гиперемии окружающих тканей. На пятые сутки (как и в группе с использованием фитомазы) продолжают процессы разрастания грануляционной ткани — активный рост сосудов микроциркуляторного русла, по-прежнему гиперемированных, с выступающими в просвет эндотелиоцитами, обширные зоны разрастания тонких разнонаправленных коллагеновых волокон. Что касается раневой поверхности, то в большинстве препаратов указанных групп определяется процесс пролиферации базального слоя эпидермиса по краям раны, что проявляется в виде «подрастания» эпидермиса под струп с последующим его отделением (рис. 1, Г). На десятые сутки у 100% животных в группах с применением фитомазы и фермента 0,03% достигнуто заживление с образованием хорошо заметного неправильной формы рубца, хотя в гистопрепаратах сохраняются признаки инфилтративно-пролиферативных реакций в глубоких слоях дермы.

Одной из главных характеристик визуальной оценки заживления раневой поверхности является динамическое

изменение линейных размеров раны. Особо важным представляется достоверное, по отношению к контрольной группе, изменение площади раневой поверхности у животных с применением местной терапии, начиная с третьих суток эксперимента, особенно у группы с применением в качестве терапии препарата МТГ 0,1% (таблица). Нами не использованы рамки, подшиваемые к коже для предотвращения контракции, связанной с развитием миофибробластов на 4—5 сутки, особенно при заживлении вторичным натяжением. Это необходимо учитывать при анализе табличных данных: разнородность цифровых показателей, связанная с разными способами заживления ран (первичным и вторичным натяжением) в разных группах.

Заключение

Таким образом, при изучении морфологии кожных ран у животных каждой группы все показатели регенераторного процесса характеризуются межгрупповой вариабельностью изменений и в пределах одной группы и в разные сроки эксперимента. В некоторых случаях имеет место выраженная индивидуальная изменчивость типичного хода процесса ранозаживления. Различия в группах касаются: сроков и характера очищения ран от струпа, сроков и качества развития соединительнотканного и эпителиального регенератов, степени выраженности воспалительного процесса, расстройств кровообращения при текущей регенерации.

Однако полученные результаты позволяют считать, что наиболее эффективным препаратом для заживления полнослойных резаных ран кожи по итогам визуальной оценки и гистологического исследования является МТГ-0,1%, что подтверждено быстрой остановкой кровотечения и образованием фибринового сгустка, ранним началом эпителизации на 3-и сутки эксперимента, окончательным завершением регенераторных процессов к 10-м суткам. Начальная эпителизация в других группах наступает позже: не ранее 5 суток в группе с аппликацией препарата МТГ-0,03% и на 7-е сутки при применении фитомазы и Солкосерила. Репаративные процессы характеризуются синхронным развитием эпителиального и соединительнотканного регенератов с их дифференцировкой.

Список литературы

1. Привольнев В.В., Пасхалова Ю.С., Родин А.В., Мишиш В.А. Местное лечение ран и раневой инфекции по результатам анонимного анкетирования хирургов России. *Раны и раневые инфекции*. 2016; 3(1): 19-24. DOI: 10.17650/2408-9613-2016-3-1-19-24.
2. Блатун Л.А. Местное медикаментозное лечение ран. Проблемы и новые возможности их решения. *Consilium medicum. Хирургия. (Прил.)* 2007; (1): 9-15.
3. Обзор рынка биотехнологий в России и оценка перспектив его развития. Frost and Sullivan; 2014. URL: https://www.rvc.ru/upload/iblock/e21/20141020_Russia_Biotechnology_Market_fin.pdf (дата обращения 12.10.2017).
4. Яремчук, А.А., Хишова О.М., Половко Н.П. Обоснование состава многокомпонентной мази для лечения гнойных ран в первой фазе раневого процесса. *Вестник фармации*. 2012; 6: 39-46.
5. Шаматкова С.В. Оптимизация регенерационных процессов в мягких тканях. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2013; 4 (8): 60-3.
6. Мишалов В.Д., Чайковский Ю.Б., Твердохлеб И.В. О правовых, законодательных, этических нормах и требованиях при выполнении научных морфологически исследований. *Морфология*. 2007; 1(2): 108-15.
7. McCarty S.M., Percival S.L. Proteases and Delayed Wound Healing. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2013; 2(8): 438-47. DOI: 10.1089/wound.2012.0370
8. Алексеева Н.Т. Отдаленные результаты регенераторного процесса в коже при заживлении асептических ран. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2012; (2): 15-7.
9. Мнихович М.В., Еремин Н.В., Фомина Л.В., Мигляс В.Г. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия при заживлении ран (лекция). *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2013; 2(2): 63-72.
10. Алексеева Н.Т., Никитюк Д.Б., Ключкова С.В. Гистохимическая характеристика эпидермиса при заживлении кожных ран под действием различных региональных факторов. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2016; 6(3): 10-4.

Сведения об авторах

Еськова Александрина Юрьевна — клинический ординатор кафедры пластической хирургии, соискатель кафедры общей и клинической патофизиологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Большакова Ольга Владимировна — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры гистологии и эмбриологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Голубинская Елена Петровна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Кубышкин Анатолий Владимирович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Бессалова Евгения Юрьевна — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Фомочкина Ирина Ивановна — доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

References

1. Privol'nev V.V., Paskhalova Y.S., Rodin A.V., Mitish V.A. [Local treatment for wounds and wound infection according to the results of an anonymous survey of surgeons in Russia]. *Rany i ranevye infektsii. Zhurnal imeni prof. B.M. Kostyuchenka [Wounds and wound infections]*. 2016; 3(1): 19-24. DOI: 10.17650/2408-9613-2016-3-1-19-24. (In Russian)
2. Blatun L.A. [Local medication of wounds. Problems and new opportunities of its treatment]. *Consilium Medicum. Khirurgiya [Consilium Medicum. Surgery]*. 2007; (1): 9-15. (In Russian)
3. *The review of the market of biotechnologies in Russia and an assessment of prospects of its development*. Frost, Sullivan; 2014. URL: https://www.rvc.ru/upload/iblock/e21/20141020_Russia_Biotechnology_Market_fin.pdf (Retrieved: 12.10.2017) (In Russian)
4. Yaremchuk, A.A., Khishova O.M., Polovko N.P. [Substantiation of the composition of multicomponent ointment for treatment of purulent wounds in the first phase of the wound process]. *Vestnik farmatsii [Bulletin of Pharmacy]*. 2012; 6: 39-46. (In Russian)
5. Shamatkova S.V. [Optimization of regeneration processes in soft tissues]. *Zhurnal anatomii i gistopatologii [Journal of Anatomy and Histopathology]*. 2013; 4 (8): 60-3. (In Russian)
6. Mishalov V.D., Chaykovsky I.V., Tverдохлеб Yu.B. [On legal, legislative and ethical norms and conditions in the performance of scientific morphological studies]. *Morfologiya [Morphology]*. 2007; 1(2): 108-15. (In Russian)
7. McCarty S.M., Percival S.L. Proteases and Delayed Wound Healing. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2013; 2(8): 438-47. DOI: 10.1089/wound.2012.0370
8. Alexeeva N. T. [Long-term results of skin regeneration process in healing of aseptic wounds]. *Zhurnal anatomii i gistopatologii [Journal of Anatomy and Histopathology]*. 2012; (2): 15-7. (In Russian)
9. Mnihovich M.V., Yeremin N.V., Fomina L.V., Miglyas V.G. [Intercellular and cell-matrix interactions in wound healing (lecture)]. *Zhurnal anatomii i gistopatologii [Journal of Anatomy and Histopathology]*. 2013; 2(2): 63-72. (In Russian)
10. Alexeeva N.T., Nikityuk D.B., Klochkova S.V. [Histochemical characteristics of the epidermis in the healing of cutaneous wounds under the influence of various regional factors]. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny [Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine]*. 2016; 6(3): 10-4. (In Russian)