

УДК 615.21/.26; 615.81

ИЗУЧЕНИЕ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА «ГМДП, ЛИОФИЛИЗАТ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАСТВОРА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ» ПРОИЗВОДСТВА АО «ПЕПТЕК» (РОССИЯ) В СХЕМАХ СОЧЕТАННОЙ АНТИБИОТИКО-ИММУННОЙ ТЕРАПИИ НА МОДЕЛИ ИНФИЦИРОВАННОЙ РАНЫ КОЖИ И МЯГКИХ ТКАНЕЙ У КРЫС

М.С. Журавлева^{1*}, Т.М. Андропова^{2**}, Е.И. Нестерова^{2**}

Резюме. В статье приведены результаты исследования ранозаживляющей активности лекарственного средства «ГМДП, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций» на модели инфицированной раны кожи и мягких тканей у крыс с целью подтверждения преимущества сочетанной терапии инфицированных ран антибиотиком и исследуемым иммунотерапевтическим препаратом по сравнению с монотерапией антибиотиком. В исследовании использованы макроскопический, планиметрический и гистологический методы. Статистически достоверно установлены преимущества предложенной сочетанной терапии по скорости и полноте очищения и закрытия раны, в том числе по интенсивности эпителизации, формирования грануляционной ткани, а также в отношении качества грануляционной ткани, степени редукции воспалительных изменений, лизиса струпа. В контрольной (интактной) группе площадь ран уменьшалась в среднем со скоростью $14,0 \pm 4,1$ мм²/день, в то время как в группе «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон» это значение составило $25,1 \pm 4,7$ мм²/день (достоверное отличие от контроля, $p=0,0096$).

Ключевые слова: ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептид), «Цефтриаксон», специфическая активность, гнойные инфицированные раны, лечение.

STUDY OF WOUND HEALING ACTIVITY OF A MEDICINAL PRODUCT «GMDP LYOPHILIZATE FOR PREPARATION OF SOLUTION FOR INJECTION» PRODUCTION JSC «PEPTEK» (RUSSIA) IN THE SCHEMES OF COMBINED ANTIBIOTIC-IMMUNE THERAPY ON THE MODEL OF INFECTED SKIN WOUNDS AND SOFT TISSUES IN RATS

M.S. Zhuravleva^{1*}, T.M. Andronova^{2**}, E.I. Nesterova^{2**}

Abstract. The results of the study of the wound healing activity of the drug «GMDP lyophilizate for solution for injection» are presented in the model of infected skin and soft tissue wound in rats in order to confirm the benefits of combined therapy of infected wounds with an antibiotic and the immunotherapeutic agent being tested in comparison with monotherapy with an antibiotic. The study used macroscopic, planimetric and histological methods. The advantages of the proposed combined therapy for the speed and completeness of wound cleansing and closure, including the intensity of epithelialization, the formation of granulation tissue, as well as the quality of granulation tissue, the degree of reduction of inflammatory changes, and lysis of the scabies are statistically reliable. In the control (intact) group the area of wounds decreased on average with speed $14,0 \pm 4,1$ mm²/day, while in the «GMDP lyophilizate + Ceftriaxone» group this value was $25,1 \pm 4,7$ mm²/day (significant difference from the control, $p=0,0096$).

Keywords: GMDP (Glucoseaminylmuramildipeptidum), Ceftriaxone, specific activity, purulent infected wounds, therapy.

1 – Независимый испытательный центр ООО «ОЛФАРМ», 117105, Россия, г. Москва, ул. Нагатинская, д. 3А

2 – АО «Пептек», 117997, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.16/10

1 – Independent testing center «OLPHARM», 3A, Nagatinskaya str., Moscow, 117105, Russia

2 – CJSC «Peptek», 16/10, Ostrovityanova str., Moscow, 117997, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: juravleva@olpharm.ru

** адресат для переписки:

E-mail: med_spec@peptek.ru

Тел.: 8 (495) 122 25 03; 8 (495) 122 25 30

ВЕДЕНИЕ

Существуют два основных направления в лечении гнойных ран в первой фазе раневого процесса. Первое направление связано с физическим очищением раны от гнойно-некротических

масс и включает такие методы, как хирургическая обработка раны, осмотерапия, обработка гнойной раны сорбентами, протеолитическими ферментами, пульсирующей струей жидкости, в том числе с антисептиками, вакуумная обработка, обработка лучами лазера, ультразвуком, крио-

воздействие и др. [1]. Часто эти методы комбинируют. Второе направление связано с применением консервативных методов лечения с использованием лечебных препаратов и средств, способных ограничить и ликвидировать раневую инфекцию. Среди них главная роль принадлежит антибиотикам [2]. Однако во многих случаях антибиотики оказываются недейственными в связи с возрастающей устойчивостью к ним микроорганизмов [3, 4]. Кроме того, они токсичны, могут вызывать тяжелые аллергические реакции и подавлять иммунный ответ в организме, увеличивая риск возникновения тяжелых форм сепсиса. Поэтому применять антибиотики следует осторожно и рационально с учетом чувствительности к ним штамма микроорганизма, выделенного от данного больного [5], что малодоступно в реальных условиях для значительной части лечебных учреждений. Кроме того, и методы физического очищения гнойных ран, и дополнительная к ним антибиотикотерапия имеют общий недостаток: они не используют для очищения ран собственные защитные механизмы организма.

В связи с этим в последнее десятилетие в практике лечения гнойных ран на первой ее фазе все чаще базовую терапию гнойно-воспалительных процессов (ГВП) стали дополнять применением лекарственных средств, повышающих собственные защитные механизмы организма, и в частности стимулирующих микро- и макрофагальную реакцию [6–9]. Такой подход к лечению гнойных ран в первой фазе раневого процесса отвечает саногенезу. Предпосылками к применению средств иммунокоррекции является тот факт, что гнойно-воспалительные процессы сопровождаются иммунодефицитным состоянием, которое в подавляющем большинстве случаев усиливается при применении антибиотиков, как правило, оказывающих иммуносупрессивное действие. Снижение иммунного потенциала организма у пациентов способствует вялому течению гнойно-воспалительного процесса, увеличивает риск вторичного инфицирования вплоть до септических состояний. Иммунокоррекция, проводимая параллельно с антибактериальной терапией, позволяет не только предотвратить прогрессирование иммунодефицита, но и активизировать клеточное макрофагальное звено иммунной системы, восстановить бактерицидный потенциал фагоцитирующих клеток [7, 10]. Арсенал современных средств иммунотерапии достаточно большой и характеризуется способностью различных иммуномодуляторов специфически воздействовать на конкретные звенья иммунной системы. Однако даже при включении известных иммунотерапевтических препаратов в схему лечения во многих случаях не удается решить все задачи консервативного лечения раневого ГВП: ускорения ранозаживления, сочетаемого с полным очищением раны, качественным процессом грануляции и восстановлением иммунного гомеостаза у пациента. Таким образом, задача консервативного лечения при раневых ГВП все еще не решена и по-прежнему является актуальной.

Известно, что применение в сочетанной антибиотико-иммунной терапии препаратов ГМДП (класс мурамилдипептидов) у хирургических больных с гнойно-септическими и инфекционными процессами приводило к ускоренному очищению ран от гнойно-некротических масс, уменьшало отечность и болезненность ран, ускоряло репаративные процессы и сопровождалось улучшением иммунологического статуса. У больных, получавших сочетанно с антибиотиками ГМДП (препарат Ликолипид®), отмечали увеличение общего количества Т-лимфоцитов, восстановление иммунорегуляторного индекса за счет увеличения CD8⁺, а также показателей противoinфекционного иммунитета (CD16⁺, CD22⁺) и показателей фагоцитоза [9].

Целью настоящего исследования являлось изучение эффективности применения новой лекарственной формы иммунотерапевтического лекарственного средства (ЛС) «ГМДП, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций» (далее – «ГМДП, лиофилизат») производства АО «Пептек» (Россия) в сочетанной антибиотико-иммунной терапии на модели инфицированной раны кожи и мягких тканей у крыс.

РЕГУЛИРУЮЩИЕ СТАНДАРТЫ

- Федеральный закон Российской Федерации об обращении лекарственных средств (ст. 4, 11) от 12 апреля 2010 года № 61-ФЗ.
- Приказ Минздравсоцразвития РФ от 01 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении правил лабораторной практики».
- Международный стандарт ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
- Эксперименты на животных проводились с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными.

Исследования выполнялись в соответствии с санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) СП 2.2.1.3218-14.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали белых аутбредных крыс-самцов массой 289,3±7,2 г. Общее количество животных составило 50 особей. Производитель животных – Филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская область). Животных по 1 особи содержали индивидуально в полипропиленовых клетках в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха 20–26 °С и относительная влажность 30–70% (СП 2.2.1.3218-14). Освещение в комнатах – естественно-искусственное (12 ч – день, 12 ч – ночь).

Кормление крыс осуществляли стандартным комбикормом гранулированным полнорационным (экструдированным) ПК-120 производства ООО «Лабораторкорм» (Россия). Корм давали в кормовое углубление клетки или в кормушку. Водопроводную воду предоставляли в стандартных поилках.

Оценку ранозаживляющей активности исследуемого ЛС «ГМДП, лиофилизат» изучали на модели экспериментальной гнойной раны кожи и мягких тканей у крыс в сочетанной антибиотико-иммунной терапии с препаратом «Цефтриаксон, порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения, 1 г» (ОАО «Синтез», Россия) [6].

Для введения крыс в наркотический сон использовали смесь двух ветеринарных средств «Золетил 100» (Virbac, Франция) и «Рометар, 20 мг/мл» (Bioveta, Чехия) в соотношении 1:2. На крысу весом 290–300 г вводили внутримышечно 0,15 мл наркотической смеси. Ожидание глубокого наркотического сна составило 5–7 мин.

Заснувшее животное помещали в распластанном положении на поверхность лабораторного стола и машинкой выстригали необходимую площадь тела на спине. При помощи заранее подготовленного трафарета (2x2 см) обводили контур будущей раны маркером в межлопаточной области. Пинцетом с зацепами приподнимали кожу и прямыми ножницами вырезали лоскут кожи с подкожной клетчаткой по внутреннему контуру. После формирования ран зажимом Кохера раздавливали края раны и подлежащие ткани. Инфицирование проводили путем наложения на поверхность раны стерильной салфетки пропитанной суточной бактериальной взвесью, содержащей 0,5 мл *Escherichia coli* в концентрации $9,6 \times 10^9$ КОЕ/мл и 0,5 мл *Staphylococcus aureus* в концентрации $1,2 \times 10^9$ КОЕ/мл [11–13]. Животных рассаживали в клетки по одному. Приблизительно через 2 ч после процедуры животные выходили из состояния наркотического сна. На 48 ч рану закрывали повязкой. На третьи сутки развивалась модель гнойного воспаления кожи и подлежащих тканей.

Дизайн исследования представлен в таблице 1.

Лечение животных начинали через 48 ч после нанесения ран и продолжали в течение 15 дней.

Для анализа ранозаживляющей активности изучаемого образца оценивали общее состояние и поведение животных, массу тела, ректальную температуру, потребление корма и воды, проводили макроскопическое описание ран, планиметрический анализ скорости заживления раневой поверхности и гистологический анализ [14].

При планиметрическом анализе для расчета площади раны фиксировали контур ее поверхности на прозрачной пленке. Пленку вырезали по контуру и взвешивали. Величину площади раны (S) в мм^2 вычисляли по формуле:

$$S = \frac{100 \times M_p}{M_{пл}}$$

где M_p – масса прозрачной пленки [мг], вырезанной по контуру раны, $M_{пл}$ – масса [мг] квадрата прозрачной пленки площадью 100 мм^2 .

Площади ран регистрировали на 3-е, 5-е, 10-е, 15-е, 20-е, 25-е и 30-е сутки после операции.

Ранозаживляющий эффект ЛС оценивали статистически по динамике изменения площади ран [% от исходной] у крыс в опытных группах по отношению к аналогичным показателям в контроле, а также по скорости уменьшения площади ран.

Скорость уменьшения площади ран (V) рассчитывали по формуле:

$$V = \frac{(S - S_t)}{t}$$

где S – площадь раны исходная, S_t – площадь раны через t дней, t – количество дней наблюдения.

Таблица 1.

Характеристика групп в эксперименте по оценке ранозаживляющего действия лекарственного средства «ГМДП, лиофилизат»

№ группы	Животные		Исследуемое ЛС	Дозы ЛС	Режим введения ЛС
	Пол	Кол-во			
1	♂	10	0,9% раствор натрия хлорида	–	Внутримышечно, ежедневно в течение 15 дней
2	♂	10	«ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон»	0,011 мг/кг ГМДП + 0,3 г/кг «Цефтриаксона»	Внутримышечно, ежедневно в течение 15 дней
3	♂	10	«ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон»	0,011 мг/кг ГМДП + 0,21 мг/кг глицина + 0,3 г/кг «Цефтриаксона»	Внутримышечно, ежедневно в течение 15 дней
4	♂	10	«Цефтриаксон»	0,3 г/кг «Цефтриаксона»	Внутримышечно, ежедневно в течение 15 дней

Среднюю скорость уменьшения площади ран (V_{cp}) рассчитывали по формуле:

$$V_{cp} = \frac{V_1 + V_2 + \dots + V_n}{n},$$

где V_1, V_2, V_n – скорость заживления ран отдельных животных в разные периоды регистрации, n – количество периодов регистрации.

Индекс ускорения заживления ран (I_v) по сравнению с контролем составил $I_v = \frac{V_{cp \text{ опыт}} \times 100\%}{V_{cp \text{ контроль}}}$.

Статистический анализ данных был выполнен с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA). Результаты измерения исследованных показателей были усреднены по экспериментальным группам и представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение показателя по группе, m – стандартное отклонение. Достоверность различий между группами определяли с помощью параметрического критерия Стьюдента t при $p \leq 0,05$ при нормальном распределении выборки и непараметрического U -критерия Манна – Уитни при $p \leq 0,05$ при ненормальном распределении.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате эксперимента было установлено, что общее физиологическое состояние опытных животных на протяжении эксперимента было удовлетворительным и не имело значимых отличий от контрольной группы. Животные сохраняли опрятный внешний вид и хороший аппетит. Пищевая активность и водопотребление оставались в норме.

Динамика массы тела экспериментальных животных в период лечения приведена в таблице 2.

Согласно данным таблицы 2 динамика массы тела крыс-самцов всех экспериментальных групп была положительной и не имела статистически значимых отличий как между собой, так и с контрольной группой.

Установлено, что при введении ЛС «ГМДП, лиофилизат» в сочетанной схеме лечения с «Цефтриаксо-

ном» просматривалась тенденция к большему приросту массы тела животных.

За день до формирования патологии и в период лечения у всех экспериментальных животных измеряли ректальную температуру.

Ректальная температура животных всех экспериментальных групп оставалась в пределах видовой нормы и не имела статистически значимых отличий как между собой, так и с контрольной группой [15].

Макроскопическое исследование

Гнойные раны у экспериментальных животных сформировались через 48 часов, имели характерные признаки воспаления. Края раны с участками некроза были гиперемированы и отечны, дно раны влажное с гнойным отделяемым желтого цвета, местами бордово-синюшного оттенка, мутное со зловонным запахом.

На 4–5-е сутки сформированные гнойные раны покрывались тонким, рыхлым струпом, при нарушении целостности которого наблюдали мутное отделяемое с геморрагическим компонентом.

К 10-м суткам исследования струп уплотнялся, раневое отделяемое отсутствовало, края раны были незначительно гиперемированы.

К 15–20-м суткам исследования визуально площадь раны значительно уменьшалась, что было более выражено в группах «ГМДП, лиофилизат» + Цефтриаксон» и «ГМДП, субстанция» + Цефтриаксон».

К 30-м суткам исследования в группах «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон» и «ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон» у отдельных животных отмечали отпадение струпа и полное заживление, что свидетельствует о более ускоренном переходе к эпителизации раны.

Планиметрический анализ

Площади ран регистрировали на 3-е, 5-е, 10-е, 15-е, 20-е, 25-е и 30-е сутки после операции. Ранозаживляющий эффект ЛС «ГМДП, лиофилизат» оценивали статистически по динамике изменения площади ран [% от исходной] у крыс в опытных группах по отношению к аналогичным показателям в контроле, а так-

Таблица 2.

Динамика массы тела животных

Группа, лекарственное средство	Изменение массы (г) тела животных через											
	Исходная (n=10)		2 дня (n=10)		7 дней (n=10)		14 дней (n=7)		21 день (n=4)		28 дней (n=4)	
	M	m	M	m	M	m	M	m	M	m	M	m
Контроль	284,0	4,9	287,1	4,1	314,9	9,5	349,0	16,9	381,8	29,2	400,8	25,0
«ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон»	290,7	6,7	297,9	6,6	320,0	9,7	340,4	6,2	376,3	4,1	402,5	4,8
«ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон»	292,0	5,2	301,7	5,3	316,3	13,6	344,9	26,9	393,0	34,8	415,3	16,5
«Цефтриаксон»	292,2	9,3	299,4	8,6	321,6	11,6	339,9	13,0	373,3	27,6	399,5	30,9

Примечания: статистически значимых отличий не выявлено (расчеты были произведены с помощью критерия Стьюдента t при $p < 0,05$).

же по скорости уменьшения площади ран. Также рассчитывали индекс ускорения заживления ран.

Результаты приведены в таблице 3.

Из данных, приведенных в таблице 3, следует, что в контрольной группе площадь ран уменьшалась в среднем со скоростью $14,0 \pm 4,1$ мм²/день, в то время как в опытных группах эти значения составили:

- группа «ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон» – $20,9 \pm 3,2$ мм²/день (достоверное отличие от контроля, $p=0,04$);
- группа «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон» – $25,1 \pm 4,7$ мм²/день (достоверное отличие от контроля, $p=0,0096$);
- группа «Цефтриаксон» – $18,0 \pm 1,3$ мм²/день (достоверного отличия от контроля нет, но тенденция к увеличению просматривается).

Таким образом, наибольшая скорость заживления ран отмечалась в группе, получившей сочетанную терапию «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон» при внутримышечном введении ЛС ежедневно в течение 15 дней.

На основании данных, приведенных в таблице 3, были рассчитаны индексы скорости заживления ран.

Индекс ускорения заживления ран в группе «Цефтриаксон» по отношению к контрольной группе составил 128,5%, что свидетельствует об ускорении ранозаживляющего эффекта на фоне введения антибиотика. Индекс ускорения заживления ран в группах «ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон» и «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон» составил 149,1% и 179,3%, что свидетельствует о существенной интенсификации процесса ранозаживления при применении сочетанной антибиотико-иммунной терапии, особенно с использованием тестируемой новой лекарственной формы «ГМДП, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций».

Полное закрытие раны достигалось в группе крыс, получавших сочетанную терапию «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон», у 50% животных на 25-й день и у 100% животных на 30-й день наблюдения, тогда как в группе крыс, получавших монотерапию антибиотиком «Цефтриаксон», полное закрытие раны достигалось лишь у 25% животных на 30-й день. В контроле к 30-му дню ни у одного животного не достигалось полного закрытия раны.

Гистологическое исследование

На 7-е и 14-е сутки периода лечения проводили эвтаназию 3 животных из каждой экспериментальной группы с последующим взятием образцов поврежденной кожи для гистологических исследований.

На основании патоморфологического исследования образцов кожи экспериментальных животных, взятых на лечение, было установлено следующее.

На 7-е сутки

Контрольная группа: большая часть раневой поверхности покрыта широким струпом, под которым располагается фибриновый экссудат с большим количеством нейтрофильных лейкоцитов (гнойный экссудат) с распространением в подлежащие ткани. По краям дефекта отмечается регенерация эпителия, под которым можно видеть выраженную воспалительную инфильтрацию с отеком и признаками формирования грануляционной ткани (рисунок 1).

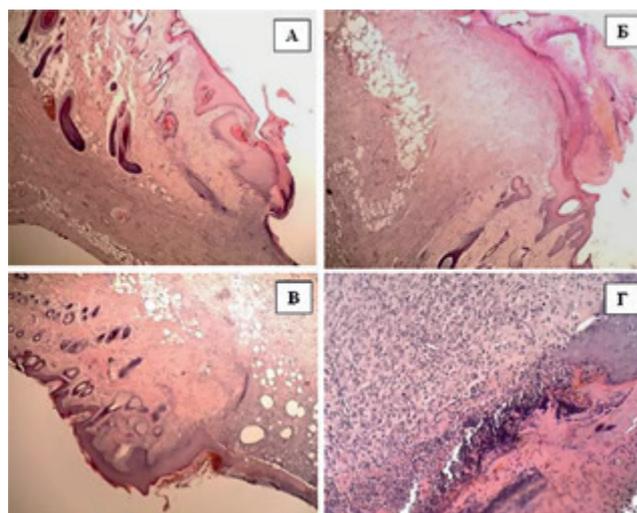


Рисунок 1. Края раны, врастание эпидермиса под струп с очаговой гиперплазией последнего. На краях дефекта идет эпителизация, в том числе и под струпом, эпителий гипертрофирован и наползает на поверхность раны. Под эпителием и струпом выраженная воспалительная инфильтрация и начало развития грануляционной ткани. А, Б, В, – Ув. х40, Г – Ув. х100, Окраска гематоксилин-эозином

Группа «ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон»: площадь и толщина струпа на раневой поверхности меньше, чем в контрольной группе. Воспалительная реакция также была выражена слабее. Отмечается активное образование грануляционной ткани. В то же время у отдельных животных выявлен участок с деструкцией и гнойной инфильтрацией со слабо выраженными пролиферативными процессами в подлежащей ткани (рисунок 2).

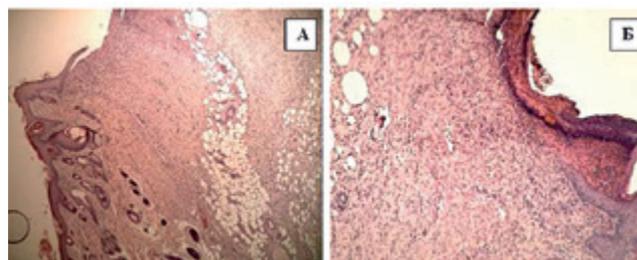


Рисунок 2: Края раны. Нарастание эпителия по краям раны, в том числе под струпом. По сравнению с интактным эпителием отмечается гипертрофия вновь образованного пласта эпителия. Воспалительная инфильтрация умеренная, отмечается активное формирование грануляционной ткани. А, Б – Ув. х40. Окраска гематоксилин-эозином

Таблица 3.

Ранозаживляющий эффект исследуемых лекарственных средств

№	исходная			5-й день (n=10)			10-й день (n=7)			15-й день (n=7)			20-й день (n=4)			25-й день (n=4)			30-й день (n=4)			V _{ср}							
	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr		S, мм ²	% от исходной					
Контрольная группа																													
1	71,6	289,9	44,2	179	61,7	22,2	23,2	93,9	32,4	19,6	9,8	39,7	13,7	16,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
2	80,4	325,5	75,4	305	93,8	4,0	43,9	177,7	54,6	14,8	26,2	106,1	32,6	14,6	13,9	56	17,3	13,5	10,3	42	12,8	11,4	10,2	41	12,7	9,5	11,3		
3	98,4	398,4	62,9	255	63,9	28,7	50	202,4	50,8	19,6	29,4	119,0	29,9	18,6	18	73	18,3	16,3	10,2	41	10,4	14,3	5,9	24	6,0	12,5	18,3		
4	80,8	327,1	45,9	186	56,8	28,3	31,1	125,9	38,5	20,1	22,4	90,7	27,7	15,8	11,2	45	13,9	14,1	9,5	38	11,8	11,5	8	32	9,9	9,8	16,6		
5	82	332,0	42,7	173	52,1	31,8	33,5	135,6	40,9	19,6	20,4	82,6	24,9	16,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	79,6	322,3	43,2	175	54,3	29,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	70,7	286,2	47,3	191	66,9	18,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	82,6	334,4	49,2	199	59,6	27,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	86,9	351,8	54,1	219	62,3	26,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	70,1	283,8	60,9	247	86,9	7,4	41,2	166,8	58,8	11,7	25,4	102,8	36,2	12,1	17,1	69	24,4	10,7	14,2	57	20,3	9,1	9,6	39	13,7	8,2	9,9		
M	80,3	325,1	52,6	212,9	65,8	22,5	37,4	151,2	45,8	17,9	23,1	93,3	28,1	15,8	15,1	60,9	18,5	13,6	11,1	44,7	13,8	11,6	8,4	34,1	10,6	10,0	14,0		
m	8,5	34,5	10,7	43,5	13,8	9,6	8,9	36,0	9,4	3,3	6,6	26,7	7,3	2,0	3,1	12,6	4,4	2,3	2,1	8,6	4,4	2,1	1,9	7,8	3,4	1,8	4,1		
«ГМДП, субстанция» + «Цетриаксон»																													
1	78,3	317,0	32,4	131	41,4	37,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	73,5	297,6	41,5	168	56,5	25,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	83,2	336,8	33,7	136	40,5	40,1	27,1	109,7	32,6	22,7	18,8	76,1	22,6	17,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	91,4	370,0	33,8	137	37,0	46,6	22,8	92,3	24,9	27,8	13,7	55,5	15,0	21,0	5,5	22	6,0	17,4	4	16	4,3	14,2	2,2	9	2,4	12,0	23,2		
5	86,4	349,8	33,4	135	38,7	42,9	21	85,0	24,3	26,5	17,2	69,6	19,9	18,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	89,4	361,9	48,6	197	54,4	33,0	31,8	128,7	35,6	23,3	18,9	76,5	21,1	19,0	2	8	2,2	17,7	0	0	0,0	14,5	0	0	0,0	-	23,3		
7	84,8	343,3	39,5	160	46,6	36,7	20,6	83,4	24,3	26,0	11,1	44,9	13,1	19,9	1,8	7	2,1	16,8	1,4	6	1,7	13,5	1	4	1,2	11,3	20,7		
8	91,5	370,4	39,1	158	42,7	42,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	74,1	300,0	36,7	149	49,5	30,3	26,9	108,9	36,3	19,1	17,4	70,4	23,5	15,3	7,2	29	9,7	13,5	5,1	21	7,0	11,2	3,8	15	5,1	9,5	16,5		
10	90,5	366,4	41,2	167	45,5	39,9	28,2	114,2	31,2	25,2	17,2	69,6	19,0	19,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
M	84,3	341,3	38,0	133,8	45,3	37,5	24,7	99,8	28,3	25,3	15,9	64,5	18,3	19,2	4,1	16,7	5,0	16,4	2,6	10,6	3,2	13,3	1,8	7,1	2,2	8,2	20,9		
m	6,9	28,0	5,0	20,4	6,5	6,3	4,8	19,2	5,3	2,2	3,4	13,9	4,1	1,3	2,7	10,8	3,6	1,9	2,3	9,5	3,0	6,6	1,6	6,6	1,2	5,6	3,2		

Окончание табл. 3

№	исходная			5-й день (n=10)			10-й день (n=7)			15-й день (n=7)			20-й день (n=4)			25-й день (n=4)			30-й день (n=4)			V _{ср}			
	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr	S, мм ²	% от исходной	V	Mr		S, мм ²	% от исходной	
«ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон»																									
1	85,4	345,7	49,8	202	58,3	28,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	89,2	361,1	28,6	116	32,1	49,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	94	380,6	33,8	137	36,0	48,7	27,7	112,1	29,5	26,8	24,9	100,8	26,5	18,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	85,9	347,8	42,2	171	49,1	35,4	30,7	124,3	35,7	22,3	26	105,3	30,3	16,2	13,4	54	15,6	14,7	8	32	9,2	12,6	0	0,0	20,2
5	83,5	338,1	28,9	117	34,6	44,2	21,4	86,6	25,6	25,1	14,2	57,5	17,0	18,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	82	332,0	25,6	104	31,2	45,7	20	81,0	24,4	25,1	11	44,5	13,4	19,2	1	4	1,2	16,4	0	0	0,0	13,3	0	0,0	26,6
7	91,8	371,7	21,1	85	23,0	57,2	21	85,0	22,9	28,7	18	72,9	19,6	19,9	1,5	6	1,6	18,3	0	0	0,0	14,9	0	0,0	31,0
8	92,4	374,1	42,1	170	45,6	40,7	34,6	140,1	37,4	23,4	26,8	108,5	29,0	17,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	90,2	365,2	33,4	135	37,0	46,0	21,2	85,8	23,5	27,9	18,1	73,3	20,1	19,5	6,5	26	7,2	16,9	3,2	13	3,5	14,1	1,1	4	12,0
10	81,1	328,3	24,3	98	30,0	46,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
M	87,6	354,5	33,0	133,5	37,7	44,2	25,2	97,8	27,6	25,6	19,9	76,2	21,4	18,5	5,6	22,7	6,4	16,6	2,8	11,3	3,2	13,7	0,3	1,1	0,3
m	4,6	18,6	9,2	37,2	10,4	7,8	5,8	19,2	5,2	2,3	6,2	26,5	6,9	1,4	0,7	4,8	1,9	1,5	3,8	15,3	3,3	1,0	0,6	2,2	0,8
«Цефтриаксон»																									
1	87,4	353,8	34,2	138	39,1	43,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	85,4	345,7	56,6	229	66,3	23,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	88,8	359,5	55,9	226	63,0	26,6	40,8	165,2	45,9	19,4	24,6	99,6	27,7	17,3	15,6	63	17,6	14,8	6,8	28	7,8	13,3	3,4	14	3,8
4	85,3	345,3	47,3	191	55,5	30,8	35,1	142,1	41,1	20,3	23	93,1	27,0	16,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	79	319,8	41,1	166	52,0	30,7	40	161,9	50,6	15,8	30,5	123,5	38,6	13,1	9,2	37	11,6	14,1	3,4	14	4,4	12,2	0	0,0	17,2
6	84	340,1	39,5	160	47,0	36,0	25,3	102,4	30,1	23,8	21,7	87,9	25,8	16,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	86,6	350,6	35,4	143	40,9	41,5	30,1	121,9	34,8	22,9	24,8	100,4	28,6	16,7	18,9	77	21,8	13,7	5	20	5,7	13,2	3,4	14	3,9
8	85	344,1	44,2	179	52,0	33,0	35,1	142,1	41,3	20,2	25	101,2	29,4	16,2	17,1	69	20,1	13,7	6	24	7,0	12,8	3,7	15	4,4
9	78,2	316,6	36,9	149	47,2	33,4	27,3	110,5	34,9	20,6	24,6	99,6	31,5	14,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	88,3	357,5	46,2	187	52,3	34,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M	84,8	343,3	43,7	177,0	51,5	33,3	33,4	138,7	40,5	20,4	24,9	100,9	29,5	16,1	15,2	61,5	17,8	14,1	5,3	21,5	6,2	12,9	2,6	10,6	3,0
m	3,6	14,6	7,9	32,1	8,6	6,0	6,0	26,7	8,3	3,1	2,8	13,6	5,2	1,7	4,2	17,1	4,5	0,5	1,5	5,9	3,6	0,5	1,8	7,1	2,0

Примечания: ячейки с прочерком обозначают выбывших их эксперимента животных; 0,0 – животные, у которых полностью зажил раневой дефект.

Группа «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон»: большая часть раневой поверхности под струпом. Струп фрагментирован, состоит из фибрина с небольшим количеством клеточных элементов. Начальные стадии эпителизации отмечаются на достаточно большой площади раневой поверхности. Меньше выражена воспалительная реакция. В то же время остаются участки с очагами некроза и фибриноидного пропитывания под струпом (рисунки 3–5).

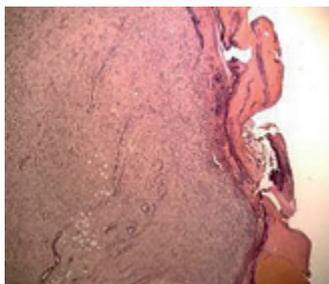


Рисунок 3. Значительная часть раневой поверхности под струпом. Струп частично фрагментирован, состоит в основном из фибрина с минимальным количеством клеточных элементов в стадии распада. Ув. х40. Окраска гематоксилин-эозином

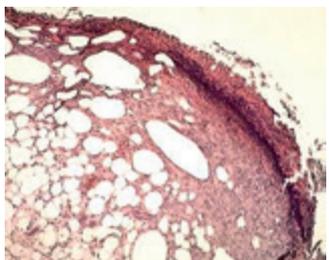


Рисунок 4. Струп тонкий. Под ним активная эпителизация, признаки фиброза и выраженный отек ткани. Ув. х100. Окраска гематоксилин-эозином

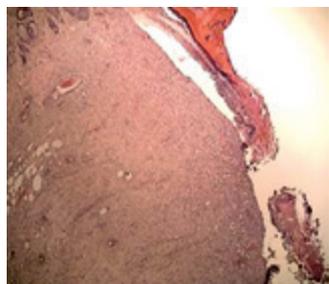


Рисунок 5. Отторжение струпа, раневая поверхность без признаков воспаления, идет активное формирование грануляционной ткани. Ув. х40. Окраска гематоксилин-эозином

Группа «Цефтриаксон»: изменения схожи с описанными для группы «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон», но у отдельных животных отмечаются более выраженные деструктивные изменения в виде очагов некроза с выраженной лейкоцитарной инфильтрацией, выраженным полнокровием с очагами кровоизлияний. Грануляционная ткань грубая с преобладанием пролиферации фибробластов и формированием большого количества волокон (рисунки 6, 7).

Полученные на 7-е сутки данные показывают, что во всех группах воспалительная реакция выражена в разной степени. Она существенно менее выражена в опытных группах, чем в контрольной, что особенно проявлялось в группе «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон». Зафиксировано начало эпителизации и разви-

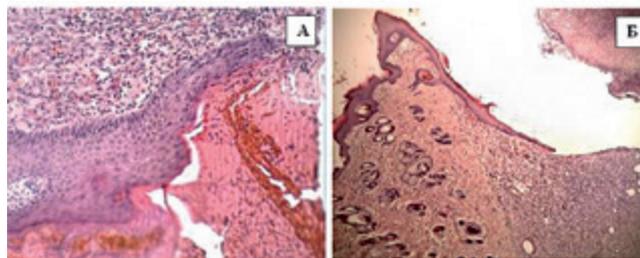


Рисунок 6. По краям раны – растущий гипертрофированный эпителий, под которым формируется грануляционная ткань с большим количеством новообразованных сосудов (Б). У крысы 1 под струпом рыхлая соединительная ткань с лимфоноцитарной инфильтрацией. Ув. х100 (А), Ув. х40 (Б). Окраска гематоксилин-эозином

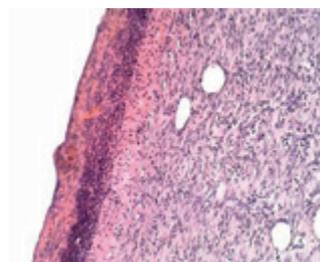


Рисунок 7. Струп небольшой, под ним тонкий слой фибринозно-лейкоцитарной инфильтрации, неактивные грануляции, умеренный отек ткани. Ув. х100. Окраска гематоксилин-эозином

тия грануляционной ткани. Отмечаемое для контрольной группы наплывание эпителия на края раны может свидетельствовать о риске развития келоидных рубцов в процессе ранозаживления. Кроме степени воспалительной реакции, других значимых отличий между опытными группами выявить не удалось, однако только в группе «Цефтриаксон» грануляционная ткань грубая, с преобладанием пролиферации фибробластов и формированием большого количества волокон, что свидетельствует о риске развития впоследствии грубого рубца.

На 14-е сутки

Контрольная группа: в целом процесс эпителизации выражен, воспалительная инфильтрация уменьшается, идет формирование фиброзно-рубцовой ткани (рисунок 8).

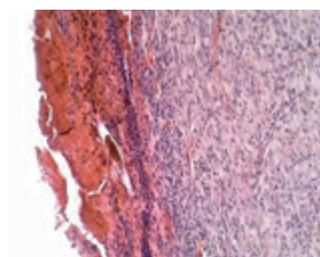


Рисунок 8. Струп сохраняется, наблюдается наплывание эпителия и начало эпителизации в центре раны. Под струпом грануляционная ткань. Ув. х100. Окраска гематоксилин-эозином

Группа «ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон»: в большей части раневой поверхности струпа отсутствует. Отмечается эпителизация на разных стадиях. По краям регенерата новообразованный пласт эпителия

гипертрофирован. Идет активное созревание грануляционной ткани с минимальными признаками воспаления (рисунки 9, 10).



Рисунок 9. Краевая эпителизация, большая часть раневой поверхности без струпа и выраженных признаков воспаления, с формированием рыхлой грануляционной ткани. Ув. х40. Окраска гематоксилин-эозином

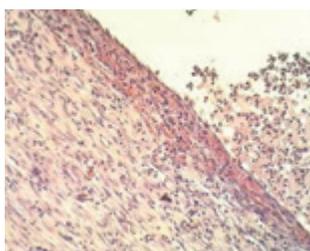


Рисунок 10. Эпителизация раны с гипертрофией образованного эпителия. Заживление под струпом, эпителизация открытой раневой поверхности с тонким слоем активной грануляционной ткани под образующимся эпителием. Ув. х100. Окраска гематоксилин-эозином

Группа «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон»: изменения в целом по скорости эпителизации и активности восстановления соединительной ткани сходны с группой «ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон», немного ее превосходя. Однако отмечаются небольшие очаги с деструкцией и выраженной воспалительной реакцией в участках, где сохраняется достаточно толстый струп (рисунки 11–14).

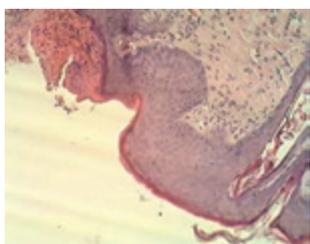


Рисунок 11. Активная эпителизация краев раны с выраженной гипертрофией эпителия. Ув. х40. Окраска гематоксилин-эозином

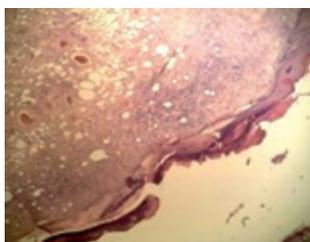
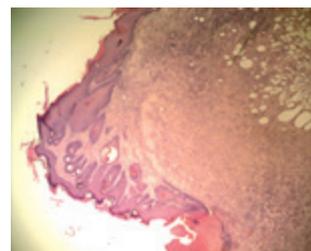


Рисунок 12. Глубокий раневой дефект, сохраняется небольшой струп, отек, участки с начальной эпителизацией, мягкие грануляции с очагами с воспалительной инфильтрацией. Ув. х40. Окраска гематоксилин-эозином

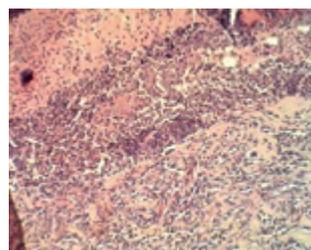
Под эпителием грануляционная ткань с достаточно выраженной лимфоноцитарной инфильтрацией. Ув. х40. Окраска гематоксилин-эозином.

Группа «Цефтриаксон»: изменения сходны с описанием для групп «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон» и «ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон». Поверхность практически очищена от струпа. Но процесс

Рисунок 13. Большой участок с регенерированным гипертрофированным эпителием



Рисунки 14. Эпителизация под струпом. В подлежащей ткани выраженная пролиферация фибробластов, новообразование сосудов, капилляры имеют вертикальное расположение по отношению к поверхности (что свидетельствует о более зрелой структуре грануляционной ткани), воспалительная инфильтрация минимальна. Ув. х100. Окраска гематоксилин-эозином



эпителизации идет несколько медленнее и на большей части поврежденной области идет формирование зрелой грануляционной ткани (рисунки 15).

Рисунок 15. Большая часть раневой поверхности без струпа, начинается эпителизация и формирование зрелой грануляционной ткани. Сохраняется небольшая, преимущественно периваскулярная воспалительная инфильтрация. Ув. х40. Окраска гематоксилин-эозином



Полученные на 14-е сутки данные показывают, что к этому сроку можно четко выделить 3 группы, которые заметно отличались от контроля по более быстрому формированию грануляционной ткани и снижению воспаления. Это группы: «ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон», «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон» и «Цефтриаксон». Вместе с тем интенсивность эпителизации, степень редукции воспалительных изменений, лизиса струпа и формирования грануляционной ткани в области повреждения в этих группах различалась. В группах сочетанной терапии с «ГМДП, субстанцией» и «ГМДП, лиофилизатом» наблюдалась меньшая воспалительная реакция и более нежная рубцовая ткань, чем в группе с «Цефтриаксоном», что снижало риск персистенции воспаления и формирования грубого келоидного рубца. Скорость эпителизации и площадь поверхности с эпителизацией в группе «Цефтриаксон» была ниже, чем в группах «ГМДП, субстанция» + «Цефтриаксон» и «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон», а грануляционная ткань более грубая.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На модели инфицированной раны кожи и мягких тканей у крыс изучена сравнительная эффективность сочетанной антибиотико-иммунной терапии с использованием новой лекарственной формы ГМДП – «ГМДП, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций» и монотерапии антибиотиком «Цефтриаксон».

Показано, что при лечении гнойно-воспалительных процессов лучшая ранозаживляющая эффективность консервативного лечения достигается сочетанной антибиотико-иммунной терапией с использованием иммунотерапевтического препарата «ГМДП, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций» по сравнению с монотерапией антибиотиком «Цефтриаксон». Преимущества отмечаются по скорости и полноте очищения и закрытия раны, в том числе по интенсивности эпителизации, формирования грануляционной ткани, а также её качеству, степени редукции воспалительных изменений, лизиса струпа.

Статистически достоверно установлено, что индекс ускорения заживления раны по сравнению с контролем (интактная группа) при монотерапии препаратом «Цефтриаксон» составляет 128,5%, а при сочетанной терапии «ГМДП, лиофилизат» + «Цефтриаксон» – 179,3%. При этом в сравнении с применением одного Цефтриаксона при сочетанной терапии с тестируемым препаратом образуется более нежный рубец, что снижает риск формирования грубого келоидного рубца.

Преимущества применения для лечения гнойно-воспалительных процессов ЛС «ГМДП, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций» в сочетанной терапии с антибиотиком «Цефтриаксон» в сравнении с монотерапией данным антибиотиком подтверждены макроскопическим, планиметрическим и гистологическим методами.

Совокупность полученных результатов позволяет сделать вывод о том, что лекарственный препарат «ГМДП, лиофилизат для приготовления растворов для инъекций» является перспективным для дальнейшего изучения в схемах консервативного лечения ГВП.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.Н. Жадинский, Н.В. Жадинский. Лечение гнойных ран в первой фазе раневого процесса // Украинский Журнал Хирургии. 2012. № 2(17). С.109–114.
2. Т.В. Казакова, В.И. Миронов, В.М. Данчинов. Рациональная антибиотикотерапия при гнойных заболеваниях пальцев кисти в условиях хирургического стационара // Журнал инфекц. патол. 2003. Т. 10. № 4. С. 47–49.
3. В.В. Бойко, В.К. Логачев, С.О. Вереснев, др. Проблеми антибактеріальної терапії в клініці невідкладної хірургії // Шпитальна хірургія. 2011. № 3. С. 70–71.
4. Д.В. Самарин. Антибиотикорезистентность // Therapia. Український медичний вісник. 2009. № 12(42). С. 43–45.
5. Ю.С. Лисюк, С.Т. Федоренко, В.А. Мельников. Стартова антибіотикотерапія в комплексному лікуванні гострих гнійних хірургічних захворювань // Клінічна хірургія. 2008. № 11–12. С. 17–18.
6. Б.В. Пинегин. Современные представления о стимуляции антиинфекционного иммунитета с помощью иммуномодулирующих препаратов // Антибиотики и химиотерапия. 2000. № 12. С. 3–8.
7. П.Е. Крайнюков, С.А. Матвеев. Эффективность использования иммуномодулирующей терапии при гнойных заболеваниях кисти // Медицинский вестник юга России. 2013. С. 76–79.
8. Т.А. Васина, Г.В. Булава, Д.Д. Меньшиков, В.Б. Хватов. Этиотропная антибиотико- и иммунотерапия больных с гнойно-воспалительными процессами // Антибиотики и химиотерапия. 1998. № 11. С. 28–33.
9. Л.И. Винницкий, К.Л. Бунятян, Б.В. Пинегин, др. Отечественный иммуномодулятор нового поколения липопид в комплексном лечении и профилактике инфекционных осложнений в хирургической клинике // Вестник Российской Академии Медицинских Наук. 1997. № 11. С. 46–49.
10. А.П. Чадаев, А.М. Нурписов, А.В. Пичугин, Р.И. Атауллаханов. Иммуномодуляторы «Иммуномакс» и «Гепон» в комплексном лечении больных острой гнойной хирургической инфекцией // Русский медицинский журнал. 2004. Т. 12. № 24. С. 1427–1433.
11. В.А. Гинюк. Методика моделирования острого местного гнойно-воспалительного процесса у лабораторных животных и проведения эксперимента по лечению полученных гнойных ран с помощью фоторегуляторной и фотодинамической терапии // Мед. журн. 2009. № 1. С. 44–46.
12. Е.А. Грабарская, Н.В. Данилевская, А.А. Дельцов, А.А. Правда. Изучение ранозаживляющей активности новой многокомпонентной мази // Современные фармако- и биопрепараты. 2015. № 3. 48–50 с.
13. ОФС.1.7.2.0008.15. Определение концентрации микробных клеток / Государственная фармакопея РФ. XIII изд. Т. 2.
14. Е.А. Ефимов. Факторы, влияющие на полноту регенерации кожи у млекопитающих // Изв. РАН. Сер. биол. 1999. № 4. С. 488–492.
15. А.П. Линева. Физиологические показатели нормы животных. Справочник. – М.: Аквариум, 2003.