

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ОРИГИНАЛЬНЫХ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ГЕЛЕЙ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО РУБЦА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВОГО МЕТОДИЧЕСКОГО ПОДХОДА

А. В. Воронков, И. Н. Дьякова, Ю. А. Огурцов,  
Ю. Ю. Жидкова, О. Ю. Гамзелева<sup>1</sup>

Разработан метод количественной макроскопической оценки заживления сложной инфицированной раны на примере влияния оригинальных многокомпонентных гелей, имеющих в своём составе циклоферон, глицирам (аммонийная соль глицерризиновой кислоты) и глицин, растительные масла. Изучено их влияние на процесс заживления инфицированной раны и образование патологического рубца с одновременным контролем процесса заживления раны гистологическим методом. Применение предложенных гелей позволяет более эффективно предупреждать формирование патологических рубцов, чем препарат сравнения “Контрактубекс”.

**Ключевые слова:** патологический рубец; многокомпонентные гели; “Контрактубекс”; крысы.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время, несмотря на значимые успехи эстетической хирургии, коррекция патологических рубцов остается одной из ведущих проблем современной дерматокосметологии. Для изучения эффективности фармакологической коррекции процесса заживления инфицированных ран используются разные модели на экспериментальных животных. Однако методы анализа заживления до настоящего времени не позволяют количественно оценить эффективность процесса *in vivo* [4, 5]. Нами разработан метод количественной оценки макроскопической картины заживления, позволяющий сравнивать эффективность процесса, протекающего под воздействием фармакологических агентов или без дополнительного влияния на любом этапе заживления визуально, без дополнительных воздействий на животных. Особое внимание уделяется процессам, протекающим в период заживления — заживление раны вторичным натяжением и формирование патологического рубца, как факторам, провоцирующим в дальнейшем образование гипертрофических и келоидных рубцов.

Для фармакотерапии рубцовых повреждений существует целый ряд лекарственных препаратов, действие которых в основном направлено на уменьшение выраженности уже сформированного кожного дефекта. В частности, в терапии рубцов часто используют гель “Контрактубекс”, дающий хорошие результаты при удалении неглубоких дефектов кожного покрова благодаря своим эндотелиопротекторным свойствам, как в монотерапии, так и в сочетании с физиотерапевтическими процедурами. Помимо стабилизирующего и противовоспалительного эффектов, обусловленных

наличием флавоноидов репчатого лука, препарат оказывает антитромботическое (гепарин) и кератолитическое действие (аллантоин), регулирует водный баланс в ткани рубца. При этом, как показывает практика, недостаточно препаратов, обеспечивающих эффективную профилактику патологического заживления раны, поэтому их поиск и разработка продолжают оставаться актуальной задачей экспериментальной и клинической медицины [3, 4].

Целью данной работы является разработка метода количественной макроскопической оценки заживления сложной инфицированной раны на примере влияния новых многокомпонентных гелей с одновременной оценкой эффективности исследуемых гелей в сравнении с препаратом “Контрактубекс” и контролем. Оценку эффективности профилактики и терапии проводили с помощью разработанного метода и с учетом результатов гистологического анализа сформированных рубцов.

Состав предложенных гелей не повторяет препарат сравнения, а фармакологические свойства компонентов могут оказывать положительное влияние на основные процессы заживления и созревания нормотрофических рубцов, предупреждая тем самым развитие патологических процессов.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте использовали 50 нелинейных белых крыс-самцов массой 220 – 250 г. Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 267 “Об утверждении правил лабораторной практики” от 19.06.2003 и правилами, принятыми “Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123” от 18.03.1986 (Страсбург, 1986). Животные были разделены на 5 групп. Живот-

<sup>1</sup> Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ МЗ РФ, 357532 Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина 11.

ные групп 1 – 4 с экспериментальным патологическим рубцом (ЭПР), пятая группа служила положительным контролем и не подвергалась хирургическим воздействиям.

Моделирование патологического рубца осуществляли по модифицированному методу [1] следующим образом. У наркотизированных крыс (внутрибрюшинный хлоралгидратный наркоз 350 мг/кг) выстригали участок шерсти на спине. Затем делали надрез кожного лоскута 4 × 4 см и отделяли лоскут кожи от нижележащих тканей, оставляя одну из сторон. Осуществляли подшивание кожного лоскута, подворачивая его по 0,3 см внутрь, хлопчатобумажной стерильной нитью.

На следующий день после операции и в течение 45 дней на спину животным наносили исследуемые вещества 2 раза в день по 1,0 г. Первая группа служила отрицательным контролем и не подвергалась фармакологическим воздействиям. Животные второй группы обрабатывались гелем “Контрактубекс”, животные третьей группы получали исследуемый гель ПМФИ-1 (содержащий циклоферон, глицирам, масло шиповника и персиковое масло), четвертая группа — исследуемый гель ПМФИ-2 (содержащий циклоферон, глицин, масло шиповника и персиковое масло). На 14 и 45 сут проводили макроскопическое исследование состояния ран по внешним проявлениям и оценивали в баллах интенсивность процесса заживления (табл. 1). Предложенные критерии включают: заживление первичным натяжением в % от общей протяженности рубца, покраснение или его отсутствие, наличие полостей с гноем или гноя на поверхности рубца, наличие на рубце струпа в % от общей протяженности рубца, наличие ровного, без деформаций — нормотрофического рубца в % от общей протяженности рубца. На 45 день проведено патоморфологическое исследование. Забой животных производили под эфирным наркозом. После декапитации участок рубца фиксировали в 10 % нейтральном формалине и заливали парафином. Затем го-

товили срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином и просматривали под микроскопом, описывая гистологическую картину. Срезы проводили на санном микротоме. Микрофотографические снимки производили на микроскопе “БИОЛАМ”, совмещенном с цифровой камерой и компьютером (измерения производили компьютерным штангенциркулем Calipers 97 Pixels при увеличении × 720).

Результаты опытов обрабатывали методом вариационной статистики. Данные проверены на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. В качестве параметрического критерия использован критерий Стьюдента. Для статистической обработки результатов использовали пакет программ “Stat Plus 2009”.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 14 сут после операции в группе животных с ЭПР без фармакологической коррекции наблюдалось отторжение подворота большей части шва, заживление в этой зоне происходило путем вторичного натяжения. В этой же группе визуальное воспалительное процесс был выражен больше и сохранялся дольше, чем в других группах крыс, а на протяжении наблюдения отмечалось формирование полостей с гнойным содержимым. Стоит отметить, что заживление вторичным натяжением у животных данной группы не завершилось к 45 дню наблюдений. В участках без отторжения формировались гипертрофические рубцы, с деформированной грубой поверхностью, сильно выдающейся над поверхностью кожи, спаянных с подлежащими тканями.

В группе крыс, обработку ран которых проводили гелем “Контрактубекс”, в макроморфологической картине наблюдалось формирование гипертрофических рубцов — грубых, деформированных, местами мягких, эластичных. У нескольких животных наблюдалось чередование участков с разным характером руб-

Таблица 1. Критерии оценки заживления раны по внешним проявлениям

Внешнее проявление		Критерии оценки										
1	Заживление первичным натяжением	% от протяженности рубца										
		100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0
	Баллы	20	18	16	14	12	10	8	6	4	2	0
2	Признаки воспаления — покраснение	нет	слабое	сильное								
		Баллы	5	0	– 5							
3	Наличие полостей с гноем	да	нет									
		Баллы	– 10	10								
4	Наличие струпа	% от протяженности рубца										
		100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0
	Баллы	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	Ровный рубец без уплотнений (нормотрофический)	% от протяженности рубца										
		100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0
	Баллы	20	18	16	14	12	10	8	6	4	2	0

цов. В этой группе крыс в меньшей степени, чем в контроле, были выявлены признаки гнойного воспаления.

В третьей группе животных, которых обрабатывали гелем ПМФИ-1, также наблюдалась неоднородность макроморфологической картины, как между крысами, так и на разных участках шва одного животного. В целом можно отметить, что на 14 сут участки с гипертрофическими рубцами чередовались с участками, на которых сформировано полное заживление рубца без признаков деформации и гипертрофичности. К 45 сут у всех животных этой группы отсутствовали признаки гипертрофии рубца, но имелись незначительные, преимущественно точечные остаточные повреждения. В этой группе практически отсутствовало вовлечение в процесс подлежащих тканей, а также наличие гнойного воспаления.

В четвертой группе (гель ПМФИ-2) животных на 14 день присутствовало покраснение, шовный материал отторгался медленно, и заживление запаздывало в сравнении с группами 1 и 2. На 45 день в этой группе наблюдались небольшие участки с незавершенным заживлением. Однако участки со сформированным швом имели мало отличий от здоровой кожи, были подвижны, эластичны, мало заметны. Также как и в группе 3 практически отсутствовали признаки гнойного воспаления, сплавления с подлежащими тканями.

Таким образом, животные, получавшие лечение препаратом сравнения, имели очаги гнойного воспаления. В группах, получавших лечение исследуемыми гелями, воспалительный процесс не сопровождался образованием полостей с гнойным содержимым, а заживление происходило эпителизацией преимущественно первичным натяжением с формированием более зрелых, чем в группе 1, нормотензивных рубцов. Это соответствует литературным данным о мембраноста-

билизирующем, антиоксидантном, противовоспалительном и ранозаживляющем действии растительных масел, содержащих каротиноиды, витамины, полиненасыщенные жирные кислоты, минеральные вещества, которые входят в состав исследуемых гелей, а также способности циклоферона одновременно действовать на инфекционный агент (этиотропный эффект) и стимулировать специфическую и неспецифическую резистентность [2].

Для сравнения влияния исследуемых гелей на процесс заживления раны и формирование рубца нами разработана бальная система (табл. 2), позволяющая объективно оценить эффективность их применения в сравнении с контрольной группой. В группах, получавших исследуемые объекты, на 45 день полученные результаты были достоверно лучше, чем в группе, получавшей “Контрактубекс”.

На 45 сут при проведении гистоморфологической оценки были получены следующие результаты. Срезы кожи интактных животных полностью соответствуют стандартам здоровой кожи. Поперечный размер эпидермиса кожи спины равен 97 условных единиц.

В группе крыс с ЭПР без фармакологической коррекции эпидермис значительно уменьшен в поперечном размере. Клетки всех слоев имеют атипичные формы и размеры. Количество их резко снижено. Особенно это отмечается в шиповатом слое эпидермиса. Поперечный размер эпидермиса кожи спины равен 34 условным единицам. Роговой слой кожи гладкий, ровный. Явления кератинизации рогового слоя практически отсутствуют. В эпидермисе наблюдаются явления вакуольной дистрофии. Сосочковый слой дермы сглажен. В субэпидермальном слое видно разрастание пучков коллагеновых волокон, ориентированных параллельно поверхности кожи и замещающих сетчатый слой дермы. Все вышеперечисленные признаки свидетельствуют о том, что заживление раны протекало вторичным натяжением и процесс рубцевания далек от завершения. Количество фибробластов в глубоких слоях кожи в поле зрения составило 268 клеток.

Таблица 2. Макроскопическая оценка заживления кожной раны у экспериментальных животных на 14 и 45 дни

Группа	Сумма баллов на группу	% от максимальной суммы баллов	
		На 14 день	$M \pm m$
Контроль	80	12,31	$8,0 \pm 2,12$
Контрактубекс	397	61,08	$39,70 \pm 3,47^*$
ПМФИ-1	504	77,54	$50,4 \pm 3,31^{*\$}$
ПМФИ-2	457	70,31	$45,7 \pm 3,02^*$
		На 45 день	
Контроль	288	44,31	$28,8 \pm 2,00$
Контрактубекс	551	84,77	$55,1 \pm 2,06^*$
ПМФИ-1	621	95,54	$62,1 \pm 0,69^{*\$}$
ПМФИ-2	612	94,15	$61,2 \pm 0,80^{*\$}$

\* — достоверно относительно значений контрольной группы,  $p < 0,05$ ;  
 § — достоверно относительно значений группы, получавшей препарат сравнения,  $p < 0,05$ .

Таблица 3. Морфометрические показатели зрелости рубцов

Группа животных	Поперечный размер эпителия	Количество клеточных элементов рубца в стандартном поле зрения микроскопа, Ув. $\times 720$
Интактные	$97 \pm 6$	-
Контроль	$34 \pm 4$	$268 \pm 28$
Контрактубекс	$57 \pm 5^{*\$}$	$68 \pm 6^{\$}$
ПМФИ-1	$66 \pm 6^{*\$}$	$56 \pm 7^{\$}$
ПМФИ-2	$79 \pm 7^{\#\$}$	$43 \pm 8^{\#\$}$

Примечания:

\* — достоверно относительно значений интактной группы;

§ — достоверно относительно значений группы контроля;

# — достоверно относительно значений группы, получавшей препарат сравнения.

В группе животных, обрабатываемых “Контрактубексом”, эпителий покрывает всю поверхность рубцовой ткани, несколько уменьшен в поперечном размере (в среднем 57 условных единиц). Клетки, составляющие эпидермальные слои, слабо дифференцированы. Роговой слой плотно прилежит к подлежащей ткани, и лишь на отдельных небольших участках имеются признаки его десквамации. Это говорит о неполной законченности формирования эпителия. Субэпителиальные слои не просматриваются. Согласно морфометрическим подсчетам количество фибробластов в поле зрения составляет 68 клеток. Морфологически фибробласты достаточно однородные, молодые, что говорит о продолжающейся их функциональной активности. Хотя очагов роста, состоящих из групп фибробластов, окруженных слоем ретикулиновых и коллагеновых волокон, не наблюдается. Сосуды претерпевают инволюцию, однако этот процесс не завершен.

В группе животных, получавших гель ПМФИ-1, эпителиальный покров рубца достаточно дифференцирован. Наблюдается уменьшение размеров шиповатого слоя и атипия его клеток. Зернистый слой напротив несколько гипертрофирован. Вместе с тем процесс кератинизации рогового слоя и его слущивание достаточно хорошо выражены. Эпителий плотно прилегает к поверхности рубца на всем протяжении. Поперечные размеры эпителия достигают в среднем 66 условных единиц. Эти признаки указывают на достаточную зрелость процесса эпителизации. Клеточный состав соединительной ткани умеренный по сравнению с предыдущими группами. Большинство фибробластов вытянутой веретенообразной формы, ядра их в определенной мере утратили хроматофилию, отмечаются клетки с размытыми контурами и слабобазофильными ядрами (инволюционные клетки). Практически отсутствуют клетки овальной формы с выраженной базофилией (молодые фибробласты). Все эти признаки свидетельствуют о завершении процессов рубцевания. Волокна рубца упорядоченно ориентированы, плотно упакованы, окраска их относительно равномерная, что свидетельствует о снижении процессов образования нового коллагена. Количество клеток в поле зрения – в среднем 56. Положительную динамику заживления раны можно связать с эндотелиопротекторным действием входящего в состав геля глицирама (аммонийной соли глицирризиновой кислоты). Глицирам обладает выраженным противовоспалительным, противоаллергическим и иммуностимулирующим действием при местном применении [2].

В группе животных, получавших гель ПМФИ-2, наблюдаются морфологические признаки, указывающие на практически завершенный процесс рубцевания. Как было отмечено выше, в состав данного геля помимо циклоферона и растительных масел входит глицин, действующий не только как увлажняющий агент, сохраняющий защитную функцию эпидермиса, но и улучшающий микроциркуляцию крови, предотвращающий развитие купероза и проявляющий антиоксидантную активность [2]. Суммарный эффект данных компонентов обуславливает завершение эпителизации поверхности рубца по всей поверхности среза. Слои эпидермиса ярко выражены. В большей части клеточный состав эпидермиса имеет обычную форму и размеры. Наблюдается активная кератинизация и десквамация рогового слоя эпидермиса. Роговой слой образован полностью ороговевшими безъядерными структурами. В поверхностной зоне рогового слоя роговые чешуйки отторгаются. Эпителий плотно прилегает к поверхности рубца. Морфометрически поперечный размер эпидермиса составляет в среднем 79 условных единиц. Эти признаки указывают на завершенный процесс эпителизации рубца.

Таким образом, полученные результаты соответствуют литературным данным о способности циклоферона одновременно действовать на инфекционный агент (этиотропный эффект) и стимулировать специфическую и неспецифическую резистентность макроорганизма. При этом введение в состав гелей растительных масел и фармакологических агентов, способных улучшать трофику тканей, стабилизировать клеточные мембраны, оказало дополнительный фармакологический эффект и способствовало более быстрому созреванию рубца. В то же время сравнительный анализ исследуемых гелей позволяет выявить преимущества применения глицирама перед глицинолом как компонента гелей сложного состава, предложенных для лечения и профилактики патологических рубцов.

Таким образом, полученные результаты соответствуют литературным данным о способности циклоферона одновременно действовать на инфекционный агент (этиотропный эффект) и стимулировать специфическую и неспецифическую резистентность макроорганизма. При этом введение в состав гелей растительных масел и фармакологических агентов, способных улучшать трофику тканей, стабилизировать клеточные мембраны, оказало дополнительный фармакологический эффект и способствовало более быстрому созреванию рубца. В то же время сравнительный анализ исследуемых гелей позволяет выявить преимущества применения глицирама перед глицинолом как компонента гелей сложного состава, предложенных для лечения и профилактики патологических рубцов.

## ВЫВОДЫ

1. Разработан метод количественного определения характера и скорости заживления кожной раны, позволяющий оценить процесс заживления *in vivo*.
2. Исследуемые экспериментальные гели более эффективно предупреждают формирование патологических рубцов, чем препарат сравнения контрактубекс.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Г. Арий, Автореф. дис. канд. мед. наук, Томск (2003).
2. А. В. Воронков, Э. Ф. Степанова, Ю. Ю. Жидкова, О. Ю. Гамзелева, *Фундам. исслед.*, № 3 (часть 2), 301 – 308 (2014).
3. Ф. И. Ершов, А. Л. Коваленко, М. Г. Романцов, С. Ю. Голубев, *Циклоферон. Клиническая фармакология и терапия: Руководство для врачей*, Москва, Санкт-Петербург (1998).
4. Г. Э. Карапетян, Р. А. Пахомова, Л. В. Кочетова и др., *Фундам. исслед.*, № 3, 70 – 73 (2013).
5. П. М. Лаврешин, В. И. Линченко, О. В. Владимирова, *Материалы 5 всероссийской научной конференции общих хирургов объединенной с пленумом проблемных комиссий РАМН “Неотложная хирургия и инфекция в хирургии”*, Москва, Ростов-на-Дону (2008).
6. С. В. Поройский, А. В. Воронков, И. Н. Тюренков и др., *Вестник ВолгГМУ*, № 3, 13 – 18 (2011).

## STUDY OF THE INFLUENCE OF ORIGINAL MULTICOMPONENT GELS ON THE PROCESS OF PATHOLOGICAL SCAR FORMATION USING NEW METHODOLOGICAL APPROACH

A. V. Voronkov, I. N. D'yakova, Yu. A. Ogurtsov, Yu. Yu. Zhidkova, and O. Yu. Gamzeleva

Pyatigorsk Institute of Medicine and Pharmacy, Branch of the Volgograd State Medical University, prosp. Kalinina 11, Pyatigorsk, Stavropol Krai, 357532 Russia

A new method of the quantitative macroscopic assessment of the process of a complex infected wound healing has been created. It was verified by example of the influence of original multicomponent gels consisting of cycloferon, amino acid glycine, glycyram (ammonium salt of glycyrrhizic acid), and vegetable oils on the process of infected wound healing and pathological scar formation. Simultaneously, the wound healing was monitored by the conventional histomorphological method. The proposed gels more effectively prevent the formation of pathological scars in comparison to reference preparation Contractubex.

**Keywords:** pathological scar, multicomponent gels, Contractubex, rats