

Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького

На правах рукопису

Пастернак Юрій Богданович

УДК: 616.5-001.17-092: (615.28+615.274).

Патогенетичні особливості перебігу запалення в зоні опікової рани та
корекція його порушень засобом „Кротозин”

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник:
Регада Михайло Степанович
доктор медичних наук, професор,
Заслужений працівник освіти
України

Львів-2011

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. Етіологія та патогенез формування запалення в зоні опікової рани та його фармакологічна корекція (огляд літератури).....	13
1.1. Сучасні погляди на патогенез запалення в зоні опікової рани.....	13
1.2. Фармакотерапія запального процесу при термічному ураженні м'яких тканин: досягнення, не вирішені питання та шляхи корекції.....	27
РОЗДІЛ 2. Матеріали та методи дослідження.....	36
2.1. Модель експериментальної опікової рани та розподіл тварин на групи.....	36
2.2. Біохімічні методи дослідження.....	38
2.3. Імунологічні методи дослідження.....	44
2.4. Морфологічні методи дослідження.....	48
2.5. Коригувальний вплив засобу „Кротозин” на загоєння опікових ран.....	48
2.6. Статистична обробка отриманих результатів.....	50
РОЗДІЛ 3. Оцінка функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної систем в м'яких тканинах у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція засобом „Кротозин”.....	51
3.1. Визначення концентрації гідроперекисів ліпідів та малонового діальдегіду в м'яких тканинах у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	51
3.2. Вплив засобу „Кротозин” на показники прооксидантної системи в м'яких тканинах у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани	54

3.3. Дослідження активності супероксиддисмутази та каталази в м'яких тканинах у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	57
3.4. Вплив засобу „Кротозин” на показники ферментативної активності антиоксидантної системи в м'яких тканинах в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани	59
РОЗДІЛ 4. Стан показників клітинного та гуморального імунітету в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція засобом „Кротозин”	65
4.1. Уміст Т-лімфоцитів та теофілінчутливих і теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	65
4.2. Вплив засобу „Кротозин” на вміст Т-лімфоцитів та теофілінчутливих і теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	69
4.3. Вміст В-лімфоцитів та циркулюючих імунних комплексів у периферичній крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	73
4.4. Вплив засобу „Кротозин” на вміст В-лімфоцитів та рівень циркулюючих імунних комплексів у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	76
РОЗДІЛ 5. Характеристика показників неспецифічної резистентності організму в крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція засобом „Кротозин”	80
5.1. Дослідження фагоцитарної активності лейкоцитів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	80
5.2. Вплив засобу „Кротозин” на показники фагоцитарної активності лейкоцитів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани	83

РОЗДІЛ 6. Дія засобу „Кротозин” на білковий обмін та активність амінотрансфераз у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	87
6.1. Визначення показників білкового обміну в крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	87
6.2. Вплив засобу „Кротозин” на показники білкового обміну в крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	92
6.3. Характеристика активності амінотрансфераз у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	98
6.4. Вплив засобу „Кротозин” активність амінотрансфераз у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.....	100
РОЗДІЛ 7. Вплив засобу „Кротозин” на перебіг ранового процесу в зоні опікової рани.....	107
7.1. Мікробіологічна картина в рані.....	107
7.2. Морфологічна характеристика загоєння опікової рани.....	110
Аналіз та узагальнення результатів досліджень.....	128
Висновки.....	144
Список використаних джерел.....	146
Додатки.....	174

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

А/Г коефіцієнт – альбуміново-глобуліновий коефіцієнт

АлАТ – аланінамінотрансфераза

АОС – антиоксидантна система

АсАТ – аспартатамінотрансфераза

ВРО – вільнорадикальне окиснення

ГПЛ – гідроперекиси ліпідів

ЕАС-РУК – В-лімфоцити

Е-РУК – Т-лімфоцити

ЗФР – забуферний фізіологічний розчин

ІРІ – імунорегуляторний індекс

КА – каталаза

КОУ – колонієутворюючі одиниці

МДА – малоновий діальдегід

ПЕО-400 – поліетіленоксид-400

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів

РНК – рибонуклеїнова кислота

СОД – супероксиддисмутаза

ТФР – теофілінрезистентні Т-клітини

ТФЧ – теофілінчутливі Т-клітини

ТХО – трихлороцтова кислота

ФАЛ – фагоцитарна активність лейкоцитів

ФІ – фагоцитарний індекс

ФЧ – фагоцитарне число

ЦІК – циркулюючі імунні комплекси

АТСС – American type collection culture

NADH – нікотинамідаденіндинуклеотид

NADPH – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат

ВСТУП

Актуальність проблеми термічних уражень визначається порівняно високою частотою їх у побуті і на виробництві, тяжким перебігом опікової травми, складністю та тривалістю лікування таких хворих, частою інвалідизацією. За даними ВООЗ термічні ураження становлять 6 % усіх травм, та 16 % травм м'яких тканин обличчя і кількість їх надалі збільшується, особливо в промисловорозвинутих районах [3, 65, 106, 185].

Унаслідок опіків м'яких тканин утворюються післяопікові рубцеві деформації шкіри обличчя та шиї, вивороти нижніх та верхніх повік або губ, мікротома, дефекти та деформації вушних раковин або крил носа, що призводить до тяжких функціональних та естетичних дефектів [11, 19, 110, 226].

Термічна травма призводить до зниження захисних механізмів, які пов'язані з мікроциркуляторними розладами й порушеннями бар'єрних функцій шкіри та інших контактних тканинних структур [39, 159, 171]. Унаслідок порушення цілісності шкіри, відбувається денатурація клітин шкіри та протеїнів, накопичення токсинів гістогенного та мікробного походження, що мають негативний вплив на імунну систему. Компоненти опікового ексудату знижують місцевий імунітет за рахунок порушення опсонізації бактерій, пригнічення проліферації лімфоцитів, хемотаксис та міграцію нейтрофілів [4, 28, 127, 165, 194].

Опіковий струп та тканинний детрит, що утворився внаслідок некрозу клітин, кровоносних судин та білка, стають поживним середовищем для патогенних мікроорганізмів, а це призводить до виникнення гнійно-запальних ускладнень, що зумовлює поглиблення некрозу та сповільнення росту грануляційної тканини та загоєння рани [180, 190, 196].

Актуальність теми. Питанню дослідження механізмів загоєння опікових ран присвячено багато вітчизняних та зарубіжних робіт. Проте незважаючи на значні успіхи у вивченні патогенезу термічного запального

процесу, на сьогодні недостатньо висвітленим залишається питання, яке стосується комплексного вивчення впливу термічної травми на функціональний стан прооксидантної, антиоксидантної та імунної систем, білкового обміну, фагоцитозу, мікробіологічну картину та структурні зміни в м'яких тканинах у динаміці розвитку запалення в ділянці опікової рани, пошуку нових способів та засобів корекції викликаних патологічних змін.

Враховуючи вищевикладені патогенетичні аспекти, головним принципом сучасного підходу до лікування термічних ран повинен бути комплексний вплив на основні ланки патологічного процесу, в якому важливе місце відводиться місцевій терапії ураженої опіковим процесом тканини [85, 189, 198].

Зараз існує значний арсенал медикаментозних препаратів для місцевого лікування опікових ран м'яких тканин, які суттєво підвищують ефективність лікування та забезпечують профілактику ранових ускладнень [21, 38, 175, 183].

Водночас більшості з цих препаратів притаманні вузько спрямована дія на окремі ланки патологічного процесу, слабо виражені некролітичні властивості, алергічні реакції, пригнічення росту грануляційної тканини, також відсутня виражена антиоксидантна та імуностимулювальна дія, що спричиняє негативний вплив на ранозагоювальний процес. Широке застосування антибактерійних препаратів, призвело до виникнення полірезистентних штамів патогенних мікроорганізмів [14, 69, 158, 197].

У вирішенні цієї проблеми значний науковий інтерес і практичне значення має впровадження в практичну систему охорони здоров'я нових засобів для місцевого лікування опікових ран, що мають коригувальний вплив на прооксидантну та антиоксидантну системи, володіють антисептичними властивостями, підвищують неспецифічну та специфічну реактивність організму.

Відповідно до вищевикладеного заслуговує на увагу композиційна суміш на основі похідних γ -кроднолактону та карнозину (Патент України

№ 67966 А від 15. 07. 2004 р. „Композиційна суміш на основі похідних γ -кротонолактону та карнозину”) [43]. Вона має суттєві переваги над традиційними засобами, зокрема є малотоксичною, має високий рівень біотрансформації, не акумулюється в організмі та володіє вираженими протизапальними, антимікробними, регенерувальними властивостями, а завдяки вмісту карнозину суміш має виражену антиоксидантну дію [5, 7, 93, 96, 97].

У доступній нам літературі немає даних про вплив на показники перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантної та імунної системи, білкового обміну, фагоцитозу, в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани засобу „Кротозин”. Це визначає актуальність проведених нами експериментальних досліджень та вказує на доцільність пошуку нових способів корекції викликаних патологічних змін.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького "Патофізіологічні механізми розвитку алергічних і запальних процесів на різних рівнях організації, особливості реактивності організму та їх фармакологічна корекція" (№ державної реєстрації 0106U012669). Дисертант є співвиконавцем теми.

Тема дисертації затверджена проблемною комісією МОЗ і АМН України "Патологічна фізіологія та імунологія" (протокол № 71 від 22 квітня 2009 року).

Мета дослідження. З’ясувати особливості змін функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної систем, гуморального та клітинного імунітету, неспецифічної резистентності організму та їх роль у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та встановити вплив на них засобу „Кротозин”.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати особливості функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної систем під час перебігу запалення в ділянці опікової рани.
2. Дати характеристику реакції імунної системи на розвиток запалення в опіковій рані.
3. Дослідити фагоцитарну активність лейкоцитів при термічному ураженні м'яких тканин.
4. Визначити стан білкового обміну та активності амінотрансфераз в крові при цій експериментальній моделі термічної травми.
5. Встановити коригувальний вплив засобу „Кротозин” на стан прооксидантної та антиоксидантної систем, гуморального і клітинного імунітету, неспецифічної резистентності організму та структурні зміни в м'яких тканинах зони опікової рани в динаміці формування термічного запалення.

Об'єкт дослідження: експериментальна опікова рана м'яких тканин.

Предмет дослідження: показники імунологічної реактивності та неспецифічної резистентності організму інтактних щурів і тварин з експериментальними опіковими ранами м'яких тканин до та після корекції засобом „Кротозин”.

Методи дослідження:

- біохімічні: в сироватці крові – протеїнограма, активність аспартат- та аланінамінотрансфераз; в м'яких тканинах зони опікової рани – визначення вмісту первинних (гідроперекиси ліпідів) та вторинних (малоновий діальдегід) продуктів перекисного окиснення ліпідів, активності супероксиддисмутази та каталази;

- імунологічні: визначення в сироватці крові Т- і В-лімфоцитів та їх субфракційний склад, загальних циркулюючих імунних комплексів, фагоцитарного індексу та фагоцитарного числа;

- мікробіологічні: визначення в рані колонієутворюючих одиниць;
- морфологічні: гістологія м'яких тканин зони опікової рани;
- статистичні: обробка цифрових даних методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

Наукова новизна отриманих результатів. У результаті проведення комплексного дослідження розширено та поглиблено уявлення про патогенез запалення в ділянці опікової рани. На сучасному методичному рівні встановлено, що в динаміці розвитку запального процесу в м'яких тканинах зони опікової рани порушується функціональний стан прооксидантної та антиоксидантної систем, зокрема різко посилюються процеси перекисного окиснення ліпідів, які характеризуються накопиченням первинних (гідроперекисів) та вторинних (малонового діальдегіду) продуктів пероксидації. Простежується пригнічення ферментативної активності антиоксидантної системи (супероксиддисмутази та каталази), особливо на 12-у добу спостереження. Доведено, що термічна травма призводить до зростання в сироватці крові рівня В-лімфоцитів, концентрації загальних циркулюючих імунних комплексів, фагоцитарної активності лейкоцитів, особливо в пізній період розвитку термічного запалення, має виражений супресивний вплив на окремі показники клітинного імунітету (Т-лімфоцити, Т-хелпери, Т-супресори), супроводжується розвитком гіпопротеїнемії та диспротеїнемії в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.

Уперше встановлено коригувальний вплив нового фармакологічного засобу „Кротозин” на стан прооксидантної, антиоксидантної та імунної систем в зоні опікової рани шкіри. Доведено, що місцеве застосування засобу „Кротозин” сприяє пригніченню процесів перекисного окиснення ліпідів та активації ферментів антиоксидантної системи в м'яких тканинах ділянки опікової рани, призводить до зниження рівня загальних циркулюючих імунних комплексів в крові тварин, що позитивно відображається на окремих показниках імунологічної реактивності та неспецифічної резистентності організму щурів. Вперше визначено, що щоденне нанесення засобу

„Кротозин” на опікову рану призводить до припинення висівання патогенної мікрофлори з опікової рани уже на 12 день і на 4–5 днів пришвидшує стихання явищ перифокального запалення та сприяє швидшому розвитку грануляційної тканини і загоєнню рани.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати проведених експериментальних досліджень довели комплексний вплив термічної травми на порушення функціонального стану прооксидантної, антиоксидантної та імунної систем, білкового обміну, фагоцитозу, мікробіологічну картину та структурні зміни в м'яких тканинах в динаміці розвитку запалення в ділянці опікової рани та підтвердили позитивну коригувальну дію на ці патологічні зміни засобу „Кротозин”.

Виражена коригувальна дія засобу „Кротозин” на показники неспецифічної та специфічної реактивності організму вказує на доцільність та перспективність проведення подальших доклінічних досліджень з метою корекції цих порушень за умов формування запалення в зоні опікової рани м'яких тканин. Результати дослідження впроваджені у навчальний процес на кафедрах фармакології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри анатомії, фізіології та патології Львівського медичного інституту; кафедри патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету; кафедри патологічної фізіології державного вищого навчального закладу „Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”, що підтверджено актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Автором відповідно до поставленої мети і завдань самостійно проведено пошук, огляд літератури за темою дисертації, обґрунтовано програму досліджень, відтворено модель опікової рани у тварин, вивчено методику дослідження. Самостійно виконано всю експериментальну роботу. Особисто проведено статистичне опрацювання

одержаних результатів, написано і оформлено дисертацію і автореферат. Висновки сформульовано разом із науковим керівником. Дисертаційна робота є особистою науковою працею здобувача. В опублікованих зі співавторами наукових працях здобувачу належить основна ідея, практичний матеріал та їх узагальнення. У тій частині актів впровадження, що стосується науково-практичної новизни, викладено фактичні дані, які одержані дисертантом.

Апробація результатів дисертації. Основні результати роботи були оприлюднені та обговорені на ІХ з'їзді Всеукраїнського Лікарського Товариства, присвяченому 10-річчю відновлення часопису (Вінниця, 2007), ІІ Міжнародній науково-практичній конференції "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2007), ІV Міжнародній науково-практичній конференції "Efektivní nástroje moderních věd-2008" (Praha, 2008), Міжнародній науково-практичній конференції "Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезинфіктантів" (Вінниця, 2008), І Національному конгресі "Человек и лекарство – Украина" (Київ, 2008), ІV Міжнародній науково-практичній конференції "Nauka i inowacja – 2008" (Przemyśl, 2008), Ювілейній міжнародній науково-практичній конференції "Актуальні питання сучасної стоматології" (Львів, 2008),

Публікації. За матеріалами дисертації надруковано опубліковано 23 наукові праці, з них 14 статей у провідних фахових виданнях ВАК України, 7 тез доповідей на науково-практичних конференціях, з'їздах, конгресах національного та міжнародного рівня та 2 патенти України на корисні моделі.

РОЗДІЛ 1
ЕТИОЛОГІЯ ТА ПАТОГЕНЕЗ ФОРМУВАННЯ ЗАПАЛЕННЯ В ЗОНІ
ОПІКОВОЇ РАНИ ТА ЙОГО ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ
(огляд літератури)

1.1. Сучасні погляди на патогенез запалення в зоні опікової рани

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я опіки за частотою займають третє місце серед інших травм, а в деяких країнах – друге, поступаючись лише транспортним травмам [13, 35, 69, 160, 192].

Незважаючи на значні досягнення сучасної медичної науки, патогенез і лікування опіків залишаються актуальною і недостатньо вивченою проблемою. Розвиток технічного прогресу, широке використання хімічних речовин, які легко запалюються, вогненебезпечних газів, створення нових видів зброї значно збільшили частоту опіків у всьому світі, що досить часто мають летальні наслідки. Опікова травма є найважчою з усіх видів травматизму та характеризується не лише пошкодженням покривних тканин, а й супроводжується множинними та довготривалими порушеннями гомеостазу, що призводить до дисфункції органів і систем [39, 110, 126, 170, 182].

На XX з'їзді хірургів України (вересень 2000 р., м. Тернопіль) були запропоновані зміни до класифікації опіків, які наближують її до міжнародної [64, 65, 150]:

- I ступінь – епідермальні опіки (колишні I та II ступінь);
- II ступінь – дермальні поверхневі опіки (колишній III А ступінь);
- III ступінь – дермальні глибокі опіки (колишній III Б ступінь);
- IV ступінь – субфасціальні опіки (колишній IV ступінь).

Патологічні процеси, що відбуваються в організмі при опікових ураженнях, підпорядковані загальнобіологічним законам перебігу травматичних пошкоджень м'яких тканин, але при цьому мають свою

особливість. Згідно опису Джексона 1953 р., опікова рана ділиться на три зони: 1) зона некрозу або коагуляції; 2) зона стазу; 3) зона гіперемії.

У зоні некрозу, внаслідок дії високої температури відбувається пошкодження клітин, судин, відсутнє кровопостачання, проходить коагуляція білка та руйнування тканин. У зоні стазу, яка прилягає та оточує зону некрозу, відбувається сповільнення кровопостачання та мікроциркуляції за рахунок агрегації тромбоцитів та еритроцитів, що в результаті призводить до тромбозу, зупинки кровотоку, ішемії і, як наслідок, некрозу тканини. Зона гіперемії характеризується незначним пошкодженням клітин та судин, посиленою мікроциркуляцією за рахунок впливу місцевих рефлексів та медіаторів запалення, що утворюються при опіку [2, 19, 92, 124, 172].

Термічне пошкодження тканин переходить в класичну запальну реакцію, яка є причиною усіх мікроциркуляторних змін в опіковій рані та невід'ємною складовою частиною ранового процесу, що являє собою складний комплекс біологічних реакцій організму, який розвивається у відповідь на пошкодження тканин і скерований на їх загоєння [184, 186].

Фазовий перебіг ранового процесу відображено у великій кількості класифікацій. Для практичної роботи лікаря, у перебігу ранового процесу доцільно виділяти три послідовні фази: 1-а фаза – запалення, яка поділяється на 2 періоди – період судинних змін і період очищення рани; 2-а фаза – регенерація; 3-я фаза – організація рубця та епітелізація [42].

У 1-й фазі ранового процесу спостерігаються: зміна проникності судин з подальшою ексудацією; міграція лейкоцитів і інших клітинних елементів; набухання колагену, синтез сполучної речовини; ацидоз за рахунок кисневого голодування. Поряд з ексудацією відбувається всмоктування (адсорбція) продуктів розпаду тканин. Важливо підкреслити, що свіжі рани до моменту повного покриття їх грануляційною тканиною здатні всмоктувати токсини, бактерії. У 2-й фазі відбувається утворення грануляційної та формування сполучної тканини з новоутвореними капілярами. 3-я фаза відзначається трансформуванням ніжної сполучної

тканини в щільну рубцеву та починається епітелізація з країв рани. Наведена класифікація достатньо повно відображає основні етапи перебігу ранового процесу і дозволяє визначити патогенетично спрямоване лікування відповідно до фази загоєння рани [14, 29, 64, 178]. Усі фази ранового процесу тісно пов'язані між собою. У різних ділянках та шарах рани процеси запалення та проліферації проходять із різною швидкістю. Однак, послідовність зміни цих фаз залишається стабільною, кожній із них притаманні функціональні та морфологічні зміни, що відбуваються в рані та оточуючих тканинах [19, 193, 228].

Початковими ланками патогенезу ранового процесу є альтерація і ексудація. Альтерація судинної стінки супроводжується підвищенням її проникності, а альтерація нервових волокон характеризується порушенням провідності імпульсу до вазоконстрикторів, що призводить до нейропаралітичної артеріальної гіперемії. Пошкодження клітин проявляється порушенням структури та функції внутрішньоклітинних включень. Місцевий процес, викликаний впливом на тканину травматичного агента, включає більш або менш виразні пошкодження структури і функції клітин. Одними із перших клітинних органел, які реагують на пошкодження є мітохондрії, далі ендоплазматичний ретикулум та ядро і в останню чергу – лізосоми [201].

Внаслідок ураження мітохондрій сповільнюється або зупиняється клітинне дихання, посилюється гліколіз, падає концентрація макроергічних сполук, знижується активність іонної помпи плазматичних мембран. У вогнищі запалення розвивається тканинна гіпоксія, метаболічний ацидоз і, як наслідок, збільшується кількість позаклітинних молекул і виникає гіперосмія [11, 39, 208]. Гіпоксія та продукти первинної альтерації ініціюють вторинну альтерацію. Особливе значення в розвитку вторинної альтерації мають лізосомальні ферменти нейтрофілів, макрофагів і контактна полісистема білків крові [137, 162, 166, 222].

Лізосомальні ферменти порушують цілісність клітинних мембран і компонентів опорних тканин, як безпосередньо під впливом фосфоліпази,

колагенази, еластази і екзоглікозидази, так і опосередковано. Володіючи прооксидантними властивостями, вони стимулюють виділення медіаторів біогенних амінів опасистими клітинами, базофілами, тромбоцитами, компонентами системи білків плазми крові. В результаті цього відбуваються виділення медіаторів запалення, порушення локальної мікроциркуляції, зростання активності процесів перекисного окиснення ліпідів, активація протеаз і кінінової системи та порушення процесів обміну в тканинах [34, 41, 124, 212].

Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) є необхідною ланкою життєдіяльності кожної клітини. ПОЛ являє собою фізіологічний процес, що забезпечує в організмі фаго- і піноцитоз, синтез простагландинів, лейкотриєнів, холестерину, прогестерону. Цей механізм лежить в основі поновлення та перебудов біологічних мембран, регуляції їх складу, проникності і активності мембранозв'язаних ферментів. За своїм хімічним походженням перекисне окиснення ліпідів – це варіант вільнорадикального окиснення, реакціям якого підлягають всі без винятку сполуки, проте найбільш чутливими є ненасичені жирні кислоти, як вільні, так і у складі фосфоліпідів [30, 36, 211].

Вільнорадикальне окиснення є ланцюговим самоіндукуючим процесом безпосереднього переносу кисню на субстрат з утворенням перекисів, альдегідів і кетонів. Здебільшого ініціюють вільнорадикальне окиснення активні форми кисню. Сам по собі цей елемент загрози для клітини не несе, але внаслідок унікальності електронної структури кисню, його відновлення відбувається у декілька етапів з утворенням активних токсичних інтермедіатів, таких як перекис водню, супероксидний аніон, гідроксильні радикали та ін. [74, 140]. З'ясовано, що за фізіологічних умов в організмі постійно відбувається утворення активних форм кисню активованими макрофагами, моноцитами, нейтрофілами, ендотеліальними, гладком'язовими та іншими клітинами у процесі „респіраторного вибуху”

[126, 138]. Супероксиданіон внаслідок дії ферменту супероксиддисмутази перетворюється до перекису водню, який у свою чергу, у присутності двохвалентного заліза може модифікуватись до гідроксильного радикалу. Супероксиданіон може вступати у взаємодію з перекисом водню, що також призводить до утворення найактивнішого з ініціаторів вільнорадикального окиснення (ВРО) гідроксильного радикалу – продукту трьохелектронного відновлення кисню [127, 210]. Гідроксильний радикал відповідає за цілий ряд токсичних ефектів, особливо, у присутності металів перемінної валентності, серед яких максимальною здібністю активувати ВРО володіють іони заліза [211]. Необхідно відзначити, що в ініціації ВРО приймає також участь синглетний кисень, а всі вище перераховані проміжні метаболіти – продукти відновлення кисню – надзвичайно реакційноздатні і можуть самостійно запускати нові ланцюги радикальних реакцій [137]. У фагоцитах під впливом мієлогідроксилази із перекису водню можуть утворюватись синглетний кисень і ліпохлоранова кислота, яка також є надзвичайно токсичною сполукою і в подальшому перетворюється до різних хлорамінів за рахунок взаємодії з таурином і β -амінокислотами. Фізіологічний сенс утворення всіх вищеперерахованих сполук полягає у тому, що активні форми кисню є складовою частиною неспецифічної захисної системи організму проти патогенних мікроорганізмів, пухлинних клітин. Проте, нормальні клітини організму також можуть стати мішенню для активних форм кисню, наприклад, у ділянках гострого запалення [139, 148].

Реакціям ВРО за участю активних форм кисню підлягають амінокислоти, білки, вуглеводи, але як було вже сказано вище, для організму вирішальне значення має окиснення фосфоліпідів і неестерифікованих жирних кислот. У всіх неестерифікованих жирних кислотах міститься дивінілметанова структура, яка легко вступає в реакцію відриву водню від атому вуглецю в α -положенні від подвійного зв'язку, що призводить до

утворення стійких вільних радикалів, а у присутності кисню – до утворення перекисного радикалу, а потім і перекису [31, 70].

Гідроперекисний радикал і гідроперекиси ліпідів запускають нові ланцюги вільнорадикальних реакцій, що призводить до утворення „замкненого кола” і створює сприятливі умови для виходу процесу з під контролю захисних гомеостатичних систем, при чому, чим більший вміст у ліпідах поліненасичених жирних кислот (лінолева, ліноленова, арахідонова), тим вища швидкість їх переокиснення [105, 163]. Окрім цього необхідно відзначити, що ступінь пошкоджуючої дії кисню залежить також від парціального тиску і від наявності іонів металів перемінної валентності (головним чином, заліза), які здібні вступати до реакцій ініціювання, розгалуження і обриву ланцюгів вільнорадикального окиснення.

Первинні продукти ПОЛ – гідроперекиси, являють собою достатньо нестійкі сполуки, які підпадають під подальше окиснення з утворенням більш стійких вторинних продуктів: альдегідів, кетонів, спиртів і низькомолекулярних кислот (мурашиної, оцтової і масляної) [124]. Серед продуктів ПОЛ, що утворились внаслідок повторних атак окиснювачів на неестерифіковані жирні кислоти, ключове місце посідає малоновий діальдегід. Враховуючи, що основний субстрат ліпідної пероксидації – неестерифіковані жирні кислоти – є обов'язковим компонентом будь-якої біологічної мембрани, негативні наслідки стимуляції реакцій ПОЛ відображаються в першу чергу на стані всіх, без виключення, клітинних мембранах [107, 143].

Продукти ліпопероксидації проявляють цитотоксичну дію, пошкоджують біомембрани клітин і молекули ДНК, знижують вміст сульфідних груп, жиророзчинних гормонів, вітамінів, сприяють виділенню медіаторів запалення. Як наслідок, посилюються процеси руйнування мукополісахаридів, знижується активність фіброгенезу та проліферації фібробластів, сповільнюється синтез оксипроліну і РНК, що призводить до

збільшення тривалості стадій запалення та сповільнення процесів проліферації в рані [137, 140, 168].

Пильна увага до системи ПОЛ з'ясувала її важливе значення при стресі, запальних і алергічних процесах, термічних та радіаційних ураженнях, загальних реакціях і фізичних навантаженнях. Це дозволило зробити висновок про неспецифічну участь ПОЛ у патогенезі багатьох захворювань [1, 17, 149]. Накопичений досвід, що базується на дослідженнях співвідношень антиоксидантних і прооксидантних параметрів у випадку розвитку різних хвороб, дозволив напрацювати уяву про антиоксидантний статус і використати критерії останнього при оцінці важкості патологічного процесу на фоні різних захворювань. З літературних джерел відомо, що особлива увага багатьох дослідників спрямована до хвороб, розвиток яких пов'язаний з мембранодеструктивними процесами. В своїх працях вони встановили значну активацію ПОЛ у хворих з термічними ураженнями, яка проявлялася зростанням концентрації первинних та вторинних продуктів ПОЛ і довели їхній негативний вплив на метаболічні процеси в організмі [44, 60, 71, 99, 124, 207]. Ці дослідження залишаються цікавим і актуальним напрямком сучасної клінічної медицини.

Дії системи ВРО ліпідів протистоїть потужна багатокomпонентна антиоксидантна система (АОС). Вона виконує захисну функцію, надійно обмежуючи ПОЛ на всіх етапах, починаючи на стадії утворення активних форм кисню. До компонентів АОС відносяться: акцептори електронів – вітамін Е і K_3 ; акцептори O_2^{\bullet} – метионін, цистеїн; пастки OH^{\bullet} – аліфатичні спирти, а також фактори знешкодження токсичних продуктів ПОЛ – іонол, супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза, глутатіонпероксидаза, хелатори металів перемінної валентності [6, 148, 167]. До факторів антиоксидантного захисту необхідно також віднести достатній рівень ліпідних компонентів мембран, суворо визначений спектр мембранних складових, а також їх упорядковану організацію, що не дозволяє реакціям ПОЛ вийти з-під

контролю, але необхідно пам'ятати, що ослаблення будь якої ланки АОС, яка нічим не компенсується, активує ПОЛ [32, 132, 191].

Важливе місце в системі антиоксидантного захисту посідають білки плазми крові. Вони інактивують активні форми кисню, а також зв'язують іони перемінної валентності, що ініціюють утворення активних форм кисню, що дало змогу сформувати уявлення про антиоксидантну білкову буферну систему, яка забезпечує, в першу чергу, захист на рівні еритроцитів, запобігаючи їх гемолізу внаслідок активації ПОЛ [45, 169, 173].

У позаклітинному середовищі активність антиоксидантних ферментів дуже низька, але при цьому плазма володіє потужним антиоксидантним потенціалом, який проявляють альбумін, імуноглобуліни, церулоплазмін, фракції α_2 - і β -глобулінів і, у меншій мірі, трансферин, гаптоглобулін і сироваткова супероксиддисмутаза. У надто низьких концентраціях ці білки практично не впливають на швидкість перебігу реакцій ПОЛ, але в середніх концентраціях, які проте не досягають фізіологічних, вони добиваються повного захисту еритроцитів і легко окислювальних компонентів плазми від окислення [12, 17, 176].

Провідне місце серед білків плазми посідає альбумін, який несе основну антиоксидантну функцію у плазмі крові. Цей білок окрім виконання ролі основного онкотичного компоненту плазми, виконує транспортну функцію, здатен асоціювати з різними лігандами і впливати на транспортування їх крізь мембрану. Серед сполук, що транспортуються альбуміном, провідне місце посідає білірубін, іони кальцію, різні лікарські препарати та жирні кислоти, для яких у молекулі альбуміну є специфічні незалежні центри з високою вибірковістю і недоступністю для інших лігандів [37, 187, 188]. Зворотнє зв'язування альбуміном і іншими білками крові біологічно активних речовин дуже тісно пов'язано з нативним станом відновлених тіолових і дисульфідних угруповань на поверхні молекул білка і у центрах зв'язування. Зв'язуючи жирні кислоти, і насамперед ненасичені

жирні кислоти, альбумін запобігає їх пероксидації. З другого боку, альбумін здатен зв'язувати і тим самим інактивувати продукти їх окиснення, таким чином захищаючи клітинні структури від пошкоджуючої дії продуктів ПОЛ при патології [195, 202].

Найбільш важливими антиоксидантними ферментами організму є супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КА) і глутатіонпероксидаза. СОД знешкоджує супероксиданіон шляхом його дисмутації і перетворення до перекису водню і триплетного кисню, не потребуючи ніяких кофакторів. Супероксиданіон, як вже зазначалось ініціює ПОЛ у мембранах, пошкоджує ДНК, окиснює відновлені тіолові групи білків, інактивує ферменти, деполімерізує полісахариди і т.п., тому СОД захищає аеробні організми від пошкоджуючої дії супероксида. Фермент можна знайти у декількох внутрішньоклітинних компартментах. Цитозольний фермент складається із двох подібних субодиниць, які містять по одному іону Cu^{+2} і Zn^{+2} . СОД характерна для всіх основних тканин аеробів, мітохондріальний фермент знайдено у бактерій і він містить іони Mn^{+2} [18, 169, 207].

Каталаза являє собою гемопротейд, який містить 4-и гемові групи. *In vivo* каталаза розщеплює перекис водню, що утворюється внаслідок дії аеробних дегідрогеназ. Каталаза присутня у крові, кістковому мозку, мембранах слухових оболонок, нирках, печінці, мозку і т.п. У багатьох тканинах знайдені мікротільця, пероксисоми, які багаті на аеробні дегідрогенази і каталази. До ферментів, що забезпечують утворення перекису водню, окрім пероксисомальних ферментів, відносяться також мітохондріальні і мікросомальні системи транспорту електронів [144, 209, 218].

Глутатіонпероксидаза каталізує реакцію розщеплення перекису водню, або гідроперекисів ненасичених жирних кислот при допомозі відновленого глутатіону і тим самим захищає ліпіди мембран і гемоглобін від окиснення перекисами, забезпечуючи цілісність органел, запобігаючи тим самим

розвитку патологічних станів при дії фізичних, хімічних чи інших стресових факторів. Діяльність глутатіонпероксидази нерозривно зв'язана з роботою іншого фермента – глутатіонредуктази, що каталізує реакцію відновлення окисненого глутатіону за допомогою відновленого NADP, що утворюються у процесі пентозофосфатного шляху обміну вуглеводів [140, 148, 209].

Експериментальними та клінічними дослідженнями доведено, що внаслідок термічної травми відбувається зниження ферментативної активності АОС, яке має коливальний характер і на фоні цього посилюються процеси ПОЛ [1, 15, 36, 107, 124, 213].

Унаслідок термічного ураження, виникає виражений больовий симптом, формується зона некрозу, сповільнюється кровопостачання та порушується мікроциркуляція тканин у рані, що призводить до падіння парціального тиску кисню, розвитку гіпоксії та метаболічного ацидозу [22, 62, 72, 155]. У результаті порушення мікроциркуляції та підвищення судинної проникності відбувається вихід рідкої частини крові, що клінічно спостерігається у вигляді набряку м'яких тканин, та її формених елементів, що є основою лейкоцитарної інфільтрації вогнища запалення, що часом сягає 50 % добової продукції фагоцитів. Типи клітинних взаємодій змінюються в різні фази запалення та регенерації, а їх взаємодія здійснюється через клітинні медіатори та шляхом прямих міжклітинних контактів [19, 42].

Загалом розрізняють п'ять бар'єрів протизапального захисту в організмі, що відповідають за поглинання і перетравлювання мікроорганізмів: нейтрофільний, гістоцитарний, фібробластичний, лімфатичний та генералізований захист [2, 161, 174].

Фагоцитарна система, яка представлена мікро- та макрофагами, а також регуляторами їх функцій, є одним з найважливіших механізмів протизапального захисту макроорганізму [58, 59, 177].

В період мікроциркуляторної реакції провідна регуляторна роль належить опасистим клітинам, які здатні активно взаємодіяти із судинними

елементами, еозинофілами, нейтрофілами, лімфоцитами, макрофагами, системою гемокоагуляції, імунною системою та ін. [72, 199, 212]. Важливу роль відіграють тромбоцити, генеруючі тромбоксани і тромбоцитарний активуючий фактор [175, 200, 219, 231]. Розлади мікроциркуляції та підвищення судинної проникності обумовлюють вихід у тканини рідкої частини крові та її формених елементів, що лежать в основі нейтрофільної лейкоцитарної інфільтрації вогнища запалення. Нейтрофіли утворюють “авангардну лінію захисту організму” у ділянці первинного ушкодження. Вони мігрують із судин у перші години і досягають максимуму на 1-у –2-у добу. Нейтрофіли фагоцитують мікроорганізми, секретують антибактеріальну субстанцію, лізоцим, кислі лізосомальні гідролази, колагеназу і еластазу. Все це сприяє очищенню рани та підготовці наступного етапу загоєння. Таким чином, нейтрофіли, не тільки фагоцитують тканини, що омертвіли, та мікроорганізми, а також підтримують каскад запально-репаративного процесу [77, 227, 238].

У подальшому, важлива роль в перебігу першої фази запального процесу належить макрофагам. Вони разом з нейтрофілами володіють бактерицидним і детоксикуючим ефектами, очищують рану від продуктів розпаду клітин та міжклітинного матриксу шляхом фагоцитозу та позаклітинного лізису при допомозі ферментів: колагенази, еластази, нейтральних протеїназ, кислих гідролаз та ін., стимулюють проліферацію фібробластів за рахунок секреції ряду біологічно активних речовин [2, 21, 164, 188, 199]. Макрофаги виконують важливу роль в поєднанні ексудативної та проліферативної фаз запалення, регенерації та фіброзу. Вони, спільно з нейтрофілами, обмежують уражену ділянку тканин, формуючи нейтрофільно-макрофагальний бар'єр. Спочатку в ньому преважають нейтрофіли, надалі клітинний склад цього бар'єру змінюється на переважно макрофагальний, а далі на макрофагально-фібробластичний, що передусе формуванню грануляційної тканини. Макрофаги стимулюють проліферацію

фібробластів секрецією біологічно активних речовин – цитокінів та факторів росту [42, 162, 166, 221, 232].

Окрім макрофагів, у розвитку фібробластичної реакції значний внесок належить лімфоцитам, особливо Т-клітинам, які синтезують цілу низку факторів, як інгібуючих, так і активуючих проліферацію та функціональну активність фібробластів [182, 209, 223]. Все це свідчить про регуляторну роль лімфоцитів в процесі розвитку сполучної тканини, яка здійснюється ними у взаємодії з макрофагами: монокіни активують лімфоцити, а лімфокіни – макрофаги, стимулюючи у обох популяціях вироблення відповідних факторів для фібробластів [52, 59, 201, 217].

Значну роль у відновних процесах сполучної тканини відіграють фібробласти, які є головними еффекторами репаративної фази, ними генеруються основні елементи строми та мікроциркуляторної одиниці. Вони є основними клітинами, що діють в наступній стадії запалення. Синтез глікозаміногліканів та колагену є важливою функцією фібробластів. Утворення в ділянці ранового дефекту молодшої сполучної тканини починається з продукції клітинами проміжної субстанції, а формування ранового регенерату – з накопичення в рані несольованих форм глікозаміногліканів типу гіалуронової кислоти та хондроїтину, що створює умови для проліферації фібробластів і утворення колагену. Паралельно проліферації фібробластів відбувається новоутворення судин. При цьому розвиток мікросудин в грануляційній тканині здійснюється синхронно із проліферацією фібробластів і завжди у супроводі останніх [160, 206, 215, 238].

У рані формується грануляційна тканина, яка містить капіляри, дрібні кровоносні судини та різні клітинні елементи. У поверхневих її шарах знаходяться нейтрофіли, макрофаги, а в глибині тканини переважають фібробласти, зустрічаються також гістіоцити та опасисті клітини [19, 96, 235, 237].

Дослідженнями багатьох авторів встановлено, що термічна травма призводить до зниження захисних механізмів організму, що пов'язане з мікроциркуляторними розладами й порушеннями бар'єрних функцій шкіри та інших контактних тканинних структур [4, 10, 20, 23, 27, 123]. Унаслідок порушення цілісності шкіри, відбувається денатурація клітин шкіри та протеїнів, що мають вплив на імунну систему. Компоненти опікового ексудату знижують місцевий імунітет за рахунок порушення опсонізації бактерій, пригнічення проліферації лімфоцитів, хемотаксису та міграції нейтрофілів. Накопичення токсинів гістогенного та мікробного походження, розвиток інтоксикаційного синдрому при термічних ураженнях призводить до наростання гематологічних порушень [13, 24, 39, 41, 45, 57, 103]. Незважаючи на це, стан компенсаторно-захисних механізмів, включаючи рівень активації чи пригнічення функціональної активності лейкоцитів, зміни їх функціонального стану при міграції в зону опіку, що відіграють основну роль при формуванні реакцій запалення, залишаються недостатньо вивченими.

Опіковий струп та тканинний детрит, що утворився внаслідок некрозу клітин, кровоносних судин та білка, стають поживним середовищем для патогенних мікроорганізмів, а це призводить до виникнення гнійно-запальних ускладнень, що зумовлює поглиблення некрозу та сповільнення росту грануляційної тканини та загоєння рани [2, 179, 185, 216].

З літературних джерел відомо, що опікове ушкодження призводить як до місцевих, так і до загальних порушень в системах обміну речовин, природної резистентності, імунологічної реактивності. Головною причиною даних порушень є розвиток синдрому ендогенної інтоксикації [40, 41, 45, 53, 63, 129]. При термічному ураженні в крові накопичуються циркулюючі імунні комплекси (ЦК) внаслідок порушення природних механізмів їх виведення із організму обпеченого. Це є причиною порушення нормальної функціональної активності імунокомпетентних клітин, а також їх токсичного ушкодження. Опікова травма призводить до виникнення стану вторинної

імунологічної недостатності, при якому особливо пригнічуються клітинні механізми захисту [64, 78, 105, 125].

Незважаючи на постійно удосконалювальні методи та засоби лікування ран м'яких тканин, кількість ускладнень, гнійно-запального характеру, залишається високою. Це обумовлено зміною реактивності макроорганізму під впливом забруднення зовнішнього середовища, іонізуючого випромінювання, широкого застосування антибіотиків, кортикостероїдів, цитостатиків і імунодепресантів [123, 142, 147, 203, 214].

На виникнення та перебіг гнійно-запальних ускладнень впливає взаємодія трьох основних факторів: патогенність мікрофлори, резистентність макроорганізму та наявність „вхідних воріт”.

Опікова рана є не лише вхідними воротами, а й джерелом інфекції. Мікрофлора та токсичні продукти її життєдіяльності проникають у кров'яне русло з опікових ран і зумовлюють поглиблення некрозу, гальмують процеси регенерації, сприяють надмірному утворенню рубця, а також перешкоджають своєчасному й успішному виконанню автодермопластики. Боротьба з інфекцією опікових ран, прискорення процесів регенерації залишаються важливим завданням в медицині [179, 181, 200, 204].

Не завжди патогенна мікрофлора, проникаючи в рану, здатна викликати в ній розвиток інфекційного процесу. Кількість мікробів, яка викликає розвиток гнійного запалення, повинна бути більше 10^3 мікробних тіл в 1г тканини. Це число може бути значно меншим при наявності в рані некротичних тканин, сторонніх тіл, а також при порушенні захисних реакцій, іннервації, мікрогемодинаміки, гуморальних і клітинних факторів природної резистентності та імунологічної реактивності організму [14, 42, 225, 234].

Мікробний пейзаж інфікованих ран різноманітний і варіабельний. За даними літератури, виділення з опікових ран найчастіше містять стафілококи (майже в 75 % випадків), рідше – синегнійну паличку (близько 50 %) і значно рідше інші мікроорганізми [2, 27, 232, 236]. Під час розвитку та

перебігу запального процесу склад мікрофлори змінюється. Причинами зміни видів мікроорганізмів є різні за характером та інтенсивністю багаточисленні фактори загального та місцевого порядку: характер ранового субстрату та умови мікроциркуляції в рані, зміни її рН-середовища, процеси аутоалергізації, імунологічна реакція організму, лікувальні заходи та суперінфекція [16, 82, 215, 229, 239]. За останні роки постійно змінюється чутливість мікроорганізмів до препаратів, що широко застосовуються в хірургії. Тому для якісного місцевого лікування ран м'яких тканин необхідний диференційний підхід до лікарських препаратів, з врахуванням виду збудника, його чутливості до препарату та фази перебігу ранового процесу [25, 128, 141, 165].

1.2 Фармакотерапія запального процесу при термічному ураженні м'яких тканин: досягнення, не вирішені питання та шляхи корекції

Тривалість перебігу ранового процесу обумовлюється характером рани, її розміром, локалізацією, ступенем інфікування, станом імунного захисту організму та методом лікування. Враховуючи вищевикладені патогенетичні аспекти головним принципом сучасного підходу до лікування ран повинен бути комплексний вплив на основні ланки патологічного процесу, в якому важливе місце відводиться місцевому впливу на уражену опіковим процесом тканину [1, 13, 21, 29, 53, 145, 229].

При поверхневих опіках I, II, III-A ступенях відновлення шкірних покривів і добрий функціональний результат насамперед залежать від своєчасного і патогенетично обгрунтованого лікування, яке повинно включати: можливе раннє хірургічне видалення некротичних тканин; відновлення мікроциркуляції для збереження тканин паранекротичної зони; захист від інфікування та пригнічення росту мікрофлори; стимуляцію процесів регенерації (епітелізації або розвитку грануляційної тканини); при

значних опіках оперативне пластичне відновлення шкірного покриву [120, 135, 141, 144, 156].

Раннє хірургічне лікування, застосування некролітичних ферментів, аутодермопластики сітчастими трансплантатами, ало- та ксенопластики, антибактеріальних методів лікування та використання різноманітних сучасних розчинів, мазей, аерозолів та інших препаратів дозволяє прискорити лікування ранової поверхні [4, 11, 35, 37, 40, 62].

На сьогодні існує значний арсенал медикаментозних препаратів для місцевого лікування ран м'яких тканин, які суттєво підвищують ефективність лікування та забезпечують профілактику ранових ускладнень [21, 75, 79, 222].

Для лікування опікових ран в амбулаторних і стаціонарних умовах найбільш давнім способом є використання контактних лікарських засобів на ранову поверхню у вигляді пов'язок. Зовнішній спосіб застосування ліків дозволяє максимально забезпечити концентрацію лікарських речовин у вогнищі запалення та є найбільш безпечним, оскільки дає можливість, при необхідності, легко змінювати дозу [14, 90, 109, 135]. При цьому пов'язка певною мірою захищає опікову ранову поверхню від інфікування, утримує на рані лікарські препарати, здатна всмоктувати рановий ексудат. Вибір лікарських засобів визначається площею та глибиною опіку, стадією перебігу ранового процесу, характером інфікування рани [3, 13, 28, 165, 198].

Найважливішою ланкою місцевого лікування хворих з термічною травмою є вплив на мікрофлору. Опікова рана потребує антибактеріальної терапії з моменту виникнення до повного її закриття, оскільки колонізація мікроорганізмами з розвитком гнійного запалення призводить до важкої інтоксикації та зростання глибини опікових уражень, лізису і відторгнення аутодермотрансплантатів [89, 158, 196, 212, 220, 239].

Формування в ранах асоціацій мікроорганізмів, що володіють різною чутливістю або резистентністю до антибактеріальних препаратів, значно

утруднює вибір лікарських засобів для місцевого лікування опікових ран [91, 108, 122, 141, 236].

Традиційними препаратами для місцевого лікування ран є антибактеріальні препарати. Проте широке застосування антибіотиків призвели до виникнення полірезистентних до антибіотиків штамів бактерій та значного поширення внутрішньолікарняних інфекцій [61, 185, 188, 203]. На сьогодні багато провідних дослідників вважають, що для профілактики та лікування місцевих інфекційних процесів потрібно віддати пріоритет новим антисептичним препаратам [25, 27, 28, 38, 60, 76].

Після місцевого застосування антисептиків значно знижується кількість збудників в рані. На завершальному етапі наступає повне очищення рани від збудників під впливом факторів неспецифічного імунітету [68, 75, 79, 93, 190].

Проте використання цих препаратів для місцевого медикаментозного лікування без врахування фази ранового процесу, виду патогенної мікрофлори має ряд недоліків. Більшість традиційних водних або спиртових розчинів, що застосовують для лікування у першій фазі ранового процесу, не відповідає сучасним вимогам, що обумовлено односпрямованою дією: протимікробною (хлоргексидин, димексид, діоксидин, бетадин та інші), тільки осмолярної (гіпертонічні розчини, однокомпонентні сорбенти), або некролітичною (ферменти). Через 2–3 години пов'язки з цими препаратами висихають та інактивуються рановим ексудатом. Це зумовлює низьку якість лікування ран, значні додаткові витрати на системні антибіотики, знеболювальні засоби та перев'язувальні матеріали [7, 14, 15, 21]. Комбіновані розчини з протимікробною активністю на спиртових, водних або жирових основах (йодгліцерин, флуокорцин, ектерицид), в залежності від складу того чи іншого препарату також мають багато недоліків, які притаманні попередній групі препаратів – недостатній спектр протимікробної активності, обмежені можливості при лікуванні масивних

ран, необхідність комбінувати з системними засобами лікування, що вносить додаткові незручності при застосуванні [51, 135, 145, 175].

Тому для ефективного місцевого лікування ран різного генезу застосовують комбіновані препарати на мазевій основі. В склад мазей можна вводити різні гідрофільні та ліпофільні лікарські препарати, регулювати за рахунок основи вивільнення, біодоступність та глибину проникнення активних речовин [14, 15, 25, 38, 156, 158].

Сучасні мазі для місцевого лікування ран поділяють на монопрепарати та комбіновані препарати. В свою чергу кожна група поділяється в залежності від основи: препарати на жировій та гідрофільній основах. Застосування препаратів на жирових ланолін-вазелинових або емульсійних основах (мазі „Синтоміцинова”, 10 % Метилурацилова, та інші) під час першої фази ранового процесу протипоказано, оскільки гідрофобна основа порушує відтік ексудату, не забезпечує достатнього вивільнення активних діючих речовин (протимікробних, знеболюючих, протизапальних та ін.) з препарату, не сприяє проникненню антибіотиків в глибину тканин, де знаходяться мікроорганізми. Це веде до суттєвого зниження ефективності лікувального процесу, зростання термінів госпіталізації, додаткових витрат на лікувальні засоби [73, 128, 130, 221]. Накладення пов'язок з мазями на жировій основі показане у запально-регенераторній і регенераторній фазах перебігу ранового процесу, коли відсутні значні виділення ексудату з рани і необхідно захистити гранулюючу ранову поверхню. Вийняток становлять опіки кистей рук, коли „парниковий ефект” необхідний для збереження і захисту від висихання тканин паранекротичної зони і рухових структур пальців [35, 65, 79, 110, 125].

Враховавши всі недоліки монопрепаратів, в останні роки, для підвищення ефективності лікування та профілактики гнійних ускладнень ран широко впроваджуються в хірургічну практику лікарські засоби, які створено на принципово нових комбінованих гідрофільних основах, які є водорозчинною сумішшю розчинників та полімерів поліетіленоксиду-400

(ПЕО-400), 1,2-пропіленгліколю та проксанолу-268 і мають виражену адсорбуючу активність, багато разів перевищуючу по силі (до 20 разів) та за тривалістю (в 10 разів) дії активність 10 % розчину хлориду натрію; низьку токсичність; добру проникність в тканини; відсутність подразливої дії; достатню пластичність, легкість нанесення на поверхню; добру розчинність для більшості антибактеріальних препаратів в ПЕО, що супроводжується підвищенням їх дисперсності; здатність посилення антимікробного ефекту та розширення спектру дії [14, 21, 135, 156].

Сучасні препарати на вдосконалених водорозчинних синтетичних основах (розчин Діоксизолу, мазі Офлокаїнова, Нітацидна, Мірамістинова, Стрептонітолова, Метилурацилова, гель Пантестин, 2 % мазь тіатриазоліну та ін.), наділені високими осмотичними властивостями, забезпечують глибоку проникність діючих речовин у пошкоджені тканини. До їхнього складу введені різні антимікробні препарати, анестетики, препарати, що стимулюють репаративні процеси в рані. Ці препарати наділені вираженими протизапальними властивостями та можуть застосовуватись у 1-й та 2-й фазах ранового процесу [48, 61, 79, 85, 101, 130, 158].

Останнім часом в медицині набуло поширене значення профілактичне та терапевтичне використання пробіотиків та еубіотиків для корекції дисбактеріозу в організмі так і в опіковій рані [27, 88, 193, 204].

Для місцевого впливу на рану, після ранньої некректомії, широко використовують ранові покриття та біологічні плівки (“Біодеспол-ЛВ”, “Процел-супер”, “Процел-ПА”, “Inerpan”, „ММ-гель”), клітинні аутоотрансплантати із шкіри людини, культивовані фібробласти, дермальний еквівалент (шар фібробластів на фібриновому гелі) та живий еквівалент шкіри, який складається із шару кератиноцитів, біодеградуючої сітки і шару фібробластів, ліофілізовані ксенодермотрансплантати, нанодисперсні феромагнетичні порошки та ін. При лікуванні відзначалася виразна стимуляція процесів регенерації та протизапальна дія [4, 10, 33, 37, 77, 82].

Також відзначається поширене застосування різних видів дренуючих сорбентів і біологічно активних композицій на їх основі, які забезпечують стабільний дренуючий ефект протягом усього часу контактування з рановою поверхнею, запобігають утворенню кірок, значно зменшують всмоктування екзо- та ендотоксинів, знижують больові відчуття в рані [29, 103, 177, 213]. Високоєфективним в лікуванні опікових ран, які загоюються вторинним натягом, є використання пов'язок з аеросилом, нанесеним шаром товщиною в 2–3 мм.

Позитивний вплив на перебіг ранового процесу мають і фізичні методи лікування [19, 34, 51, 90, 108, 122].

З метою корекції дисбалансу в прооксидантно-антиоксидантній системі в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани, широке застосування знайшли природні та синтетичні антиоксидантні препарати (аскорбінова кислота, токоферол), засоби із супероксиддисмутазою активністю (орготейн, комплекси міді, D-пеніциламін), речовини, які зв'язують вільні радикали (ДМСС, ліпоева кислота, дифенілізобензофуран), що сприяють відновленню ушкоджених клітинних структур за рахунок мембраностабілізуючої дії на рівні клітин і тканин, посилюють антиоксидантні властивості організму, в результаті чого знижують інтенсивність розвитку запального процесу, та сприяють швидшому загоєнню ран [15, 30, 38, 44, 92, 124, 148, 157].

Слід зазначити, що препарати для місцевого лікування ран не позбавлені недоліків: більшості з них притаманна вузько спрямована дія на окремі ланки патологічного процесу; широке застосування антибактерійних препаратів, призвело до виникнення полірезистентних штамів патогенних мікроорганізмів; не володіють достатнім знеболювальним ефектом; слабо виражені некролітичні властивості; можливі алергічні реакції; можуть призводити до пригнічення росту грануляційної тканини; також відсутня виражена антиоксидантна та імуностимулювальна дія що призводить до негативного впливу на ранозагоювальний процес [21, 135, 145].

Для вирішення вищеподаних проблем велике значення має впровадження в клінічну практику, для місцевого лікування ран м'яких тканин різного генезу, нових фармакологічних засобів комплексної дії, що мають виражений коригувальний вплив на неспецифічну та специфічну реактивність організму. Таким вимогам відповідає композиційна суміш на основі похідних γ -кротонолактону та карнозину (Патент України № 67966 А від 15.07.2004 р. „Композиційна суміш на основі похідних γ -кротонолактону та карнозину”). Вона є малотоксичною, має високий рівень біотрансформації, не акумулюється в організмі, наділена вираженими протизапальними, антиоксидантними, антимікробними, регенерувальними властивостями [5, 7, 96, 97].

Дані літератури вказують, що активне вивчення γ -кротонолактону, який є продуктом окиснення фурфуролу, проводилося у 70-х роках ХХ століття. В результаті проведення попередніх хіміко-біологічних досліджень, С. Г. Геворкяном (1978 р.) було встановлено, що кротонолактон являє собою малотоксичну суміш лактону та кислот (бурштинової, малеїнової, фумарової, мурашиної) та має низькі місцево подразнюючі та резорбтивні властивості. Своє застосування кротонолактон знайшов у сільському господарстві, як пестицидний та стимулювальний засіб під патентною назвою "Кавказ", що використовувався для обробки зерен ячменю, кукурудзи, рису. Ці заходи дали змогу підвищити сходи рослин на 20–35 % та прискорити дозрівання на 5–7 днів, та підвищити їх стійкість [93].

Антимікробні та стимулювальні властивості похідних кротонолактону були використані у препаратах "Дон-1" та "Дон-1R", що застосовувались для лікування аеромонозу (рибної краснухи) та зяберного некрозу ставкових риб, та як засобу підвищення резистентності організму риб в зимовий період. Також ці препарати використовували з профілактичною метою для припинення процесу заростання ставків водоростями [47, 56].

Другою хімічною речовиною органічного походження, що привернула нашу увагу, був карнозин. Ця речовина була відкрита в 1900 році

В.С. Гулевичем та С. Амираджиби в екстракті, отриманому з скелетних м'язів. За своєю хімічною структурою карнозин є дипептид (β -аланілгістидин), який складається із амінокислот (β -аланіл та L-гістидина).

Вивченню біологічних властивостей карнозину були присвячені наукові дослідження учня В. С. Гулевича – С. Е. Северина та його школи (1952 р.) [16]. Внаслідок багаточисленних досліджень було виявлено, що карнозин як природний дипептид, має здатність виконувати функцію гідрофільного внутрішньоклітинного антиоксиданта, яка відображається в його активному безпосередньому зв'язуванні з перекисем водню, у пригніченні аскорбатзалежного вільнорадикального окиснення ліпідів, безпосередній взаємодії з первинними продуктами перекисного окиснення ліпідів, пероксидним радикалом, гіпохлорид-радикалом і синглетним киснем та захищає клітинні мембрани від токсичного впливу вільних радикалів, важких металів та активних форм кисню [17, 18].

Завдяки своїм антиоксидантним властивості карнозин успішно застосовували при лікуванні ішемічних інсультів головного мозку [6, 32, 146, 168], як антиішемічний препарат в кардіології, що проявляє геропротекторні властивості [118, 211], в комплексі інтенсивної терапії в післреанімаційному періоді [16]. Також з позитивним результатом його застосовували при лікуванні алкогольної невропатії [167], черепно-мозкових травмах [6, 169], токсичних уражень печінки [31], гематологічних захворювань [70, 143].

В літературі зустрічаються дані про застосування карнозину в якості антиоксидантного препарату для корекції перебігу ранового процесу, що призводило до пришвидшення термінів загоєння ран, зниження утворення продуктів ПОЛ [18]. Дослідженнями Е. В. Тихомирова встановлено, що вплив карнозину на культуру легеневих ембріональних фібробластів людини, призводить до внутрішньоклітинного збільшення рН, яке в свою чергу стимулює перехід клітини в S-фазу та наступний її поділ, тим самим активує їх проліферацію.

Так, як карнозин є хімічно нестійкою речовиною і швидко руйнується в організмі під дією ферменту карнозінази, було запропоновано використовувати його цинковмісний хелатний комплекс, який має більш виражені фармакологічні властивості та є стійкішим до впливу даного фермента [93].

Таким чином, провівши аналіз огляду літератури можна зробити висновок, що незважаючи на значні успіхи у вивченні патогенезу термічного запального процесу, на сьогодні актуальними залишаються питання, які стосуються комплексного вивчення впливу термічної травми на функціональний стан прооксидантної, антиоксидантної та імунної систем, неспецифічну реактивність організму та структурні зміни в м'яких тканинах при розвитку запалення в опіковій рані.

Також провідне місце посідають розробка та впровадження в клініку нових ефективних методів хірургічного та медикаментозного лікування опікових ран. Проводиться активний пошук нових фармакологічних препаратів, для місцевого лікування ран м'яких тканин різного генезу, до яких висувають вимоги комплексного впливу як на мікрофлору рани, так і на патофізіологічні механізми запалення та регенерації.

В доступній нам літературі немає жодних даних про вплив на ці показники, в умовах даної патології, препаратів на основі γ -кроднолактону та Zn-карнозину, а наведені вище фармакологічні властивості даної суміші відповідають стратегії патогенетичного лікування опікових ран м'яких тканин. Тому це стало підставою для проведення даного наукового дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Модель експериментальної опікової рани та розподіл тварин на групи

Дослідження на лабораторних тваринах проводилися при дотриманні принципів біоетики у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЄС (1986), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001). Комісією з питань біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 2 від 23 лютого 2009 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Експериментальні дослідження проводились на базі віварію Львівського державного науково-дослідного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок. Усі тварини утримувались на стандартному раціоні згідно з санітарно-гігієнічними нормами та вимогами GLP [46]. Усі больові маніпуляції та евтаназія тварин здійснювались під каліпсоловим наркозом (0,03 г/кг внутрішньом'язово).

З метою раціонального подання та інтерпретації одержаних результатів ми умовно виділяли два періоди розвитку запалення в зоні опікової рани – ранній і пізній. Ранній період охоплював 2-у, 3-ю і 5-у доби, пізній – 8-у, 10-у і 12-у доби.

Модель експериментальної опікової рани м'яких тканин (ОР) III-ступеня відтворювали згідно стандартної методики Венцлюса І. В. (1989) в модифікації Конькова Д. Г. (2005) [23, 69]: на заздалегідь депільовану

міжлопаткову ділянку шкіри тварин, під внутрішньом'язовим каліпсоловим наркозом у дозі 0,03 г/кг маси тіла проводиться аплікація гарячої металеві пластинки діаметром 20 мм, з визначеною температурою 200 °С при експозиції 10 сек (рис. 2.1.).



Рис. 2.1. Експериментальна стандартна опікова рана на спині щура.

У ході виконання науково-дослідної роботи експериментальні дослідження проводились на 195-и білих нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г., поділених на 3 дослідні групи:

- дослідна група № 1 – інтактні (контроль) (15 особин);
- дослідна група № 2 – щурі (90 особин) з експериментальними опіковими ранами, котрі гоїлися самостійно без лікування (2-а, 3-я, 5-а, 8-а, 10-а і 12-а доби, по 15 тварин на термін);
- дослідна група № 3 – щурі (90 особин) з експериментальними опіковими ранами, яких лікували засобом „Кротозин” (2-а, 3-я, 5-а, 8-а, 10-а і 12-а доби, по 15 тварин на термін).

Тваринам третьої групи проводилась щоденна одноразова аплікація засобу „Кротозин” на ділянку опікової рани (рис. 2.2.).

Виведення тварин з досліду проводили у відповідні до умов експерименту терміни шляхом передозованого внутрішньоочеревинного каліпсолового наркозу шляхом декапітації на 2-у, 3-ю, 5-у, 8-у, 10-у та 12-у доби. Для подальших досліджень брали кров та м'які тканини ділянки

опікової рани, шляхом висікання ділянки рани по її краю з забором незначної кількості здорових тканин (рис. 2.3.).



Рис. 2.2. Аплікація засобу „Кротозин” на зону опікової рани.



Рис. 2.3. Висікання досліджуваної ділянки.

2.2. Біохімічні методи дослідження

2.2.1. Отримання гомогенатів м'яких тканин. Об'єктом дослідження були тканини зони опікової рани, отримані шляхом висічення через 1–2 хв після забою тварин. Впродовж 5–6 хв їх зберігали в морозильній камері, далі їх обезкровлювали багаторазовою перфузією охолодженим фізіологічним розчином за допомогою голки і шприца, і дрібно подрібнювали ножицями. Подрібнену тканину зважували і клали у скляний гомогенізатор з тефлоновим пестиком (МРТУ – 42 1505-63). Для попередження нагрівання під час гомогенізації склянку гомогенізатора

ставили у мішечок з кусочками льоду. Гомогенізацію тканини проводили впродовж 30–50 с, роблячи декілька рухів склянкою ввверх і вниз; швидкість обертання пестика 800–900 об/хв. Середовищем для гомогенізації був охолоджений 5 мМ трис-НСL буфер рН 7,4, при чому кінцеве розведення гомогенату становило 1:9. Отриманий тканинний гомогенат фільтрували через 2 шари марлі в пробірки для центрифугування. Для одержання цільної фракції та видалення не повністю зруйнованих клітин і ядер гомогенат центрифугували 10 хв при 3000g ($t=0\pm 2$). В дослідженнях використовували надосадову рідину [133].

2.2.2. Визначення вмісту гідроперекисів ліпідів (ГПЛ). Дослідження проводили за методом, описаним В. В. Мирончик [8]. Принцип методу базується на окисненні пероксидами Fe^{2+} у Fe^{3+} , яке проявляється за допомогою кольорової реакції з тіоціанатом амонію при максимумі поглинання 480 нм.

Метод полягає в осадженні білка трихлороцтовою кислотою (ТХО) з наступною дією на досліджуваний матеріал тіоціанату амонію і спектрофотометрією. До 0,2 мл гомогенату тканини додавали 2,8 мл етанолу і 0,05 мл 50 % розчину ТХО, струшували протягом 5 хв. До 1,5 мл супернатанту додавали 1,2 мл етанолу, 0,02 мл концентрованої НСl, 0,03 мл 1 % розчину солі Мора в 3 % розчині НСl, струшували і через 30 сек додавали 0,2 мл 20 % розчину тіоціанату амонію. Оптичну щільність вимірювали при 480 нм. Кількість ГПЛ визначали за різницею між дослідною пробою і контролем, де замість гомогенату тканин додавали відповідну кількість дистильованої води. Концентрацію ГПЛ виражали в одиницях екстинції на 1 г тканин (од/г).

2.2.3. Визначення вміст малонового діальдегіду (МДА). Дослідження проводили за методом, описаним В. В. Мартинюком, С. Н. Ковальчук, М.Ф. Тимочко, Е.Н. Панасюк [55]. Принцип методу полягає у тому, що в біологічному матеріалі індукуються процеси пероксидації ліпідів, а

швидкість їх перебігу визначають шляхом визначення вмісту нагромадженого малонового діальдегіду.

Концентрацію малонового діальдегіду (МДА) в тканинах визначали за допомогою кольорової реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК). В основі методу лежить реакція між МДА і ТБК, яка в умовах високої температури і низького рН проходить з утворенням триметинового комплексу, що містить одну молекулу МДА і дві молекули ТБК. Для цього до 0,5 мл гомогенату тканини додавали 5,0 мл 20 % фосфорновольфрамової кислоти і після осадження білків центрифугували при 2500 об./хв, протягом 15 хв. Надосадову рідину зливали, додавали до осаду 1,0 мл 0,8 % ТБК і витримували протягом 1 год на водяній бані при $t^{\circ} - 100^{\circ}\text{C}$. За таких умов МДА реагує з ТБК з утворенням триметинового кольорового комплексу. Після цього пробірки охолоджували і центрифугували протягом 10 хв при 6000 об./хв. В одержаному центрифугаті вимірювали оптичну щільність при 535 і 580 нм. Двохразове вимірювання оптичної щільності дозволяє виключити поглинання забарвлених комплексів ТБК з речовинами неліпідної природи. Концентрацію МДА в пробі визначали використовуючи коефіцієнт молярної екстинції $0,156\text{ мкМ}^{-1}\text{ см}^{-1}$ і виражали її в нМоль/л.

2.2.4. Метод визначення активності супероксиддисмутази (СОД).

Дослідження проводили за методом С. Чевари [154]. Принцип методу базується на відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами, які утворюються при реакції між феназинметасульфатом і відновленою формою нікотинаміддинуклеотида (NAD·H). Утворення нітроформаза, продукта відновлення нітротетразолію, блокується наявністю в пробі СОД. Так, на основі нітроформаза можна оцінити активність СОД.

0,1 мл гомогенату змішували з 1,5 мл інкубаційної суміші (37 мг ЕДТА- Na_2 , 330 мг нітротетразолію синього, 55 мг феназинметасульфату і 300 мг 0,15 М фосфатного буферу рН 7,8) і 0,05 мл розчину NADH у Трис-ЕДТА буфері (рН 8,0) та інкубували при кімнатній температурі 30 хвилин,

після чого вимірювали екстинцію при довжині хвилі $\lambda=540$ нм. У контрольній пробі замість лізату лейкоцитів використовували дистильовану воду. Активність ферменту визначали за формулою 2.1.:

$$X = \frac{E_{\text{к.пр}} - E_{\text{д.пр}}}{E_{\text{к.пр}}} \quad (2.1)$$

де X – ступінь блокування утворення нітроформазау;

$E_{\text{к.пр}}$ – екстинція контрольної проби, од. екст.;

$E_{\text{д.пр}}$ – екстинція дослідної проби, од. екст.

2.2.5. *Метод визначення каталазної активності (КА).* Дослідження проводили за методом М. А. Корольок, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарева [86]. Принцип методу базується на здатності пероксиду водню утворювати з солями молібдену стійкий кольоровий комплекс. Інтенсивність забарвлення вимірювали на СФ-26 при довжині хвилі $\lambda=410$ нм проти контрольної проби, в яку замість пероксиду водню вносили воду. Реакцію запускали додаванням 0,1 мл гомогенату тканини (100 мг тканини на 1 мл Тріс-НСІ буферу 0,05 М рН 7,8) до 2 мл 0,03 % розчину перекису водню. В холосту пробу вносили 0,1 мл дистильованої води. Реакцію зупиняли через 10 хв додаванням 1 мл 4 % молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірювали при довжині світлового пучка 410 нм проти контрольної проби, до якої додавали 2 мл дистильованої води. Активність визначали за формулою 2.2.:

$$A = (E_x - E_d) / K / V / t \quad (2.2)$$

де A – каталазна активність, ммоль H_2O_2 /мл/с;

E_x – екстинція холостої проби, у якій дослідну тканину заміняють водою, од. екст.;

E_d – екстинція дослідної проби, од. екст.;

K – коефіцієнт молярної екстинції пероксиду водню, що становив $22,2 \times 10^3$ ммоль⁻¹ см⁻¹;

V – об'єм проби, мл;

t – час інкубації, с.

2.2.6. *Визначення концентрації загального білка та його фракційного складу в плазмі крові, вирахування альбуміново-глобулінового коефіцієнта.* Вміст білка визначали за методом Лоурі [9, 80] при допомозі набору фірми “SIMKO-Ltd”. Метод базується на утворенні кольорових продуктів, утворених у результаті реакції ароматичних амінокислот з реактивом Фоліна-Чокальтеу, в поєднанні з біуретовою реакцією на пептидні зв'язки.

До 0,4 мл розчину, який містив білок, додавали 2 мл робочого розчину, до складу якого входили 10 % Na_2CO_3 в 0,5 М NaOH і 0,5 % розчин $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, перемішували і через 10 хв додавали 0,2 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу. Вмістиме пробірок знову перемішували і через 30 хв колориметрували при довжині хвилі 750 нм. Концентрацію білка в досліджуваних зразках плазми крові визначали за калібрувальним графіком, дані виражали в кількісних одиницях у мг/мл.

Визначення окремих фракцій білків у плазмі крові ґрунтувалося на електрофоретичному розподілі нативних білків для визначення їх поліморфної структури або ж при визначенні їх ізоферментного складу [81].

Для розгонки фракцій білків плазми крові нами було підібрано 7,5 % розчин поліакриламідного гелю, в зв'язку з величиною та зарядом досліджуваних молекул. Приготування гелю та проведення електрофорезу: проводили збір лунки для полімеризації гелю згідно інструкції користувача приладу. В зібрану полімеризаційну кювету (трубочку) заливали розчин розділяючого гелю, не доливаючи його на 2 см до верху.

До складу розчину входили: акриламід, NN-метилен-біс-акриламід, TEMED, персульфат амонію, Тріс- HCl буфер рН 8,8. Поверх суміші (обережно, не змішуючи з розчином гелю) наносили дистильовану воду (краще ізобутиловий спирт насичений водою) й залишали при кімнатній температурі на декілька хвилин (як правило гель полімеризується протягом 5–10 хвилин). Після полімеризації гелю воду обережно висушували фільтрувальним папером, не дотикаючись до поверхні гелю й на його

поверхню нашаровували 1–2 мл еквілібруючого буферного розчину. Перед проведенням електрофорезу еквілібруючий розчин з кювети зливали, обережно висушували смужками фільтруючого паперу його залишки. На поверхню розділяючого гелю нашаровували аж до самого верху розчин концентруючого гелю й вставляли пластиковий шаблон “гребінь” для утворення лунок, в які вносили досліджувані проби. Після полімеризації концентруючого гелю (через 10–15 хвилин) “гребінь” обережно виймали (не порушуючи цілісності лунок). Кювету вставляли в форетичний апарат і його збирали. В електродні відсіки заливали робочий розчин електродного буферу. В лунки кювети, під буфер підшаровували по 5–10 мкл досліджуваних проб, попередньо розведених буферною сумішшю. Суміш змішували з пробами в співвідношенні 1:1.

Розведення проб проводили таким чином, щоб кінцева концентрація протеїну була в межах 10–100 мкг в пробі. Підготовлені досліджувані проби вносили в лунки гелевої платівки. Під'єднували електрофоретичний апарат до джерела живлення й вмикали його. Встановлювали режим 10–30 мА на 1 платівку гелю й витримували до того часу, доки маркерна зона (бромфенолового синього) досягнула межі між концентруючим та розділяючим гелями (в середньому 20 хвилин). Надалі силу струму збільшували до 60 мА на 1 платівку й продовжували фореуз. При досягненні маркерною зоною нижнього краю розділяючого гелю (приблизно 1–2 см до нижнього краю розділяючого гелю) джерело живлення вимикали. Електрофоретичний апарат від'єднували, зливали електродні буфери й виймали кювету з гелем. Гель звільняли від скляних платівок й вкладали в посуд з фарбуючим розчином (Кумасі – R 250) на 2 години (краще на ніч). Зафарбований гель звільняли від барвника й заливали відмиваючим розчином (7,5 % розчин оцтової кислоти) для усунення фонового забарвлення. Надалі гель промивали водою й занурювали в 3 %-й водний розчин гліцерину на 4–5 годин. Гель висушували в вакуумній сушці (на

фільтрувальному папері, або між двома целофановими плівками натягнутими на скло чи спеціальні рамки. Одиницями виразу слугували відсотки.

Альбуміново-глобуліновий коефіцієнт вираховувався шляхом відношення відповідних кількісних показників та виражався у цифрових одиницях.

2.2.7. Визначення активності аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази. Визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ) здійснювали спектрофотометричним методом за допомогою наборів фірми “SIMCO-Ltd”.

Принцип методу: в результаті переамінування, що проходив під дією АлАТ або АсАТ, утворювалися глютамінова та щавлевооцтова кислоти (АлАТ) або глютамінова та піровиноградна кислоти (АсАТ). При додаванні 2,4-динітрофенілгідразину у лужному середовищі утворювався забарвлений гідрозон піровиноградної кислоти відповідно активності ферменту. Максимум поглинання забарвленого комплексу відбувався при довжині хвилі 500–560 нм. Лінійність наборів 0,05–5,0 мкмоль пірувату/год./мл. Відтворюваність результатів – не < 95 %, похибка – не > 5 % [84].

2.3. Імунологічні методи дослідження

2.3.1. Визначення кількості Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій, вирахування імунорегуляторного індексу (ІРІ). Дослідження проводили методом розеткоутворення з еритроцитами барана за методикою О. І. Віщур [87].

Ідентифікацію кількісного обліку Т-лімфоцитів проводили на основі виявлення у цих клітинах маркерних мембранних рецепторів до еритроцитів барана (ЕБ). При інкубації суспензії Т- і В-лімфоцитів з еритроцитами барана проходило приєднання еритроцитів до Т-клітин з формуванням розеткоутворюючих структур. Т-лімфоцитом вважали лімфоцит, який приєднав не менше трьох еритроцитів. Методика ідентифікування

В-лімфоцитів ґрунтувалася на наявності в них мембранних рецепторів для С3в-С3d-компонентів комплементу і Fc-фрагменту імуноглобуліну, що забезпечує приєднання до В-лімфоцитів індикаторних клітин, які на поверхні містять комплекс антитіло-комплемент. Як індикаторні клітини використовували еритроцити барана. У цитологічних препаратах, приготовлених після інкубації лімфоцитів з еритроцитами барана, підраховували відносний вміст розеткоутворюючих Т- і В-клітин. Для визначення Т- і В-лімфоцитів у периферичній крові (Е-РУК, ЕАС-РУК) використовували метод М. Jondal.

Приготування забуференого фізіологічного розчину (ЗФР) для відмивання лімфоцитів. У чисту колбу відважували 8,2 г NaCl, 2,3 г Na₂HPO₄ та 0,2 г NaH₂PO₄, доводили дистильованою водою до 1 л і розчиняли. Вимірювали рН розчину, яке повинно бути 7,3.

Градiєнт густини фікол-верографіну готували наступним чином. У мірний циліндр відважували 9,5 г фіколу, розчиняли його теплою дистильованою водою в кількості 100 мл, додавали 20 мл верографіну 60 % концентрації. Відносну густину вимірювали за допомогою ареометра 1,077.

Суспензію лімфоцитів для визначення Т- і В-лімфоцитів і їхніх субпопуляцій (Т-хелперів і Т-супресорів) отримували із стабілізованої гепарином крові, додаючи до неї суміш із 9 % водного розчину фіколу ("Pharmacia", Швеція) і 38 % водного розчину верографіну ("Спофа", Чехія) у співвідношенні 16:7. Еритроцити барана 3-4 рази відмивали ЗФР шляхом центрифугування 10 хв при 1500 об/хв. З них готували 0,5 % розчин ЕБ. Для В-лімфоцитів готували ЕАС-систему (еритроцити сенсibilізовані антитілами і комплементом). Цю систему готували таким чином: до 2 мл 2,5 % ЕБ додавали 2 мл розведеної гемолітичної сироватки та інкубували 30 хвилин при 37 °С. Потім суміш центрифугували 10 хв при 1500 об/хв. Відбирали надосад, а до осаду додавали 4 мл ЗФР і знову центрифугували 10 хв при 1500 об./хв. До цієї суміші додавали 2 мл розведеного комплементу

і знову інкубували та центрифугували, як у попередньому режимі. Осад відливали і доводили вміст пробірки до 10 мл ЗФР. Пробірки позначали літерами В, Е, Т; в пробірки В вносили 0,1 мл лімфоцитів та 0,1мл системи ЕАС, у пробірки Е – 0,1 мл лімфоцитів та 0,1 мл 0,5 % ЕБ, у пробірки Т – 0,1 мл лімфоцитів та 0,1 мл 0,09 % розчину теофіліну. Після інкубації та центрифугування проводили фіксацію клітин за допомогою 0,3 % глютарового альдегіду, а потім у всі пробірки додавали 0,4 мл H_2O і центрифугували 5 хв при 1000 об./хв. Осад ресуспензували та робили мазок. Мазки фіксували метанолом та обробляли фарбою Романовського-Гімза. Розетки підраховували під мікроскопом. Визначали активність розеткоутворення за щільністю рецепторів: 3–5 – рецептори з малою щільністю; 6–10 – рецептори з середньою щільністю; розетки у вигляді “морули” – рецептори з великою щільністю. Число Т-клітин з переважно супресорною активністю (ТФЧ) вираховували шляхом віднімання числа теофілінрезистентних Т-клітин (ТФР) від загального числа Т-лімфоцитів.

ІРІ розраховували як співвідношення теофілінрезистентних Т-клітин до теофілінчутливих [104]. Отримані дані виражалися у цифрових одиницях.

2.3.2. Визначення загальних циркулюючих імунних комплексів (ЦІК).

Визначення проводили за методикою Ю. А. Гриневич, А. М. Алферова. Цей метод ґрунтується на преципітації імунних комплексів, що знаходяться у сироватці крові, високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ) з молекулярною масою 6000 Да [49].

Для визначення готували боратний 0,1 М буфер (рН 8,4) та розчин поліетиленгліколю шляхом розчинення в 240 мл цього буферу 10 г сухого ПЕГ з молекулярною масою 6000 Да. Змішували 0,15 мл сировотки крові з 0,3 мл боратного буферу, суміш розливали мікропіпеткою у дві пробірки по 0,2 мл. В одну пробірку додавали 1,8 мл розчину ПЕГ, а у другу – 1,8 боратного буферу. Контрольні і дослідні пробірки інкубували в термостаті при температурі 22 °С протягом 60 хв. Після інкубації визначали величину екстинції на спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм.

Результати досліджень подавали в умовних одиницях, що визначалися шляхом множення отриманого показника екстинції на 1000.

2.3.3. *Визначення фагоцитарної активності лейкоцитів (ФАЛ).* Визначення фагоцитарної активності лейкоцитів (ФАЛ) проводили за методикою А. А. Гостєва (1950) [151]. Як тест-мікроб використовували інактивовану добову культуру лабораторного штаму *E.coli* (штам 1033 F41, S – форма МПА).

Для цього, 0,2 мл гепаринізованої крові вносили у пробірку і мікропіпеткою додавали стандартизовану до 2 млрд/мл суспензію добової культури *E.coli*. Вміст пробірок добре збовтували і ставили на водяну баню при температурі 37 °С на 30 хвилин. Потім готували мазки на предметних скельцях, висушували їх на повітрі і фарбували за методом Романовського-Гімзи. У кожному мазку підраховували 100 нейтрофілів. Для повної характеристики фагоцитозу визначали фагоцитарний індекс (ФІ) – число активно фагоцитуючих нейтрофілів на 100 клітин підрахованих і виражали у відсотках, та фагоцитарне число (ФЧ) – середнє число мікробних тіл, захоплених одним нейтрофілом.

2.4. Морфологічні методи дослідження

Забір матеріалу для цього розділу проводили одночасно із виконанням запланованих досліджень для попередніх розділів з використанням тих самих тварин, поділених на три групи. Усі терміни дослідження, усі умови утримання відповідали сказаному вище.

Після виведення тварин із досліду шляхом передозованого каліпсолого внутрішньоочеревинного наркозу, висікали рану в міжлопатковій ділянці, захоплюючи оточуючі тканини як з боків, так і її дна.

Для гістоморфологічного дослідження, висіченні тканини фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну. Далі із біоптату вирізали шматочки тканини з наступною проводкою в спиртах зростаючої концентрації,

укладали їх в парафін. На мікромомі МПС-2 готували серійні зрізи товщиною 5–7 мкм. Гістологічні зрізи, отримані із парафінових блоків, фарбували для оглядової мікроскопії гематоксилин-еозином і пікрофуксином по Ван-Гізон. Аналіз стану тканин здійснювали під мікроскопом "МБИ–15", фотографували мікропрепарати.

2.5. Коригувальний вплив засобу „Кротозин” на загоєння опікових ран

2.5.1. *Спосіб приготування засобу „Кротозин”.* Під час проведення запланованих досліджень використовували новостворений засіб „Кротозин” [117], який містить композиційну суміш на основі похідних γ -кротонолактону та карнозину, метилцелюлозу, пропіленгліколь, олію м'яти перцевої, воду очищену, згідно з корисною моделлю, додатково містить анестезин і аеросил за такого співвідношення інгредієнтів, мас. %:

суміш на основі похідних γ -кротонолактону та карнозину	1,6 – 2,4
анестезин	0,8 – 1,2
аеросил	0,8 – 1,2
пропіленгліколь	18,0 – 22,0
метилцелюлоза	2,0 – 4,0
олія м'яти перцевої	0,08 – 0,12
вода очищена	до 100,0.

Анестезин, як активний поверхневий місцевоанестезуючий засіб забезпечує знеболюючий ефект при лікуванні опікових ран м'яких тканин. Наявність аеросилу у складі засобу підвищує його адсорбційну здатність. Суміш на основі похідних γ -кротонолактону та карнозину забезпечує антисептичну, протинабрякову і некролітичну активність. Метилцелюлоза та вода очищена надають засобу гелеподібну консистенцію, нормалізують значення рН середовища від кислого – 3,5, до нейтрального – 6,0. Пропіленгліколь – забезпечує однорідність та стабільність гелю. Олія м'яти перцевої служить коригентом запаху, проявляє також антисептичні

властивості, створює охолоджуючий ефект та зменшує больову чутливість опікових ран.

Розраховану кількість метилцелюлози вносили до води очищеної, попередньо нагрітої до температури 90–100 °С. Склянку з цією сумішшю охолоджували під струменем проточної води, перемішуючи скляною паличкою до повного розчинення метилцелюлози. Анестезин розчиняли у пропіленгліколі при нагріванні до 60 °С. Після охолодження цей розчин переносили у ступку з попередньо розтертим аеросилом і перемішували до повного його розчинення. До отриманого розчину додавали суміш на основі похідних γ -котонолактону та карнозину, охолоджений гель метилцелюлози, олію м'яти перцевої та гомогенізували 3–5 хв. до утворення гелеподібної маси жовтуватого кольору [117].

2.5.2. Методика визначення кількісної динаміки мікроорганізмів в рані.

Попередньо визначали величину площі рани шляхом перенесення її країв на прозорий папір, далі проводили сканування та обробку цифрового зображення рани на персональному комп'ютері за допомогою програмного пакету "Microsoft Visio Pro 2007".

Матеріал з рани забирали стерильним одноразовим тампоном фірми "Bio-Mérieux". Тампон поміщали в 1 мл 0,1 % розчину тритону X-100 в фосфатному буфері, молярна концентрація якого 0,075 моль/л, старанно струшували 10–15 хвилин. Готували десятикратні розведення матеріалу, засівали його мірно на елективне поживне середовище для стафілококів (ЖСА – жовтково-сольовий агар) та середовище АГВ (з метою встановлення ЗМЧ – загального мікробного числа), інкубували при оптимальній температурі 37 °С. Через 24 години інкубації підраховували кількість колоній, що вирости, і результат виражали числом колонієутворювальних одиниць (КУО) на 1 см² площі рани. При цьому порівнювали кількість КУО, що вирости на обох середовищах. При співпадінні кількості КУО вважалось, що всі виділені мікроби належать до стафілококів.

2.6. Статистична обробка отриманих результатів

Математико-статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили за допомогою персонального комп'ютера із інстальованим відповідним програмним пакетом "StatSoft Statistica 8", який є рекомендованим для такого типу методів обробки [153, 224]. Враховуючи те, що всі досліджувані цифрові дані носили характер варіаційних рядів із статистичною сукупністю нормального (симетричного) розподілу, при аналізі статистичної характеристики окремих груп застосовували загальноприйняті показники описової статистики з визначенням величин у вигляді: середня величина (M) \pm стандартна похибка (m).

Порівняння середніх величин у різних групах здійснювали за допомогою класичного параметричного t-критерію. При співставленні результатів використовували оцінку розходжень за методом, адекватним для малих вибірок, використовуючи таблицю критерія Стюдента. Розходження приймали достовірним при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ В М'ЯКИХ ТКАНИНАХ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЗАПАЛЕННЯ В ЗОНІ ОПІКОВОЇ РАНИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ЗАСОБОМ „КРОТОЗИН”

Підвищена зацікавленість науковців та клініцистів до системи ПОЛ вказує на її важливе значення при стресі, запальних і алергічних процесах, термічних та радіаційних ураженнях, загальних реакціях і фізичних навантаженнях, що дозволяє зробити висновок про неспецифічну участь ПОЛ у патогенезі багатьох захворювань [1, 36, 124]. Процеси ПОЛ суттєво впливають на хімічний склад біологічних мембран, їх ультраструктурну організацію, проникність, активність мембранних ферментів, рецепцію біологічно активних речовин та інші функціональні характеристики [44, 60, 71]. Багаточисленні дослідження співвідношень показників прооксидантної та антиоксидантної систем в патогенезі різних захворювань, дозволили поглибити уяву про антиоксидантний статус і використати критерії останнього при оцінці важкості перебігу патологічного процесу. На підставі вищесказаного метою досліджень цього розділу було вивчення особливостей змін балансу прооксидантної та антиоксидантних систем в м'яких тканинах зони опікової рани та можливостей корекції зрушень місцевого антиоксидантного статусу засобом „Кротозин”.

3.1. Визначення концентрації гідроперекисів ліпідів та малонового діальдегіду в м'яких тканинах у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Отримані дані у тварин 2-ї дослідної групи по визначенню вмісту показників перекисного окиснення ліпідів викладено у таблиці 3.1. і рисунку 3.1.

Таблиця 3.1

**Уміст показників перекисного окиснення ліпідів у м'яких
тканинах щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани
($M \pm m$, n=15)**

Терміни дослідження, доби	Показники	
	ГПЛ (ОЕ)	МДА (нМоль/Г)
Контроль	1,19±0,02	1,04±0,03
2-а	1,75±0,01*	1,66±0,02*
3-я	1,69±0,02*	1,60±0,03*
5-а	2,84±0,02*	1,87±0,03*
8-а	2,59±0,03*	2,32±0,02*
10-а	2,35±0,03*	2,09±0,03*
12-а	2,10±0,05*	1,97±0,04*

Примітка. * – статистично достовірний результат відносно контролю при $p < 0,05$.

Згідно отриманих даних, у тварин 2-ї дослідної групи, котрі не отримували лікування після нанесення опікової травми, відзначалося збільшення показників концентрації ГПЛ на другу добу на 47,0 % ($p < 0,05$), та простежувалося зростання концентрації МДА на 59,6 % ($p < 0,05$), порівняно з

показником інтактних тварин. На третю добу спостереження відбулося незначне зниження концентрації ГПЛ порівняно з показниками 2-ї доби, але вона на 42,0 % ($p < 0,05$) перевищувала показники в інтактних тварин. В аналогічний період спостерігалось незначне зниження рівня МДА порівняно з другою добою, хоча він перевищував показник контролю на 53,8 % ($p < 0,05$) (табл. 3.1).

На п'яту добу експериментальних досліджень показники концентрації ГПЛ досягли свого максимуму та на 138,6 % ($p < 0,05$) перевищували аналогічний показник у контролі. Також відзначалося зростання концентрації МДА на 79,8 % ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем.

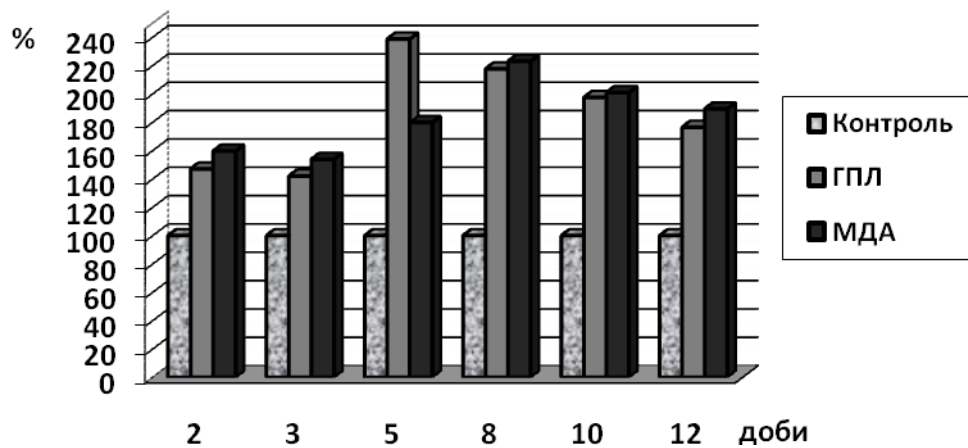


Рис. 3.1. Зміни показників перекисного окиснення ліпідів у м'яких тканинах щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани в процентному співвідношенні, коли показник норми відповідав 100 %.

У подальшому, відзначалося поступове зниження концентрації ГПЛ в порівнянні з результатами 5-ї доби, та подальше зростання рівня МДА в м'яких тканинах щурів. Так на 8-у добу показник ГПЛ перевищував контроль на 117,6 % ($p < 0,05$), а вміст МДА зріс до 123,0 % ($p < 0,05$) відносно контролю та досяг свого максимального значення. На 10-у добу спостереження відзначалось зниження вмісту ГПЛ на 20,2 % порівняно з показниками 8-ї доби, але його концентрація на 97,4 % ($p < 0,05$) залишалась вищою за

показники контрольної групи. В цей же період рівень МДА знизився на 22,1 % відносно показників 8-ї доби, але на 100,9 % ($p < 0,05$) перевищував результати контрольної групи. На 12-у добу спостереження простежувалася тенденція до подальшого зниження показників ГПЛ і МДА на 20,9 % і 11,5 % відповідно, відносно даних 10-ї доби, проте концентрація ГПЛ перевищувала показники контрольної групи на 76,5 % ($p < 0,05$), а вміст МДА залишався більшим на 89,4 % відносно контролю.

Таким чином визначення вмісту гідроперекисів ліпідів та малонового діальдегіду у м'яких тканинах зони опікової рани в динаміці розвитку запалення показало різке зростання показників ГПЛ та МДА у ранні терміни (2-а, 3-я, 5-а доби) розвитку запалення, що свідчило про активізацію прооксидантної системи, з поступовим зниженням у пізній період (8-а, 10-а, 12-а доби).

3.2. Вплив засобу „Кротозин” на показники прооксидантної системи в м'яких тканинах у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Результати проведених досліджень показали, що застосування засобу „Кротозин” призвело до зниження вмісту ГПЛ та МДА в м'яких тканинах зони опікової рани в динаміці розвитку запалення, що пов'язано з вираженими антиоксидантними властивостями засобу „Кротозин”, до складу якого входить Zn-карнозин, хелаторні зв'язки якого доповнюють фізіологічну буферну систему шкіри щурів.

Отримані дані по визначенню коригувального впливу засобу „Кротозин” на вміст показників перекисного окиснення ліпідів викладено у таблиці 3.2. Показовим є порівняння показників ГПЛ та МДА в м'яких тканинах щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани у тварин 2-ї та 3-ї дослідних груп у процентному співвідношенні, коли показник контролю відповідав 100 %. Ці дані представлені на рисунках 3.2. та 3.3.

Як видно з діаграм, на другу добу експерименту збільшення концентрації ГПЛ та МДА відбувалось у двох дослідних групах. Однак у тварин 3-ї дослідної групи зростання концентрації ГПЛ відбувалося повільніше, ніж у тварин 2-ї дослідної групи і становило 42,0 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю, але достовірно була нижчою, ніж у тварин, котрі не отримували лікування.

Таблиця 3.2

Вплив засобу „Кротозин” на показники перекисного окиснення ліпідів в м’яких тканинах щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани ($M \pm m$, $n=15$)

Терміни дослідження, доби	Показники			
	ГПЛ (ОЕ)		МДА (нМоль/г)	
	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3
Контроль	1,19±0,02	1,19±0,02	1,04±0,03	1,04±0,03
2-а	1,75±0,01	1,69±0,02* ₁ ,* ₂	1,66±0,02	1,44±0,02* ₁ ,* ₂
3-я	1,69±0,02	1,59±0,01* ₁ ,* ₂	1,60±0,03	1,39±0,02* ₁ ,* ₂
5-а	2,84±0,02	2,32±0,01* ₁ ,* ₂	1,87±0,03	1,73±0,02* ₁ ,* ₂
8-а	2,59±0,03	2,18±0,08* ₁ ,* ₂	2,32±0,02	1,47±0,03* ₁ ,* ₂
10-а	2,35±0,03	1,81±0,04* ₁ ,* ₂	2,09±0,03	1,37±0,01* ₁ ,* ₂
12-а	2,10±0,05	1,49±0,04* ₁ ,* ₂	1,97±0,04	1,22±0,02* ₁ ,* ₂

Примітки:

- *₁ – статистично достовірний результат відносно контролю при $p_1 < 0,05$;
- *₂ – статистично достовірний результат відносно показників 2-ї дослідної групи при $p_2 < 0,05$.

В цей же період рівень МДА зріс на 38,4 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю, але на 21,2 % ($p_2 < 0,05$) був меншим ніж у тварин другої групи.

Найвищі показники ГПЛ та МДА у тварин третьої групи спостерігалися на 5-у добу експерименту та становили 94,9 % ($p_1 < 0,05$) і 66,3 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю, але були нижчим ніж у тварин 2-ї групи на 43,7 % ($p_2 < 0,05$) та 13,5 % ($p_2 < 0,05$) відповідно.

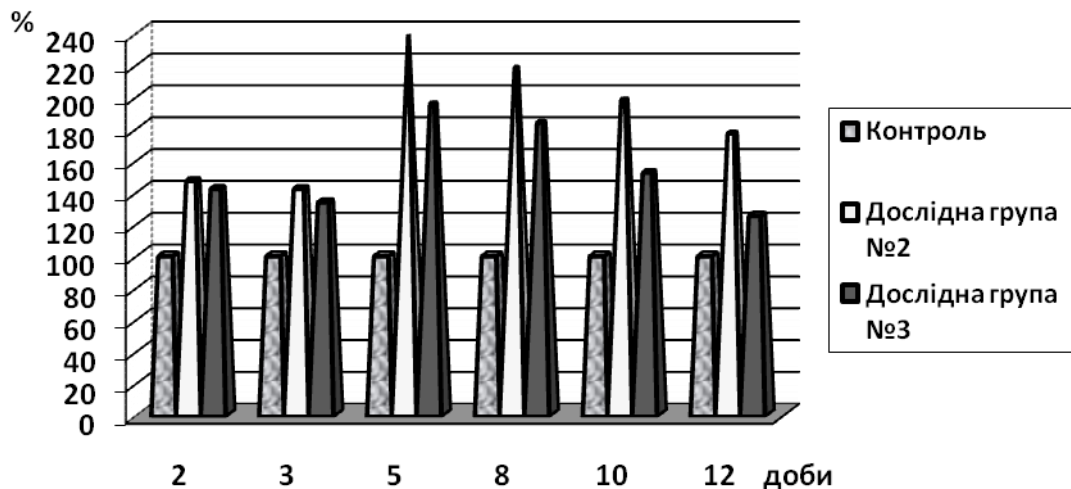


Рис. 3.2. Зміни концентрації ГПЛ в м'яких тканинах щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани в процентному співвідношенні до показника контролю (100 %) при застосуванні засобу „Кротозин”.

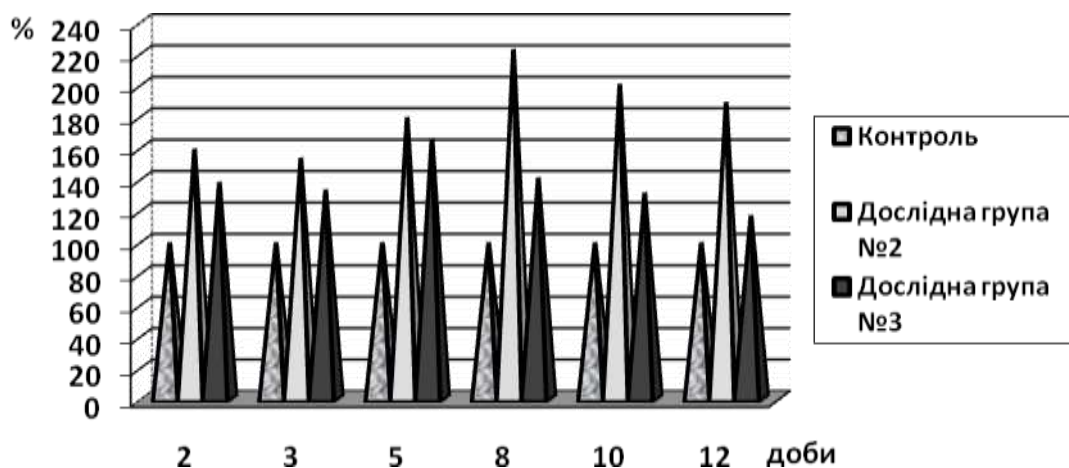


Рис. 3.3. Зміни концентрації МДА в м'яких тканинах щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани в процентному співвідношенні до показника контролю (100 %) при застосуванні засобу „Кротозин”.

У подальшому відзначалося поступове зниження концентрації ГПЛ та МДА у тварин лікованих засобом „Кротозин” до 12-доби, і хоча вони залишалися вищими від показників інтактних тварин на 25,2 % ($p_1 < 0,05$) та 17,3 % ($p_1 < 0,05$) відповідно, але були меншими на 51,2 % ($p_2 < 0,05$) і 72,1 % ($p_2 < 0,05$) відповідно за аналогічні показники у тварин 2-ї дослідної групи.

Отримані результати досліджень свідчать про те, що впродовж експерименту зміни показників концентрації первинних та вторинних продуктів ПОЛ мають коливальний характер, що може обумовлюватися інтенсивністю процесів антиоксидантної системи, зокрема її ферментативної ланки. А застосування засобу „Кротозин” для лікування опікових ран, сприяло менш інтенсивному зростанню концентрації ГПЛ і МДА в ранній період розвитку запалення, та швидкому зниженню цих показників порівняно з нелікованими тваринами.

3.3. Дослідження активності супероксиддисмутази та каталази в м'яких тканинах у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Негативному впливу системи вільнорадикального окиснення ліпідів протистоїть потужна багатокomпонентна антиоксидантна система (АОС). Вона виконує захисну функцію, надійно обмежуючи ПОЛ на всіх етапах, починаючи на стадії утворення активних форм кисню та включає в себе як неферментативну, так і ферментативну складову. Найбільш важливими антиоксидантними ферментами організму є супероксиддисмутаза та каталаза [85, 92, 107]. Дослідження активності СОД та каталази проводили згідно методик, які описані в попередніх розділах. Отримані результати у тварин 2-ї дослідної групи представлені у таблиці 3.3.

Як видно з результатів дослідження на другу добу після нанесення термічної травми у щурів, котрим не проводилося лікування, відзначалося

зниження активності СОД та каталази, порівняно з контролем, на 21,3 % ($p<0,05$) та 7,2 % ($p<0,05$) відповідно (Рис. 3.4.).

На третю добу після термічного ураження прослідковувалося подальше зниження активності супероксиддисмутази на 28,3 % ($p<0,05$) та каталази на 12,5 % ($p<0,05$) по відношенню до показників отриманих в інтактних тварин.

Таблиця 3.3

Активність супероксиддисмутази та каталази в м'яких тканинах щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани ($M\pm m$, $n=15$)

Терміни дослідження, доби	Показники	
	СОД (yo/mg)	Каталаза ($mkMоль/xв\times mg$ білка)
Контроль	43,88 \pm 0,17	45,67 \pm 0,34
2-а	34,52 \pm 0,16*	42,37 \pm 0,21*
3-я	31,48 \pm 0,14*	39,96 \pm 0,23*
5-а	33,47 \pm 0,27*	40,50 \pm 0,20*
8-а	32,90 \pm 0,23*	38,90 \pm 0,22*
10-а	30,85 \pm 0,23*	37,33 \pm 0,18*
12-а	30,09 \pm 0,21*	36,84 \pm 0,19*

Примітка. * – статистично достовірний результат відносно контролю при $p<0,05$.

На 5-у добу експериментальних досліджень спостерігалось незначне зростання активності СОД та каталази відповідно, але ці показники були на 23,7 % ($p < 0,05$) та 11,3 % ($p < 0,05$) нижчими в порівнянні з контролем.

В пізні терміни дослідження (8-а, 10-а, 12-а доби), відбулося зниження показників ферментативної активності СОД та каталази. Так на 8-у добу активність супероксиддисмутази була меншою на 25,0 % ($p < 0,05$), а каталази на 14,8 % ($p < 0,05$), ніж у тварин контрольної групи.

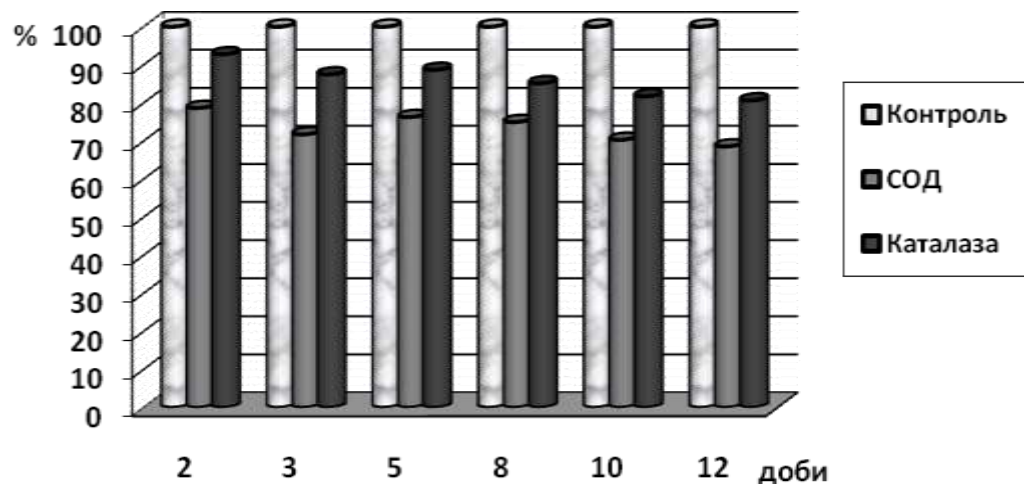


Рис. 3.4. Зміна активності СОД та каталази в м'яких тканинах щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани у процентному співвідношенні, коли показник контролю відповідав 100 %.

На 10-у добу активність СОД зменшилася на 29,7 % ($p < 0,05$), а каталази на 18,3 % ($p < 0,05$) відносно показників контролю. У завершальний період спостереження, на 12-у добу, відзначалося подальше зниження активності СОД та каталази в м'яких тканинах щурів з опіковими ранами відносно інтактних тварин на 31,4 % ($p < 0,05$) та 19,3 % ($p < 0,05$) відповідно.

Таким чином, наведені вище результати експериментальних досліджень показали, що в м'яких тканинах експериментальних тварин після термічного ураження спостерігалось зниження активності ключових ферментів антиоксидантної системи, що свідчило про пригнічення антиоксидантного захисту.

3.4. Вплив засобу „Кротозин” на показники ферментативної активності антиоксидантної системи в м’яких тканинах в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

У тварин 3-ї дослідної групи, яких лікували засобом „Кротозин”, також відзначалось зниження ферментативної активності супероксиддисмутази та каталази, порівняно з показниками контролю, але відбувалось це з меншою інтенсивністю та залишалась вищими від активності СОД та кталази у тварин 2-ї дослідної групи, котрі не отримували лікування. Отримані результати представлені в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Вплив засобу „Кротозин” на активність супероксиддисмутази та каталази в м’яких тканинах щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани ($M \pm m$, $n=15$)

Терміни дослідження, доби	Показники			
	СОД ($\mu\text{O}/\text{MГ}$)		Каталаза ($\text{мкМоль}/\text{хв} \times \text{MГ}$ білка)	
	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3
Контроль	43,88 \pm 0,17	43,88 \pm 0,17	45,67 \pm 0,34	45,67 \pm 0,34
2-а	34,52 \pm 0,16	35,27 \pm 0,15* _{1,*2}	42,37 \pm 0,21	44,35 \pm 0,22* _{1,*2}
3-я	31,48 \pm 0,14	33,37 \pm 0,16* _{1,*2}	39,96 \pm 0,23	41,44 \pm 0,16* _{1,*2}
5-а	33,47 \pm 0,27	36,47 \pm 0,29* _{1,*2}	40,50 \pm 0,20	45,02 \pm 0,21* _{1,*2}
8-а	32,90 \pm 0,23	36,18 \pm 0,40* _{1,*2}	38,90 \pm 0,22	42,87 \pm 0,18* _{1,*2}
10-а	30,85 \pm 0,23	39,02 \pm 0,25* _{1,*2}	37,33 \pm 0,18	40,30 \pm 0,16* _{1,*2}
12-а	30,09 \pm 0,21	39,92 \pm 0,23* _{1,*2}	36,84 \pm 0,19	40,93 \pm 0,20* _{1,*2}

Примітки:

1. *₁ – статистично достовірний результат відносно контролю при $p_1 < 0,05$;

2. *₂ – статистично достовірний результат відносно показників 2-ї дослідної групи при $p_2 < 0,05$.

Відповідно до отриманих даних у тварин 3-ї дослідної групи, яким проводилося лікування засобом „Кротозин”, на 2-у добу спостереження після термічної травми рівень активності СОД знизився відносно контролю на 19,6 % ($p_1 < 0,05$), але був достовірно більшим за показники у тварин другої групи (рис. 3.5).

Така ж тенденція до зниження активності СОД спостерігалася на 3-ю добу дослідження та становила 76,0 %, що на 24,0 % ($p_1 < 0,05$) було нижчим від контролю, але на 4,3 % ($p_2 < 0,05$) були вищими від даних 2-ї групи.

На 5-у добу експерименту відзначається зростання ферментативної активності порівняно з показниками попереднього терміну (3-я доба) та становили 83,1 % ($p_1 < 0,05$), але залишалася на 16,9 % нижчою за показники інтактних тварин та перевищували показники отримані у тварин 2-ї групи на 6,8 % ($p_2 < 0,05$).

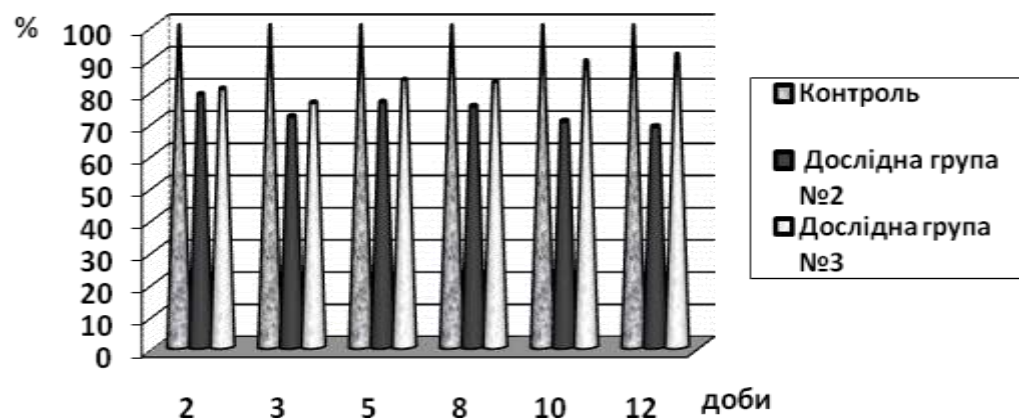


Рис. 3.5. Зміни активності СОД в м'яких тканинах щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани у відсотковому співвідношенні до показників контролю (100 %) при застосуванні засобу „Кротозин”.

В подальші терміни відзначалося падіння відсоткового співвідношення показників активності СОД у дослідних групах по відношенню до контролю,

але у тварин, котрих лікували засобом „Кротозин”, це відбувалося менш інтенсивно і становило на 8-у добу – 82,5 % ($p_1 < 0,05$), що на 17,6 % було нижчим за контроль, але на 7,5 % ($p_2 < 0,05$) було вищим ніж у 2-й дослідній групі. На 10-у добу експериментального дослідження у тварин 3-ї дослідної групи простежувалося незначне зростання активності СОД, порівняно з показниками 8-ї доби, проте вона на 11,1 % ($p_1 < 0,05$) залишалася меншою відносно контролю, але була на 18,6 % ($p_2 < 0,05$) вищою за показники 2-ї дослідної групи. На 12-у добу спостереження відзначалося подальше поступове зростання активності СОД порівняно з попереднім терміном (10-а доба), і хоч вона залишалася на 9,1 % ($p_1 < 0,05$) нижчою за показники інтактних тварин, але перевищувала показники у тварин 2-ї групи на 22,4 % ($p_2 < 0,05$).

Інтенсивність зниження активності каталази у тварин 3-ї групи була нижчою, ніж аналогічні показники у 2-й дослідній групі протягом усього терміну експерименту. Простежувалася відсоткова залежність показників дослідних груп відносно контролю та між собою.

Так у тварин 3-ї дослідної групи, в яких лікування опікових ран проводили засобом „Кротозин”, на 2-у добу спостереження активність каталази знизився на 2,9 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю, але перевищував на 4,3% ($p_2 < 0,05$) ці показники у тварин, котрі не отримували лікування (рис. 3.6).

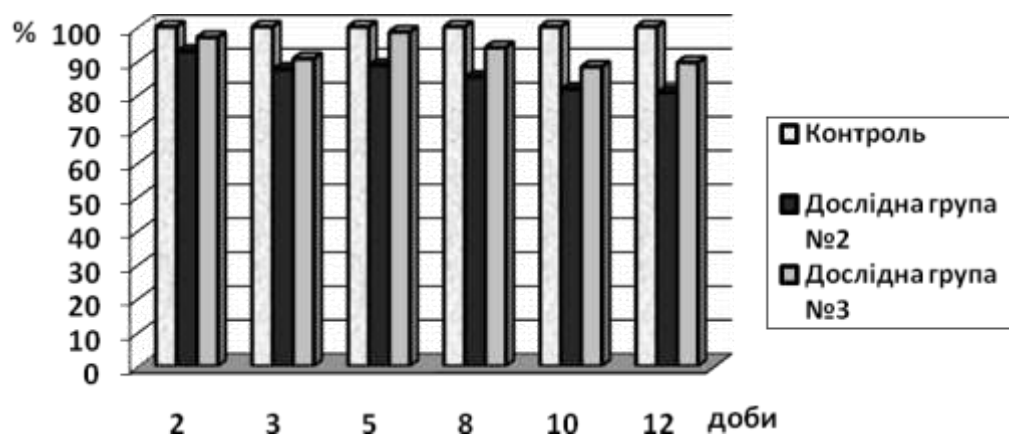


Рис. 3.6. Зміни активності каталази в м'яких тканинах щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани у відсотковому співвідношенні до показників контролю (100 %) при застосуванні засобу „Кротозин”.

На 3-ю добу відзначалося подальше зниження активності каталази відносно показників інтактних тварин на 9,3 %, та становило 90,7 % ($p_1 < 0,05$) контролю, але було на 3,2 % ($p_2 < 0,05$) більшим за аналогічний показник у тварин 2-ї групи.

Посилення активності каталази відзначено на 5-у добу спостереження, коли ці показники майже сягнули рівня контролю і становили 98,6 % ($p_1 < 0,05$) та були більшим на 9,9 % ($p_2 < 0,05$) від результатів, отриманих у тварин 2-ї дослідної групи.

У пізні терміни експериментальних досліджень (8-а, 10-а доби), простежувалася тенденція до зниження активності каталази в м'яких тканинах щурів відносно показників контролю та становили: 93,9 % ($p_1 < 0,05$) – на 8-у добу, що на 6,1 % ($p_1 < 0,05$) було нижчим за контроль, але на 8,7 % ($p_2 < 0,05$) були вищими ніж у 2-й групі; та 88,2 % ($p_1 < 0,05$) – на 10-у добу, що на 11,8 % ($p_1 < 0,05$) було меншим від показників інтактних тварин, але на 6,5 % ($p_2 < 0,05$) залишалися більшими за показники 2-ї дослідної групи.

В заключний період спостереження, на 12-у добу експерименту відзначалося незначне зростання активності каталази у тварин 3-ї дослідної групи, відносно показників 10-ї доби, але залишалось на 10,4 % ($p_1 < 0,05$) нижчим за показники контрольної групи та перевищували показники активності каталази у тварин 2-ї дослідної групи на 9,0 % ($p_2 < 0,05$).

Згідно вище викладеного помітно, що внаслідок термічної травми, в м'яких тканинах зони опікової рани, в ранні терміни розвитку запалення, відбувається пригнічення ферментативної активності АОС, на тлі якої активуються процеси ПОЛ, та відбувається накопичення у вогнищі запалення первинних і вторинних продуктів пероксидації. На противагу цьому, щоденні

аплікації засобу „Кротозин” на ділянку опікової рани, сприяють підвищенню активності СОД і каталази, порівняно з нелікованими тваринами, в динаміці розвитку термічного запалення.

Отримані результати дозволяють зробити проміжні висновки:

1. Внаслідок термічної травми, в м'яких тканинах зони опікової рани, в динаміці розвитку запалення, відбувається активація процесів ПОЛ, накопичення в вогнищі запалення первинних (ГПЛ), максимальне значення яких зафіксовано на 5-у добу, і вторинних (МДА), з найвищим показником на 8-у добу, продуктів пероксидації.
2. У динаміці розвитку запального процесу в зоні опікової рани в м'яких тканинах відбувається пригнічення ферментативної активності АОС, яке характеризується зниженням активності СОД та каталази, мінімальні значення яких зафіксовано на 12-у добу спостереження.
3. Встановлено коригувальний вплив засобу „Кротозин” на продукти ПОЛ в м'яких тканинах ділянки опікової рани – знижується рівень концентрації ГПЛ та МДА, починаючи з 5-ї доби, та суттєво впливає на підвищення активності СОД і каталази в динаміці розвитку термічного запалення.

Результати досліджень, представлених у даному розділі, опубліковані в одній науковій праці [112]

Пастернак Ю.Б. Зміни функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної системи в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2 % засобом „Кротозин” / Ю.Б. Пастернак // Вісник проблем біології та медицини. – 2010. – № 2. – С. 113-118.

РОЗДІЛ 4

СТАН ПОКАЗНИКІВ КЛІТИННОГО ТА ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЗАПАЛЕННЯ В ЗОНІ ОПІКОВОЇ РАНИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ЗАСОБОМ „КРОТОЗИН”

Патологічні процеси, що проходять в зоні опікової рани, мають не тільки місцеве значення, але впливають на стан імунної реактивності та неспецифічного захисту організму [39, 41].

Унаслідок термічного ураження відбувається накопичення токсинів гістогенного та мікробного походження, продуктів розпаду, які мають антигенні властивості, що призводить до виникнення функціональних розладів імунної системи та формування вторинної імунної недостатності [45, 57, 103].

Завданням нашого дослідження було з'ясувати, як змінюється функціональний стан клітинної та гуморальної ланок імунітету в організмі експериментальних тварин за умов термічного ураження м'яких тканин та при корекції засобом „Кротозин”.

4.1. Уміст Т-лімфоцитів та теофілінчутливих і теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Зміну функціонального стану клітинної ланки імунітету оцінювали за допомогою визначення відносної кількості Т-лімфоцитів методом розеткоутворення з еритроцитами вівці, вмісту Т-хелперів та Т-супресорів, а також співвідношення Т-хелперів до Т-супресорів – імунорегуляторний

індекс (ІРІ), які проводили на 2-у, 3-ю, 5-у, 8-у, 10-у та 12-у доби спостереження.

Отримані результати у тварин 2-ї дослідної групи представлені в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Показники Т-клітинного імунітету в крові щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани ($M \pm m$, $n=15$)

Терміни дослідження, доби	Показники, %			ІРІ
	Т-лімфоцити	Т-хелпери	Т-супресори	
Контроль	42,5±1,5	26,8±2,2	21,6±1,4	1,24
2-а	39,4±1,7*	23,5±1,9*	22,1±1,9 p=0,32	1,06
3-я	41,0±1,6*	20,9±2,1*	23,0±2,0*	0,90
5-а	39,4±2,2*	19,6±2,2*	23,9±1,5*	0,82
8-а	38,2±1,8*	21,0±2,1*	23,6±1,6*	0,89
10-а	37,9±1,4*	21,9±2,01*	23,5±1,9*	0,93
12-а	37,1±1,4*	22,9±1,8*	23,0±1,4*	0,99

Примітка. * – статистично достовірний результат відносно контролю при $p < 0,05$.

У ранні (2-а, 3-я, 5-а доби) та пізні (8-а, 10-а, 12-а доби) терміни розвитку запалення в зоні опікової рани відзначалося пригнічення імунної системи експериментальних тварин, яке проявлялося зниженням кількості Т-лімфоцитів у периферичній крові.

Так, у тварин 2-ї дослідної групи уже на 2-у добу спостереження кількість Т-лімфоцитів знизилася на 7,3 % ($p < 0,05$). На 3-ю добу цієї експериментальної моделі хвороби, відзначалось незначне підвищення

даного показника відносно показників попереднього терміну спостереження, але він на 3,5 % ($p < 0,05$) був нижчим за показники контролю. У подальші терміни спостереження відзначалася тенденція до зниження загальної кількості Т-лімфоцитів (рис. 4.1.).

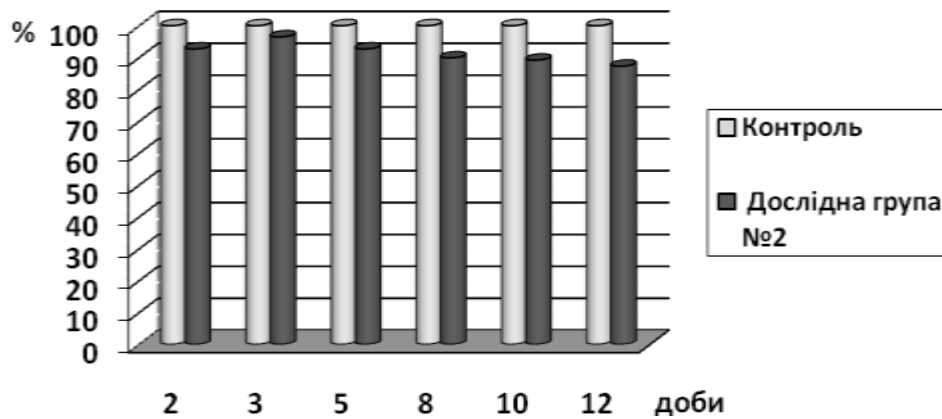


Рис. 4.1. Зміни відсоткового співвідношення показників Т- лімфоцитів в крові щурів у динаміці розвитку запального процесу в зоні опікової рани, коли показник контролю взятий за 100 %.

На 5-у добу досліду кількість Т-лімфоцитів знизилася на 7,3 % ($p < 0,05$) від контролю; на 8-у добу спостереження відзначалося зниження загальної кількості Т-лімфоцитів на 10,1 % ($p < 0,05$) відносно показників тварин контрольної групи. На 10-у добу експериментального дослідження загальна кількість Т-лімфоцитів знизилася на 10,8 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

В завершальний термін експериментального дослідження, 12-а доба, відзначалося подальше зниження показників загальної кількості Т-лімфоцитів, коли ці результати були на 12,7 % ($p < 0,05$) нижчими за показники контролю.

Імунологічна відповідь організму на пошкоджуючі фактори, зокрема термічну травму, залежить від функціональної здатності Т-лімфоцитів, а саме Т-хелперів, які відповідають за продукцію цитокінів, впливаючи тим самим на функціональний стан клітинного та гуморального імунітету. Цей процес знаходиться під контролем Т-лімфоцитів-супресорів. За фізіологічних умов

життєдіяльності організму субпопуляційний кількісний склад Т-лімфоцитів є збалансованим. Тому, аналіз субпопуляційного складу Т-лімфоцитів у різні періоди розвитку запалення в зоні опікової рани, дає можливість спрогнозувати імунологічну відповідь організму на термічну травму та подальший перебіг ранового процесу. Зручним у цьому відношення є імунорегуляторний індекс (ІРІ), який представляє собою кількісне співвідношення Т-хелперів до Т-супресорів.

Згідно отриманих даних, простежується виражений супресивний вплив опікової травми на імунну систему експериментальних тварин, котрі не отримували лікування. На 2-у добу після нанесення термічної травми, спостерігалось зниження кількості Т-хелперів на 12,4 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. У той самий період відзначається зниження показника ІРІ на 14,6 % відносно контролю (рис. 4.2).

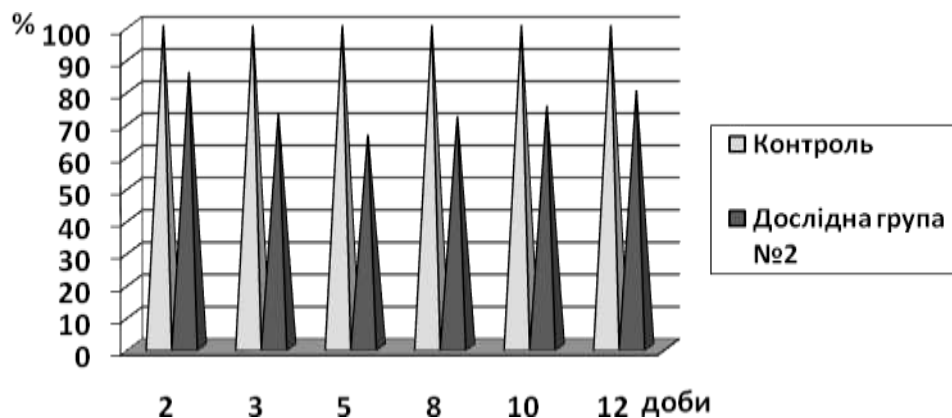


Рис. 4.2. Зміни відсоткового співвідношення ІРІ в крові тварин в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани до показника фізіологічної норми (100 %).

На третю добу експериментального дослідження простежувалася тенденція до подальшого зниження кількості Т-хелперів, що становило 77,9 % ($p < 0,05$) контролю, та зростанням популяції Т-супресорів, що на 6,4 % ($p < 0,05$) перевищували контроль. Також у цей термін відзначалося зниження показника ІРІ до 72,5 % відносно результатів у інтактних тварин.

Мінімальне значення ІРІ зафіксовано на 5-у добу досліджу, і було меншим на 33,1 % від показника інтактних тварин. Таке зниження ІРІ спричинене достовірним зниженням показників Т-хелперів на 26,9 % ($p < 0,05$) відносно контролю, та зростанням кількості Т-супресорів на 10,6 % ($p < 0,05$). У подальші терміни досліджу відзначалося незначне зростання показника ІРІ, який на 8-у добу складав 71,8 % показника контролю, внаслідок незначного зростання кількості Т-хелперів, порівняно з показниками попереднього терміну спостереження (5-а доба), але їх кількість залишалася нижчою на 21,6 % ($p < 0,05$) від контролю. У цей же період відбулося незначне зниження популяції Т-супресорів відносно попередніх даних (5-а доба), проте їх кількість на 9,3 % ($p < 0,05$) перевищувала показники тварин контрольної групи.

На 10-у добу показник ІРІ становив 75,0 % контролю, за рахунок збільшення популяції Т-хелперів до 81,7 % ($p < 0,05$) відносно інтактних тварин та незначного зниження рівня Т-супресорів, хоча їх кількість залишалася на 8,8 % ($p < 0,05$) більшою від показника тварин контрольної групи.

У завершальний період експериментального дослідження (12-а доба), прослідковувалося подальше зростання ІРІ, але залишалось на 20,2 % нижчим за показники інтактних тварин, за рахунок подальшого зростання популяції Т-хелперів до 85,4 % ($p < 0,05$) відносно контролю та зниження кількості Т-супресорів, порівняно з показниками 10-ї доби, але їх кількість на 6,4 % ($p < 0,05$) перевищувала даний показник у інтактних тварин.

4.2. Вплив засобу „Кротозин” на вміст Т-лімфоцитів та теофілінчутливих і теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

У цьому підрозділі викладені результати дослідження коригувального впливу засобу „Кротозин” на показники функціонального стану клітинної

ланки імунітету у крові щурів з експериментальними опіковими ранами м'яких тканин. Отримані результати представлені у таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Вплив засобу „Кротозин” на показники Т-клітинного імунітету в крові щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

($M \pm m$, $n=15$)

Доби	Дослідні групи	Показники, %			ІРІ
		Т-лімфоцити	Т-хелпери	Т-супресори	
	Контроль	42,5±1,5	26,8±2,2	21,6±1,4	1,24
2-а	2-а група	39,4±1,7	23,5±1,9	22,1±1,9	1,06
	3-я група	41,5±1,5* ₂ p ₁ =0,053	25,3±1,9* _{1,*2}	21,9±1,8 p ₁ =0,48 p ₂ =0,67	1,15
3-я	2-а група	41,0±1,6	20,9±2,1	23,0±2,0	0,90
	3-я група	42,7±1,6* ₂ p ₁ =0,66	21,9±2,2* _{1,*2}	22,1±2,2* ₂ p ₁ =0,21	0,99
5-а	2-а група	39,4±2,2	19,6±2,2	23,9±1,5	0,82
	3-я група	43,0±1,7* ₂ p ₁ =0,26	22,7±1,8* _{1,*2}	22,5±1,9* _{1,*2}	1,01
8-а	2-а група	38,2±1,8	21,0±2,1	23,6±1,6	0,89
	3-я група	42,3±1,2* ₂ p ₁ =0,66	23,5±1,7* _{1,*2}	22,0±1,8* ₂ p ₁ =0,33	1,07
10-а	2-а група	37,9±1,4	21,9±2,01	23,5±1,9	0,93
	3-я група	41,5±1,7* ₂ p ₁ =0,053	24,8±1,9* _{1,*2}	21,9±1,7* ₂ p ₁ =0,48	1,13
12-а	2-а група	37,1±1,4	22,9±1,8	23,0±1,4	0,99
	3-я група	42,2±1,5* ₂ p ₁ =0,55	25,3±1,5* _{1,*2}	21,7±1,4* ₂ p ₁ =0,79	1,16

Примітки:

1. *₁ – статистично достовірний результат відносно контролю при p₁<0,05;

2. *₂ – статистично достовірний результат відносно показників 2-ї дослідної групи при $p_2 < 0,05$.

На відміну від тварин 2-ї дослідної групи, у тварин 3-ї дослідної групи, котрим проводилося місцеве лікування опікових ран засобом „Кротозин”, на 2-у добу спостереження загальна кількість Т-лімфоцитів була дещо меншою за контроль, але на 4,9 % ($p_2 < 0,05$) перевищувала аналогічний показник у 2-й дослідній групі (рис. 4.3).

У подальші терміни дослідження простежувалося поступове збільшення загальної кількості Т-лімфоцитів. Так на 3-ю добу даний показник не відрізнявся від контролю, та на 4 % ($p_2 < 0,05$) був вищим за показник 2-ї дослідної групи. З 3-ї до 5-ї доби відзначалося подальше зростання кількості Т-лімфоцитів, і на 5-у добу він був на рівні контролю та на 8,5 % ($p_2 < 0,05$) був вищим за аналогічний показник у 2-й дослідній групі.

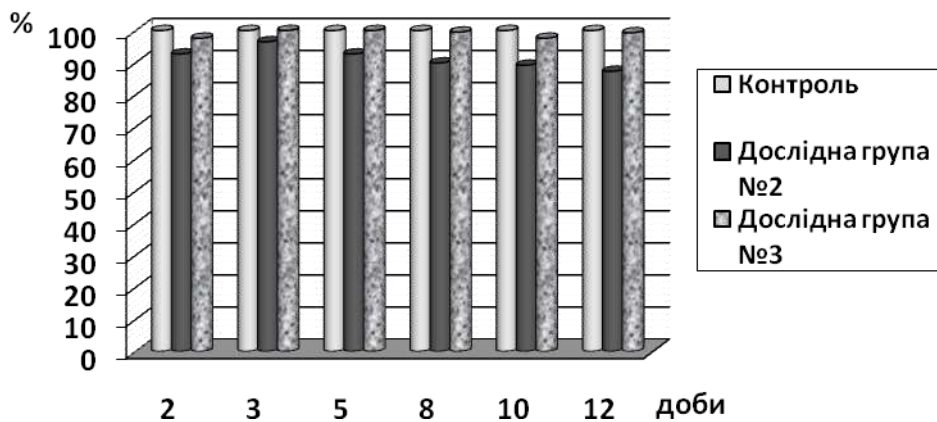


Рис. 4.3. Зміни відсоткового співвідношення показників Т-лімфоцитів в крові щурів у динаміці розвитку запального процесу в зоні опікової рани при застосуванні засобу „Кротозин”, коли показник контролю взятий за 100 %.

У пізні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани (8-а, 10-а доби) прослідковувалася тенденція до зменшення загальної кількості Т-лімфоцитів. Так на 8-у добу відбулося незначне зниження кількості

Т-лімфоцитів порівняно з попереднім терміном спостереження (5-а доба), але вона була наближена до показників тварин контрольної групи та на 9,4 % ($p_2 < 0,05$) більшою за показники у 2-й дослідній групі. На 10-у добу цей показник на 8,4 % ($p_2 < 0,05$) був більшим ніж у тварин 2-ї дослідної групи та не відрізнявся від контролю. На завершення даного дослідження (12-а доба) відзначалося незначне зростання загальної кількості Т-лімфоцитів, коли даний показник наблизився рівня тварин контрольної групи та перевищував на 12 % ($p_2 < 0,05$) аналогічний показник 2-ї дослідної групи.

Аналіз субпопуляційного складу Т-лімфоцитів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани при застосуванні засобу „Кротозин” та імунорегуляторний індекс (ІРІ) показав позитивний вплив даного препарату на імунну систему щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.

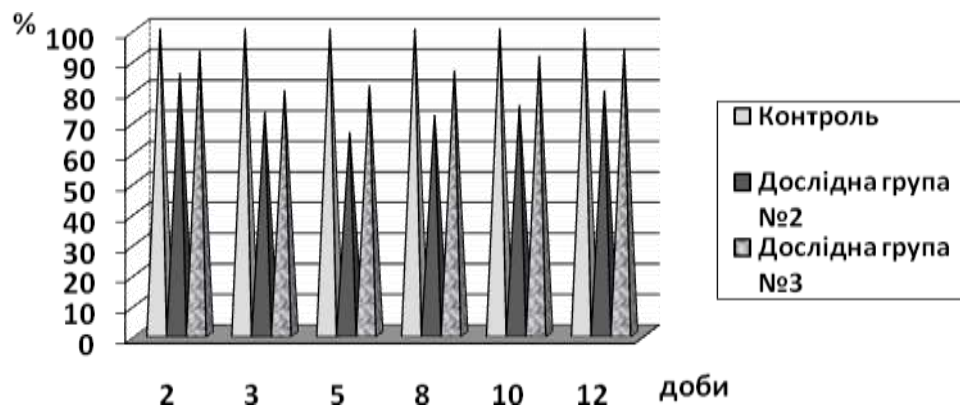


Рис. 4.4. Зміни відсоткового співвідношення ІРІ при застосуванні засобу „Кротозин” в крові тварин експериментальних груп в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани до показника контролю (100 %).

Так внаслідок нанесення термічної травми у тварин даної групи найнижче значення ІРІ – 79,8 % відносно контролю, зафіксовано на 3-ю добу дослідження, що на 7,2 % ($p_2 < 0,05$) було вищим за аналогічні показники тварин 2-ї дослідної групи. Це пояснювалося зниженням популяції Т-хелперів на 5,6 % ($p_1 < 0,05$) від контролю, але цей показник був на 6,7 % ($p_2 < 0,05$) вищим за аналогічний у тварин 2-ї дослідної групи. Кількість Т-супресорів була на

рівні аналогічних показників тварин контрольної групи, та достовірно нижчою, ніж у нелікованих тварин.

У наступні терміни спостереження простежувалася тенденція до зростання ІРІ, під коригувальним впливом засобу „Кротозин”, за рахунок зростання відносної кількості Т-хелперів та зниженню вмісту Т-супресорів, що могло свідчити про зниження навантаження на імунну систему експериментальних тварин та дало змогу спрогнозувати більш сприятливий перебіг ранового процесу. Так уже на 12-у добу досліді відзначалося зростання значення ІРІ до 96,6 % відносно контролю, і було на 13,7 % ($p_2 < 0,05$) вищим за такий же показник у 2-й дослідній групі. Кількість Т-хелперів у цей період зросла до 97,01 % ($p_1 < 0,05$) контролю, та на 9 % ($p_2 < 0,05$) перевищувала дані отримані у тварин 2-ї дослідної групи. Відносний рівень Т-супресорів також знизився, порівняно з попереднім терміном спостереження (10-а доба) і не перевищував показник контролю та був нижчим на 5,9 % ($p_2 < 0,05$) за аналогічний показник у 2-й дослідній групі.

4.3. Вміст В-лімфоцитів та циркулюючих імунних комплексів у периферичній крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Функціональний стан гуморальної ланки імунітету визначали за динамікою кількості В-лімфоцитів та концентрації ЦК у периферичній крові щурів у ранні (2-а, 3-я, 5-а доби) та пізні (8-а, 10-а, 12-а доби) терміни розвитку запалення в зоні опікової рани, що дало можливість судити про перебіг аутоімунних процесів в організмі щурів з експериментальними опіковими ранами м'яких тканин. Отримані результати у тварин 2-ї дослідної групи представлені в таблиці 4.3.

Згідно отриманих результатів у тварин 2-ї дослідної групи у ранні терміни розвитку запалення (2-а, 3-я, 5-а доби) в зоні опікової рани простежувалося зростання відносної кількості В-лімфоцитів, показники якої

збільшувалися відносно контролю на 2-у добу на 4,1 % ($p<0,05$); на 3-ю добу на 7,1 % ($p<0,05$), а на 5-у добу спостереження досягло найбільшого значення, яке перевищувало на 12,8 % ($p<0,05$) показник у інтактних тварин (рис. 4.5).

Таблиця 4.3

Показники відносної кількості В-лімфоцитів та концентрації ЦК в периферичній крові щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани ($M\pm m, n=15$)

Терміни дослідження, доби	Показники	
	В-лімфоцити, (%)	ЦК, (у.о)
Контроль	46,2±1,2	63,4±1,3
2-а	48,1±1,5*	67,0±1,7*
3-я	49,5±1,9*	71,9±1,8*
5-а	52,1±1,5*	78,4±1,9*
8-а	48,9±1,8*	80,5±2,5*
10-а	49,5±1,8*	80,9±1,9*
12-а	51,0±1,8*	81,5±2,1*

Примітка. * – статистично достовірний результат відносно контролю при $p<0,05$.

На 8-у добу досліду відзначалося незначне зниження кількості В-лімфоцитів порівняно з попереднім терміном (5-а доба), але вони на 5,8 % ($p<0,05$) перевищували показники тварин контрольної групи. На 10-у добу

експерименту простежувалася друга хвиля зростання кількості В-лімфоцитів, даний показник на 7,1 % ($p < 0,05$) перевищував контроль.

У заключний термін експериментального дослідження, на 12-у добу, спостерігалася подальше збільшення цього показника, який був на 10,4 % ($p < 0,05$) більшим від показника контролю.

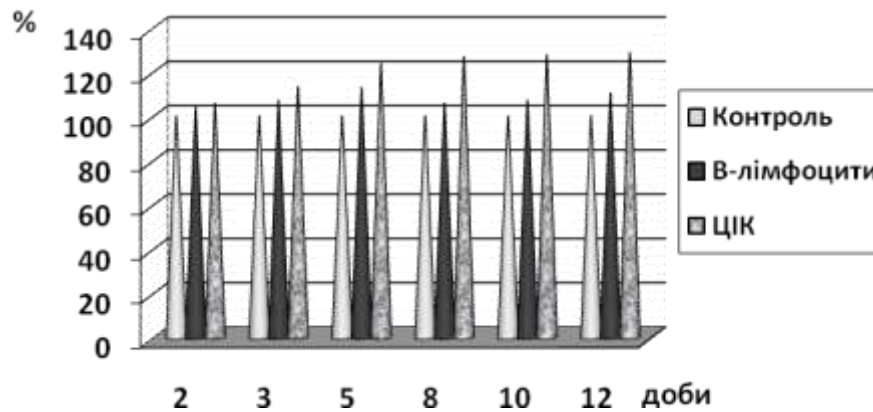


Рис. 4.5. Зміни відносної кількості В-лімфоцитів та концентрації ЦІК у периферичній крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани у відсотковому співвідношенні, коли показник контролю відповідав 100 %.

Також протягом усього терміну експериментального дослідження простежувалося інтенсивне збільшення концентрації ЦІК у тварин 2-ї дослідної групи, опікові рани яких гоїлись без лікування. Уже на другу добу спостереження даний показник зріс на 5,7 % ($p < 0,05$) в порівнянні з показником контролю. У наступні терміни досліду відзначалося подальше зростання концентрації ЦІК, що характеризувало масивне надходження в кров'яне русло продуктів розпаду з зони опікової рани. Так на 3-ю добу даний показник збільшився на 13,4 % ($p < 0,05$), на 5-у добу – на 23,6 % ($p < 0,05$), на 8-у добу – на 26,9 % ($p < 0,05$), на 10-у добу – на 27,6 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. На 12-у добу експериментального дослідження простежувалася тенденція до подальшого зростання концентрації ЦІК, показники якої на 28,5 % ($p < 0,05$) перевищували контроль, що вказувало на збільшення надходження у кров'яне русло продуктів ендогенної та екзогенної інтоксикації з зони опікової рани.

4.4. Вплив засобу „Кротозин” на вміст В-лімфоцитів та рівень циркулюючих імунних комплексів у крові щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

У тварин 3-ї дослідної групи, яким проводилась корекція ранового процесу засобом „Кротозин”, зрушення функціонального стану гуморальної ланки імунітету були не такими вираженими, як у щурів 2-ї дослідної групи. Отримані результати представлені у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Вплив засобу „Кротозин” на показники відносної кількості В-лімфоцитів та концентрації ЦІК в периферичній крові щурів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани (M±m, n=15)

Терміни дослідження, доби	Показники			
	В-лімфоцити, (%)		ЦІК, (у.о)	
	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3
Контроль	46,2±1,2	46,2±1,2	63,4±1,3	63,4±1,3
2-а	48,1±1,5	48,8±1,5* ₁ p ₂ =0,08	67,0±1,7	65,8±2,1* ₁ ,* ₂
3-я	49,5±1,9	51,0±2,0* ₁ ,* ₂	71,9±1,8	68,6±2,0* ₁ ,* ₂
5-а	52,1±1,5	49,1±1,8* ₁ ,* ₂	78,4±1,9	77,4±1,4* ₁ p ₂ =0,09
8-а	48,9±1,8	48,1±1,5* ₁ p ₂ =0,06	80,5±2,5	76,2±1,7* ₁ ,* ₂
10-а	49,5±1,8	47,6±1,7* ₁ ,* ₂	80,9±1,9	73,5±1,6* ₁ ,* ₂
12-а	51,0±1,8	47,2±1,5* ₁ ,* ₂	81,5±2,1	69,8±2,2* ₁ ,* ₂

Примітки:

1. *₁ – статистично достовірний результат відносно контролю при p₁<0,05;

2. *₂ – статистично достовірний результат відносно показників 2-ї дослідної групи при $p_2 < 0,05$.

Провівши статистичний аналіз отриманих результатів нами було встановлено, що у тварин 3-ї дослідної групи, яким опікові рани лікували засобом „Кротозин”, на другу добу досліду рівень В-лімфоцитів збільшився на 5,6 % ($p_1 < 0,05$) порівняно з контролем. На третю добу спостереження відзначалося подальше збільшення кількості В-лімфоцитів, коли даний показник досяг максимального значення та на 10,4 % ($p_1 < 0,05$) був вищим від контролю і на 3,3 % ($p_2 < 0,05$) перевищував показник у 2-й дослідній групі (рис. 4.6).

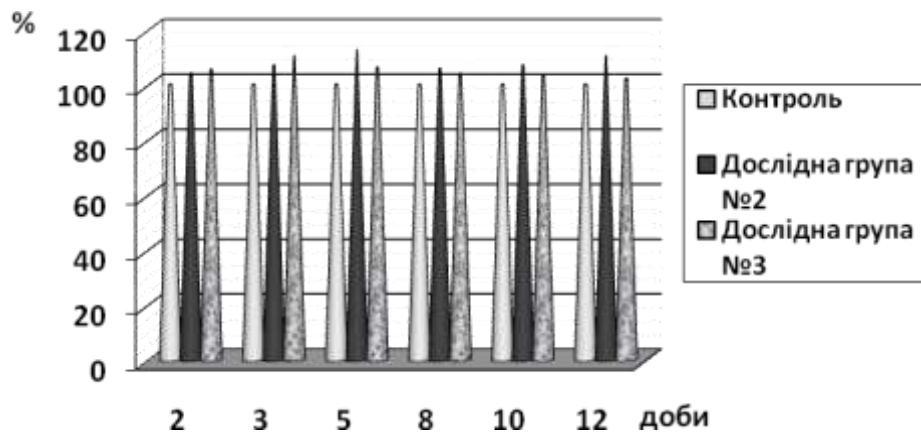


Рис. 4.6. Вплив засобу „Кротозин” на відносну кількість В-лімфоцитів у периферичній крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани у відсотковому співвідношенні, коли показник контролю відповідав 100 %.

У подальші терміни дослідження відзначалася тенденція до поступового зниження даного показника. Так на 5-у добу спостереження рівень В-лімфоцитів дещо знизився, порівняно з попередніми даними (3-я доба), який був на 6,3 % ($p_1 < 0,05$) більшим за контроль і на 6,2 % ($p_2 < 0,05$) меншим ніж у тварин, які не отримували лікування.

На 8-у добу цей показник був на 4,1 % ($p_1 < 0,05$) вищим за контроль і аналогічним показнику тварин 2-ї групи. На 10-у добу кількість В-лімфоцитів на 4,1 % ($p_2 < 0,05$) була меншою за аналогічний показник

тварин 2-ї дослідної групи, та на 3 % ($p_1 < 0,05$) перевищувала показник тварин контрольної групи.

У заключний термін експериментального дослідження кількість В-лімфоцитів продовжувала знижуватись і уже на 12-у добу цей показник був лише на 2,2 % ($p_1 < 0,05$) більшим ніж у тварин контрольної групи та на 8,2 % ($p_2 < 0,05$) меншим від результатів у тварин 2-ї дослідної групи.

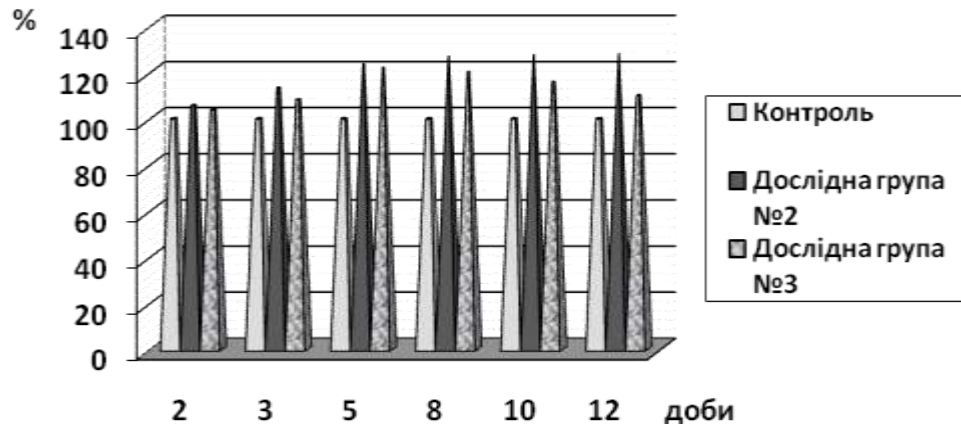


Рис. 4.7. Вплив засобу „Кротозин” на концентрацію ЦК у периферичній крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани у відсотковому співвідношенні, коли показник контролю відповідав 100 %.

На відміну від тварин 2-ї дослідної групи, зростання концентрації ЦК у тварин, котрим проводили лікування опікових ран засобом „Кротозин”, відбувалось менш інтенсивно. Так на 2-у добу досліді рівень циркулюючих імунних комплексів зріс на 3,8 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю, але достовірно був меншим ніж у 2-й дослідній групі (рис. 4.7).

На 3-тю добу концентрація ЦК у крові тварин 3-ї групи на 8,2 % ($p_1 < 0,05$) перевищувала контроль, але на 5,2 % ($p_2 < 0,05$) була меншою за аналогічні показники у тварин, що не отримували лікування. Максимального значення рівень ЦК у 3-й дослідній групі досягнув на 5-у добу спостереження, який на 22,1 % ($p_1 < 0,05$) перевищував контроль. Проте в подальші терміни досліді під впливом засобу „Кротозин” відзначалось поступове зниження концентрації ЦК в крові тварин 3-ї дослідної групи.

Уже на 8-у добу рівень ЦІК на 20,2 % ($p_1 < 0,05$) був більшим за контроль і на 6,7 % ($p_2 < 0,05$) нижчим за відповідний показник у 2-й дослідній групі. На 10-у добу експерименту простежувалося подальше падіння рівня ЦІК, який на 11,7 % ($p_2 < 0,05$) був меншим ніж у 2-й дослідній групі. На завершальному етапі спостереження, на 12-у добу, концентрація ЦІК на 18,4 % ($p_2 < 0,05$) була нижчою за показники тварин 2-ї дослідної групи, але на 10,1 % ($p_1 < 0,05$) перевищувала показники тварин контрольної групи.

Згідно отриманих результатів можна зробити наступні проміжні висновки:

1. Простежується виражений супресивний вплив опікової травми на клітинну ланку імунної системи експериментальних тварин, що проявляється значним зниженням рівня Т-лімфоцитів в крові, особливо в пізній період (8-а, 10-а, 12-а доби) розвитку запалення в опіковій рані.
2. У динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани у нелікованих тварин відзначається зростання кількості В-лімфоцитів у крові з двома піками показників на 5-у та 12-у доби.
3. Пізній період (8-а – 12-а доби) розвитку запалення в зоні опікової рани характеризується різким збільшенням концентрації ЦІК в крові.
4. Встановлено коригувальний вплив засобу „Кротозин” на клітинну та гуморальну ланки імунітету експериментальних тварин, що підтверджується підвищенням рівня Т-лімфоцитів у крові, вміст яких в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани значно перевищує показники у тварин, які не отримували лікування та призводить до зниження вмісту В-лімфоцитів та концентрації ЦІК в пізні терміни розвитку запалення.

Результати досліджень, представлених у даному розділі, опубліковані в одній науковій праці [115]

Пастернак Ю. Б. Вплив термічної травми м'яких тканин на рівень концентрації циркулюючих імунних комплексів та його корекція 2% засобом

„Кротозин” / Ю. Б. Пастернак // Світ медицини та біології. – 2010. – № 3. – С. 75-78.

РОЗДІЛ 5

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗНИКІВ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ОРГАНІЗМУ В КРОВІ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЗАПАЛЕННЯ В ЗОНІ ОПІКОВОЇ РАНИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ЗАСОБОМ „КРОТОЗИН”

У наслідок термічної травми відбувається накопичення в організмі токсинів гістогенного та мікробного походження при термічному ураженні, що призводить до зміни кількості та цитоморфологічних характеристик лейкоцитів [64, 105, 110].

Фагоцитоз є головним механізмом природної резистентності, особливо за відсутності специфічних факторів захисту на перших етапах впливу пошкоджуючих факторів, а також обов'язковою ланкою індукції та формування специфічної імунної відповіді. Фагоцитуючу роль виконують поліморфно-ядерні лейкоцити (ПМЯЛ) та мононуклеарні фагоцити (моноцити і макрофаги). Усі ПМЯЛ здатні до фагоцитозу, але тільки нейтрофіли мають високу фагоцитарну активність, що обумовлює природню резистентність організму [58, 59].

У цьому розділі дисертаційної роботи подані результати показників неспецифічної резистентності організму – фагоцитарного індексу (ФІ) та фагоцитарного числа (ФЧ), що дозволяє охарактеризувати фагоцитарну активність лейкоцитів.

5.1. Дослідження фагоцитарної активності лейкоцитів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Аналіз показників неспецифічної резистентності показав, що у тварин 2-ї дослідної групи, внаслідок отримання термічної травми, на 2-у добу відзначалося зниження ФІ на 4,5 % ($p < 0,05$) відносно контролю (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Показники фагоцитарної активності лейкоцитів в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани ($M \pm m$, $n=15$)

Терміни дослідження, доби	Показники	
	ФІ (%)	ФЧ (у.о)
Контроль	42,7±1,4	3,2±0,2
2-а	40,8±1,3*	6,6±0,1*
3-я	43,0±1,2 $p=0,53$	7,8±0,3*
5-а	44,8±1,5*	8,9±0,2*
8-а	49,7±1,8*	8,4±0,1*
10-а	48,6±1,7*	7,8±0,2*
12-а	47,6±1,4*	7,4±0,2*

Примітка. * – статистично достовірний результат відносно контролю при $p < 0,05$.

На 3-ю добу відзначалося незначне зростання ФІ у тварин 2-ї групи, показники якого наблизилися до даних контрольної групи (рис. 5.1).

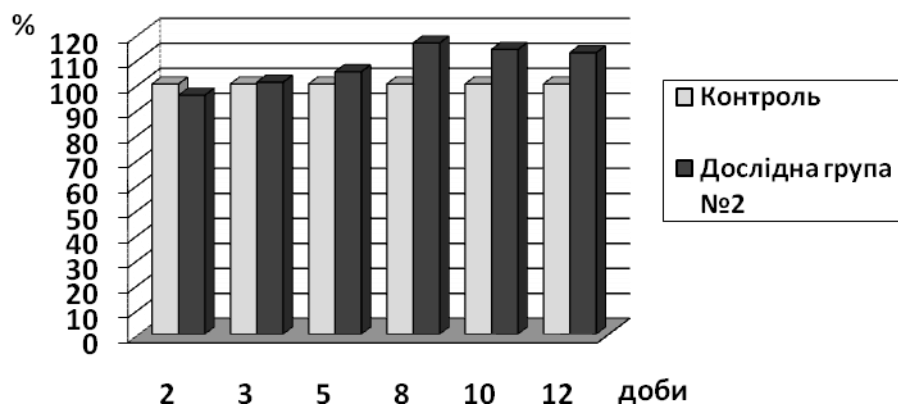


Рис. 5.1. Відсоткове співвідношення показників ФІ у крові щурів у динаміці розвитку запального процесу в зоні опікової рани до показника контролю (100 %).

На 5-у добу дослідження простежувалася тенденція до подальшого зростання ФІ, показники якого, у цей період, збільшилися на 4,9 % ($p < 0,05$) відносно контролю, а на 8-у добу досягли свого максимального значення, яке на 16,1 % ($p < 0,05$) перевищувало показники тварин контрольної групи.

У подальші терміни спостерігалось незначне зниження ФІ лейкоцитів, показники якого на 10-у добу на 13,8 % ($p < 0,05$) були більшими за контроль. У завершальний термін спостереження (12-а доба) зафіксоване подальше зниження ФІ, але який на 11,5 % ($p < 0,05$) залишався вищим від контролю.

Як видно з даних діаграми (рис. 5.2), в ранні терміни (2-а, 3-я, 5-а доби) після нанесення опікової рани, у нелікованих тварин відзначалося різке зростання ФЧ, яке на 2-у добу зросло на 106,2 % ($p < 0,05$), на 3-ю – на 143,7 % ($p < 0,05$) а на 5-у добу експериментального дослідження досягло свого максимального значення, яке на 177,9 % ($p < 0,05$) перевищувало показники контрольної групи.

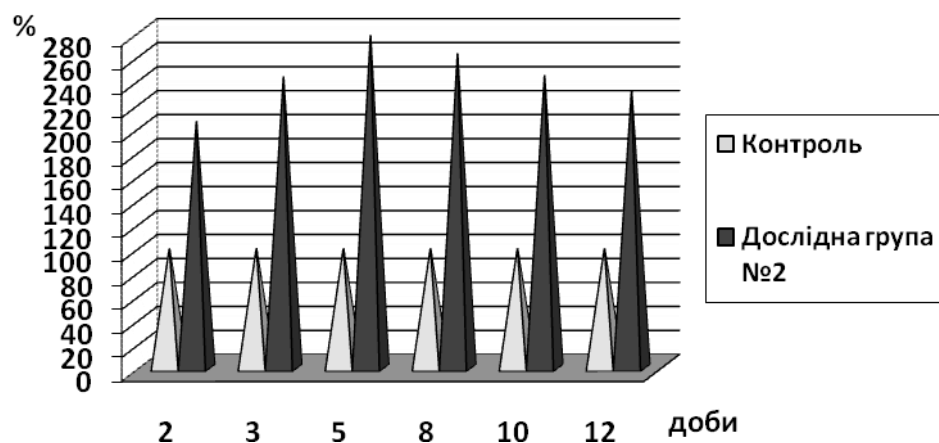


Рис. 5.2. Відсоткове співвідношення ФЧ нейтрофілів у крові щурів у динаміці розвитку запального процесу в зоні опікової рани до показника контролю (100 %).

У подальші терміни спостереження простежувалося незначне зниження ФЧ у тварин 2-ї дослідної групи. Так на 8-у добу ФЧ було на 162,6 % ($p < 0,05$) більшим за контроль. На 10-у добу відзначалося подальше зниження ФЧ відносно попереднього терміну дослідження (8-а доба), яке на 144,5 % ($p < 0,05$) залишалося більшим, ніж у інтактних тварин. У завершальний термін спостереження (12-а доба) ФЧ продовжувало знижуватися, порівняно з результатами попереднього терміну (10-а доба), але його значення на 132,1 % ($p < 0,05$) перевищувало показники контрольної групи.

5.2. Вплив засобу „Кротозин” на показники фагоцитарної активності лейкоцитів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Отримані результати проведеного експериментального дослідження представлені в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Вплив засобу „Кротозин” на показники фагоцитарної активності лейкоцитів у динаміці розвитку запалення в опіковій рані ($M \pm m$, $n=15$)

Терміни дослідження, доби	Отримані показники в дослідних групах			
	ФІ (%)		ФЧ (у.о)	
	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3
Контроль	42,7±1,4	42,7±1,4	3,2±0,2	3,2±0,2
2-а	40,8±1,3	44,1±1,4* ₁ ,* ₂	6,6±0,1	5,7±0,1* ₁ ,* ₂
3-я	43,0±1,2	45,0±1,4* ₁ ,* ₂	7,8±0,3	6,9±0,2* ₁ ,* ₂
5-а	44,8±1,5	47,1±1,4* ₁ ,* ₂	8,9±0,2	7,7±0,1* ₁ $p_2=0,09$
8-а	49,7±1,8	45,3±1,6* ₁ ,* ₂	8,4±0,1	6,7±0,1* ₁ ,* ₂
10-а	48,6±1,7	44,5±1,4* ₁ ,* ₂	7,8±0,2	5,9±0,2* ₁ ,* ₂
12-а	47,6±1,4	43,6±1,6* ₂ $p_1=0,09$	7,4±0,2	5,7±0,1* ₁ ,* ₂

Примітки:

1. $*_1$ – статистично достовірний результат відносно контролю при $p_1 < 0,05$;
2. $*_2$ – статистично достовірний результат відносно показників 2-ї дослідної групи при $p_2 < 0,05$.

Так у тварин 3-ї дослідної групи, у яких проводили місцеве лікування опікової рани засобом „Кротозин”, найвищі показники неспецифічної резистентності організму зафіксовано уже на 5-у добу спостереження, де ФІ був на 10,3 % ($p_1 < 0,05$) більшим за контроль і на 5,4 % ($p_2 < 0,05$) вищим за показник 2-ї дослідної групи (рис. 5.3).

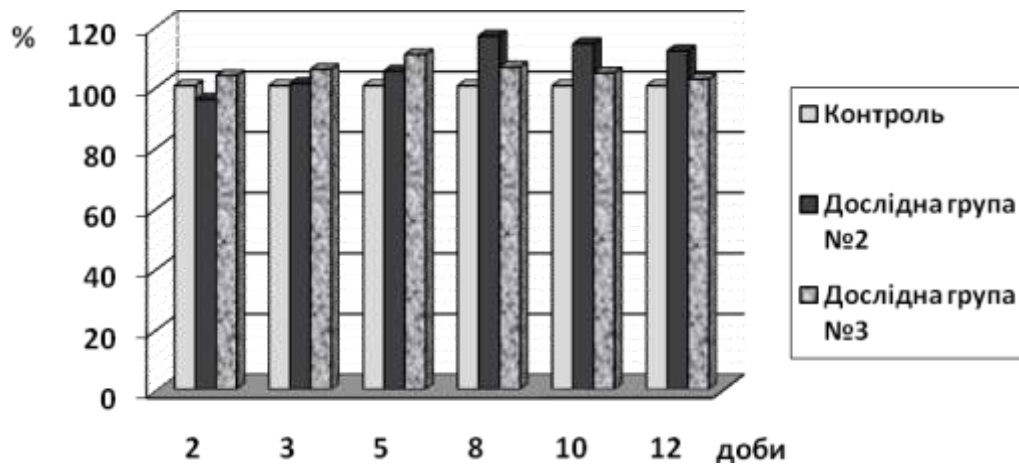


Рис. 5.3. Зміни відсоткового співвідношення ФІ в крові щурів у динаміці розвитку запального процесу в зоні опікової рани під впливом засобу „Кротозин”, до показника контролю (100 %).

Також у цей же період (5-а доба), відзначено збільшення на 139,2 % ($p_1 < 0,05$), порівняно з контрольною групою, ФЧ лейкоцитів, яке на 38,7 % ($p_2 < 0,05$) було меншим за показник у нелікованих тварин (рис. 5.4).

У подальші терміни спостереження простежувалася тенденція до зниження показників ФАЛ, що співпадало зі стиханням клінічних проявів запального процесу в зоні опікової рани. Так ФІ на 8-у добу дещо знизився відносно попереднього терміну (5-а доба) і склав 106,1 % ($p_1 < 0,05$) контролю, але на 10,3 % ($p_2 < 0,05$) був меншим за показник 2-ї дослідної групи. На 10-у

добу даний показник був на 9,6 % ($p_2 < 0,05$) меншим за результат у тварин 2-ї дослідної групи. На 12-у добу спостереження відзначалося подальше зниження ФІ відносно попередніх даних (10-а доба) і ці показники були на 9,4 % ($p_2 < 0,05$) нижчими за аналогічний показник у тварин 2-ї дослідної групи.

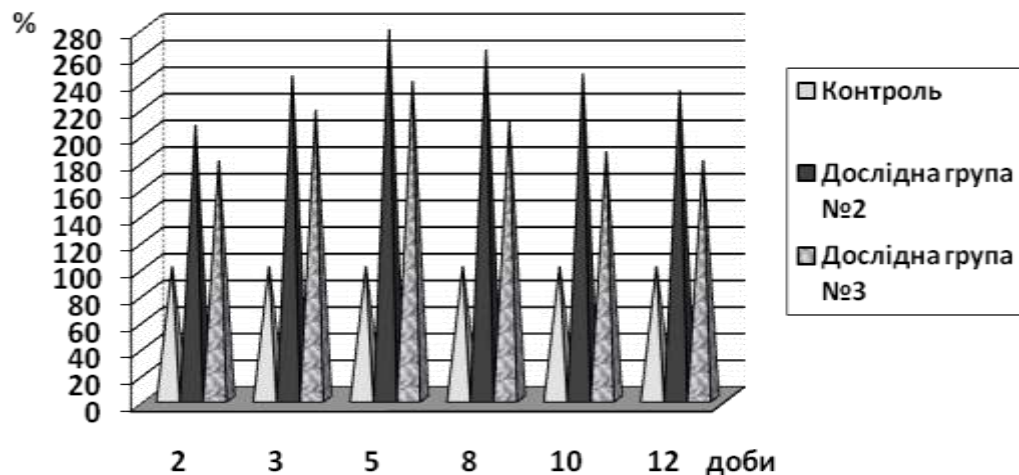


Рис. 5.4. Зміни відсоткового співвідношення ФЧ нейтрофілів у крові щурів у динаміці розвитку запального процесу в зоні опікової рани під впливом засобу „Кротозин”, до показника контролю (100 %).

Показник ФЧ на 8-у добу спостереження знизився відносно попереднього терміну (5-а доба) і був на 52,7 % ($p_2 < 0,05$) меншим, ніж у тварин 2-ї дослідної групи. На 10-у добу ФЧ було на 58,2 % ($p_2 < 0,05$) нижчим за результати, отримані у тварин 2-ї дослідної групи.

У завершальний термін дослідження, на 12-у добу, простежувалося подальше зниження показника ФЧ, значення якого на 79,7 % ($p_1 < 0,05$) перевищувало показники контрольної групи, але було на 52,4 % ($p_2 < 0,05$) меншим, ніж у нелікованих тварин.

За результатами проведених досліджень можна зробити наступні проміжні висновки:

1. Внаслідок отримання термічної травми, у нелікованих тварин відзначається збільшення фагоцитарного індексу та значне зростання фагоцитарного числа лейкоцитів особливо в пізні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани з 5-ї по 12-у доби.
2. Щоденне місцеве лікування опікової рани засобом „Кротозин”, сприяло менш інтенсивному зростанню ФІ та ФЧ лейкоцитів у ранньому періоді (2-а – 5-а доби) та забезпечило більш швидшу корекцію цих показників в пізні терміни (8-а – 12-а доби) розвитку запалення в зоні опікової рани.

Результати досліджень, представлених у даному розділі, опубліковані в одній науковій праці [113]

Пастернак Ю.Б. Особливості змін показників неспецифічної резистентності організму у крові експериментальних тварин у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2% засобом „Кротозин” / Ю.Б. Пастернак // Практична медицина. – 2010. – № 2. – С. 16-19.

РОЗДІЛ 6
ДІЯ ЗАСОБУ „КРОТОЗИН” НА БІЛКОВИЙ ОБМІН ТА АКТИВНІСТЬ
АМІНОТРАНСФЕРАЗ У КРОВІ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ
ЗАПАЛЕННЯ В ЗОНІ ОПІКОВОЇ РАНИ

Порушення обміну білків, що відбувається в організмі під впливом термічної травми, спричинене плазмовтратою через опікову поверхню, перерозподілом білків у інтра- та екстравакулярному просторах, зниженням їх синтезу в печінці під впливом ендогенних токсинів, різким посиленням протеолітичних процесів та протекторними властивостями препаратів на білковий метаболізм [11, 41, 63].

Однією з основних функцій білків плазми крові є здатність інактивувати активні форми кисню, а також зв'язувати іони перемінної валентності, які ініціюють утворення активних форм кисню, що дозволяє сформувати уявлення про антиоксидантну білкову буферну систему, як таку, що забезпечує, у першу чергу, захист на рівні еритроцитів, запобігаючи їх гемолізу внаслідок активації ПОЛ [91, 106, 126].

Тому нашим завданням було визначення зміни окремих показників білкового обміну за вмістом загального білка в плазмі крові та фракцій білка (альбуміни, глобуліни) на моделі опікової рани шкіри.

6.1. Визначення показників білкового обміну в крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Отримані результати проведеного експериментального дослідження, представлені в таблиці 6.1., показали, що внаслідок розвитку запалення в зоні

опікової рани, у щурів 2-ї дослідної групи, котрі не отримували лікування, відзначались значні зміни рівня загального білка в плазмі крові.

Таблиця 6.1

Уміст загального білка та співвідношення його фракційних складових у плазмі крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

($M \pm m$, n=15)

Терміни дослідження, доби	Загальний білок, г/л	Альбуміни %	α_1 та α_2 глобуліни %	β -глобуліни %	γ -глобуліни %
Контроль	73,4 \pm 0,6	46,6 \pm 0,5	21,2 \pm 0,2	10,5 \pm 0,3	21,7 \pm 0,1
2-а	69,2 \pm 0,9*	42,7 \pm 0,5*	23,5 \pm 0,2*	11,7 \pm 0,3*	22,1 \pm 0,3*
3-я	65,0 \pm 0,7*	37,5 \pm 0,6*	24,3 \pm 0,4*	12,0 \pm 0,2*	26,2 \pm 0,3*
5-а	57,8 \pm 1,2*	35,9 \pm 0,2*	24,9 \pm 0,2*	12,3 \pm 0,3*	26,9 \pm 0,2*
8-а	51,3 \pm 0,5*	34,2 \pm 0,5*	25,9 \pm 0,2*	12,4 \pm 0,2*	27,5 \pm 0,2*
10-а	52,0 \pm 0,7	34,9 \pm 0,6*	26,8 \pm 0,2*	12,2 \pm 0,2*	26,1 \pm 0,2*
12-а	53,4 \pm 0,6*	36,3 \pm 0,5*	27,4 \pm 0,1*	11,9 \pm 0,2*	24,4 \pm 0,2*

Примітка. * – статистично достовірний результат відносно контролю при $p < 0,05$.

Унаслідок термічної травми у тварин 2-ї дослідної групи, в яких процес загоєння опікової рани проходив без лікування, спостерігалось значне зниження рівня загального білка в ранні терміни перебігу запалення. Так, на 2-у добу дослідження кількість загального білка знизилася на 5,7 % ($p < 0,05$)

відносно показника в інтактних тварин. На 3-ю та 5-у добу експерименту відбувалося подальше зниження кількості загального білка, що становило відповідно на 3-ю добу – 88,5 % ($p < 0,05$) та на 5-у добу – 78,7 % ($p < 0,05$) відносно контролю. На 8-у добу спостереження даний показник досягнув свого найнижчого значення, яке було на 30,1 % меншим, ніж у інтактних тварин та становило 69,9 % ($p < 0,05$) контролю (рис. 6.1).

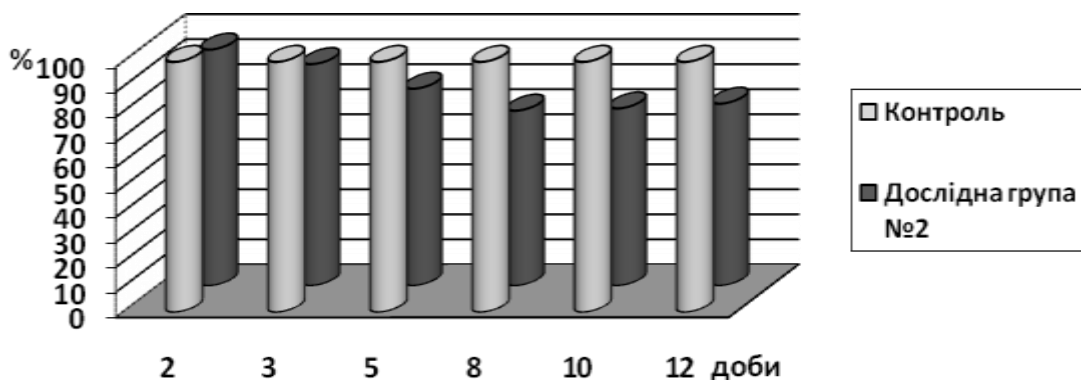


Рис. 6.1. Відсоткове співвідношення показників загального білка в плазмі крові дослідних тварин у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани до показника контролю (100 %).

У наступні терміни спостереження, на 10-у добу, відзначалося незначне збільшення кількості загального білка, в порівнянні з попереднім терміном (8-а доба), що становила 70,8 % ($p < 0,05$) контролю. На 12-у добу спостерігалось подальше збільшення кількості загального білка в порівнянні з попереднім терміном (10-а доба), але його показник на 27,3 % залишався меншим, ніж у інтактних тварин, що становило 72,7 % ($p < 0,05$) від даного показника. Таке зниження рівня білка відбувалося за рахунок альбумінової фракції, показники якої на 2-у добу знизилась на 8,4 % ($p < 0,05$); на 3-ю добу – на 19,5 % ($p < 0,05$); на 5-у добу – на 23,0 % ($p < 0,05$) відносно показників тварин контрольної групи. На 8-у добу досліджувалось подальше зниження вмісту альбумінів, коли ці показники набули найнижчого значення та були на 26,6 % ($p < 0,05$) меншими від показників контрольної групи. Уже

на 10-у добу експерименту прослідковувалося незначне зростання кількості альбумінової фракції, але ці показники залишались меншими за контроль, що становило 74,9 % ($p < 0,05$), а на 12-у добу спостереження вони вже склали 77,9 % ($p < 0,05$) від вихідного рівня.

Протилежна картина спостерігалася у глобуліновій фракції, де відзначалося зростання показників усіх її складових. Так, у ранні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани більш активно зростала кількість γ -глобулінів, показники яких на 2-у добу зросли на 1,8 % ($p < 0,05$), на 3-ю добу збільшилися на 20,7 % ($p < 0,05$), а на 5-у добу – на 23,9 % ($p < 0,05$) були більшими за контроль. На 8-у добу вони досягли свого максимуму та на 26,7 % ($p < 0,05$) перевищували рівень інтактних тварин. Починаючи з 10-ї доби, відзначалося зниження кількості γ -глобулінів, проте їх рівень був більшим за контроль на 20,3 % ($p < 0,05$). У завершальний період експерименту, на 12-у добу, спостерігалася подальше зниження кількості γ -глобулінів, але вони перевищували показники тварин контрольної групи на 12,4 % ($p < 0,05$).

Схожа картина простежувалася у зміні показників фракції β -глобулінів, зростання яких становило відповідно на 2-у добу – на 11,4 % ($p < 0,05$); на 3-ю добу – на 14,2 % ($p < 0,05$); на 5-у добу – на 17,1 % ($p < 0,05$). Максимальне значення було зафіксовано на 8-у добу досліду, яке на 18,1 % ($p < 0,05$) перевищувало контроль. У подальші терміни експериментального дослідження, (на 10-у та 12-у доби), відзначалося незначне зниження даних показників, проте вони відповідно на 16,2 % ($p < 0,05$) та на 13,3 % ($p < 0,05$) перевищували показники контролю.

Також у ході експерименту встановлено поступове зростання рівня фракції α -глобулінів протягом усього досліду. Таким чином на 2-у добу ці показники зросли на 10,8 % ($p < 0,05$); на 3-ю добу – на 14,6 % ($p < 0,05$); на 5-у добу – на 17,4 % ($p < 0,05$). Проте більш інтенсивне збільшення їх кількості відбулося в пізні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани (8-а, 10-а, 12-а доби). Так, на 8-у добу рівень α -глобулінів зріс на 22,1 %

($p < 0,05$) а на 10-у добу – на 26,4% ($p < 0,05$). Максимальне значення даного показника зафіксовано на 12-у добу експерименту, коли вміст α -глобулінів на 29,2 % ($p < 0,05$) перевищував показники тварин контрольної групи.

Більш інформативним у даному випадку був альбуміново-глобуліновий коефіцієнт, який відобразив зміну співвідношення між альбуміновою та глобуліновою фракціями білка, згідно якого можна передбачати інтенсивність перебігу запального процесу (табл. 6.2)

Таблиця 6.2

Альбуміново-глобуліновий коефіцієнт при дослідженні фракційного складу білків плазми крові експериментальних тварин у динаміці розвитку термічного запалення ($M \pm m$, $n=15$)

Терміни дослідження, доби	Показники	
	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3
Контроль	0,87 \pm 0,3	0,87 \pm 0,3
2-а	0,74 \pm 0,5* ₁	0,84 \pm 0,4* ₁ * ₂
3-я	0,60 \pm 0,6* ₁	0,83 \pm 0,2* ₁ * ₂
5-а	0,56 \pm 0,4* ₁	0,78 \pm 0,5* ₁ * ₂
8-а	0,52 \pm 0,2* ₁	0,74 \pm 0,3* ₁ * ₂
10-а	0,54 \pm 0,3* ₁	0,76 \pm 0,7* ₁ * ₂
12-а	0,57 \pm 0,4* ₁	0,78 \pm 0,2* ₁ * ₂

Примітки:

1. *₁- статистично достовірний результат відносно контролю при $p_1 < 0,05$;
2. *₂- статистично достовірний результат відносно показників 2-ї дослідної групи при $p_2 < 0,05$.

Згідно даних, зображених на діаграмі, помітно, що на другу добу дослідження альбуміново-глобуліновий коефіцієнт у тварин 2-ї дослідної групи був на 15,0 % ($p_1 < 0,05$) нижчим за показник контролю. Н третю добу

даний показник у тварин другої групи знизився порівняно з попереднім терміном (2-а доба) і був на 31,0 % меншим відносно контролю (рис. 6.2).

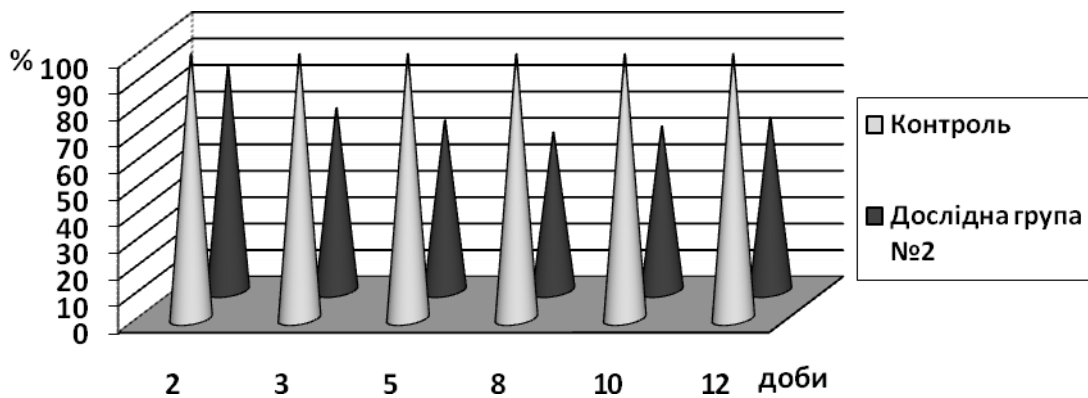


Рис.6.2. Зміни альбуміново-глобулінового коефіцієнта у дослідних тварин у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани до показника контролю (100 %).

Зниження величини альбуміново-глобулінового коефіцієнта в 2-й дослідній групі простежувалося також у подальші терміни спостереження та на 8-у добу він досягнув найнижчого значення, що було на 40,2 % ($p_1 < 0,05$) нижчим, ніж у інтактних тварин.

Підвищення величини альбуміново-глобулінового коефіцієнта у тварин 2-ї дослідної групи спостерігалось уже на 10-у добу дослідження, де він зріс відносно показників попереднього терміну (8-а доба), але був на 37,9 % ($p_1 < 0,05$) меншим за показник тварин контрольної групи.

На 12-у добу експериментальних досліджень у тварин, котрим не проводили лікування відзначалося подальше зростання величини альбуміново-глобулінового коефіцієнта, показник якого залишився на 35,7 % ($p_1 < 0,05$) меншим, ніж у інтактних тварин.

6.2. Вплив засобу „Кротозин” на показники білкового обміну в крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Отримані результати експериментальних досліджень показали, що у тварин 3-ї дослідної групи уже на другу добу після нанесення опікової рани вміст загального білка зменшився на 3,3 % ($p_1 < 0,05$) відносно показників тварин контрольної групи, але цей результат був вищим на 2,4 % ($p_2 < 0,05$), ніж у тварин 2-ї дослідної групи (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Вплив засобу „Кротозин” на вміст загального білка та співвідношення його фракційних складових у плазмі крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани ($M \pm m$, $n=15$)

Доби	Дослідні групи	Загальний білок, г/л	Альбуміни, %	α_1 та α_2 глобуліни %	β -глобуліни %	γ -глобуліни %
	Інтактні тварини	73,4 \pm 0,6	46,6 \pm 0,5	21,2 \pm 0,2	10,5 \pm 0,3	21,7 \pm 0,1
2-а	2-а група	69,2 \pm 0,9	42,7 \pm 0,5	23,5 \pm 0,2	11,7 \pm 0,3	22,1 \pm 0,3
	3-я група	71,0 \pm 0,7* ₁ * ₂	45,7 \pm 0,4* ₁ * ₂	21,5 \pm 0,4* ₁ * ₂	10,9 \pm 0,2* ₁ * ₂	21,9 \pm 0,2* ₁ * ₂
3-я	2-а група	65,0 \pm 0,7	37,5 \pm 0,6	24,3 \pm 0,4	12,0 \pm 0,2	26,2 \pm 0,3
	3-я група	68,2 \pm 0,8* ₁ * ₂	44,7 \pm 0,5* ₁ * ₂	21,6 \pm 0,3* ₁ * ₂	11,3 \pm 0,2* ₁ * ₂	22,4 \pm 0,2* ₁ * ₂
5-а	2-а група	57,8 \pm 1,2	35,9 \pm 1,2	24,9 \pm 0,2	12,3 \pm 0,3	26,9 \pm 0,2
	3-я група	63,9 \pm 0,4* ₁ * ₂	43,8 \pm 1,2* ₁ * ₂	21,9 \pm 0,3* ₁ * ₂	11,4 \pm 0,2* ₁ * ₂	22,9 \pm 0,1* ₁ * ₂
8-а	2-а група	51,3 \pm 0,5	34,2 \pm 0,5	25,9 \pm 0,2	12,4 \pm 0,2	27,5 \pm 0,2
	3-я група	60,8 \pm 1,2* ₁ * ₂	42,5 \pm 0,6* ₁ * ₂	22,3 \pm 0,2* ₁ * ₂	11,9 \pm 0,2* ₁ * ₂	23,3 \pm 0,2* ₁ * ₂
10-а	2-а група	52,0 \pm 0,7	34,9 \pm 0,6	26,8 \pm 0,2	12,2 \pm 0,3	26,1 \pm 0,2
	3-я група	64,7 \pm 0,5* ₁ * ₂	43,1 \pm 0,4* ₁ * ₂	22,1 \pm 0,3* ₁ * ₂	11,7 \pm 0,3* ₁ * ₂	23,1 \pm 0,2* ₁ * ₂
12-а	2-а група	53,4 \pm 0,6	36,3 \pm 0,5	27,4 \pm 0,1	11,9 \pm 0,2	24,4 \pm 0,3
	3-я група	68,5 \pm 0,7* ₁ * ₂	43,9 \pm 1,1* ₁ * ₂	21,8 \pm 0,2* ₁ * ₂	11,6 \pm 0,3* ₁ * ₂	22,7 \pm 0,2* ₁ * ₂

Примітки:

1. *₁ – статистично достовірний результат відносно контролю при $p_1 < 0,05$;

2. *₂ – статистично достовірний результат відносно показників 2-ї дослідної групи при $p_2 < 0,05$.

Тенденція до зниження кількості загального білка у цій дослідній групі зберігалася до 8-ї доби, але менш інтенсивніше, ніж у тварин 2-ї групи. Так, на 3-ю добу цей показник становив 92,9 % ($p_1 < 0,05$) контролю та достовірно перевищував аналогічний показник тварин 2-ї групи на 4,4 % ($p_2 < 0,05$). На 5-у добу кількість загального білка знизилася на 12,9 % ($p_1 < 0,05$), але була вищою на 8,4 % ($p_2 < 0,05$), ніж у тварин, рани яких гоїлись без лікування (рис. 6.3).

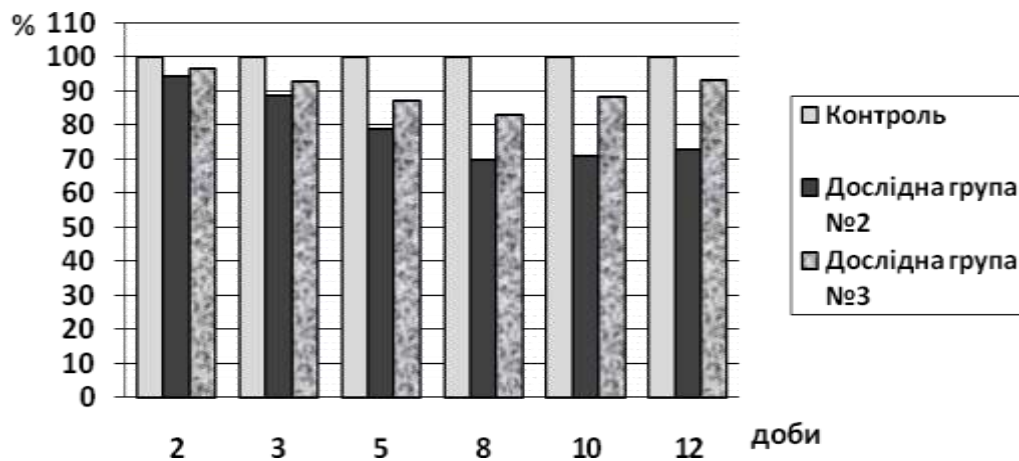


Рис. 6.3. Зміни вмісту загального білка в плазмі крові дослідних тварин у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани під коригувальним впливом засобу „Кротозин”.

На 8-му добу спостереження рівень загального білка знизився на 17,2 % ($p_1 < 0,05$) від показника контрольної групи, але на 12,9 % ($p_2 < 0,05$) залишився вищим, ніж у 2-й групі.

У подальшому, на 10-у та 12-у доби експерименту, у тварин 3-ї дослідної групи на фоні застосування засобу „Кротозин” для лікування опікових ран відзначалося збільшення вмісту загального білка плазми крові та становило відповідно 88,1 % ($p_1 < 0,05$) та 93,3 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю. Як видно з отриманих даних, рівень загального білка у тварин

даної групи на 12-у добу був на 20,6 % ($p_2 < 0,05$) більшим порівняно з тваринами, які не отримували лікування.

У тварин 3-ї дослідної групи спостерігалось зниження вмісту альбумінової фракції білка в ранні терміни перебігу запалення, але ці зміни проходили з меншою швидкістю, ніж у тварин другої групи. Так, на 2-у добу вміст альбумінів знизився на 1,9 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю, але цей показник на 6,5 % ($p_2 < 0,05$) був більшим від даних отриманих у тварин 2-ї дослідної групи.

На третю добу спостереження концентрація альбумінів становила 95,9 % ($p_1 < 0,05$) контролю і на 15,4 % ($p_2 < 0,05$) була вищою, ніж у тварин 2-ї групи. На 5-у добу рівень альбумінової фракції знизився на 6 % ($p_1 < 0,05$), але був вищим на 16,9 % ($p_2 < 0,05$), ніж у тварин 2-ї дослідної групи. На 8-у добу дослідження цей показник знизився на 8,8 % ($p_1 < 0,05$) від контролю, але був на 17,8 % ($p_2 < 0,05$) вищим, ніж у нелікованих тварин.

У подальші терміни дослідження спостерігалось незначне підвищення рівня альбумінів у тварин, яким у якості лікування застосовували засіб „Кротозин”. Так, на 10-у добу його кількість становила 92,5 % ($p_1 < 0,05$) контролю. Зростання вмісту альбумінів продовжувалося і на 12-у добу дослідження, коли їхній рівень становив 94,2 % ($p_1 < 0,05$) контролю та було на 16,3 % ($p_2 < 0,05$) більшим за результати, отримані у тварин 2-ї дослідної групи.

Також відзначалося менш інтенсивне зростання показників усіх складових глобулінової фракції. Так, у ранні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани відбувалося поступове збільшення концентрації γ -глобулінів в крові. На 8-у добу цей показник досяг свого максимуму та на 7,4 % ($p_1 < 0,05$) перевищував рівень інтактних тварин, але був на 19,3 % ($p_2 < 0,05$) меншими за результати тварин 2-ї дослідної групи. Починаючи з 10-ї доби, відзначалося зниження вмісту γ -глобулінів, проте їх рівень був на 6,4 % ($p_1 < 0,05$) більшим за контроль. У завершальний період експерименту, на 12-у добу, спостерігалось подальше зниження концентрації γ -глобулінів,

але вона перевищувала показники тварин контрольної групи на 4,6 % ($p_1 < 0,05$) та на 7,8 % ($p_2 < 0,05$) була нижчою, ніж у нелікованих тварин.

Подібна картина простежувалася у зміні показників фракції β -глобулінів, максимальне значення яких зафіксовано на 8-у добу досліду, що на 13,3 % ($p_1 < 0,05$) перевищувало контроль, але на 4,8 % ($p_2 < 0,05$) було меншим за аналогічні показники тварин 2-ї дослідної групи. У подальші терміни експериментального дослідження, на 10-у та 12-у доби, відзначалося незначне зниження даних показників. Вони відповідно на 11,4 % ($p_1 < 0,05$) та 10,5 % ($p_1 < 0,05$) перевищували показники контролю, проте на 4,8 % ($p_2 < 0,05$) та 2,8 % ($p_2 < 0,05$) відповідно залишалися меншими, ніж у тварин 2-ї дослідної групи.

У ході експерименту встановлено також поступове зростання рівня фракції α -глобулінів, максимальне значення якого зафіксовано на 8-у добу спостереження, що перевищувало контрольні показники на 5,2 % ($p_1 < 0,05$), але на 17,0 % ($p_2 < 0,05$) було меншим за показники у 2-й дослідній групі. У наступні терміни спостереження простежувалася тенденція до зниження їх кількості. Так, значення даного показника на 12-у добу експерименту тільки на 2,8 % ($p_1 < 0,05$) перевищувала показники тварин контрольної групи та на 26,4 % ($p_2 < 0,05$) було меншим за рівень α -глобулінів у тварин 2-ї дослідної групи.

Згідно даних, зображених на рисунку 6.4, видно, що на другу добу дослідження альбуміново-глобуліновий коефіцієнт у тварин 3-ї дослідної групи був на 3,4 % ($p_1 < 0,05$) нижчим за показник контролю, але на 9,5 % ($p_2 < 0,05$) перевищує дані 2-ї дослідної групи. На 3-ю добу даний показник у тварин 3-ї групи знизився на 4,6 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю, але був на 27,7% більшим, ніж у тварин 2-ї дослідної групи. Зниження величини альбуміново-глобулінового коефіцієнта у 3-й дослідній групі простежується і на 5-у добу спостереження, де він був на 10,4% нижчим, ніж у інтактних тварин та на 28,2 % вищим, ніж у нелікованих тварин. На восьму добу у тварин, котрих лікували засобом „Кротозин”, цей показник знизився на

14,9 % відносно контролю, але залишився вищим на 29,7 % за аналогічний показник у тварин 2-ї дослідної групи.

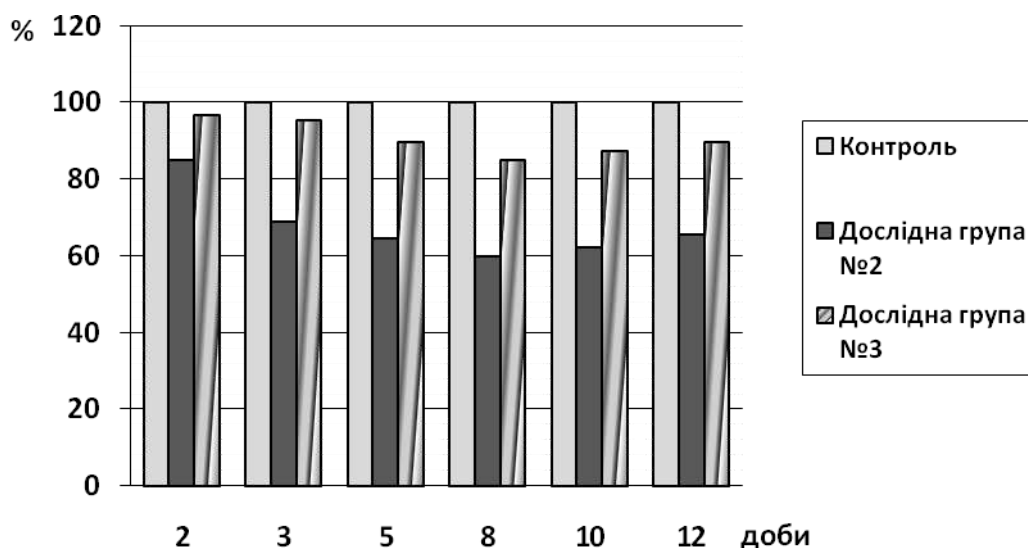


Рис. 6.4. Зміни альбуміново-глобулінового коефіцієнта в крові дослідних тварин у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани під впливом засобу „Кротозин”.

Підвищення величини альбуміново-глобулінового коефіцієнта у тварин 3-ї дослідної групи спостерігалось уже на 10-у добу дослідження, де він становив 87,4 % контролю та був на 28,9 % більшим ніж у тварин 2-ї групи. На 12-у добу експериментальних досліджень у тварин, яких лікували засобом „Кротозин”, відзначалося подальше зростання величини альбуміново-глобулінового коефіцієнта. В цей час він становив 89,6 % відносно контролю та на 26,9 % був вищим за аналогічний показник у тварин 2-ї дослідної групи.

Вищевказані зміни показників білкового метаболізму можна розцінити, як здатність засобу „Кротозин”, завдяки своїм антиоксидантним, протимікробним та сорбційним властивостям, знизити рівень всмоктування ендотоксинів, тим самим проявляти протекторні властивості на білковий метаболізм організму, що, ймовірно, є одним із механізмів протизапальної дії препарату.

6.3. Характеристика активності амінотрансфераз у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Під впливом високої температури виникають некротичні зміни в м'яких тканинах, пошкоджуються клітинні мембрани, активуються процеси ПОЛ, знижується активність ферментів АОС та синтез альбумінів. Як наслідок виникає збільшення в сироватці крові тварин рівня внутрішньоклітинних ферментів аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ), які приймають участь у переносі аміногруп з амінокислот на кетокислоти. Враховуючи те, що під час впливу термічного, інфекційного та інших пошкоджуючих факторів на організм відбувається швидка зміна показників обміну даних ферментів, вони можуть бути використані, як маркер інтенсивності та динаміки запального процесу та ефективності його корекції фармакологічними засобами.

На цьому етапі роботи було визначено динаміку активності амінотрансфераз у плазмі крові експериментальних щурів при розвитку запалення в зоні опікової рани. Результати проведених біохімічних досліджень у тварин 2-ї дослідної групи представлені в таблиці 6.4.

Унаслідок проведення експериментальних досліджень у 2-й дослідній групі після нанесення опікової травми спостерігалось зростання активності АсАТ та АлАТ уже на ранніх термінах перебігу запального процесу.

Так, на 2-у добу досліду показники АсАТ збільшилися на 17,2 % ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем, АлАТ – на 29,7 % ($p < 0,05$). На третю добу активність АсАТ на 23,7 % ($p < 0,05$) перевищувала значення контрольних тварин, а АлАТ – на 42,8 % ($p < 0,05$). На 5-у добу експерименту показники амінотрансферазної активності досягли максимуму. Так, активність АсАТ на 33,6 % ($p < 0,05$) була більшою за показник інтактних тварин, а АлАТ – на 54,7 % ($p < 0,05$) (рис. 6.5).

Таблиця 6.4

**Активність амінотрансфераз у крові щурів у динаміці розвитку
запалення в зоні опікової рани ($M \pm m$, $n=15$)**

Терміни дослідження, добы	Показники, мкмоль/мл×год	
	АсАТ	АлАТ
Контроль	1,16±0,04	1,68±0,04
2-а	1,36±0,03*	2,18±0,03*
3-я	1,43±0,04*	2,40±0,04*
5-а	1,55±0,05*	2,61±0,04*
8-а	1,47±0,03*	2,51±0,02*
10-а	1,39±0,02*	2,29±0,03*
12-а	1,32±0,03*	2,22±0,03*

Примітка. * – статистично достовірний результат відносно контролю при $p < 0,05$.

У пізні терміни спостереження рівень активності ферментів зменшувався, але залишався достовірно вищим, ніж у інтактних тварин.

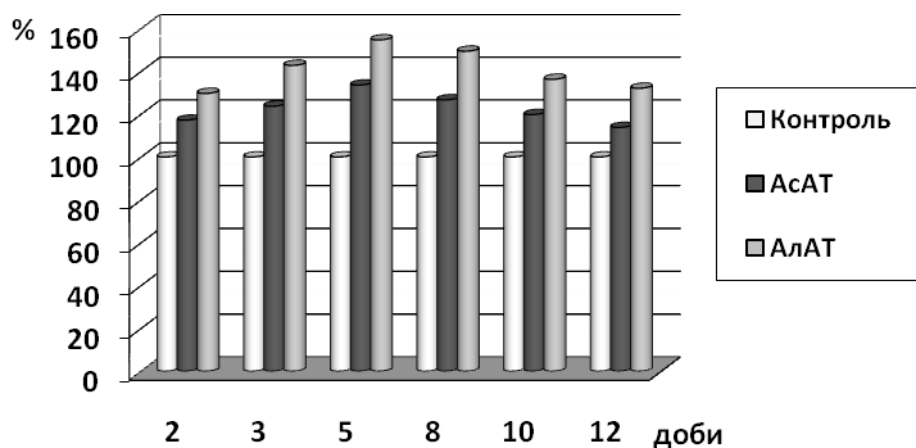


Рис. 6.5 Зміни показників активності амінотрансфераз крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани до показника контролю (100 %).

Уже на 8-добу активність АсАТ дещо знизилася порівняно з попереднім терміном (5-а доба), але на 26,7 % ($p < 0,05$) перевищувала контроль.

У аналогічний період активність АлАТ на 49,4 % ($p < 0,05$) залишалася вищою за контроль.

У подальші терміни дослідження зберігалася тенденція до зниження показників активності амінотрансфераз в крові щурів 2-ї дослідної групи. Так, на 10-у добу рівень активності АсАТ перевищував контроль на 19,8 % ($p < 0,05$), а АлАТ – на 36,3 % ($p < 0,05$); на 12-у добу спостереження активність АсАТ на 13,8 % ($p < 0,05$), а АлАТ на 32,1 % ($p < 0,05$) залишилася вищою за показники тварин контрольної групи.

6.4. Вплив засобу „Кротозин” на активність амінотрансфераз у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани

Лікування опікових ран засобом „Кротозин” призвело до менш інтенсивного зростання активності амінотрансфераз. Результати коригувального впливу засобу „Кротозин” на дані показники у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани представлені в таблиці 6.5.

Так, на другу добу спостереження рівень активності АсАТ на 6 % ($p_1 < 0,05$) перевищував контроль, але на 11,2 % ($p_2 < 0,05$) був нижчим відносно показників 2-ї дослідної групи. Активність АлАТ на 17,2 % ($p_1 < 0,05$) перевищувала показники інтактних тварин та була на 12,5 % ($p_2 < 0,05$) нижчою, ніж у тварин 2-ї дослідної групи (рис. 6.6., 6.7).

На третю добу спостереження показники активності АсАТ та АлАТ у даній групі досягли максимальних значень і на 11,2 % ($p_1 < 0,05$) та 32,7 % ($p_1 < 0,05$) відповідно перевищували показники інтактних тварин, але на

12,5 % ($p_2 < 0,05$) та 10,1 % ($p_2 < 0,05$) залишалися нижчими відносно показників 2-ї дослідної групи.

Таблиця 6.5

Коригувальний вплив засобу „Кротозин” на активність амінотрансфераз у крові щурів з експериментальними опіковими ранами в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани ($M \pm m$, $n=15$)

Терміни дослідження, доби	Показники, мкмоль/мл×год			
	АсАТ		АлАТ	
	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3
Контроль	1,16±0,04	1,16±0,04	1,68±0,04	1,68±0,04
2-а	1,36±0,03	1,23±0,04* ₁ * ₂	2,18±0,03	1,97±0,03* ₁ * ₂
3-я	1,43±0,04	1,29±0,03* ₁ * ₂	2,40±0,04	2,23±0,03* ₁ * ₂
5-а	1,55±0,05	1,25±0,03* ₁ * ₂	2,61±0,04	2,19±0,02* ₁ * ₂
8-а	1,47±0,03	1,21±0,02* ₁ * ₂	2,51±0,02	2,02±0,03* ₁ * ₂
10-а	1,39±0,02	1,20±0,02* ₁ * ₂	2,29±0,03	1,86±0,04* ₁ * ₂
12-а	1,32±0,03	1,19±0,02* ₁ * ₂	2,22±0,03	1,76±0,03* ₁ * ₂

Примітки:

- *₁ – статистично достовірний результат відносно контролю при $p_1 < 0,05$;
- *₂ – статистично достовірний результат відносно показників 2-ї дослідної групи при $p_2 < 0,05$.

Починаючи з п'ятої доби спостереження у тварин 3-ї дослідної групи простежувалася тенденція до зниження показників активності

амінотрансфераз у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани.

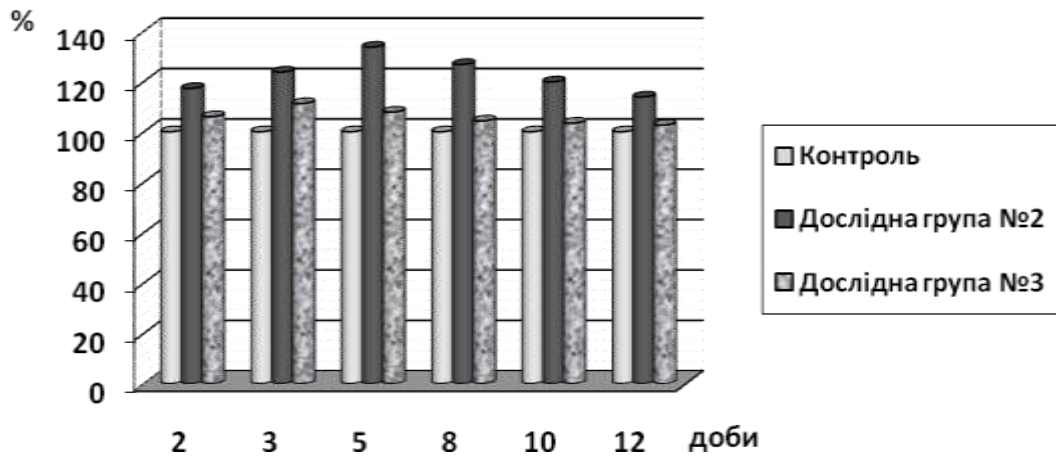


Рис. 6.6. Зміни активності АсАТ у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани під коригувальним впливом засобу „Кротозин”.

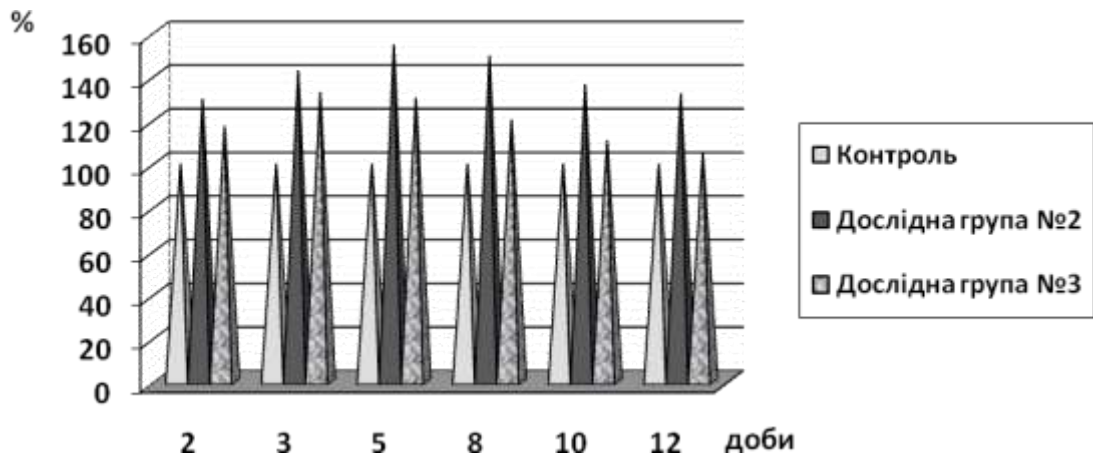


Рис. 6.7. Зміни активності АлАТ у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани під коригувальним впливом засобу „Кротозин”.

Так, на 5-у добу спостереження рівень активності АсАТ, на фоні засобу „Кротозин”, був на 25,8 % ($p_2 < 0,05$) меншим від показників нелікованих тварин, а показники АлАТ були на 24,4 % ($p_2 < 0,05$) нижчими, ніж у тварин 2-ї дослідної групи.

Результати 8-ї доби зберігали вище вказану закономірність статистично достовірного перевищення показника контролю за величиною активності АсАТ на 4,3 % ($p_1 < 0,05$) і АлАТ – на 20,2 % ($p_1 < 0,05$). Активність АсАТ на 22,4 % ($p_2 < 0,05$) і АлАТ – на 29,7 % ($p_2 < 0,05$) була достовірно меншою у порівнянні з 2-ю дослідною групою. На 10-у добу показники АсАТ та АлАТ продовжували знижуватися, але на 3,4 % ($p_1 < 0,05$) та на 10,7 % ($p_1 < 0,05$) відповідно залишалися більшими за контроль, та на 16,4 % ($p_2 < 0,05$) і на 25,6 % ($p_2 < 0,05$) відповідно були меншими у порівнянні з показниками нелікованих тварин.

Коригувальний вплив засобу „Кротозин” на рівень активності АсАТ та АлАТ в найбільшій мірі проявився на 12-у добу спостереження, коли ці показники наблизилися до аналогічних показників у інтактних тварин, та на 11,2 % ($p_2 < 0,05$) та на 27,4 % ($p_2 < 0,05$) були меншими за аналогічні показники у тварин 2-ї дослідної групи.

З метою проведення якісного аналізу активності амінотрансфераз у крові дослідних тварин впродовж патологічного процесу вираховували інтегральний коефіцієнт де Рітиса, суть якого полягає у співвідношенні АсАТ до АлАТ (АсАТ/АлАТ). У таблиці 6.6. подано отримані результати при визначенні цього співвідношення.

Так, у тварин 2-ї дослідної групи на 2-у добу цей коефіцієнт становив 90,4 % ($p < 0,05$), на 3-ю добу – 85,8 % ($p < 0,05$) а на 5-у добу – 86,2 % ($p < 0,05$) відносно показника контролю. Зниження цього показника відбувалося до 8-ї доби спостереження, де коефіцієнт становив 84,9 % ($p < 0,05$) показника норми (рис. 6.8). Починаючи з 10-ї доби відзначалося зростання цього показника, він дорівнював 88,1 % ($p < 0,05$) величини контролю. На 12-у добу спостереження відзначалося незначне зниження коефіцієнта де Рітиса відносно показника попереднього терміну і становило 86,2 % ($p < 0,05$) відносно інтактних тварин (рис. 6.8).

Зниження коефіцієнта де Рітиса свідчить про підвищення ферментативної активності амінотрансфераз через підвищення цитолітичних процесів у тканинах.

Таблиця 6.6

Показники коефіцієнту де Рітиса при дослідженні активності амінотрансфераз у крові щурів дослідних груп ($M \pm m$, $n=15$)

Терміни дослідження, доби	Показники, у.о.	
	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3
Контроль	0,690±0,03	0,690±0,03
2-а	0,624±0,01	0,623±0,03* ₁ p ₂ =0,092
3-я	0,592±0,01	0,579±0,02* ₁ p ₂ =0,099
5-а	0,595±0,02	0,570±0,01* ₁ * ₂
8-а	0,586±0,01	0,601±0,02* ₁ p ₂ =0,053
10-а	0,608±0,01	0,644±0,02* ₁ ,* ₂
12-а	0,595±0,01	0,678±0,01* ₂ p ₁ =0,19

Примітки:

1. *₁ – статистично вірогідний результат відносно контролю при $p_1 < 0,05$;
2. *₂ – статистично вірогідний результат відносно показників 2-ї дослідної групи при $p_2 < 0,05$.

У тварин, яким проводилося лікування опікових ран засобом „Кротозин”, найбільше значення даного показника встановлено на 5-у добу

досліді, що становило 82,6 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю та було на 3,6 % ($p_2 < 0,05$) меншим за результати у тварин 2-ї дослідної групи.

У подальші терміни спостереження прослідковувався ріст цього показника і на 8-у добу він становив 87,1 % ($p_1 < 0,05$) відносно показника інтактних тварин і був на 2,2 % ($p_2 < 0,05$) вищим за аналогічний показник у тварин 2-ї дослідної групи.

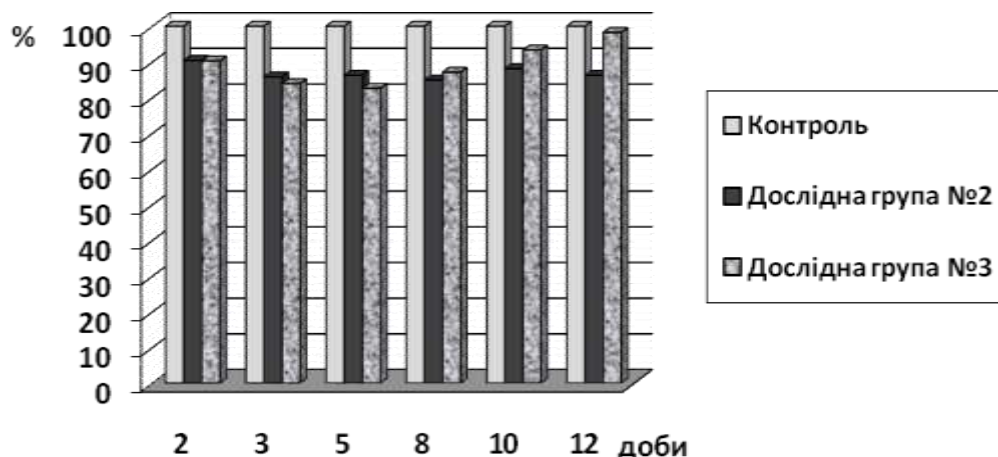


Рис. 6.8. Зміни значення коефіцієнта співвідношення АсАТ/АлАТ у крові тварин різних експериментальних груп.

На 10-у та 12-у доби експериментального дослідження відзначалося подальше зростання коефіцієнта де Рітіса. Так, на 10-добу він становив 93,3 % ($p_1 < 0,05$) відносно контролю та на 5,2 % ($p_2 < 0,05$) перевищував цей показник у тварин 2-ї дослідної групи. А на 12-у добу даний коефіцієнт достовірно не відрізнявся від показників інтактних тварин, але був на 12,1 % ($p_2 < 0,05$) більшим, ніж у 2-й дослідній групі.

Підсумовуючи отримані результати, було зроблено наступні проміжні висновки:

1. При розвитку запалення в зоні опікової рани виникає значна гіпопротеїнемія, диспротеїнемія та зниження альбуміново-глобулінового коефіцієнту, що найбільше проявляється на 8-у добу.

2. Результати щоденних аплікацій на опікові рани засобу „Кротозин”, який проявляє позитивний коригувальний вплив на білковий обмін.
3. У динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани простежується зниження показників коефіцієнта де Рітиса, що свідчить про підвищення ферментативної активності амінотрансфераз.
4. Лікування опікових ран за допомогою засобу „Кротозин” призводить до менш інтенсивного зростання показників активності амінотрансфераз у ранній період (3-я – 5-а доби) запального процесу та сприяє зниженню активності АлАТ та АсАТ в сироватці крові щурів до рівня інтактних тварин у пізній період розвитку запалення в зоні опікової рани (8-а – 10-а доби), що свідчить про його мембрано- та цитопротекторну властивості.

Результати досліджень, представлених у даному розділі, опубліковані в одній науковій праці [114]

Пастернак Ю.Б. Зміни показників білкового обміну у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та можливість їх корекції кротозином / Ю.Б. Пастернак // Практична медицина. – 2010. – № 1. – С. 84-87.

РОЗДІЛ 7

ВПЛИВ ЗАСОБУ „КРОТОЗИН” НА ПЕРЕБІГ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ В ЗОНІ ОПІКОВОЇ РАНИ

Опіковий струп та тканинний детрит, що утворився внаслідок некрозу клітин, кровоносних судин та білка, стають поживним середовищем для патогенних мікроорганізмів, а це призводить до виникнення гнійно-запальних ускладнень, що зумовлює поглиблення некрозу та сповільнення росту грануляційної тканини та загоєння рани [2, 180, 184].

Найчастіше причиною гнійно-запальних ускладнень опікових ран є золотистий стафілокок (*St. aureus*), який виявляють у посівах у 52 % випадків, а також в асоціації з іншою мікрофлорою. Це пов'язано з його високою вірулентністю, як щодо людей, так і щодо тварин, яка зумовлена такими факторами патогенності, як адгезини, капсула, ферменти агресії (ліпаза, коагулаза, гіалуронідаза, дезоксирибонуклеаза, фібринолізин, стафілокіназа, лецитиназа тощо) [179, 225, 233].

7.1 Мікробіологічна картина в рані

Застосовуючи, для лікування опікових ран, засоби, що мають виражений вплив на патогенну мікробну флору, ми маємо змогу запобігти розвитку гнійно-запальних ускладнень, і тим самим створити оптимальні умови для загоєння ран. Для визначення ефективності антимікробної активності засобу „Кротозин” нами були проведені висівання мікрофлори з

поверхні опікової рани щурів 2-ї та 3-ї дослідних груп та проведено їх порівняльний аналіз.

При проведенні експерименту вважалось доцільним враховувати кількість бактерій не в 1 мл ексудату, а в перерахунку на 1 см² рани, оскільки такі дані більш коректно будуть відобразити стан опікової рани, що знаходиться на поверхні шкірних покривів. Отримані результати подані в таблиці 7.1.

Таблиця 7.1

Динаміка мікробного обсіменіння опікових ран білих щурів при застосуванні засобу „Кротозин” (M±m, n=15)

Терміни досліджень, доби	Показники в дослідних групах, КУО/см ²	
	Дослідна група № 2	Дослідна група № 3
2-а	66,0±17,2	21,2±15,0*
3-я	142,0±12,4	64,8±16,2*
5-а	94,0±13,0	39,2±18,7*
8-а	75,2±20,6	31,6±14,0*
10-а	65,2±17,1	27,9±9,6*
12-а	45,1±12,31	0

Примітка. * – статистично достовірна різниця показників відносно 2-ї групи при p<0,05.

Наведені в таблиці результати показали відмінність показників бактеріального обсіменіння у тварин обох дослідних груп уже в першому терміні дослідження (2-а доба). Кількість патогенних мікроорганізмів у рані

тварин 2-ї дослідної групи в 3,1 рази ($p < 0,05$) перевищувала показник тварин 3-ї дослідної групи (рис.7.1).

Треба також зауважити, що найбільша динаміка зменшення кількості патогенних стафілококів на одиницю площі рани спостерігалася у тварин, для лікування яких застосовували засіб „Кротозин”. Так, на 3-ю добу спостереження у тварин 3-ї дослідної групи кількість патогенної мікрофлори була в 2,2 рази ($p < 0,05$) меншою, ніж у тварин 2-ї дослідної групи. На 5-у добу досліду цей показник у 3-й дослідній групі був у 2,4 рази ($p < 0,05$) меншим, ніж у 2-й дослідній групі.

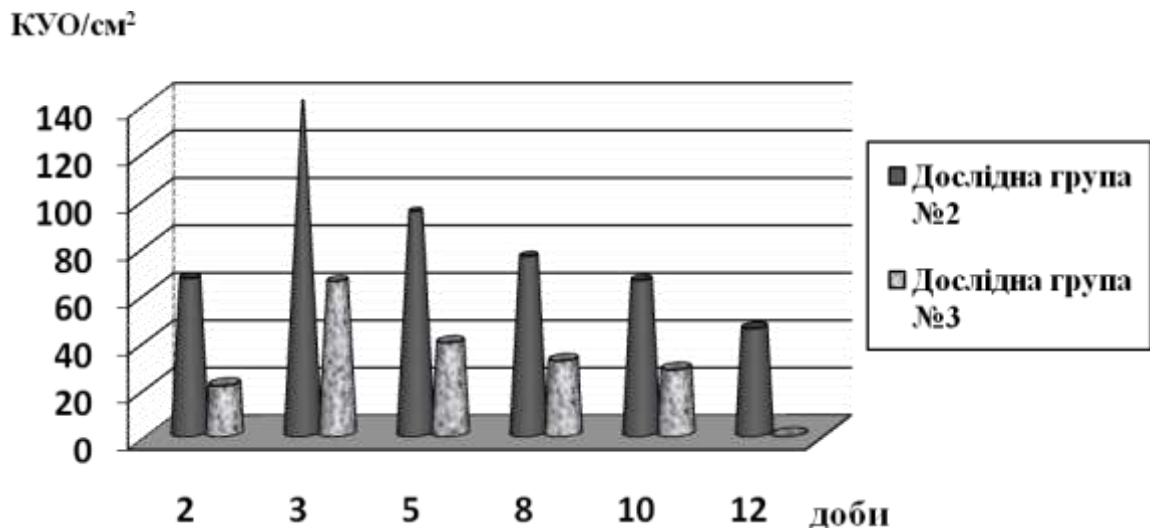


Рис. 7.1. Терміни припинення висівання мікрофлори з опікових ран експериментальних тварин.

У пізні терміни експериментального дослідження (8-а – 12-а доби) зберігалася тенденція до подальшого зниження кількості патогенної мікрофлори в зоні опікової рани щурів. Таким чином, у тварин 3-ї дослідної групи цей показник на 8-у добу – в 2,4 раза, а на 10-у добу – в 2,3 рази був меншим, порівняно з результатами тварин 2-ї дослідної групи. На 12-у добу спостереження у тварин 3-ї дослідної групи бактеріального росту з поверхні рани не було виявлено, в той час, як у 2-й дослідній групі показник росту становив $45,1 \pm 12,31$ КУО/см².

Результати проведених експериментальних досліджень дають нам підстави стверджувати, що засіб „Кротозин” поряд із протизапальними властивостями, має виражений антисептичний вплив на патогенну мікрофлору при застосуванні його за умов *in vivo*, та після подальших доклінічних та клінічних методів дослідження може застосовуватись для місцевого лікування опікових ран м'яких тканин.

7.2. Морфологічна характеристика загоєння опікової рани

Як відомо, відновлення тканинних компонентів шкіри після її пошкодження носить характер повної регенерації або реституції, оскільки остання характерна для її тканинних складників – епітелію та сполучної тканини. Регенерація тканинних компонентів шкіри після термічного пошкодження має свої морфологічні особливості у зв'язку зі специфікою травматичного фактора, останній, як правило, впливає на хід репаративних процесів, порушуючи їх, що може проявлятися як у подовженні термінів загоєння, так і в зміні його морфологічних проявів [4, 19, 37].

Вивчення впливу засобу „Кротозин” на морфологічні прояви перебігу запального процесу в зоні опікової рани проводили згідно загальноприйнятої методики, що описана у розділі № 2.

При огляді гістологічних препаратів відзначали такі показники, як формування струпу з некротичних мас на поверхні рани, терміни появи та ступінь зрілості грануляційної тканини дна рани (визначали відповідно кількості та стану судин мікроциркуляторного русла, кількості та специфіки клітинних елементів), терміни початку та швидкість утворення волокнистих структур та аморфної речовини, час початку та інтенсивність перебігу епітелізації рани.

Вивчення морфології шкіри в ділянці опіку у тварин другої дослідної групи, опіковий процес у яких проходив без лікування, на 2-у – 3-ю добу досліду вказували на дистрофічні, некробіотичні та некротичні процеси

різного ступеня вираженості, що проявлялися у всіх структурних компонентах ураженої ділянки та прилеглих до рани зон шкіри. Деструктивні зміни всіх шарів шкіри були найбільш виражені в центральній зоні і носили характер коагуляційного некрозу. Центральна ділянка опіку вкрита щільною гомогенною масою, що містить велику кількість поліморфноядерних лейкоцитів та клітинного детриту (рис. 7.2).

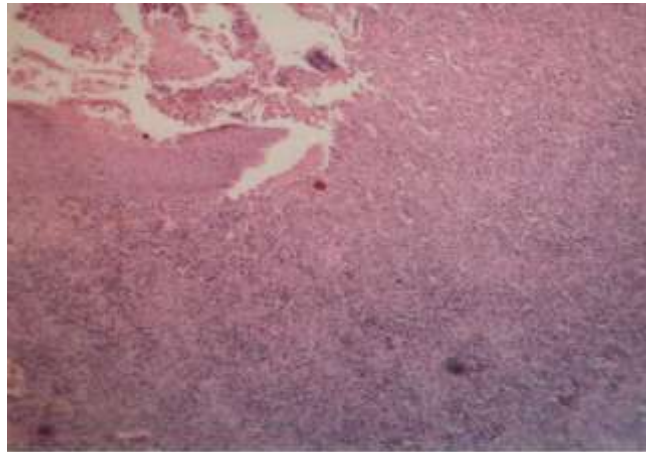


Рис. 7.2. Дослідна група № 2. 3-я доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Центральна зона опіку. Клітинний детрит. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 150$

Епідерміс у центральній частині опіку відсутній, по периферії переважно зруйнований. Також спостерігалось розшарування клітинних шарів та некротичні зміни епітеліоцитів різного ступеня. Останні найбільш виражені в зонах, прилеглих до центру ураження й зменшувалися по мірі віддалення від нього. Базальна мембрана, там де вона збережена, потовщена, нерівномірної оптичної щільності, місцями набувала хвилеподібної форми (рис. 7.3).

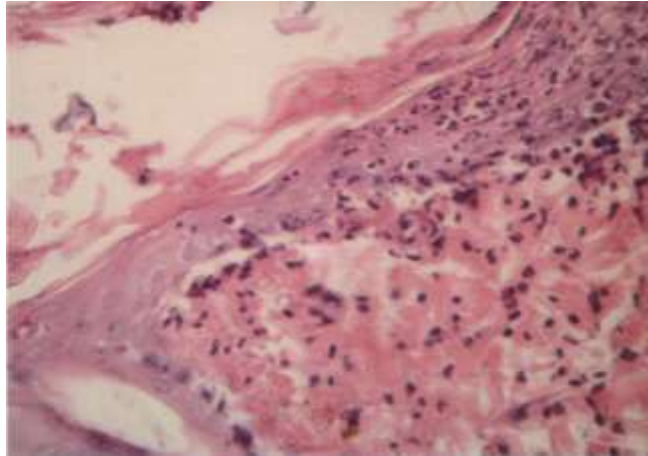


Рис. 7.3. Дослідна група № 2. 3-я доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Периферійна зона опіку. Деструкція епідермісу. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

Пошкодження дерми нерівномірні, більш виражені в поверхневих шарах дна опікової рани. Проявлялися вони гіперемією, гемостазом, численними крововиливами різного розміру (рис. 7.4).

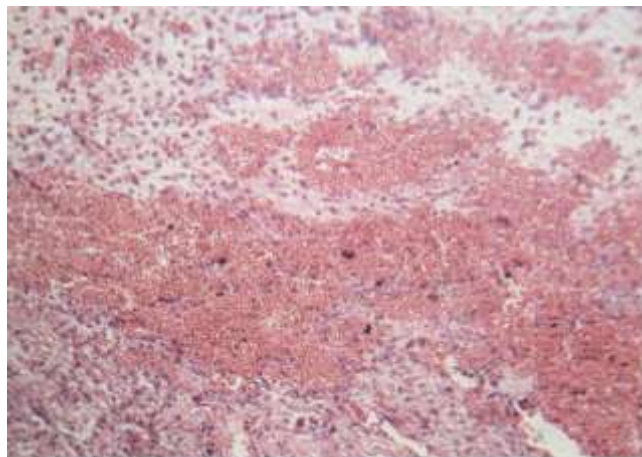


Рис. 7.4. Дослідна група № 2. 3-я доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Центральна зона опіку, дно рани. Гіперемія, гемостаз, крововиливи. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 150$

Ще глибше в даній зоні виявлявся набряк стінок судин; їх просвіт нерівномірно розширений, у частині випадків у просвіті простежувалися ознаки тромбування (рис. 7.5).

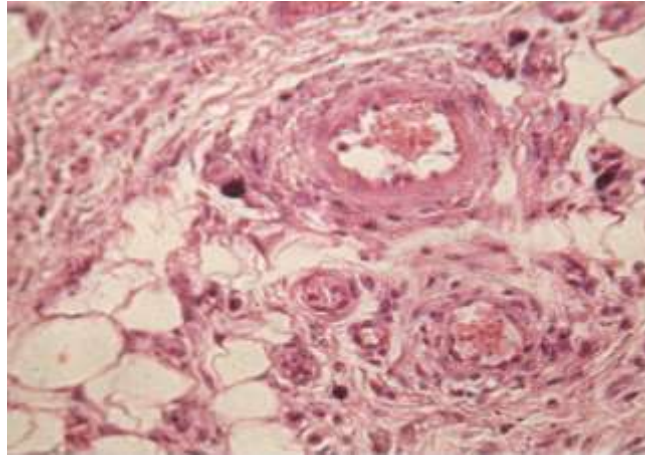


Рис. 7.5. Дослідна група № 2. 3-я доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Центральна зона опіку. набряк стінки, спазм та частковий тромбоз судин дерми. Зabarвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

Щодо сполучної тканини прилеглих ділянок дерми, то вона характеризувалася проявами набряку міжклітинної речовини, некробіотичними змінами волокнистих структур. Некротичні зміни спостерігалися також зі сторони клітинних елементів як сосочкового, так і сітчастого шару дерми (рис. 7.6).

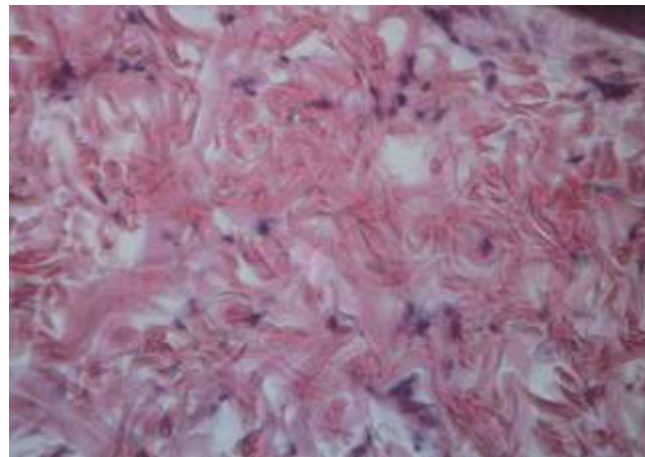


Рис. 7.6. Дослідна група № 2. 3-я доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Центральна зона опіку. набряк та некробіотичні зміни волокон та клітин глибоких шарів дерми. Зabarвлення гематоксилін-еозином. $\times 600$

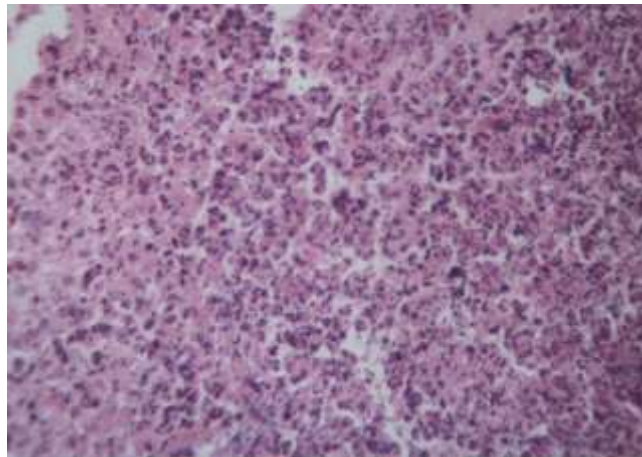


Рис. 7.7. Дослідна група № 2. 3-я доба дослідю. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Інфільтрація сполучної тканини дерми незмінними та фрагментованими нейтрофілами. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 150$

Характерною була лейкоцитарна інфільтрація сполучної тканини дна та прилеглих периферійних ділянок зони опікової рани, причому переважно нейтрофільними гранулоцитами – як незміненими, так і, в значній мірі, фрагментованими – на фоні пригнічення та зменшення кількості клітин лімфоїдного ряду та моноцитів (рис. 7.7), що можна трактувати як гальмування лейкоцитарної та макрофагальної реакції (дегенеративний тип запальної реакції за І. А. Покровським, 1971).

Волосяні фолікули зон, прилеглих до опікової рани, деформовані, клітинні елементи їх частково некротично змінені (рис. 7.8).

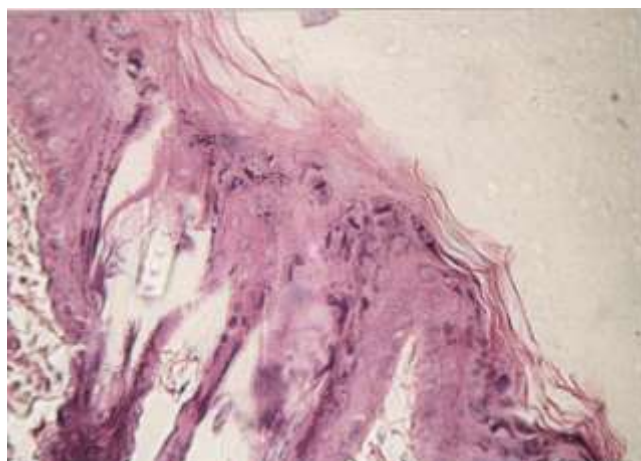


Рис. 7.8. Дослідна група № 2. 3-я доба дослідю. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Деструкція волосяних фолікулів. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

Спостереження на 5-у добу дослідю в цій групі тварин показали подальші зміни як в епідермісі, так і в обох шарах дерми піддослідних тварин. Клітини росткової зони епідермісу в зоні опікової рани виявляли ознаки некрозу в вигляді каріопікнозу та, частково, каріорексису (рис. 7.9).

В обидвох шарах дерми зберігалися морфологічні прояви набряку та деструктивних процесів сполучної тканини в вигляді некрозу частини волокнистих структур (рис. 7.10).

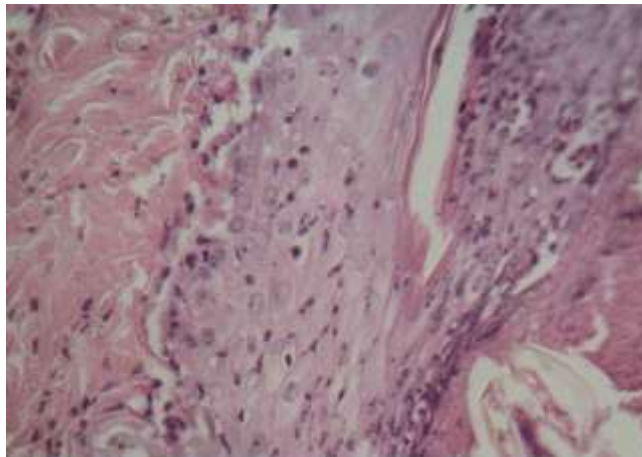


Рис. 7.9. Дослідна група № 2. 5-а доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Каріопікноз та каріорексис у клітинах росткового шару епідермісу перифокальної зони. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

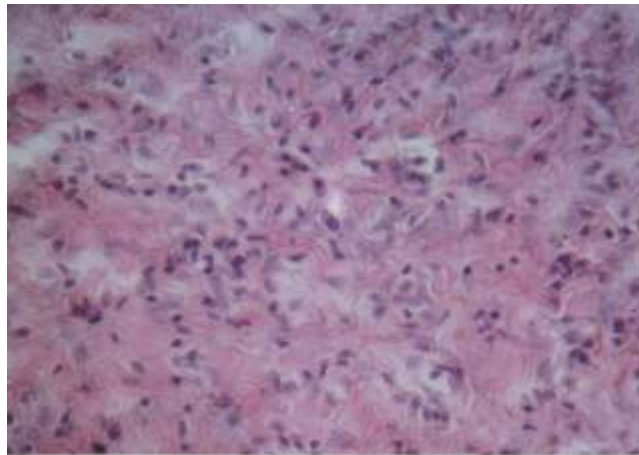


Рис. 7.10. Дослідна група № 2. 5-а доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. набряк та деструктивні прояви частини волокнистих структур дерми дна опіку. Збарвлення гематоксилін-еозином. × 300

Дрібні кровоносні судини, що локалізуються в ній, переповнені форменими елементами крові, частково зруйновані, частина з них тромбується. Локально зберігалися ділянки лейкоцитарної (переважно гранулоцитарної) інфільтрації сполучної тканини в периферійній зоні рани. (рис. 7.11).

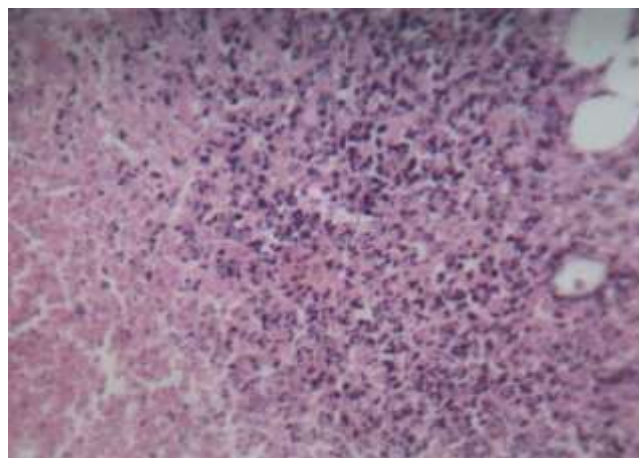


Рис. 7.11. Дослідна група № 2. 5-а доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Ділянка локальної гранулоцитарної інфільтрації периферійної зони дерми. Збарвлення гематоксилін-еозином. × 150

У центральній ділянці рани відзначалася гомогенна маса, інфільтрована клітинами гранулоцитарного ряду (рис. 7.12), під якою спостерігався початок утворення окремих ділянок молоді грануляційної тканини з невеликою кількістю фібробластоподібних клітинних елементів (рис. 7.13).

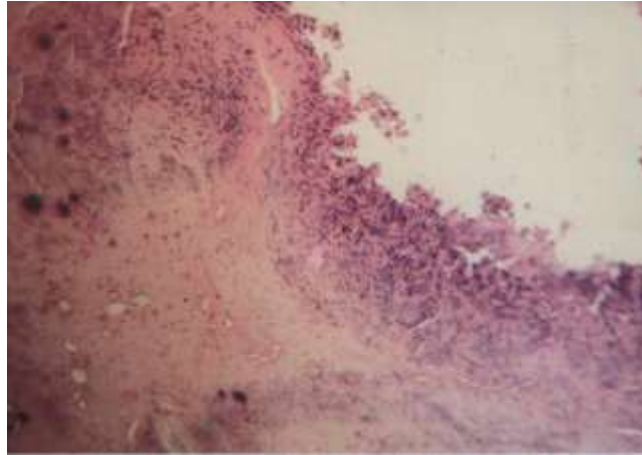


Рис. 7.12. Дослідна група № 2. 5-а доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Центральна ділянка. Гомогенна маса, інфільтрована гранулоцитами. Зabarвлення гематоксилін-еозином. $\times 150$

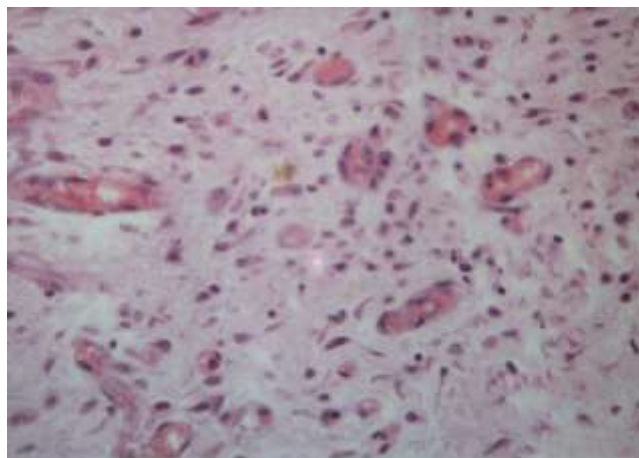


Рис. 7.13. Дослідна група № 2. 5-а доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Ділянка незрілої грануляційної тканини у центральній зоні опіку. Зabarвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

Восьма доба перебігу запального процесу в зоні опікової рани характеризувалася появою на опіковій поверхні сформованого струпу. В шкірі, прилеглій до рани, виявляюлися зони потовщення епідермісу з

явищами дегенеративних змін клітин базального та шипуватого шарів (рис. 7.14).

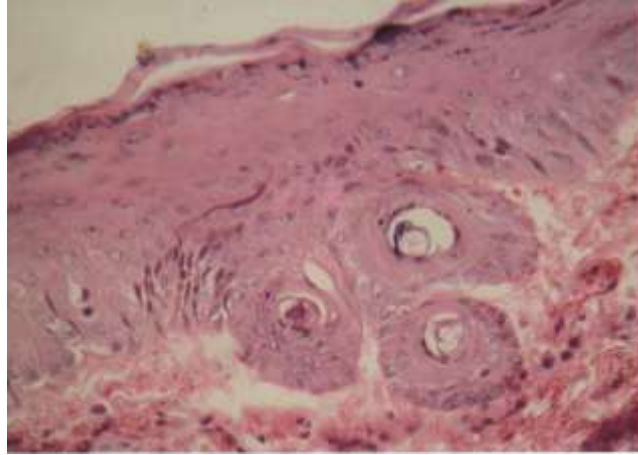


Рис. 7.14. Дослідна група № 2. 5-а доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Дегенеративні зміни клітин росткової зони епідермісу. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

Дерма прилеглих до рани ділянок виявляла ознаки пошкодження в вигляді паранекротичних та некротичних змін клітинних елементів, набряку міжклітинної основи, деструкції та руйнування волокнистих структур. Відзначалося виражене повнокрів'я дрібних судин та явища виходу еритроцитів з просвіту судин безпосередньо в міжклітинну речовину сполучної тканини з утворенням згустків (рис. 7.15).

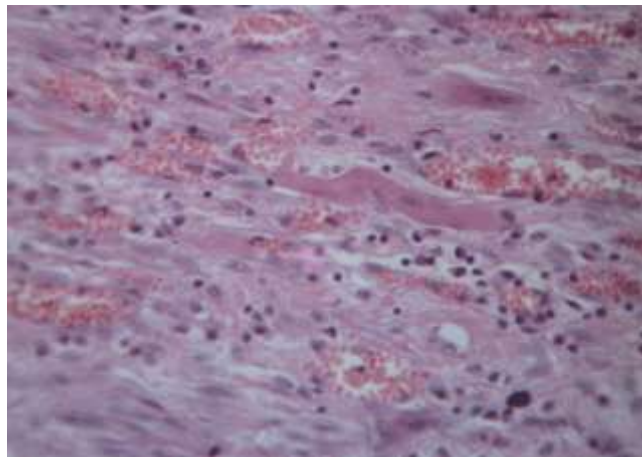


Рис. 7.15. Дослідна група № 2. 8-а доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. набряк міжклітинної речовини, деструкція

волокон, гіперемія, діapedез формених елементів крові. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

На 10 добу спостережень можна було відмітити морфологічні ознаки ліквідації перифокального запалення, а також процес початку підготовки до відторгнення струпу, що вкриває рану. Під останнім формувалася молода грануляційна тканина; для останньої характерна незначна кількість новоутворених повнокровних гемокапілярів та клітинних елементів; останні представлені переважно малодиференційованими клітинами фібробластичного ряду (рис. 7.16).

Глибше розташовувався прошарок молодої сполучної тканини, інфільтрований клітинами гематогенного походження. Епітелій в зонах, прилеглих до рани, виявляв ознаки початку регенерації, що проявлявся в потовщенні росткової зони. Характерним також було посилене зроговіння останнього (рис. 7.17).

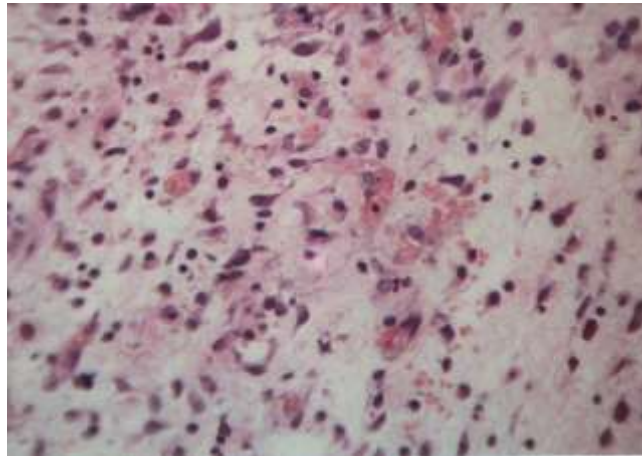


Рис. 7.16. Дослідна група № 2. 10-а доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Молода грануляційної тканини у ділянці дна. Повнокрів'я, переважання малодиференційованих клітин фібробластичного ряду. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

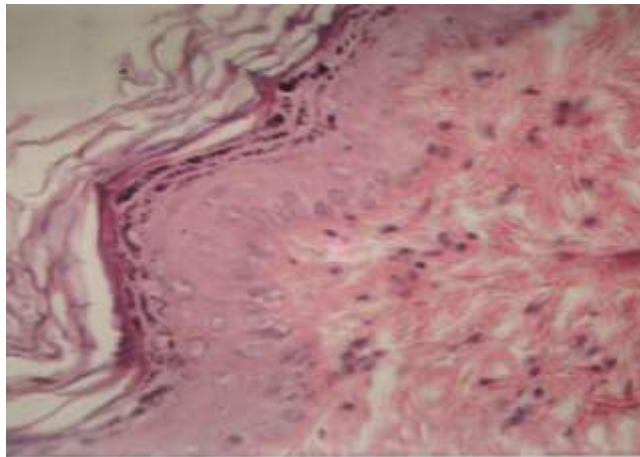


Рис. 7.17. Дослідна група № 2. 10-а доба спостереження. Шкіра білого щура, нелікована опікова рана. Потовщення росткової зони та посилення зроговіння епітелію перифокальної зони. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

На 12-у, останню, добу досліду, в 2-й групі спостереження відмічалось відходження струпу, що вкривав опікову поверхню. Зі сторони епідермісу можна було відмітити регенераційні прояви, що знаходилися в початковій стадії (рис. 7.18).

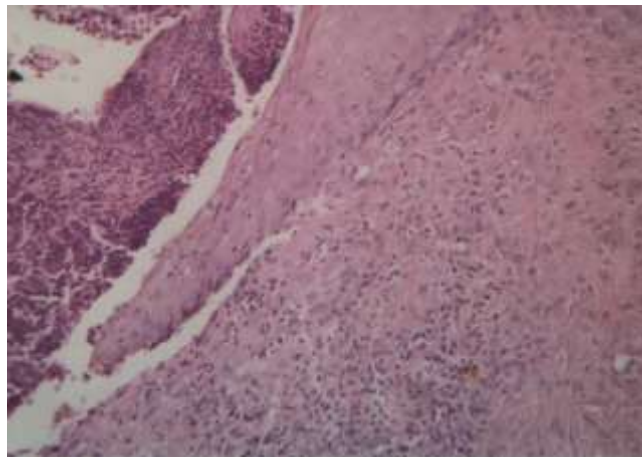


Рис. 7.18. Дослідна група № 2. 12-а доба спостереження. Шкіра білого щура. Відходження опікового струпу. Ознаки початку епітелізації периферійних ділянок. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 150$

В центральній та парацентральної зонах опікової рани на дні дефекту виявлялася помірно васкуляризована грануляційна тканина, з дещо більшою,

ніж у попередньому терміні, кількістю клітин фібробластичного ряду, імунокомпетентних клітин переважно лімфоцитарного генезу (рис. 7.19).

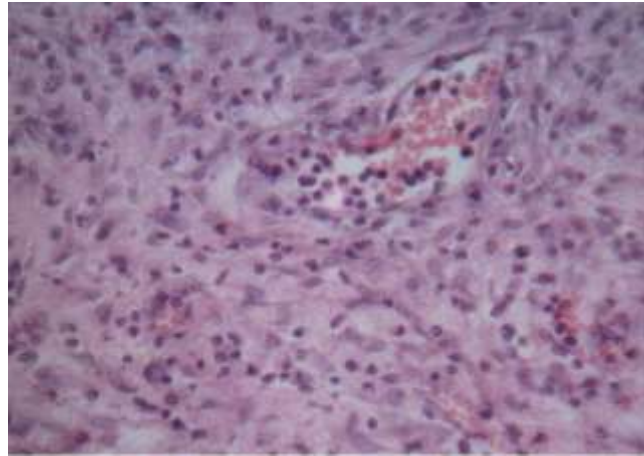


Рис. 7.19. Дослідна група № 2. 12-а доба спостереження. Шкіра білого щура. Грануляційна тканина з великою кількістю фіброblastів з дна ранового дефекту. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

Гістологічні дослідження матеріалу, взятого від тварин 3-ї дослідної групи, опікові рани котрих лікували засобом „Кротозин”, показали вже на 2-у – 3-ю доби, після нанесення опіку, прояви початку ослаблення реакції як рани, так і оточуючих рану тканин. В ділянках, що прилягали до ранового дефекту, відмічено деяке потовщення епідермісу. Клітини базального та остистого шарів а також елементи волосяних фолікулів виявляли ознаки проліферації (рис. 7.20).

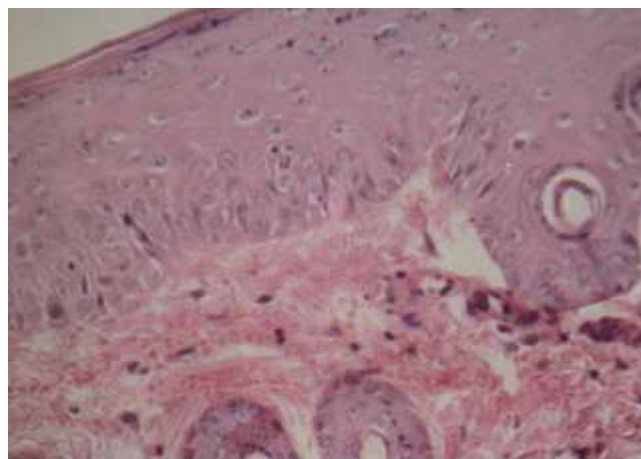


Рис. 7.20. Дослідна група № 3. 3-я доба досліду. Шкіра білого щура, опікова рана, лікована „Кротозином”. Перифокальна зона. Ознаки проліферації епідермісу та волосяних фолікулів. Забарвлення гематоксилін-еозином. × 300

Як сосочковий, так і сітчастий шари дерми виявляли ознаки набряку міжклітинної аморфної речовини та волокнистих структур. Однак слід зазначити, що вказані явища були виражені слабше, ніж в дослідній групі № 2 – так волокна не виявляли ознак дезорганізації – були відсутні ознаки гомогенізації та розпаду. Лейкоцитарна інфільтрація сполучної тканини дерми виражена помірно і виявлялася переважно в зонах, що безпосередньо прилягали до ранового дефекту (рис. 7.21).

Безпосередньо в ділянці рани виявлялася відсутність епідермісу, рана була вкрита тонким струпом. Під останнім простежувалася сполучна тканина з помірно вираженими реактивними проявами: гемокапіляри розширені, повнокровні, спостерігалися локальні скупчення формених елементів крові поза кров'яним руслом (рис. 7.22).

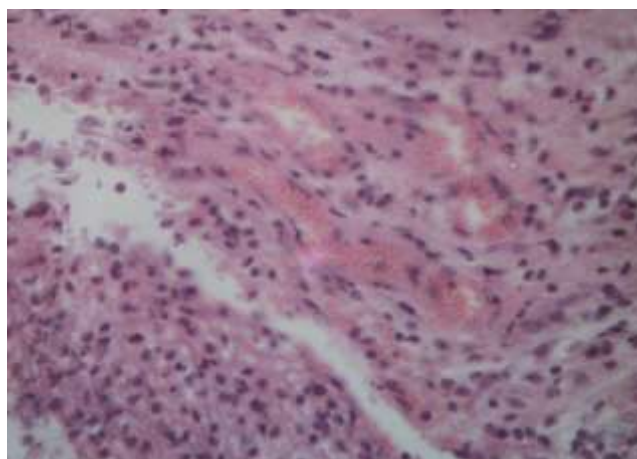


Рис. 7.21. Дослідна група № 3. 3-я доба досліду. Шкіра білого щура, опікова рана, лікована „Кротозином”. Перифокальна зона. Набряк міжклітинної речовини та волокнистих структур дерми. Ділянка лейкоцитарної інфільтрації. Забарвлення гематоксилін-еозином. × 300

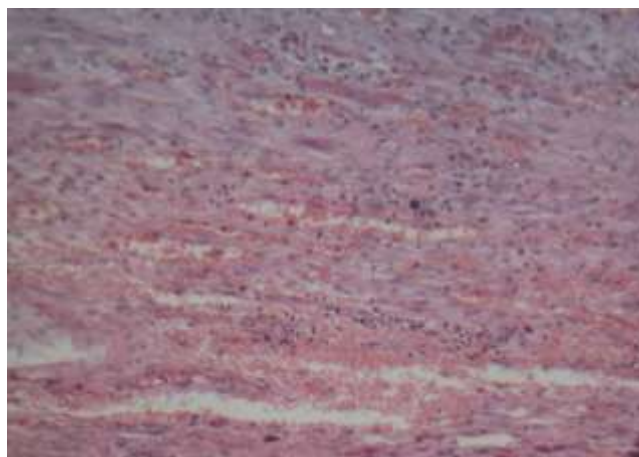


Рис. 7.22. Дослідна група № 3. 3-я доба досліду. Шкіра білого щура, опікова рана, лікована „Кротозином”. Центральна ділянка. Гіперемія сполучної тканини, помірний діapedез еритроцитів. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 150$

На 5-у добу спостереження вивчення тонкої морфології тканин зони опікової рани показало виражене зменшення, аж до повного зникнення ознак перифокального запалення. На відміну від тварин 2-ї дослідної групи, відмічалася відсутність лейкоцитарної інфільтрації тканин шкіри, прилеглих до зони опіку (рис. 7.23).

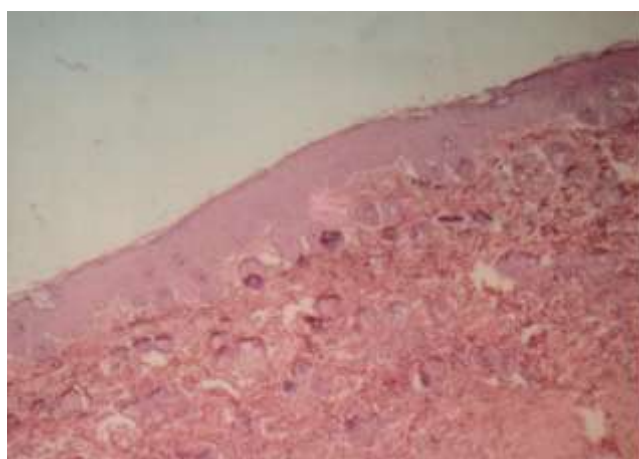


Рис. 7.23. Дослідна група № 3. 5-а доба досліду. Шкіра білого щура, опікова рана, лікована „Кротозином”. Периферійна ділянка. Відсутність ознак запалення. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 150$

На 10-у добу спостерігалось відторгнення струпу, що вкривав рану. Під останнім виявлялася зріла грануляційна тканина, для якої характерна була дещо менша кількість кровоносних судин; тканина багата на клітини фібробластичного ряду, містила новоутворені волокнисті структури, переважно колагенові волокна та окремі клітини гематогенного походження та окремі лаброцити (рис. 7.24).

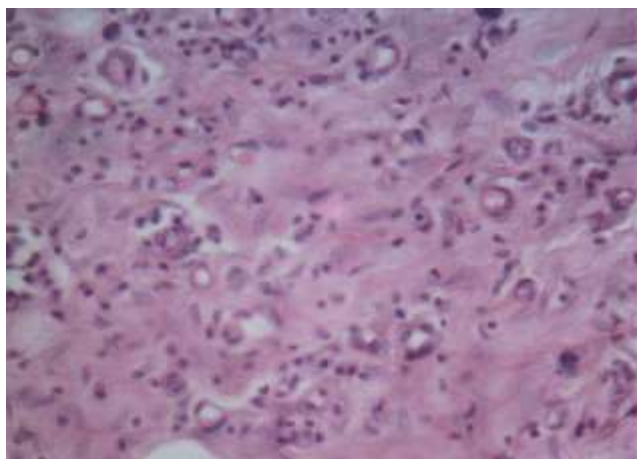


Рис. 7.24. Дослідна група № 3. 10-а доба дослідю. Шкіра білого щура, опікова рана, лікована „Кротозином”. Центральна ділянка. Зріла грануляційна тканина під відторгнутим струпом. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

У глибших шарах дерми, під раною, сполучна тканина втрачала ознаки набряку, в ній виявлявся підвищений вміст упорядковано розташованих волокнистих структур та невелика кількість клітинних елементів, переважно фіброblastів та фіброцитів (рис. 7.25).

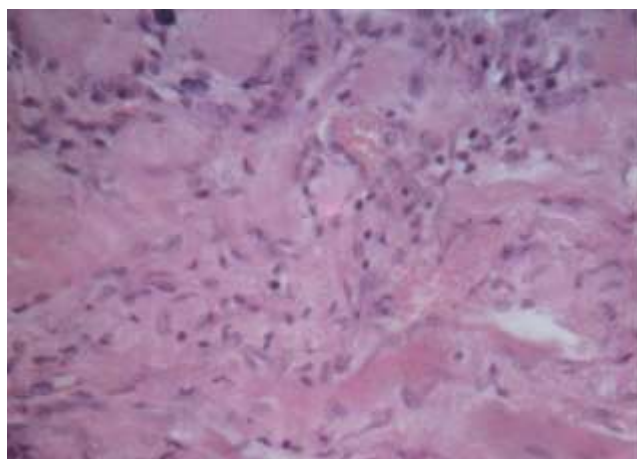


Рис. 7.25. Дослідна група № 3. 10-а доба дослідю. Шкіра білого щура, опікова рана, лікована „Кротозином”. Глибокий шар дерми в центрі рани. Упорядковано розташовані волокнисті структури, переважання зрілих клітин фібробластичного ряду. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

Епітелій крайових зон був добре виражений та виявляв ознаки регенерації з тенденцією до початку наповзання на рановий дефект (рис. 7.26).

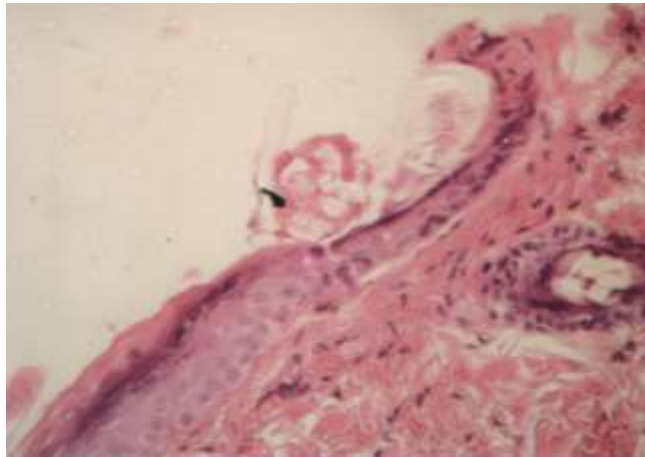


Рис. 7.26. Дослідна група № 3. 10-а доба дослідю. Шкіра білого щура, опікова рана, лікована „Кротозином”. Початок епітелізації ранового дефекту. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

На 12-у добу спостереження у тварин цієї дослідної групи відмічалися морфологічні ознаки повної нормалізації стану тканин перифокальної зони – зникали ознаки набряку міжклітинної речовини, набряк волокон та гіперемія судин мікроциркуляторного русла. Епідерміс виявляв ознаки розростання та наповзання на рановий дефект (рис. 7.27).

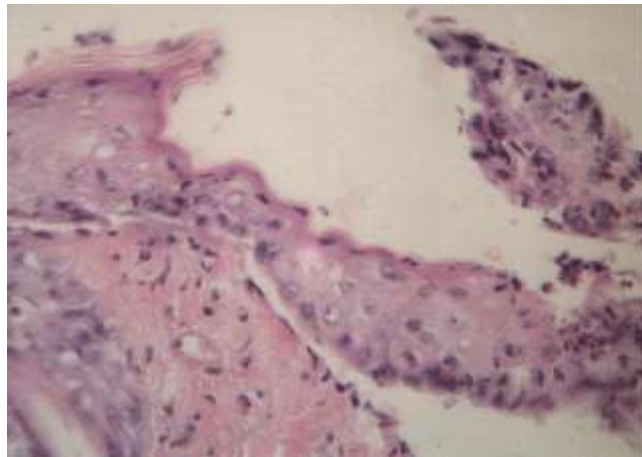


Рис. 7.27. Дослідна група № 3. 12-а доба досліду. Шкіра білого щура, опікова рана, лікована „Кротозином”. Нормалізація стану тканин довкола рани. Ознаки розростання епідермісу та „наповзання” на рановий дефект. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 300$

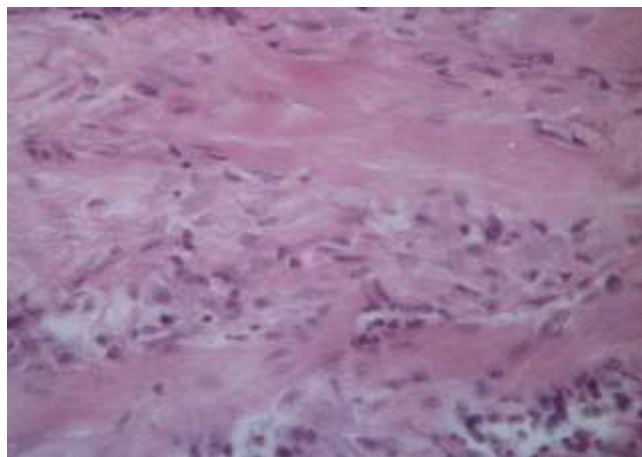


Рис. 7.28. Дослідна група № 3. 12-а доба досліду. Шкіра білого щура, опікова рана, лікована „Кротозином”. Центральна ділянка опіку. Заміщення грануляцій волокнистою сполучною тканиною. $\times 300$

Сполучна тканина формувала сосочковий та сітчастий шари, які мали звичайний вигляд. У центральній частині рани відзначалося заміщення грануляцій зрілою сполучною тканиною, з великою кількістю щільно розташованих волокон з упорядкованим розташуванням; серед клітинних елементів переважали фібробласти, переважно зрілі, окремі тканинні базофіли та клітини лімфоцитарного типу (рис. 7.28).

Таким чином, морфологічні дослідження компонентів шкіри щурів, як в осередку опікової рани, так і в периферійних ділянках опіку в процесі експерименту показали наступне. Використання досліджуваного засобу „Кротозин” вже на ранніх (2-а – 5-а доби) етапах спостереження помітно прискорювало процес репаративної регенерації пошкоджених тканин у ділянці опіку та стимулювало процес нормалізації стану перифокально розташованих тканин. Зі сторони епідермісу та його похідних (епітелію волосяних фолікулів) спостерігалася тенденція до відновлення з допомогою проліферативних процесів. Меншу ступінь вираженості мали ознаки набряку міжклітинної речовини, не було відмічено дезорганізації волокнистих структур. Швидше, ніж у нелікованих експериментальних тварин, відходив струп, утворювалася та дозрівала грануляційна тканина на дні ранового дефекту. На відміну від тварин 2-ї дослідної групи, наприкінці досліду (12-а доба) відзначалася практично повна нормалізація стану перифокально розташованих тканин. У центральній частині опікового ураження на цьому етапі активно проходив процес загоєння з утворенням ніжної рубцевої тканини; на поверхні рани відзначалися морфологічні ознаки епітелізації. Вище сказане свідчить про стимулюючий вплив досліджуваного засобу на активність перебігу процесу загоєння опікової рани.

Результати, подані в даному розділі, дозволяють зробити наступні проміжні висновки:

1. Засіб „Кротозин” поряд із протизапальними властивостями, має виражений антисептичний вплив на патогенну мікрофлору при застосуванні його за умов *in vivo*, який проявляється припиненням висівання мікрофлори з опікових ран дослідних тварин на 12 добу, в той час як у нелікованих, цей показник становив $45,1 \pm 12,3$ КУО/см².
2. Використання засобу „Кротозин” помітно прискорює процес репаративної регенерації пошкоджених тканин у ділянці опіку та стимулює процес нормалізації стану перифокально розташованих тканин.

Результати досліджень, представлених у даному розділі, опубліковані в наукових працях [26, 98, 133]

Визначення ефективної ранозагоювальної концентрації композиційної суміші похідних γ -котонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, Ю. Б. Пастернак, М. С. Регеда [та ін.] // Світ медицини та біології. – 2007. – № 4. – С. 21–24.

Огоновський Р. З. Протимікробні властивості композиційної суміші похідних γ -котонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, А. О. Гарбузов, Ю. Б. Пастернак // Збірник тезів ювілейної науково-практичної конференції "Підсумки та перспективи розвитку стоматології та щелепно-лицевої хірургії". – Харків, 2008. – С.64-65.

Ранозагоювальні та протимікробні властивості мажевої форми композиційної суміші похідних γ -котонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, А. О. Гарбузов, Ю. Б. Пастернак, І. П. Патерега // Materiály IV mezinárodní vědecko-prackická konference "Efektivní nástroje moderních věd-2008". – Praha, 2008. – S.13-16.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Розвиток технічного прогресу призводить до збільшення частоти виникнення опікових травм, як на виробництві, так і в побуті. За даними ВООЗ термічні ураження становлять 6 % від усіх травм та 16 % від травм

м'яких тканин обличчя. Унаслідок термічного ураження м'яких тканин патологічні зміни виникають не тільки в місці ураження, але й поширюються на усі органи та системи організму [19, 39, 65, 123].

Незважаючи на значні досягнення у вивченні патогенезу термічного запального процесу, на сьогодні недостатньо вивченим залишаються питання, які стосуються комплексної оцінки змін показників перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантної та імунної системи, білкового обміну, фагоцитозу при розвитку запалення в зоні опікової рани м'яких тканин та характеру її загоєння.

За даними літератури головним принципом сучасного підходу до лікування опікових ран повинен бути комплексний вплив на основні ланки патологічного процесу, в якому, поряд із хірургічними методами лікування, важливе місце відводиться місцевому впливу на уражену опіковим процесом [3, 11, 64, 92].

Для місцевого лікування ран м'яких тканин існує значний арсенал медикаментозних препаратів, які суттєво підвищують ефективність лікування та забезпечують профілактику ранових ускладнень [14, 25, 109, 130]. Водночас вони мають низку недоліків. Більшості з них притаманна вузькоспрямована дія на окремі ланки патологічного процесу; широке застосування антибактерійних препаратів, призвело до виникнення полірезистентних штамів патогенних мікроорганізмів; слабо виражені некролітичні властивості; відсутня виражена антиоксидантна та імуностимулююча дія, що призводить до негативного впливу на ранозагоюючий процес, що потребує застосування одразу декількох препаратів [3, 128, 145, 156].

У вирішенні цієї проблеми значний науковий інтерес і практичне значення має впровадження в практику нових засобів для місцевого лікування опікових ран, що мають коригуючий вплив на прооксидантну та антиоксидантну системи, антисептичні властивості, підвищують неспецифічну та специфічну реактивність організму.

Відповідно до вищевикладеного у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького нами був розроблений новий регенеруючий, протимікробний, знеболюючий засіб „Кротозин” (Патент на корисну модель № 33287 Україна, МПК А61Р 31/00, А61К 31/34 "Регенеруючий, протимікробний, знеболюючий засіб „Кротозин” для терапії інфікованих ран, опіків, гнійно-запальних захворювань шкіри), який містить композиційну суміш на основі похідних γ -критонолактону та цинкумісного хелатного комплексу карнозину, що має виражені антиоксидантні, протизапальні, антимікробні, регенеруючі властивості, а завдяки вмісту анестезину та аеросилу має виражену знеболюючу та сорбційну дію [117].

Враховуючи вище сказане, нашою метою було дослідити в умовах експерименту активність процесів ПОЛ та антиоксидантного захисту, функціональний стан імунної системи, показники неспецифічної резистентності організму, окремі показники обміну білків, морфологічні зміни в опіковій рані та з'ясувати коригуючий вплив засобу „Кротозин”.

Відтворення опікових ран м'яких тканин проводили згідно стандартної методики Венцлюса І. В. (1989) в модифікації Конькова Д. Г. (2005). Тварин виводили з дослідження у відповідні до умов експерименту терміни шляхом передозованого внутрішньоочеревинного каліпсолового наркозу шляхом декапітації на 2-у, 3-ю, 5-у, 8-у, 10-у та 12-у доби. Експерименти на тваринах проводили відповідно до вимог Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, Статуту Української асоціації з біоетики та нормативів GLP.

З літературних даних відомо, що процеси ПОЛ відіграють значну роль у розвитку багатьох патологічних станів організму [19, 41, 74]. Інтенсивність ПОЛ досить швидко змінюється при дії різноманітних факторів середовища, одним із яких є термічний [30, 36, 137].

Опікова травма та виражений больовий синдром призводять до сповільнення кровопостачання та порушення мікроциркуляції тканин, як в зоні опікової рани, так і в органах особливо чутливих до ішемії, що сприяє

розвитку тканинної гіпоксії та обумовлює активацію процесів ПОЛ [1, 11, 71, 147].

Відомо, що продукти ліпопероксидації проявляють цитотоксичну дію, пошкоджують біомембрани клітин і молекули ДНК, знижують вміст сульфідних груп, жиророзчинних гормонів, вітамінів, сприяють виділенню медіаторів запалення [107, 138, 140]. Внаслідок посилення ПОЛ збільшується кількість первинних та вторинних продуктів окислення, котрі можуть порушувати перебіг обмінних процесів, тим самим призводячи до поширення зони вторинного некрозу та ускладненого перебігу запалення в зоні опікової рани [30, 124, 126].

Активація процесів ПОЛ при опіковій травмі є експериментально і клінічно доведеним фактом. Проте в проведених раніше дослідженнях питання активності процесів ПОЛ в м'яких тканинах зони опікової рани розкрито недостатньо.

У третьому розділі нашої роботи було висвітлено зміни функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної систем в м'яких тканинах зони опікової рани щурів.

Аналіз результатів досліджень показав, що внаслідок термічної травми відбувалося різке і достовірне збільшення концентрації ГПЛ уже на другу добу спостереження та зростання концентрації МДА, порівняно з показником інтактних тварин. На третю добу експерименту простежувалося незначне зниження рівня концентрації ГПЛ та МДА в порівнянні з показниками другої доби. На п'яту добу експериментальних досліджень показники концентрації ГПЛ досягли свого максимуму та перевищували аналогічний показник у контролі. Також відзначалося зростання концентрації МДА в м'яких тканинах щурів в порівнянні з контролем.

Надалі простежувалося поступове зниження показників концентрації ГПЛ в порівнянні з попередніми термінами спостереження (5-а доба) та подальше зростання рівня МДА в м'яких тканинах щурів, показник якого на 8-у добу досяг максимального значення та був значно більшим за показники

контролю. В завершальні терміни експериментальних досліджень (на 10-у та 12-у доби) спостерігалася тенденція до зниження вмісту ГПЛ та МДА в м'яких тканинах, але вони залишалися вищими за показники у тварин контрольної групи.

Таким чином, визначення вмісту гідроперекисів ліпідів та малонового діальдегіду в м'яких тканинах зони опікової рани у динаміці розвитку термічного запалення показало різке зростання показників ГПЛ та МДА у його ранні терміни (2-а, 3-я, 5-а доби), з поступовим зниженням у пізній період (8-а, 10-а, 12-а доби), що відображало біохімічні зміни в організмі на різних стадіях опікового процесу, які можна пов'язати з розвитком запального процесу, стрес-реакцією, ішемічним або гіпоксичним станом [17, 36, 71, 92, 127, 211].

Отримані результати досліджень свідчать про те, що протягом експерименту зміни показників концентрації первинних та вторинних продуктів ПОЛ мали коливальний характер, що може обумовлюватись інтенсивністю процесів антиоксидантної системи, зокрема, її ферментативної ланки, зміни показників якої підлягали подальшому дослідженню.

Наступним етапом нашої роботи було дослідження активності ферментів антиоксидантної системи організму, зокрема супероксиддисму-тази та каталази, що виконують захисну функцію, надійно обмежуючи ПОЛ на всіх етапах, починаючи на стадії утворення активних форм кисню, тим самим сприяють нормалізації метаболізму при опіковій травмі [1, 6, 74, 163, 210].

Провівши аналіз результатів дослідження, нами з'ясовано, що в ранні терміни (2-а, 3-я доби) після нанесення термічної травми, у нелікованих тварин, відзначалося зниження активності СОД та каталази в м'яких тканинах.

На 5-у добу експериментальних досліджень спостерігалася незначне зростання показників активності СОД та каталази по відношенню до попередніх термінів спостереження (3-я доба), проте вони залишалися достовірно нижчими в порівнянні з контролем. А в пізні терміни дослідження (8-а, 10-а, 12-а доби), простежувалася тенденція до подальшого зниження

показників ферментативної активності СОД та каталази в м'яких тканинах щурів з опіковими ранами, показники яких на 12-у добу досягли своїх мінімальних значень в порівнянні з даними у тварин контрольної групи.

Згідно вище викладеного помітно, що внаслідок термічної травми в м'яких тканинах зони опікової рани, в ранні терміни розвитку запалення, відбувалося зниження активності СОД та каталази, що свідчило про пригнічення АОС, на тлі якої активувалися процеси ПОЛ та відбувалося накопичення у вогнищі запалення первинних і вторинних продуктів пероксидації, які негативно впливали на проникність клітинних мембран та призводили до загибелі клітин.

Застосування засобу „Кротозин” для лікування опікових ран м'яких тканин призвело до менш інтенсивного збільшення вмісту ГПЛ та МДА в м'яких тканинах щурів та швидшій нормалізації цих показників у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани. Отримані результати показали, що у тварин 3-ї дослідної групи найвищі показники концентрації ГПЛ та МДА спостерігалися на 5-у добу експерименту, але вони були достовірно нижчими, ніж у тварин 2-ї групи. В пізні терміни спостереження (8-а – 12-а доби) відзначалося поступове зниження концентрації ГПЛ та МДА у тварин лікованих засобом „Кротозин”. Хоча вони на 12-у добу ще залишалися достовірно вищими від показників інтактних тварин, проте були достовірно меншими, ніж у 2-й дослідній групі.

Також використання засобу „Кротозин” з метою корекції запального процесу призвело до суттєвого зменшення навантаження на систему антиоксидантного захисту в м'яких тканинах. Як наслідок, рівень активності СОД та каталази, хоча і знижувався відносно контрольних показників, особливо в ранні терміни, проте в заключний період спостереження, на 12-у добу, відзначалося незначне зростання їхньої активності, що достовірно перевищувала аналогічні показники СОД і каталази у тварин 2-ї дослідної групи.

Аналіз отриманих результатів показав, що у 3-й дослідній групі процеси вільнорадикального окиснення ліпідів проходили менш інтенсивно порів-

няно з тваринами 2-ї дослідної групи, що пов'язано з вираженими антиоксидантними властивостями засобу „Кротозин”. До складу засобу входить Zn-карнозин, хелаторні зв'язки якого зв'язують іони металів із змінною валентністю, що є активними каталізаторами в реакціях утворення вільнорадикальних сполук, тим самим доповнюють фізіологічну буферну систему шкіри щурів.

Дані літератури свідчать, що термічна травма призводить до зниження захисних механізмів організму. Це пов'язано з мікроциркуляторними розладами й порушеннями бар'єрних функцій шкіри та інших контактних тканинних структур. Унаслідок порушення цілісності шкіри відбувається денатурація клітин шкіри та протеїнів, що мають вплив на імунну систему. Накопичення токсинів гістогенного та мікробного походження, розвиток інтоксикаційного синдрому при термічних ураженнях, компоненти опікового ексудату мають виражений супресивний вплив на імунну систему за рахунок порушення опсонізації бактерій, пригнічення проліферації лімфоцитів, хемотаксис та міграцію нейтрофілів [20, 39, 57, 63, 91, 105, 125].

Вивчення стану компенсаторно-захисних механізмів, включаючи показники клітинного та гуморального імунітету, рівень активації чи пригнічення функціональної активності лейкоцитів, у щурів з експериментальними опіковими ранами до та після лікування засобом „Кротозин” показало, що внаслідок термічної травми м'яких тканин у ранні та пізні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани виникало пригнічення імунної системи експериментальних тварин.

Так, у тварин 2-ї дослідної групи уже на 2-у добу спостереження відзначалося достовірне зниження кількості Т-лімфоцитів від показника інтактних тварин. А на 3-ю добу відбувалося незначне підвищення рівня Т-лімфоцитів відносно показників попереднього терміну спостереження (2-а доба), але він залишався достовірно нижчим за показник контролю. У подальші терміни спостереження (5-а, 8-а, 10-а доби), простежувалася тенденція до зниження загальної кількості Т-лімфоцитів і в завершальний

термін експериментального дослідження, на 12-у добу, ці результати були достовірно нижчими за показники інтактних тварин.

Аналіз субпопуляційного складу Т-лімфоцитів у різні періоди розвитку запалення в зоні опікової рани, проводили на основі показників імунорегуляторного індексу (ІРІ), який представляє собою кількісне співвідношення Т-хелперів до Т-супресорів. Так, у групі тварин, котрі не отримували жодного лікування у ранні терміни після нанесення термічної травми (2-а, 3-я, 5-а доби), спостерігалось різке зниження показників ІРІ відносно контролю, мінімальне значення якого було зафіксовано на 5-у добу досліду. Таке зниження ІРІ спричинене достовірним зниженням показників Т-хелперів та зростанням кількості Т-супресорів порівняно з тваринами контрольної групи. В пізні терміни розвитку запалення (8-а, 10-а, 12-а доби) відзначалося незначне зростання показника ІРІ, у порівнянні з показниками ранніх термінів дослідження, але він залишався нижчим за показники інтактних тварин. Такі зміни відбувалися за рахунок подальшого достовірного зростання популяції Т-хелперів та зниження кількості Т-супресорів, але їх рівень достовірно перевищував даний показник у інтактних тварин.

Аналізуючи результати, отримані у тварин 3-ї дослідної групи, яким проводили лікування опікової рани засобом „Кротозин”, можна говорити про позитивний вплив даного препарату на імунну систему щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани. Це пояснюється вираженими антисептичними, сорбційними та антиоксидантними його властивостями.

Так, на 2-у добу спостереження супресивний вплив термічної травми на клітинну ланку імунітету був менш інтенсивним, що призвело до незначного зниження загальної кількості Т-лімфоцитів відносно контролю, але порівняно з тваринами у 2-й дослідній групі, ці показники були достовірно вищими. У подальші терміни дослідження (3-я, 5-а доби) відзначалося зростання кількості загальних Т-лімфоцитів, показники яких на 5-у добу були достовірно вищими, ніж у 2-й дослідній групі. У пізні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани (8-а, 10-а доби) простежується тенденція до зменшення

загальної кількості Т-лімфоцитів відносно контролю, але цей показник був достовірно більшим, ніж у тварин 2-ї дослідної групи. На завершення даного дослідження (12-а доба) відзначалося незначне зростання загальної кількості Т-лімфоцитів, коли даний показник наблизився до рівня тварин контрольної групи та достовірно перевищував аналогічний показник 2-ї дослідної групи.

Застосування засобу „Кротозин” для лікування опікових ран у тварин даної групи позитивно вплинуло і на показник ІРІ. Найнижче його значення зафіксовано на 3-ю добу досліду, що було вищим за аналогічні показники у тварин 2-ї дослідної групи. Це відбувалося за рахунок достовірного зниження популяції Т-хелперів, кількість яких була достовірно вищою за аналогічний показник у тварин 2-ї дослідної групи, та незначним зростання кількості Т-супресорів. Але даний показник був достовірно нижчим, ніж у нелікованих тварин.

У наступні терміни спостереження простежувалася тенденція до зростання ІРІ під коригувальним впливом засобу „Кротозин” за рахунок збільшення відносної кількості Т-хелперів та зниження вмісту Т-супресорів, що могло свідчити про зменшення навантаження на імунну систему експериментальних тварин та дало змогу спрогнозувати більш сприятливий перебіг ранового процесу. Таким чином, уже на 12-у добу досліду відзначалося зростання значення ІРІ, що наблизилося до показника контролю, і було значно вищим за аналогічний показник у 2-й дослідній групі. Кількість Т-хелперів у цей період зросла відносно попереднього терміну (10-а доба), але ще залишалась достовірно меншою від контролю, та статистично достовірно перевищувала дані отримані у тварин 2-ї дослідної групи. Відносний рівень Т-супресорів не перевищував показник контролю, але був достовірно меншим порівняно з аналогічним показником у 2-й дослідній групі.

Як відомо з даних літератури, в зоні опікової рани утворюються токсини тканинного та мікробного походження, продукти розпаду, що сприяють утворенню в організмі комплексів антиген-антитіло, які володіють антигенними властивостями та ініціюють імунну відповідь гуморальної

ланки імунної системи. В основі гуморальної відповіді лежить реакція В-лімфоцитів на поступлення антигенів в організм. Збільшення рівня концентрації імунних комплексів (ЦК) в крові призводить до підвищення агрегації та адгезії тромбоцитів, тромбозу судин, як наслідок, виникає порушення мікроциркуляції крові в тканинах, що сприяє розвитку вторинних некрозів [45, 64, 103, 106, 123, 142].

Провівши аналіз отриманих результатів, ми встановили, що у тварин 2-ї дослідної групи у ранні терміни розвитку запалення (2-а, 3-я, 5-а доби) в крові відбулося зростання відносної кількості В-лімфоцитів, яке на 5-у добу спостереження досягло найбільшого значення та достовірно перевищувало показник у інтактних тварин. На 8-у добу досліді відзначалося незначне зниження кількості В-лімфоцитів порівняно з попереднім терміном (5-а доба), але цей показник залишався достовірно вищим за контроль. У заключні терміни експериментального дослідження (10-а, 12-а доби) простежувалася друга хвиля зростання кількості В-лімфоцитів, показники яких на 12-у добу були достовірно більшими за результати контрольної групи.

Також протягом усього терміну експериментального дослідження простежувалося інтенсивне збільшення концентрації ЦК у тварин 2-ї дослідної групи, опікові рани яких гоїлись без лікування, що характеризувало масивне надходження у кров'яне русло продуктів розпаду із зони опікової рани і на 12-у добу експериментального дослідження показники концентрації ЦК досягли свого максимального значення, яке достовірно перевищувало контроль, що вказувало на значне навантаження на імунну систему за рахунок продуктів ендогенної та екзогенної інтоксикації з зони опікової рани.

Щоденне одноразове нанесення засобу „Кротозин” на зону опікової рани за рахунок його виражених антиоксидантних, сорбційних, протимікробних властивостей мало позитивний коригувальний вплив на показники гуморальної ланки імунної системи.

Аналіз отриманих даних показав, що у ранні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани відбувалося різке збільшення кількості

В-лімфоцитів, максимальне значення якого зафіксоване на третю добу спостереження, коли даний показник був вищим від контролю та перевищував показник у 2-й дослідній групі, що було статистично достовірно. Також у цей період зростала концентрація ЦК у крові щурів, показники якого досягли максимального значення на 5-у добу спостереження, достовірно перевищували результати контролю, але були дещо нижчими за аналогічні показники у тварин 2-ї групи. У пізні терміни дослідження простежується тенденція до поступового зниження кількості В-лімфоцитів та концентрації ЦК відносно результатів попереднього періоду (5-а доба) та аналогічних показників тварин 2-ї групи. На 12-у добу кількість В-лімфоцитів незначно перевищувала результати контрольної групи, але була достовірно меншою за показники 2-ї дослідної групи. У цей період концентрація ЦК була достовірно нижчою за показник у тварин 2-ї дослідної групи, але залишалася більшою за показники тварин контрольної групи.

Аналіз показників природної резистентності організму показав, що у тварин 2-ї дослідної групи, внаслідок отримання термічної травми, на 2-у добу відзначалося достовірне зниження показників ФІ відносно контролю. У подальші терміни спостереження (3-я, 5-а, 8-а доби) простежувалася тенденція до зростання фагоцитарного індексу у тварин 2-ї групи, показники якого на 8-у добу досягли свого максимального значення, що достовірно перевищувало показники тварин контрольної групи. У завершальний період експериментального дослідження (10-а, 12-а доби) відбувалося незначне зниження фагоцитарного індексу лейкоцитів, який на 12-у добу залишався достовірно більшими за контроль.

Також у ранні терміни (2-а, 3-я, 5-а доби) після нанесення опікової рани у тварин 2-ї дослідної групи, які не отримували лікування, відзначалося різке зростання показника ФЧ, що досягло свого максимального значення на 5-у добу експериментального дослідження та у 2,8 рази ($p < 0,05$) перевищувало показники контрольної групи. У пізні терміни спостереження (8-а, 10-а, 12-а доби) простежувалося незначне зниження величини ФЧ, значення якого на

12-у добу у 2,3 рази ($p_1 < 0,05$) залишається більшим за показники контрольної групи.

Аналіз результатів отриманих у тварин 3-ї дослідної групи, котрим щоденно проводили лікування опікових ран засобом „Кротозин” показав, що найвищі показники неспецифічної резистентності організму зафіксовано уже на 5-у добу спостереження, де значення ФІ було достовірно більшим за контроль і показник 2-ї дослідної групи. Також відзначено збільшення у 2,4 рази ($p_1 < 0,05$), порівняно з контрольною групою, величини ФЧ лейкоцитів, яке було достовірно меншим за показник у нелікованих тварин. У пізні терміни спостереження простежувалася тенденція до зниження показників ФІ та ФЧ, що співпадало зі стиханням клінічних проявів запального процесу в зоні опікової рани і на 12-у добу спостереження показник ФІ не перевищував контрольне значення і був достовірно меншим за показник 2-ї дослідної групи. Значення ФЧ в 1,8 рази ($p_1 < 0,05$) перевищувало показники контрольної групи, але було достовірно меншим, ніж у тварин, котрим не проводилось лікування.

Проаналізувавши отримані результати дослідження, можемо стверджувати, що застосування засобу „Кротозин” при лікуванні опікових ран м'яких тканин мало позитивний коригувальний вплив на зміни показників відносної кількості Т- і В-лімфоцитів та концентрації ЦК, нормалізацію показників фагоцитарної активності лейкоцитів у крові експериментальних тварин в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани, що призводило до більш швидшого відновлення функціонального стану імунної системи.

Наступний розділ нашої роботи було присвячено вивченню впливу термічної травми на зміни окремих показників білкового обміну та активності амінотрансфераз у крові щурів з опіковими ранами м'яких тканин до та під час лікування засобом „Кротозин”.

Згідно даних літератури, опікова травма призводить до порушення обміну білків, що спричинене плазмолізатом через опікову поверхню, відбувається перерозподіл білків в інтра- та екстравакулярному просторах,

знижується їх синтез у печінці під впливом ендогенних токсинів, проходить посилення протеолітичних процесів [12, 41, 65, 100, 138]. Також характерним для розвитку патологічного процесу при опіковій травмі є пригнічення функціонування системи детоксикації організму, що призводить до виражених порушень процесів дезамінування та переамінування. Як наслідок, виникає збільшення в сироватці крові тварин рівня внутрішньоклітинних ферментів аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ), які приймають участь в переносі аміногруп з амінокислот на кетокислоти [45, 63, 92, 99].

Аналізуючи результати впливу термічної травми на білковий метаболізм, у тварин 2-ї дослідної групи, в яких процес загоєння опікової рани проходив без жодного лікування, спостерігалось значне зниження рівня загального білка в крові у ранні терміни перебігу запалення, найнижче значення якого зафіксовано на 8-у добу спостереження, коли даний показник на 30,1 % ($p_1 < 0,05$) був достовірно нижчим порівняно з інтактними тваринами. У подальші терміни спостереження відзначалося незначне збільшення кількості загального білка, але на 12-у добу цей показник залишався достовірно меншим рівня інтактних тварин.

Більш інформативнішим у даному випадку був альбуміново-глобуліновий коефіцієнт, який відображає зміну співвідношення між альбуміновою та глобуліновою фракціями білка, згідно якого можна передбачати інтенсивність перебігу запального процесу. Аналіз отриманих даних показав, що у ранні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани простежувалася тенденція до зниження величини альбуміново-глобулінового коефіцієнту у 2-й дослідній групі, показник якого на 8-у добу досягнув найнижчого значення, яке було достовірно нижчим, ніж в інтактних тварин. У цей період відзначалася виражена гіпоальбумінемія та гіперглобулінемія, що вказувала на інтенсивний розвиток запалення в зоні опікової рани. У подальші терміни експериментальних досліджень (10-а, 12-а доби) у тварин, котрим не проводили лікування відзначалось зростання величини

альбуміново-глобулінового коефіцієнту, але на 12-у добу він залишився достовірно меншим за аналогічний показник у інтактних тварин.

Застосування засобу „Кротозин” у тварин 3-ї дослідної групи призвело до менш виражених змін показників загального білка та білкових фракцій у ранні та пізні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани порівняно з нелікованими тваринами. Провівши аналіз результатів експериментального дослідження, нами встановлено, що на 8-му добу спостереження рівень загального білка у крові знизився на 17,2 % ($p_1 < 0,05$) відносно показників контрольної групи, але залишився достовірно вищим, ніж у нелікованих тварин. У цей період альбуміново-глобуліновий коефіцієнт знизився відносно контролю, але залишився достовірно вищим за аналогічний показник тварин 2-ї дослідної групи. Надалі, на 10-у та 12-у доби експерименту, у тварин 3-ї дослідної групи на фоні застосування засобу „Кротозин” для лікування опікових ран відзначалося збільшення рівня загального білка плазми крові. Хоча на 12-у добу рівень загального білка у тварин даної групи залишався меншим за контроль, цей показник був достовірно більшим порівняно з нелікованими тваринами. Також відзначалося підвищення величини альбуміново-глобулінового коефіцієнту у цей період, де він наблизився до контрольного значення та був достовірно вищим за аналогічний показник тварин 2-ї дослідної групи.

Вказані вище зміни показників білкового обміну можна розцінити як здатність засобу „Кротозин”, завдяки своїм антиоксидантним, протимікробним та сорбційним властивостям знижувати рівень всмоктування ендотоксинів, тим самим проявляти протекторні властивості на білковий метаболізм організму, що, ймовірно, є одним із механізмів протизапальної дії препарату.

Аналіз отриманих даних експериментальних досліджень показав, що після нанесення опікової травми спостерігалось зростання показників АсАТ та АлАТ уже на ранніх термінах перебігу запального процесу (2-а, 3-я, 5-а доби), що досягли свого максимуму на 5-у добу та були достовірно більшими за показники інтактних тварин. У пізні терміни розвитку запалення в зоні

опікової рани рівень активності ферментів зменшувався, але на 12-у добу спостереження залишився достовірно вищим, ніж у інтактних тварин

Щоденні одноразові аплікації засобу „Кротозин” на зону опікової рани сприяли більш швидкій нормалізації активності амінотрансфераз у крові в ранні та пізні терміни розвитку запалення в зоні опікової рани. Так, на третю добу спостереження показники АсАТ та АлАТ у даній групі досягли максимальних значень, достовірно перевищували показники інтактних тварин, але залишалися достовірно нижчими відносно показників 2-ї дослідної групи. Починаючи з п'ятої доби спостереження у тварин 3-ї дослідної групи, простежувалася тенденція до зниження показників активності амінотрансфераз у крові. Коригувальна дія засобу „Кротозин” на рівень активності АсАТ та АлАТ в найбільшій мірі проявилася на 12-ту добу спостереження, коли ці показники наблизилися до аналогічних значень в інтактних тварин і були достовірно меншими за аналогічні показники нелікованих тварин.

Отримані дані показали, що засіб „Кротозин” сприяв стабілізації показників білкового і азотистого обміну, мав виразну антиоксидантну та антицитолітичну активність, особливо на ранніх етапах після відтворення рани, що, ймовірно, є одним із механізмів протизапальної дії препарату.

Застосування засобу „Кротозин” при лікуванні опікових ран м'яких тканин, показало, що даний препарат мав позитивний коригувальний вплив не тільки на перебіг запального процесу в зоні опікової рани, а й сприяв репаративній регенерації пошкоджених тканин.

Досліджуючи вплив засобу „Кротозин” на загоєння опікових ран м'яких тканин, на підставі мікробіологічних досліджень нами було встановлено, що припинення висівання патогенної мікрофлори з опікових ран у тварин 3-ї дослідної групи відзначено на 12-й день, натомість у нелікованих тварин в аналогічний період експериментального дослідження цей показник становив $45,1 \pm 12,3$ КУО/см².

Морфологічні дослідження м'яких тканин зони опікової рани в процесі експерименту показало, що використання засобу „Кротозин” вже на ранніх

(2-а – 5-а доби) етапах спостереження помітно прискорювало процес репаративної регенерації пошкоджених тканин у ділянці опіку та стимулювало процес нормалізації стану перифокально розташованих тканин. Зі сторони епідермісу та його похідних (епітелію волосяних фолікулів) спостерігалася тенденція до відновлення з допомогою проліферативних процесів. Меншу ступінь вираженості мали ознаки набряку міжклітинної речовини, не було відмічено дезорганізації волокнистих структур. Швидше, ніж у нелікованих експериментальних тварин, відходив струп, утворювалася та дозрівала грануляційна тканина на дні ранового дефекту. На відміну від тварин 2-ї дослідної групи, наприкінці досліду (12-а доба) відзначалася практично повна нормалізація стану перифокально розташованих тканин. У центральній частині опікового ураження на цьому етапі активно проходив процес загоєння з утворенням ніжної рубцевої тканини; на поверхні рани відзначалися морфологічні ознаки епітелізації. Вище сказане свідчить про стимулюючий вплив досліджуваного засобу на активність перебігу процесу загоєння опікової рани.

Отримані результати дали підстави стверджувати, що у динаміці розвитку термічного запалення, в м'яких тканинах зони опікової рани, відбувалася активація процесів ПОЛ, накопичення в вогнищі запалення первинних (ГПЛ) і вторинних (МДА) продуктів пероксидації та пригнічувалася ферментативна активність АОС, яка характеризувалася зниженням активності СОД та каталази. Під впливом термічної травми порушувався функціональний стан імунної системи, який проявлявся пригніченням клітинної та стимуляцією гуморальної ланок імунітету. Підвищувалася фагоцитарна активність лейкоцитів в крові нелікованих тварин, особливо в пізні терміни формування термічного запалення. Відзначалася виражена гіпопротеїнемія, диспротеїнемія та значно зростала активність амінотрансфераз в крові тварин. В м'яких тканинах зони опікової рани в динаміці розвитку запалення відбувалися значні дистрофічні, некробіотичні та некротичні процеси різного ступеня вираженості, що

проявлялися у всіх структурних компонентах і супроводжувалися значним мікробним забрудненням ранової поверхні.

Щоденне застосування засобу „Кротозин” для місцевого лікування опікових ран сприяло зниженню рівня концентрації ГПЛ та МДА, та підвищенню активності СОД і каталази в м'яких тканинах у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани. Мало виражений коригувальний вплив на показники клітинної та гуморальної ланок імунітету, фагоцитарної активності лейкоцитів, білкового обміну та ферментативної активності крові.

Поряд з протизапальними властивостями засіб „Кротозин” мав виражений антисептичний вплив на патогенну мікрофлору при застосуванні його за умов *in vivo*, який проявлявся припиненням висівання мікрофлори з опікових ран дослідних тварин на 12 добу, та наділений ранозагоювальними властивостями, помітно прискорював процес репаративної регенерації пошкоджених тканин у ділянці опіку та стимулював процес нормалізації стану перифокально розташованих тканин.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання, що полягало у встановленні патогенетичних особливостей порушень функціонального стану прооксидантної, антиоксидантної систем, гуморального та клітинного імунітету, неспецифічної резистентності організму в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани. Запропоновано новий підхід щодо корекції ранового процесу та метаболічних порушень, спричинених експериментальним опіком м'яких тканин, за допомогою засобу „Кротозин”.

1. У динаміці розвитку термічного запалення в м'яких тканинах зони опікової рани відбувається активація процесів перекисного окиснення ліпідів, яке характеризується збільшенням концентрації гідроперекисів ліпідів і малонового діальдегіду (відповідно на 138,6 %, $p < 0,05$ – 5-а доба і на 123,0 %, $p < 0,05$ – 8-а доба), пригніченням ферментативної активності антиоксидантної системи, особливо на 12-у добу спостереження (супероксиддисмутази – на 31,4 %, $p < 0,05$ та каталази – на 19,3 %, $p < 0,05$).

2. Запальний процес в зоні опікової рани супроводжується порушенням функціонального стану імунної системи, який проявляється значним зниженням кількості Т-лімфоцитів і Т-хелперів, зростанням кількості В-лімфоцитів і вмісту загальних циркулюючих імунних комплексів у крові, особливо в пізній період розвитку термічного запалення (8-а, 10-а, 12-а доби), що свідчить про пригнічення клітинного та стимуляції гуморального імунітету.

3. У щурів з опіковими ранами спостерігається підвищення фагоцитарної активності лейкоцитів у периферичній крові, особливо в пізні терміни формування термічного запалення, яке проявляється зростанням

фагоцитарного індексу на 8-у добу на 16,1 % ($p < 0,05$) та фагоцитарного числа на 5-у добу на 177,9 % ($p < 0,05$).

4. У динаміці розвитку запалення в крові щурів з опіковими ранами, які не отримували лікування, відзначається виражене зниження кількості загального білка (на 30,1 %, $p < 0,05$ – 8-а доба) та диспротеїнемія, яка характеризується поступовим зменшенням вмісту альбумінів (на 26,6 %, $p < 0,05$ – 8-а доба) та підвищенням рівня глобулінових фракцій; зростанням активності амінотрансфераз в ранні та пізні терміни формування експериментальної моделі хвороби.

5. Застосування засобу „Кротозин” сприяє зниженню рівня гідроперекисів ліпідів, малонового діальдегіду, В-лімфоцитів, загальних циркулюючих імунних комплексів, фагоцитарної активності лейкоцитів, активності амінотрансфераз та зростанню вмісту загального білка, альбумінів, активності супероксиддисмутази та каталази, кількості Т-лімфоцитів.

6. Засіб „Кротозин”, поряд з протизапальними властивостями, має виражений антисептичний вплив на патогенну мікрофлору при застосуванні його за умов *in vivo*, що проявляється припиненням висівання патогенної мікрофлори з опікових ран тварин на 12-у добу і на 4-5 днів пришвидшує процеси репаративної регенерації пошкоджених тканин у ділянці опіку та нормалізацію стану перифокально розташованих тканин і загоєння рани.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Активность антиоксидантных ферментов в ране при глубоких ожогах / Е. В. Михальчик, Ю. А. Питерская, В. А. Липатова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147, № 6. – С. 696–699.
2. Алексеев А. А. Инфекция у обожженных: вопросы патогенеза, профилактики и лечения / А. А. Алексеев, В. П. Яковлев, В. Д. Федоров // Хирургия. – 1999. – № 6. – С. 4–9.
3. Алексеев А. А. Местное лечение ожоговых ран / А. А. Алексеев, М. Г. Крутиков // Рос. мед. Журн. – 2000. – № 5. – С. 51–53.
4. Алексеев А. А. Применение раневых покрытий для лечения ожоговых ран / А. А. Алексеев, А. Э. Бобровников, М. Г. Крутиков // Рос. мед. журн. – 2004. – № 1. – С. 26–30.
5. Антиексудативні властивості композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, М. С. Регеда, Ю. Б. Пастернак [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2009. – № 1. – С. 11–15.
6. Антиоксидантна дія карнозину при черепно-мозковій травмі / Д. А. Суткова, Є. Г. Педаченко, А. П. Гук [та ін.] // Медичні перспективи. – 1999. – № 2. – С. 18–21.
7. Антисептичні та ранозагоювальні властивості композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, А. О. Гарбузов, М. С. Регеда [та ін.] // Человек и лекарство – Украина : I Національний конгрес, 26 – 28 березня 2008 р. : тези доп. – К., 2008. – С. 168–169.
8. А.с. №1084681 СССР, МКИ G №33/48. Способ определения гидроперикисей липидов в биологических тканях / Мирончик В. В. (СССР). – №3468369/28-13 ; заявл. 08.07.82 ; опубл. 07.04.84, Бюл. № 13.

9. Базарнова С. А. Клінічна лабораторна діагностика : практичні заняття з клінічною біохімією / С. А. Базарнова, З. П. Гетте. – К. : Вища школа, 1994. – 432 с.
10. Бігуняк Т. В. Загальнобіологічні аспекти використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів / Т. В. Бігуняк, Т. Р. Масляк, Н. О. Старикова // Вісник наукових досліджень. – 2004. – № 4. – С. 79–80.
11. Бігуняк В. В. Термічні ураження / В. В. Бігуняк, М. Ю. Повстяний. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. – С. 196.
12. Білковий спектр крові як показник інтенсивності запального процесу у ранах м'яких тканин / І. М. Готь, Р. З. Огоновський, Ю. О. Медвідь, І. Я. Максимович // Acta Medica Leopoliensia. – 2007. – № 1-2. – С. 20–22.
13. Биологическая повязка для лечения ожоговых ран III-а степени / А. С. Ермолов, С. В. Смирнов, В. Б. Хватов [и др.] // Хирургия. – 2008. – № 10. – С. 4–9.
14. Блатун Л. В. Флегмоны и абсцессы – современные возможности лечения / Л. В. Блатун // Лечащий врач. – 2002. – № 1-2. – С. 30–40.
15. Бобров О. Е. Лечение гнойных ран с использованием мази пропес на гидрофильной основе в эксперименте / О. Е. Бобров, Н. А. Мендель, К. В. Марков // Клінічна хірургія. – 2006. – № 11-12. – С. 49–50.
16. Болдырев А. А. Карнозин - взгляд через 100 лет / А. А. Болдырев // Биологические мембраны. – 2001. – Т.18, № 2. – С. 157–160.
17. Болдырев А. А. Карнозин и защита тканей от окислительного стресса / А. А. Болдырев. – М. : "Диалог-МГУ", 1999. – 220 с.
18. Болдырев А. А. Проблемы и перспективы исследования биологической роли карнозина / А. А. Болдырев // Биохимия. – 2000. – Т.65, № 7. – С. 884–890.
19. Болтовская В. В. Морфогенез глубокой ожоговой раны в условиях применения низкоинтенсивного электромагнитного излучения / В. В. Болтовская // Вестник СамГУ. – 2006. – № 6. – С. 212–219.

20. Боярська Г. М. Особливості змін фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів периферійної та капілярної крові зони термічного ураження у потерпілих за тяжких опіків / Г. М. Боярська // Клінічна хірургія. – 2009. – № 11-12. – С. 18.
21. Бутко Я. А. Фармакокорекція раневого процесу / Я. А. Бутко // Провізор. – 2007. – № 15. – С. 29–32.
22. Велигоцкий Н. Н. Современные аспекты хирургического лечения ран и раневой инфекции / Н. Н. Велигоцкий, И. Е. Бугаков // Харківська хірургічна школа. – 2007. – № 1. – С. 97–100.
23. Венцлюс И. В. Экспериментальное испытание нового препарата «Целлоцина» для лечения термических ожогов / И. В. Венцлюс, Л. И. Слуцкий, Л. Э. Домбровская // Система реабилитации детей с поражением опорно-двигательного аппарата : сб. науч. работ / под ред. В. Л. Андриянова. – Л., 1989. – С. 152–155.
24. Віщур О. І. Вплив препарату “Антоксан” на показники Т- і В-клітинного імунітету в крові поросят після відлучення від свиноматок / О. І. Віщур // Біологія тварин. – 2006. – Т.8, № 1-2. – С. 241–246.
25. Вивчення ранозагоювальної дії м'якої лікарської форми фенсукциналу на експериментальній моделі термічно-індукованої виразки шкіри (повідомлення 2) / М. О. Бойко, С. П. Кустова, О. І. Гладких [та ін.] // Патологія. – 2009. – Т.6 № 2. – С. 34–35.
26. Визначення ефективної ранозагоювальної концентрації композиційної суміші похідних γ -критонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, Ю. Б. Пастернак, М. С. Регеда [та ін.] // Світ медицини та біології. – 2007. – № 4. – С. 21–24.
27. Використання А-Бактерину з метою профілактики та лікування опікової інфекції / Т. І. Пятковський, С. І. Климнюк, О. Я. Бадюк, Я. І. Головатий // Вісник наукових досліджень. – 2007. – № 4. – С. 62–64.

28. Використання препарату “Пантестин-Дарниця” для лікування опікових ран / Є. Фісталь, І. Сперанський, Т. Самойленко, Н. Фісталь // Ваше здоров’я. – 2001. – № 19. – С. 3.
29. Вильцанюк А. А. Экспериментально-клиническое обоснование применения гидрофильно-гидрофобных кремнеземсодержащих композиций для местного лечения гнойных ран / А. А. Вильцанюк, И. И. Геращенко, А. Н. Чепляка // Харківська хірургічна школа. – 2008. – № 1. – С. 53–56.
30. Влияние радиоволнового воздействия на интенсивность местных процессов свободнорадикального окисления в тканях операционного поля полости рта в эксперименте / Е. А. Дурнов, Н. Я. Янова, К. Н. Конторщикова [и др.] // Стоматология. – 2009. – № 3. – С. 17–20.
31. Вплив карнозину на перебіг переокисних процесів у тканині печінки щурів за умов нітритної інтоксикації / О. М. Крисько, Н. І. Климишин, В.М. Коробов, М. М. Великий // Експериментальна фізіологія та біохімія. – 1999. – № 1. – С. 23–25.
32. Вплив карнозину, Zn-карнозину і таурину на вміст лактату та пірувату у мозку щурів за умов гіпоксичного стресу / О. Крисько, М. Бойко, В. Коробов [та ін.] // Український біохімічний журнал. – 1999. – Т. 71, № 1. – С. 86–89.
33. Вплив ксенопротектора „ММ-гель” на перебіг ранового процесу в експериментальних опікових ранах / П. С. Кризина, Д. Є. Лісовий, О. В. Письменна [та ін.] // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2009. – Т. 8, № 3. – С. 16–18.
34. Гайворонская Т. В. Экспериментальное обоснование эффективности применения непрямого электрохимического окисления крови и антиоксидантной терапии при лечении гнойных ран мягких тканей / Т. В. Гайворонская // Стоматология. – 2008. – № 1. – С. 18–21.
35. Герич І. Д. Опікрва травма кисті: сучасний стан проблеми / І. Д. Герич, В. С. Савчин, О. М. Чемерис // Клінічна хірургія. – 2009. – №. 11-12. – С. 28–29.

36. Готь І. М. Дослідження показників про- та антиоксидантної системи при запальних процесах м'яких тканин // І. М. Готь, Р. З. Огоновський, Ю. О. Медвідь // Український морфологічний альманах. – 2007. – № 1. – С. 16–18.
37. Григор'єва Т. Г. Отримання клітинних аутотрансплантатів із шкіри людини та клінічне застосування їх у превентивній хірургії опіків / Т. Г. Григор'єва, О. В. Маркелова, О. Є. Грязін // Трансплантологія. – 2004. – Т. 7, № 3. – С. 263–266.
38. Грицик А. Дослідження протиопікової дії мазі з екстрактом щавлю альпійського / А. Грицик, А. Клименко, Л. Грицик // Ліки. – 2004. – № 1. – С. 85–86.
39. Гудима А. А. Патогенетичні особливості перебігу механічної травми на тлі термічного опіку шкіри / А. А. Гудима, О. Я. Зятковська // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2. – С. 43–47.
40. Гузенко Б. В. Сравнительная оценка заживления ожоговых ран у больных с ранними и поздними сроками хирургического вмешательства / Б. В. Гузенко, С. В. Слесаренко, Е. Г. Мизина // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2007. – Т. 8, № 3. – С. 391–393.
41. Гусак В. К. Діагностичні критерії синдрому системної запальної відповіді при опіковій травмі / В. К. Гусак, В. П. Шано, В. М. Носенко // Вісник проблем біології і медицини. – 2000. – № 5-6. – С. 58–64.
42. Даценко Б. М. Патологія і морфологія гнійної рани / Б. М. Даценко, Т. И. Тамм // Клінічна хірургія. – 2003. – № 11. – С. 46–47.
43. Деклараційний патент № 67966 А Україна, МПК С 07 D 307/06, С 07 К 5/04, А 61 К 31/19, А 61 К 31/34. Композиційна суміш на основі похідних γ -кротонолактону / Огоновський Р. З., Гарабаджі І. М., Сірій О. М., Яременко А. А., Довгий А. В., Струбіцький І. В ; заявник і патентовласник Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького. – №2003076948 ; заявл. 23.07.03 ; опубл. 15.07. 04., Бюл. №7.

44. Дмитрієва К. Ю. Динаміка процесів біотрансформації ксенобіотиків у щурів з термічним ураженням шкіри за умов корекції антиоксидантами триметазидином та мексидолом / К. Ю. Дмитрієва // Буковинський медичний вісник. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 87–89.
45. Дмитрієва К. Ю. Показники ендогенної інтоксикації, оксидативного та нітрозативного стресів при опіках шкіри у щурів за умов застосування мексидолу і триметазидину / К. Ю. Дмитрієва // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 77–80.
46. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / під ред. Стефанова О. В. – К., 2001. – 527 с.
47. "ДОН-1R" – Засіб для профілактики та лікування аеромонозу (краснухи) зяберного некрозу і підвищення рибопродуктивності водойми : ТУ 46.15.520-2000 ; Затв. Міністерством АПК України 29.07.2000. – Львів, 2000. – 3 с.
48. Дорошенко О. М. Експериментальне вивчення протизапальної дії препарату „Пантестин” / О. М. Дорошенко // Современная стоматология. – 2007. – № 4. – С. 152–154.
49. Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації : метод. рек. / [укл.: М. Г. Проданчук, П. Г. Жмінько, Д. В. Зінченко та ін.]. – К., 2003. – 28 с.
50. Експериментальні дані токсичності композиційної суміші на основі похідних γ -котонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, М. С. Регеда, Ю. Б. Пастернак, І. В. Струбіцький // Научное пространство Европы – 2007 : III международная научно-практическая конференция, 16-30 апреля 2007г.: материалы конф. – Днепропетровск, 2007. – С. 34–38.
51. Експериментальна апробація метода термоструйної обробки інфіцированих и гнойных ран мягких тканей / Ю. А. Фурманов, В. С. Гвоздецкий, Г. В. Терехов [и др.] // Клінічна хірургія. – 2010. – № 1. – С. 43–45.

52. Ерофеева М. В. Применение мексиданта в комплексной терапии ожоговой болезни / М. В. Ерофеева, В. И. Инчина, М. Д. Романов // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т.15, № 2. – С. 196–198.
53. Эффективность препарата сульфаргин в местном лечении пострадавших с ожогами / Г. П. Козинец, В. П. Цыганков, В. Н. Назаренко [и др.] // Клінічна хірургія. – 2010. – № 6. – С. 54–57.
54. Застосування 2% гелевої форми композиційної суміші похідних γ -кроднолактону та Zn-карнозину як антимікробного засобу за умовах інфікованої дерматомної рани / Р. З. Огоновський, А. О. Гарбузов, Ю. Б. Пастернак [та ін.] // Nauka i inowacja – 2008 : IV międzynarodowa naukowi-praktyczna konferencja, 07-15 pazdznika 2008 r. : materialy konf. – Przemysł, 2008. – S. 66–69.
55. Индекс антиоксидантной активности биоматериала / В. Б. Мартынюк, С. Н. Ковальчук, М. Ф. Тымочко, Е. Н. Панасюк // Лабораторное дело. – 1991. – № 3. – С. 19–22.
56. Инструкция о мероприятиях по борьбе с аэромонозом карповых рыб / Департамент ветеринарии Минсельхозпрома России. – М., 1998. – 11 с.
57. Климчук Л. Ф. Показники імунологічної реактивності та неспецифічної резистентності організму хворих з важкими термічними опіками / Л. Ф. Климчук, М. А. Нікітенко, О. Є. Кузів // Шпитальна хірургія. – 1999. – № 4. – С. 37–42.
58. Клименко Н. А. Лейкоцитарная реакция периферической крови крыс в динамике острого инфекционного воспаления / Н. А. Клименко, А. Н. Шевченко // Медицина сегодня и завтра. – 2004. – № 1. – С. 40–43.
59. Клименко Н. А. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови в динамике хронического иммунного воспаления у крыс / Н. А. Клименко, С. В. Татарко // Світ медицини та біології. – 2008. – № 3. – С. 32–35.
60. Клиническая эффективность применения препарата „Повисеп” в лечении больных с поверхностными дермальными ожогами / Г. П. Козинец,

- О. И. Осадчая, А. М. Боярская [и др.] // Український журнал хірургії. – 2009. – № 5. – С. 106–109.
61. Кобець Ю. М. Мікробіологічні дослідження комбінованої мазі антисептичної дії для лікування ранового процесу / Ю. М. Кобець, В. І. Чуєшов, Н. І. Філімонова // Вісник фармації. – 2006. – № 4. – С. 66–68.
62. Ковальчук А. О. Динаміка змін мікробіологічних показників експериментальних опікових ран при проведенні ранньої некректомії з використанням ліофілізованих ксенодермотрансплантатів вторинного зрізу / А. О. Ковальчук, Т. І. Пятковський // Вісник наукових досліджень. – 2010. – № 2. – С. 46–49.
63. Коваленко О. М. Питання діагностики сепсису у дітей з термічною травмою / О. М. Коваленко // Хірургія України. – 2010. – № 3. – С. 67–72.
64. Козинець Г. П. Ожоговая болезнь: современные методы лечения / Г. П. Козинець, О. М. Коваленко, М. Ю. Повстяний // Журнал практичного лікаря. – 2004. – № 1. – С. 19–23.
65. Комбустиология / Э. Я. Фисталь, Г. П. Козинец, Г. Е. Самойленко [и др.]. – Донецк, 2006. – 236 с.
66. Комплексний антисептичний препарат на основі похідних γ -кртонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, М. С. Регеда, Ю. Б. Пастернак, І. В. Струбіцький // Дни науки – 2007 : III международная научно-практическая конференция, 1-15 апреля 2007г. : материалы конф. – Дніпропетровськ, 2007. – С. 9–10.
67. Композиційна суміш похідних γ -кртонолактону та карнозину – її протизапальні та регенеративні властивості (короткий огляд попередніх результатів, перспективи розвитку) / Р. З.Огоновський, М. С. Регеда, Ю. Б. Пастернак, І. В. Струбіцький // Світ медицини та біології. – 2007. – № 1. – С. 34–36.
68. Кононенко Н. М. Антимікробна активність нових похідних дикарбонових кислот / Н. М. Кононенко, А. І. Березнякова // Одеський медичний журнал. – 2003. – № 2. – С. 6–8.

69. Коньков Д. Г. Фармакотерапевтична ефективність мазей, що містять вінборон, при експериментальних ранах : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05 „Фармакологія”/ Д. Г. Коньков. – Одеса, 2005. – 20 с.
70. Коробов В. М. Вплив карнозину на мембрани еритроцитів у нормі та за діабету / В. М. Коробов // Український біохімічний журнал. – 2000. – № 2. – С. 94–96.
71. Корекція показників перекисного окислення ліпідів препаратом „Кріохор” при експериментальній опіковій хворобі / Н. П. Субота, М. О. Клименко, Л. Г. Нетюхайло [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2005. – № 2. – С. 35–37.
72. Коррекция функциональной активности фагоцитов в очаге воспаления у больных с глубокими флегмонами шеи / Е. А. Цеймах, В. А. Тулупов, Ю. Ю. Гуревич [и др.] // Стоматология. – 2004. – Т.83, № 4. – С. 37–41.
73. Косарев В. В. Проблемы рационального использования лекарственных средств в клинической практике / В. В. Косарев, В. С. Лотков, С. А. Бабанов // Клиническая фармакология и терапия. – 2003. – № 12. – С. 64–66.
74. Костенко В. А. Роль окислительного метаболизма в патогенезе раневого процесса / В. А. Костенко, Н. В. Крышталь, А. В. Мищенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Укр. мед. стомат. акад. – 2003. – Т. 3, № 2. – С. 119–122.
75. Кризина П. С. Нові лікарські форми для місцевого лікування ран / П. С. Кризина // Хірургія дитячого віку. – 2006. – Т. 3, № 4. – С. 79–82.
76. Кризина П. С. Нанотехнології в місцевому лікуванні інфікованих ран / П. С. Кризина // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2008. – Т. 7, № 1. – С. 82–84.
77. Кризина П. С. Вплив нового ранового ксенопротектора на перебіг ранового процесу в експериментальних ранах / П. С. Кризина, Д. Є. Лісовий, О. В. Письменна // Вісник проблем біології і медицини. – 2009. – № 2. – С. 117–179.

78. Крушевський В. Д. Співвідношення вмісту та розміру циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові при експериментальному токсичному, пиловому та токсикоз-пиловому бронхіті у щурів / В. Д. Крушевський, В. А. Стежка // Український журнал з проблем медицини праці. – 2009. – Т.17, № 1. – С. 65–71.
79. Крутиков М. Г. Местное лечение ран и ожогов / М. Г. Крутиков, А. Э. Бобровников // Российские аптеки. – 2006. – № 5. – С. 29–31.
80. Кушманова О. Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / О. Д. Кушманова, Г. И. Ивченко. – М. : Медицина, 1983. – 272 с.
81. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / [В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая и др.] – М. : Медицина, 1987. – 368 с.
82. Легеза В. И. Влияние новых раневых покрытий на заживление термических ожогов кожи при острой лучевой болезни / В. И. Легеза, В. П. Галенко-Ярошевский, Е. В. Зиновьев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 138, № 9. – С. 351–355.
83. Лікарські форми застосування нового комплексного антисептичного препарату на основі похідних γ -критонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоньський, М. С. Регеда, Ю. Б. Пастернак [та ін.] // Практична медицина. – 2007. – № 3. – С. 86–90.
84. Лифшиц В. М. Биохимические анализы в клинике : справочник / В. М. Лифшиц, В. И. Сидельникова. – 2-е изд. – М. : Мед. информ. агентство, 2001. – 303 с.
85. Логачев В.К. Практический опыт применения мази тиотриазолина 2 % в лечении гнойных ран в 2 и 3 фазах раневого процесса / В. К. Логачев // Врачебная практика. – 2002. - № 6. – С. 28–29.
86. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

87. Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин. – Л. : УААН, Наук. центр "Фізіологія тварин", 1998. – 399 с.
88. Місцеве лікування гнійної рани за допомогою еубіотиків / М. О. Ляпіс, М. І. Клименюк, П. О. Герасимчук [та ін.] // Вісник Вінницького нац. мед. університету. – 2004. – Т.8, № 1. – С. 134–135.
89. Нагайчук В. В. Раннє хірургічне лікування потерпілих з приводу термальних поверхневих опіків голови та шиї / В. В. Нагайчук // Клінічна хірургія. – 2009. – № 11-12. – С. 61–62.
90. Нагайчук В. І. Ефективність раннього хірургічного лікування залежно від швидкого охолодження опікових ран / В. І. Нагайчук // Шпитальна хірургія. – 2002. – № 4. – С. 58–60.
91. Назаров И. П. Пути коррекции иммунной недостаточности на разных стадиях ожоговой болезни с целью профилактики и лечения сепсиса / И. П. Назаров, А. А. Попов, Б. В. Протопопов // Анестезиология и реаниматология. – 1999. – № 1. – С. 64–67.
92. Нетюхайло Л. Г. Механізми опікової хвороби та обґрунтування застосування препарату “кріохор” для її лікування : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук : спец. 14.03.04 "Патологічна фізіологія" / Л. Г. Нетюхайло. – Х., 2007. – 35 с.
93. Огоновський Р. З. Новий комплексний антисептичний препарат на основі похідних γ -критонолактону / Р. З. Огоновський // Acta Medica Leopoliensia. – 2005. – № 11. – С. 129–130.
94. Огоновський Р. З. Похідні критонолактону та карнозину – коротка характеристика, можливості застосування / Р. З. Огоновський, Ю. Б. Пастернак, І. В. Струбіцький // Практична медицина. – 2006. – № 5. – С. 100–105.
95. Огоновський Р. З. Форми застосування антисептичних препаратів на ранніх фазах ранового процесу / Р. З. Огоновський, М. С. Регада, Ю. Б. Пастернак // Acta Medica Leopoliensia. – 2007. – № 3. – С. 119–122.

96. Огоновський Р. З. Ранозагоювальні та протимікробні властивості маzewої форми композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину / Р. З.Огоновський // Acta Medica Leopoliensia. – 2008. – № 4. – С. 68–70.
97. Огоновський Р. З. Характеристика показників гістохімічного дослідження при аналізі ефективності використання маzewої форми композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину у лікуванні експериментальних асептичних дерматомних ран / Р. З. Огоновський // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2008. – № 3. – С. 28–33.
98. Огоновський Р. З. Протимікробні властивості композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, А. О. Гарбузов, Ю. Б. Пастернак // Підсумки та перспективи розвитку стоматології та щелепно-лицевої хірургії : ювілейна наук.- практ. конф. : збірка тез. – Х., 2008. – С. 64–65.
99. Огоновський Р. З. Аналіз зміни функціональної та ферментативної активності крові експериментальних тварин з модельованою асептичною дерматомною раною, яку лікували маzewою формою композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський // Практична медицина. – 2008. – № 4. – С. 117–122.
100. Огоновський Р. З. Порівняльний аналіз гемо- та протеїнограм тварин з модельованими асептичними дерматомними ранами та лікуванням їх маzewою формою композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський // Одеський медичний журнал. – 2008. – № 5. – С. 17–21.
101. Огоновський Р. З. Антимікробна активність композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину в умовах експериментальної інфікованої дерматомної рани / Р. З. Огоновський // Досягнення біології та медицини. – 2009. – № 1. – С. 26–30.
102. Огоновський Р. З. Перспективи застосування 2 % гелевої форми композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину у лікуванні інфікованих ран м'яких тканин / Р. З. Огоновський, Ю. Б. Пастер-

нак // Актуальні питання сучасної стоматології: ювілейна міжнарод. наук.-практ. конф., 29 жовтня – 01 листопада 2008р. : матеріали конф. – Львів, 2008. – С. 109–112.

103. Ожоговая интоксикация / Г. П. Козинец, С. В. Слесаренко, А. П. Радзиховский [и др.]. – К. : Феникс, 2004. – 272 с.

104. Определение активности антибактериальных средств наружного применения для лечения гнойно-воспалительных инфекций : метод. рек. / [Н. Ф. Калениченко и др.]. – Х.: МЗ УССР, Респ. центр.науч. мед. информации, 1991. – 14 с.

105. Осадчая О. И. Роль эндогенной интоксикации в нарушении не специфической резистентности и иммунной реактивности у больных с тяжелой ожоговой травмой / О. И. Осадчая, Г. П. Козинец, В. В. Щепетов // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2004. – Т. 5, № 3. – С. 479–483.

106. Осадча О. І. Роль детоксикаційної терапії в збереженні функціональної активності лейкоцитів периферійної крові у хворих з тяжкими опіками / О. І. Осадча // Клінічна хірургія. – 2009. – № 11-12. – С. 65.

107. Ославська Т. М. Стан неспецифічної адаптивної системи організму та її роль у розвитку опікової хвороби / Т. М. Ославська, О. Г. Попов, В. К. Напханюк // Вісник морської медицини. – 2001. – № 2. – С. 7–9.

108. Особливості мікробіоценозу опікових ран у разі застосування внутрішньотканинного електрофорезу антибактерійних препаратів / Б. В. Петрюк, Л. П. Хомко, О. Й. Хомко [та ін.] // Медицина транспорту України. – 2005. – № 3. – С. 4–7.

109. Палій В. Г. Сучасна оцінка антисептиків, їх застосування в системі протиепідемічних і лікувальних заходів / В. Г. Палій // Вісник морфології. – 2003. – Т.9, № 2. – С. 322–331.

110. Парамонов Б. А. Ожоги : руководство для врачей / Парамонов Б. А., Порембский Я. О., Яблонский В. Г. – СПб. : СпецЛит. – 2000. – 488 с.

111. Пастернак Ю. Б. Застосування мазей для місцевого лікування ран м'яких тканин / Ю. Б. Пастернак, М. С. Рєгада // Acta Medica Leopoliensia. – 2007. – Т. 13, № 1-2. – С. 149–151.
112. Пастернак Ю. Б. Зміни функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної системи в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2 % засобом „Кротозин” / Ю. Б. Пастернак // Вісник проблем біології та медицини. – 2010. – № 2. – С. 113–118.
113. Пастернак Ю. Б. Особливості змін показників неспецифічної резистентності організму у крові експериментальних тварин у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2 % засобом „Кротозин” / Ю. Б. Пастернак // Практична медицина. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 16–19.
114. Пастернак Ю. Б. Зміни показників білкового обміну у крові щурів у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та можливість їх корекції кротозином / Ю. Б. Пастернак // Практична медицина. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 84–87.
115. Пастернак Ю. Б. Вплив термічної травми м'яких тканин на рівень концентрації циркулюючих імунних комплексів та його корекція 2% засобом „Кротозин” / Ю. Б. Пастернак // Світ медицини та біології. – 2010. – № 3. – С. 75–78.
116. Патент на корисну модель № 22612 Україна, МПК А 61 К 31/19, А 61 К 31/34, А 61 Р 31/00. Антисептичний, регенеруючий засіб на основі похідних γ -кртонолактону та карнозину для лікування інфікованих ран та гнійно-запальних захворювань шкіри / Пастернак Ю. Б., Огоновський Р. З., Рєгада М. С., Федін Р. М., Сірий О. М., Струбіцька Т. В., Довгий А. В., Струбіцький І. В.; заявник і патентовласник Львівський національний медичний університет. – № u200612726 ; заявл. 04.12.06 ; опубл. 25.04.07, Бюл. №5.
117. Патент на корисну модель № 33287 Україна, МПК А 61 Р 31/00, А 61 К 31/34. Регенеруючий, протимікробний, знеболуючий засіб „Кротозин” для

терапії інфікованих ран, опіків, гнійно-запальних захворювань шкіри / заявник і патентовласник Пастернак Ю. Б., Огоновський Р. З., Регеда М. С., Федін Р. М., Коцюмбас І. Я., Патерега І. П., Струбіцький І. В., Струбіцька Т. В. – № u200803075; заявл. 11.03.08; опуб. 10.06.08, Бюл. №11.

118. Пат. 2163288 С2 Российская Федерация. МПК Е 05 В 39/02. Биокарнозин – питательная добавка с уникальными свойствами / заявитель и патентообладатель Болдырев А. А., Тохтин Е. Б. – № 99100880/124; заявлено 26.01.99; опубл. 20.02.01, ФИПС.

119. Патогенетичні аспекти ранового процесу м'яких тканин (огляд літератури) / Р. З. Огоновський, М. С. Регеда, Ю. Б. Пастернак, І. В. Струбіцький // Практична медицина. – 2007. – № 1. – С. 129–137.

120. Патогенетические основы, принципы и технология местного лекарственного лечения гнойных ран / Б. В. Даценко, С. Г. Белов, Т. И. Тамм [и др.] // Клінічна хірургія . – 2005. - № 11. – С. 20.

121. Перспективи застосування засобу „Кротозин” для місцевого лікування опікових ран м'яких тканин / Ю. Б. Пастернак, М. С. Регеда, Р. З. Огоновський, Р. М. Федін // Практична медицина. – 2008. – № 6. – С. 41–44.

122. Петрюк Б. В. Застосування внутрішньотканинного електрофорезу антибактеріальних препаратів і ентеросорбції в комплексному лікуванні опечених : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.03 „Хірургія” / Б. В. Петрюк. – Вінниця, 2001. – 20с.

123. Підручна С. Р. Зміна показників гуморальної ланки імунітету при комбінованій травмі / С. Р. Підручна // Шпитальна хірургія. – 2010. – № 2. – С. 55–58.

124. Підручна С. Р. Патогенетична роль ксенодермопластики в корекції порушень процесів ліпопероксидації і активності ферментів на тлі комбінованої травми / С. Р. підручна, І. Р. Копитчак, О. О. Кулянда // Експериментальна і клінічна медицина. – 2010.– № 4. – С. 35–40.

125. Повстяной Н. Е. Раннее хирургическое лечение в профилактике осложненной термической травмы предплечья и кисти / Н. Е. Повстяной,

- А. А. Жернов, О. Н. Коваленко // Международный медицинский журнал. – 2004. – № 4. – С. 93–95.
126. Попов Д. О. Стан кисеньзалежних процесів у нирках щурів за умов термічного ураження / Д. О. Попов, В. К. Напханюк // Вісник морської медицини. – 2000. – № 4. – С. 98–101.
127. Попов Д. О. Патолофізіологічні механізми зрушення стресс-реалізуючих процесів за умов термічних уражень : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 „Патологічна фізіологія” / О. Д. Попов. – Одеса, 2003. – 19 с.
128. Порівняльне вивчення антимікробної активності сучасних та перспективних мазей для терапії гнійної інфекції / І. Л. Дикий, С. М. Дроговоз, А. В. Горкавчук, Я. О. Бушко // Клінічна фармація. – 2008. – Т. 12, № 1. – С. 65–68.
129. Постернак Г. И. Морфометрические изменения лимфоцитов у детей с тяжелой ожоговой травмой / Г. И. Постернак // Український журнал екстремальної медицини. – 2004. – Т. 5, № 1. – С. 55–58
130. Превар А. П. Порівняльна ефективність метилурацилової мазі на жировій та багатокомпонентної метилурацилової мазі на гелевій основі в лікуванні ран, що загоюються вторинним натягом (попередні повідомлення) / А. П. Превар // Вісник морфології. – 2003. – Т.9, № 2. – С. 401–403.
131. Протизапальні та репаративні властивості композиційної суміші на основі похідних γ -кртонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, М. С. Регеда, Ю. Б. Пастернак, І. В. Струбіцький // Праці ІХ з'їзду Всеукраїнського Лікарського Товариства. – Вінниця, 2007. – С. 321–322.
132. Протизапальний вплив n-стеароїлетаноламіну на експериментальну опікову травму в щурів / Н. М. Гула, А. А. Чумака, А. Г. Бердишев [та ін.] // Український біохімічний журнал. – 2009. – Т.81, № 2. – С. 107–116.
133. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований / М. И. Прохорова. – Л. : Изд-во. Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.

134. Ранозагоювальні та протимікробні властивості мажевої форми композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, А. О. Гарбузов, Ю. Б. Пастернак, І. П. Патерега // Efektivní nástroje moderních věd-2008 : IV mezinárodní vědecko-praktická konference, 03-15 května 2008 r. : materiály konf. – Praha, 2008. – S.13–16.
135. Рациональное применение мазей / Л. В. Деримедведь, И. М. Перцев, Г. В. Загорий, С. А. Гуторов // Провизор. – 2002. – № 1. – С. 20–22.
136. Регенераційний процес в неінфікованих ранах м'яких тканин за умов дії композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину / Р. З. Огоновський, Ю. Б. Пастернак, М. С. Регеда [та ін.] // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2008. – № 1. – С. 27–31.
137. Роль окислительного метаболизма в патогенезе раневого процесса / В. А. Костенко, Н. В. Крышталь, А. В. Мищенко [и др.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Укр. мед. стомат. акад. – 2003. – Т. 3, № 2. – С. 119–122.
138. Роль липидной пероксидации на органном и субклеточном уровнях в патогенезе полиорганной недостаточности в динамике раннего периода травматической болезни / В. Н. Ельский, С. В. Колесникова, Т. Л. Заведя [и др.] // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 334–335.
139. Рузін Г. П. Вільнорадикальні процеси при місцевих променевих пошкодженнях тканин порожини рота / Г. П. Рузін, Є. В. Желнін, Т. В. Звягінцева // Галицький лікарський вісник. – 2003. – № 1. – С. 143–145.
140. Савон І. Л. Діагностичне та прогностичне значення процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи у хворих з тяжкими формами локалізованої ранової інфекції та сепсисом : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.03 „Хірургія” / І. Л. Савон. – Донецьк, 2003. – 19 с.
141. Система профілактики инфекционных осложнений при лечении эпидермальных и поверхностных дермальных ожогов / Г. П. Козинец,

- В. П. Цыганков, В. П. Назаренко, А. С. Садовой // Клінічна хірургія. – 2009. – № 11-12. – С. 44.
142. Солошенко В. В. Ранняя нерэктомия как средство профилактики осложненной субфасциальных термических поражений / В. В. Солошенко, Н. Н. Фисталь, О. В. Андреев // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2003. – Т. 4, № 3. – С. 459–461.
143. Стабилизация карнозином мембран эритроцитов в норме и при экспериментальном диабете / В. Н. Коробов, Р. Б. Маурисио, И. О. Мукалов, С. Л. Стволинский // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2000. – № 2. – С. 13–15.
144. Стимуляция репаративных процессов при заживлении ран / О. Э. Луцевич, В. Г. Ширанский, А. Б. Шахтер [и др.] // Хирургия. – 2008. – № 6. – С. 6–10.
145. Тамм Т. И. Особенности течения раневого процесса при местном применении комбинированных медикаментозных препаратов / Т. И. Тамм // Клінічна хірургія. – 2006. – № 11-12. – С. 70.
146. Терапевтическое действие карнозина при экспериментальной ишемии мозга / Т. Н. Федорова, С. Л. Стволинский, Д. Доброта [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2002. – № 1. – С. 41–44.
147. Термічні ураження шкіри: профілактика ранових ускладнень та кометологічні аспекти частина I / О. А. Шаповал, Л. В. Черкашина, С. П. Шкляр [та ін.] // Вісник проблем біології та медицини. – 2008. – № 2. – С. 130–136.
148. Травкин А. Г. Сравнительная оценка оксидантной и антиоксидантной системы крови у кроликов с щелочными ожогами глаз при лечении антиоксидантами / А. Г. Травкин, Н. А. Шульгина // Вестник офтальмологии. – 2004. – № 5. – С. 26–28.

149. Узленкова Н. Є. Порушення окисного гемостазу в крові та органах щурів під впливом одноразового зовнішнього ікс-опромінення / Н. Є. Узленкова // Український радіологічний журнал. – 2009. – № 1. – С. 57–64.
150. Фисталь Э. Я. К вопросу о терминологии и классификации осложненных ожоговых ран / Э. Я. Фисталь // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2003. – Т. 4, № 3. – С. 391–395.
151. Фримель Г. Иммунологические методы / Г. Фримель. – М. : Медицина, 1987. – 427 с.
152. Фурман И. В. Экспериментально-клиническое обоснование применения Перфторана в комплексном лечении больных с одонтогенными флегмонами челюстно-лицевой области : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.21 „Стоматология” / И. В. Фурман. – М., 2004. – 26 с.
153. Харбиев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Харбиев Р. У. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.
154. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лабораторное дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
155. Чеглаков Е.В. Экспериментальное изучение влияния озонированного раствора на течение раневого процесса при глубоких ожогах / Е. В. Чеглаков, В. В. Солошенко, В. М. Носенко // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2004. Т. 5, № 4. – С. 731–733.
156. Чорна І. О. Регуляція перебігу раневого процесу за допомогою сучасних гідрофільних мазей / І. О. Чорна, О. В. Лігоненко, М. І. Кравців // Клінічна хірургія. – 2006. – № 11-12. – С. 73–74.
157. Чурилова И. В. Препарат эритроцитарной супероксиддисмутазы «Эрисод»: влияние на уровень активных форм кислорода в крови тяжелообожженных в состоянии ожогового шока / И. В. Чурилова, Е. В. Зиновьев, Б. А. Парамонов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 134, № 11. – С. 528–531.

158. Яковлєва Л. В. Дослїдження репаративної дїї мазї «Мїрамеф» на моделї трафаретних ран у щурїв / Л. В. Яковлєва, Ю. В. Федорчук // Вїсник фармацїї. – 2005. – № 1. – С. 65–68.
159. A comparison of nurses' and parents' or caregivers' perceptions during pediatric burn dressing changes: an exploratory study / A.L. Smith, D.A. Murray, C.J. McBride, K. McBride-Henry // *J. Burn Care Res.* – 2011. – Vol. 32, № 2. – P. 185–199.
160. Age-dependent differences of interleukin-6 activity in cardiac function after burn complicated by sepsis / L. Wang, J. Quan, W.E. Johnston [et al.] // *Burns.* – 2010. – Vol. 36, № 2. – P. 232–238.
161. Aloe L. Nerve growth factor, human skin ulcers and vascularization. Our experience / L. Aloe // *Prog Brain Res.* – 2004. – №146. – P. 515–522.
162. Angiogenesis induction and regression in human surgical wounds / N. Brown, E. Smyth, S. Cross, M. Reed // *Wound Repair Regeneration.* – 2002. – №10. – P. 245–251.
163. Antioxidants selectivity protecting neurochemical functions in rats over-producing reactive oxygen species / R. Salganik, A. Dikalova, S. Dikalov [et al.] // *J. Anti-Aging Med.* – 2001. – № 4. – P. 49–54.
164. Arnould J. F. Which tobramycin dose is needed in the burn patient / J. F. Arnould, R. Le Floch, A. Pilorget // *Burns.* – 2009. – Vol. 35, № 6. – P. 904–905.
165. Association of mitochondrial allele 4216C with increased risk for sepsis-related organ dysfunction and shock after burn injury / R. M. Huebinger, R. Gomez, D. McGee [et al.] // *Shock.* – 2010. – Vol. 33, № 1. – P. 19-23.
166. Benefit of hydrocolloid SSD dressing in the outpatient management of partial thickness burns / P. Muangman, S. Muangman, S. Opananon [et al.] // *J. Med. Assoc. Thai.* – 2009. – Vol. 92, № 10. – P. 1300-1305.
167. Boldyrev A. Carnosine as natural antioxidant and neuroprotector: biological functions and possible clinical use / A. Boldyrev // *Free Radicals, Nitric Oxide and*

Inflammation: Molecular, Biochemical, and Clinical Aspects / ed. By A. Tomasi [et al.]. – IOS Press, 2002. – P. 206–221.

168. Boldyrev A. Chemical intervention in senescence-accelerated mice metabolism for modeling neurodegenerative diseases: an overview / A. Boldyrev, T. Fedorova, S. Stvolinsky. – Oxford: Elsevier; ICS Meetings Series, 2003. – 186 p.

169. Boldyrev A. Carnosine as modulator of endogenous Zn²⁺ effects. Trends in Pharmacol / A. Boldyrev // Science. – 2001. – V.22, №3. – P. 112–113.

170. Burn injury reduces neutrophil directional migration speed in microfluidic devices / K. L. Butler, V. Ambravaneswaran, N. Agrawal [et al.] // PLoS. One. – 2010. – Vol. 5, № 7. – P. 119–121.

171. Burn wounds infected by contaminated water: case reports, review of the literature and recommendations for treatment / N. F. Ribeiro, C. H. Heath, J. Kierath [et al.] // Burns. – 2010. – Vol. 36, № 1. – P. 9–22.

172. Clinical efficacy and impact of preparation ronem on endogenous intoxication severity in the patients with deep burns / G. P. Kozinets, O. I. Osadchaia, A. M. Boiarskaia [et al.] // Klin. Khir. – 2008. – № 10. – P. 55–60.

173. Choi J.A. Effects of amniotic membrane suspension in the rat alkali burn model / J. A. Choi, J. S. Choi, C. K. Joo // Mol. Vis. – 2011. – Vol. 5, № 17. – P. 404–412.

174. Chitosan Acetate Bandage as a Topical Antimicrobial Dressing for Infected Burns / T. Dai, G. P. Tegos, M. Burkatovskaya [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2009. – Vol. 53. – P. 393–400.

175. Composition and characteristics of an autologous thrombocyte gel / J. Altmeppen, E. Hansen, G. Bonnlander [et al.] // Surgery Research. – 2004. – № 117. – P. 202–207.

176. Copper-induced vascular endothelial growth factor expression and wound healing / Chandan K. Sen, Savita Khanna, Mika Venojarvi [et al.] // Amer. J. Physiol. Heart Circulat. Physiol. – 2002. – Vol. 282, № 5. – P. 1821–1827.

177. Cultured epidermal allografts: Quantitative evaluation of their healing effect in deep dermal burns / P. Brychta, J. Adler, H. Rihova [et al.] // *Cell Tissue Bank*. – 2002. – № 3. – P. 15–23.
178. Dermal wound healing processes with curcumin incorporated collagen films / D. Gopinath, M. Ahmed, K. Gomathi [et.al.] // *Biomaterials*. – 2004. – № 25. – P. 1911–1917.
179. Description of *Streptococcus pneumoniae* infections in burn patients / J. S. Glasser, M. L. Landrum, K. K. Chung [et al.] // *Burns*. – 2010. – Vol. 36, № 4. – P. 528–532.
180. Emerging infections in burns / L. K. Branski, A. Al-Mousawi, H. Rivero [et al.] // *Surg. Infect.* – 2009. – Vol. 10, № 5. – P. 389–397.
181. *Enterococcus faecalis* translocation in mice with severe burn injury: a pathogenic role of CCL2 and alternatively activated macrophages (M2aMphi and M2cMphi) / K. Shigematsu, A. Asai, M. Kobayashi [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* – 2009. – Vol. 86, № 4. – P. 999–1005.
182. Evidence-based management strategies for treatment of chronic wounds / F. Werdin, M. Tennenhaus, H. E. Schaller, H. O. Rennekampff // *Eplasty*. – 2009. – Vol. 4, № 9. – P. 19.
183. Effect of opium dependency on burn healing in a rat model: an experimental study / H. Zeinalinejad, M. A. Ramezani, M. Shafiee [et al.] // *Med. Princ. Pract.* – 2011. – Vol. 20, № 2. – P. 147–151.
184. Factors affecting survival in adult patients with massive burns / Y. Wang, H. T. Tang, Z. F. Xia [et al.] // *Burns*. – 2010. – Vol. 36, № 1. – P. 57–64.
185. Ganesamoni S. Epidemiology of hospitalized burn patients in a tertiary care hospital in South India / S. Ganesamoni, V. Kate, J. Sadasivan // *Burns*. – 2010. – Vol. 36, № 3. – P. 422–429.
186. Giessler G.A. Burn trauma–Part 2. Anesthesiological, surgical and intensive care management / G. A. Giessler, T. Mayer, T. Trupkovic // *Anaesthesist*. – 2009. – Vol. 58, № 5. – P. 474–484.

187. Glycyrrhizin restores the impaired production of {beta}-defensins in tissues surrounding the burn area and improves the resistance of burn mice to *Pseudomonas aeruginosa* wound infection / T. Yoshida, S. Yoshida, M. Kobayashi [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* – 2010. – Vol. 87. – P. 35–41.
188. Greenhalgh D.G. Topical antimicrobial agents for burn wounds / D. G. Greenhalgh // *Clin. Plast. Surg.* – 2009. – Vol. 36, № 4. – P. 597–606.
189. Haberal M. Fluid management in major burn injuries / M. Haberal, A. E. Sakallioğlu Abali, H. Karakayali // *Indian J. Plast. Surg.* – 2010. – Vol. 43. – P. 29–36.
190. Huan J.N. Strategies for prevention and cure of burn infection / J. N. Huan, C. J. Gao // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2009. – Vol. 25, № 2. – P. 87–90.
191. IGF-I gene transfer effects on inflammatory elements present after thermal trauma / Mohan R. K. Dasu, David N. Herndon, Olivera Nesic, J. Regino Perez-Polo // *AJP Regulatory Integrative Comparative Physiol.* – 2003. – Vol 285. – P. 741–746.
192. Impact of infection on mortality in burn patients. Multivariate study in 1,773 intensive care unit patients / R. Herruzo, J. R. Banegas, J. J. de la Cruz [et al.] // *Enferm Infec. Microbiol. Clin.* – 2009. – Vol. 27, № 10. – P. 580–584.
193. Initial multi-centre observations upon the effect of a new Topical Negative Pressure device upon patient and clinician experience and the treatment of wounds / W. Witkowski, A. Jawien, W. Witkiewicz, B. Zon // *Int. Wound J.* – 2009. – Vol. 6, № 2. – P. 167–174.
194. Ipaktchi K. Immunology and sepsis syndrome in burn trauma / K. Ipaktchi, P. M. Vogt // *Unfallchirurg.* – 2009. – Vol. 112, № 5. – P. 472–478.
195. Karabay O. Burn wounds and microorganisms / O. Karabay, B. Teker // *Burns.* – 2010. – Vol. 36, № 1. – P. 141–142.
196. Kumari S. Bacteriophage versus antimicrobial agents for the treatment of murine burn wound infection caused by *Klebsiella pneumoniae* B5055/ S. Kumari, K. Harjai, S. Chhibber // *J. Med. Microbiol.* – 2011. – Vol. 60. – P. 205–210.

197. Lama P. Retrograde intubation: an alternative way for the management of difficult airway / P. Lama, B. R. Shrestha // Kathmandu Univ. Med. J. (KUMJ). – 2008. – Vol. 6, № 24. – P. 516–519.
198. Lipsky B. A. Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds / B. A. Lipsky, C. Hoey // Clin. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 49, № 10. – P. 1541–1549.
199. Macrophage migration inhibitory factor-A potential diagnostic tool in severe burn injuries / G. Grieb, D. Simons, A. Piatkowski [et al.] // Burns. – 2010. – Vol. 36, № 3. – P. 335–342.
200. Malik R. Protection with bacteriophage KØ1 against fatal Klebsiella pneumoniae-induced burn wound infection in mice / R. Malik, S. Chhibber // J. Microbiol. Immunol. Infect. – 2009. – Vol. 42, № 2. – P. 134–140.
201. Martusevich A.K. Metabolic aspects in pathogenesis of burn endotoxemia / A. K. Martusevich, S. P. Peretiagin, I. E. Pogodin // Patol. Fiziol. Eksp. Ter. – 2009. – № 1. – P. 30–32.
202. Matrix metalloproteinase-9 expression in dermal wounds and by fibroblasts in culture / N. Hieta, U. Impola, C. Lopez-Otin [et al.] // J. Invest Dermatol.-2003. – № 121. – P. 997–1004.
203. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus furunculitis in the outpatient burn setting / P. Warner, A. Neely, J. K. Bailey [et al.] // J. Burn Care Res. – 2009. – Vol. 30, № 4. – P. 657–660.
204. McVay C. S. Phage Therapy of Pseudomonas aeruginosa Infection in a Mouse Burn Wound Model / C. S. McVay, M. Velasquez, J. A. Fralick // Antimicrob. Agents Chemother. – 2007. – Vol. 51. – P. 1934–1938.
205. M2b Monocytes Predominated in Peripheral Blood of Severely Burned Patients / M. Kobayashi, M. G. Jeschke, K. Shigematsu [et al.] // J. Immunol. – 2010. – Vol. 185. – P. 7174–7179.
206. Molecular Epidemiology and Drug Susceptibility of Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated From Burn Patients / H. Salimi, B. Yakhchali, P. Owlia, A. R. Lari // Lab. Med. – 2010. – Vol. 41. – P. 540–544.

207. Mostaque A.K. Comparisons of the effects of biological membrane (amnion) and silver sulfadiazine in the management of burn wounds in children / A. K. Mostaque, K. B. Rahman // *J. Burn Care Res.* – 2011. – Vol. 32, № 2. – P. 200–209.
208. Na/K-ATPase regulates intracellular ROS level in cerebellum granule cells / A. Boldyrev, E. Bulygina, M. Yuneva, W. Schoner // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2003. – Vol. 986. – P. 519–521.
209. Outcomes of a Shoulder Treatment Flowchart in Patients With Axillary Burns / D. C. Webb, M. Byrne, A. Kolmus [et al.] // *J. Burn Care Res.* – 2011. – Vol. 32, № 2. – P. 224–230.
210. Oxygen, Oxidants, and Antioxidants in Wound Healing / Chandan K. Sen, Savita Khanna Gayle Gordillo, Debasis Bagchi, Manashi Bagchi [et al.] // *Annals N.Y. Acad. Science.* – 2002. – № 957. – P. 239–254.
211. Oxidative stress and cardiovascular disease in end-stage renal failure / B. Descamps-Latscha, Th. N. Khoa, V. Witko-Sarsat [et al.] // *Cardiovascular disease in end-stage renal failure* / ed. by Loscalzo J., London G.M. – New York : Oxford University Press, 2000. – P. 245–271
212. Pathogenic Role of Macrophages in Intradermal Infection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Thermally Injured Mice / A. Asai, Y. Tsuda, M. Kobayashi [et al.] // *Infect. Immunol.* – 2010. – Vol. 78. – P. 4311–4319.
213. Pendleton R.A. Systemic absorption of amphotericin B with topical 5 % mafenide acetate/amphotericin B solution for grafted burn wounds: is it clinically relevant / R. A. Pendleton, J. H. Holmes // *Burns.* – 2010. – Vol. 36, № 1. – P. 38–41.
214. Prophylactic antibiotics for burns patients: systematic review and meta-analysis / T. Avni, A. Levcovich, D. D. Ad-El [et al.] // *Brit. Med. J.* – 2010. – Vol. 340. – P. 241–241.
215. Reconstruction of the burned hand / P. A. Kreymerman, L. A. Andres, H. D. Lucas [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2011. – Vol. 127, № 2. – P. 752–759.

216. Risk factors for acquisition of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients from a burn unit in Brazil / T. E. Toscano Olivo, E. C. de Melo, C. Rocha, C. M. Fortaleza // *Burns*. – 2009. – Vol. 35, № 8. – P. 1104–1111.
217. Rossolini G.M. Etiology, resistance and diagnostic techniques in skin and skin structure infections / G. M. Rossolini, S. Stefani // *Infez Med*. – 2009. – Vol. 17, № 4. – P. 18–29.
218. Saffle J.R. Closure of the excised burn wound: temporary skin substitutes / J. R. Saffle // *Clin. Plast. Surg*. – 2009. – Vol. 36, № 4. – P. 627–641.
219. Sciences Macroscopic Evaluation of Burn Wounds Healing Progress Treated with Different Types of Honey / M. Z. Rozaini , A. B. Z. Zuki, M. M. Noordin [et al.] // *Pakistan J. Biol*. – 2005. – Vol. 8, № 5. – P. 672–678.
220. Sharony Z. Postburn scalp reconstruction using a self-filling osmotic tissue expander / Z. Sharony, Y. Rissin, Y. Ullmann // *J. Burn Care Res*. – 2009. – Vol. 30, № 4. – P. 744–746.
221. Singer A. J. The effects of a high-potency topical steroid on cutaneous healing of burns in pigs / A. J. Singer, S. A. McClain // *Acad. Emerg. Med*. – 2002. – Vol. 9, № 10. – P. 977–982.
222. Singer A. J. Cutaneous wound healing / Adam J. Singer, Richard A. F. Clark. // *Engl. J. Med*. – 1999. – Vol.341, № 10. – P. 738–746.
223. Smad3: A Key Player in Pathogenetic Mechanisms Dependent on TGF- β / Anita B. Roberts, Angelo Russo, Angelina Felici, Kathleen C. Flanders // *Ann. N.Y. Acad. Sci*. – 2003. – № 995. – P. 1–10.
224. Stanton A. G. Primer of biostatistics / A. G. Stanton. – New York : McGRAW-HILL, 1999. – 459 p.
225. *Staphylococcus aureus* nasal colonization and colonization or infection at other body sites in patients on a burn trauma unit / A. Reighard, D. Diekema, L. Wibbenmeyer [et al.] // *Infect. Control. Hosp. Epidemiol*. – 2009. – Vol. 30, № 8. – P. 721–726.

226. Surgical burn wound infections and their clinical implications / Ja. Jr. Posluszny, P. Conrad, M. Halerz [et al.] // *J. Burn Care Res.* – 2011. – Vol. 32, № 2. – P. 324–333.
227. Surgical management of gastric cicatrisation resulting from corrosive ingestion / V. Gupta, J. D. Wig, R. Kochhar [et al.] // *Int. J. Surg.* – 2009. – Vol. 7, № 3. – P. 257–261.
228. Surgical therapy for massive deep skin and soft tissue injuries / Z. Zheng, D. H. Hu, M. D. Xu [et al.] // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2009. – Vol. 25, № 1. – P. 11–14.
229. Thomas S. An 18th century account of the treatment of burns and acute wounds that is still relevant today / S. Thomas // *J. Wound Care.* – 2009. – Vol. 18, № 2. – P. 85–87.
230. The role of lymphocytes in human dermal wound healing / D. Boyce, W. Jones, F. Ruge [et al.] // *Brit. J. Dermatol.* – 2000. – № 143. – P. 59–65.
231. The Roles of Activin in Cytoprotection and Tissue Repair / M. Wankell, S. Werner, Ch. Alzheimer, S. Werner // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2003. – № 995. – P. 48–58.
232. The Neuropeptide Substance P Is a Critical Mediator of Burn-Induced Acute Lung Injury / S. W. S. Sio, M. K. Puthia, J. Lu [et al.] // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 180. – P. 8333–8341.
233. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* burn wound colonization / M. Kooistra-Smid, M. Nieuwenhuis, A. van Belkum, H. Verbrugh // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2009. – Vol. 57, № 1. – P. 1–13.
234. Twenty-five year epidemiology of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates recovered at a burn center / C. K. Murray, R. L. Holmes, M. W. Ellis [et al.] // *Burns.* – 2009. – Vol. 35, № 8. – P. 1112–1117.
235. Wang Z. Tissue engineering of skin / Z. Wang, X. Jiao, X. Xing // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* – 2000. – Vol. 14, № 4. – P. 241–244.

236. White R. Wound colonization and infection: the role of topical antimicrobials / R. White, R. Cooper, A. Kingsley // *Brit. J. Nurs.* – 2001. - Vol. 10, № 9. – P. 563–578.
237. Wlaschek M. Chronological ageing and photoageing of the fibroblasts and the dermal connective tissue / M. Wlaschek, I. Tantcheva-Poor, L. Schneider // *J. Clin. Exp. Dermatol.* – 2001. – Vol. 26, № 7. – P.8.
238. Wound-healing defects in mice lacking fibrinogen / Angela F. Drew, Hong Liu, Jeffrey M. Davidson [et al.] // *Blood.* – 2001. – Vol.97, № 12. – P. 3691–3698.
239. Zhang Q. To intensify our understanding about management of severe burn infection / Q. Zhang, Z. J. Liao // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2009. – Vol. 25, № 2. – P. 81–83.

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
член.кор. АМНУ, проф. М.Р. Єжегоцький

„ 08” 10 2010р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості перебігу запалення в зоні опікової рани та корекція його порушень засобом „Кротозин”.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Юрій Богданович Пастернак, Михайло Степанович Регада.
3. **Джерело інформації:** Пастернак Ю.Б. Зміни функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної системи в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2% засобом „Кротозин” / Ю.Б. Пастернак // Вісник проблем біології та медицини. – 2010. – Вип. 2. – С. 113-118.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакології.
5. **Термін впровадження:** жовтень 2010р.
6. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми „ Антиоксиданти ”.
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:
доктор медичних наук, професор
завідувач кафедри фармакології
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького



О.Р. Пінякко

176

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
член.кор. АМНУ, проф. М.Р. Гжегоцький

„12” 10 2010р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості перебігу запалення в зоні опікової рани та корекція його порушень засобом „Кротозин”.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології.
- Розроблювачі:** Пастернак Юрій Богданович, Регада Михайло Степанович.
3. **Джерело інформації:** Пастернак Ю.Б. Особливості змін показників неспецифічної резистентності організму у крові експериментальних тварин у динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2% засобом „Кротозин” / Ю.Б. Пастернак //Практична медицина. – 2010. – 2 (том XVI). – С. 16-19.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра клінічної імунології та алергології.
5. **Термін впровадження:** жовтень 2010р.
6. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми „ Імунітет та інфекція ”.
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

доктор медичних наук, професор
завідувач кафедри клінічної імунології та алергології
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького



(Handwritten signature)

В.В. Чоп'як

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з навчальної роботи

Львівського медичного інституту

/доцент О.М. Гуменюк



2010р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості перебігу запалення в зоні опікової рани та корекція його порушень засобом „Кротозин”.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Юрій Богданович Пастернак, Михайло Степанович Регада.
3. **Джерело інформації:** Пастернак Ю.Б. Зміни функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної системи в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2% засобом „Кротозин” / Ю.Б. Пастернак // Вісник проблем біології та медицини. – 2010. – Вип. 2. – С. 113-118.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський медичний інститут, кафедра анатомії, фізіології та патології.
5. **Термін впровадження:** жовтень 2010р.
6. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми „Запалення”, „Реактивність та резистентність організму, їх роль в патології”.
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

кандидат медичних наук, доцент

завідувач кафедри анатомії, фізіології та патології

Львівського медичного інституту

С.Р. Косий

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з навчальної роботи
Івано-Франківського державного
медичного університету
професор: В.В. Луцько



„ 02 ” 2010р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості перебігу запалення в зоні опікової рани та корекція його порушень засобом „Кротозин”.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Пастернак Юрій Богданович, Регада Михайло Степанович.
3. **Джерело інформації:** Пастернак Ю.Б. Зміни функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної системи в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2% засобом „Кротозин” / Ю.Б. Пастернак //Вісник проблем біології та медицини. – 2010. – Вип. 2. – С. 113-118.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра патологічної фізіології.
5. **Термін впровадження:** листопад 2010р.
6. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми „Запалення”.
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:
доктор медичних наук, професор,
завідувач кафедри патологічної фізіології
Івано-Франківського державного
медичного університету

Л.М. Заяць

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректора з
науково-педагогічної роботи
Буковинського державного
медичного університету
проф. Ю.Т. Ахтемійчук



" 04 " листопада 2010 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1.Пропозиція для впровадження: Патогенетичні особливості перебігу запалення в зоні опікової рани та корекція його порушень засобом „Кротозин“.

2.Установа-розробник: Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології.

Розроблювані: Пастернак Юрій Богданович, Регеда Михайло Степанович.

3.Джерело інформації: Пастернак Ю.Б. Зміни функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної системи в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2% засобом „Кротозин“ / Ю.Б. Пастернак // Вісник проблем біології та медицини. - 2010. - Вип. 2. - С 113-118.

4.Базова установа, яка проводить впровадження: Буковинський державний медичний університет, кафедра патологічної фізіології.

5.Термін впровадження: листопад 2010р.

6.Форма впровадження: В навчальний процес кафедри - лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми „Запалення“.

7.Зауваження та пропозиції: Немає.

Відповідальний за впровадження: доктор
медичних наук, професор, завідувач
кафедри патологічної фізіології
Буковинського державного медичного
університету

Ю.Є. Роговий

180

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор
Тернопільського державного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського
професор І.Р. Мисула



„10” _____ 10 _____ 2010р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості перебігу запалення в зоні опікової рани та корекція його порушень засобом „Кротозин”.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Пастернак Юрій Богданович, Регада Михайло Степанович.
3. **Джерело інформації:** Пастернак Ю.Б. Зміни функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної системи в динаміці розвитку запалення в зоні опікової рани та їх корекція 2% засобом „Кротозин” / Ю.Б. Пастернак // Вісник проблем біології та медицини. – 2010. – Вип. 2. – С. 113-118.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології.
5. **Термін впровадження:** листопад 2010р.
6. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми „ Запалення”, “Місцеві та загальні реакції організму на пошкодження”.
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:
доктор медичних наук, професор,
завідувач кафедри патологічної фізіології
Тернопільського державного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського

М.Р. Хара

УКРАЇНА

UKRAINE



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 22612

**АНТИСЕПТИЧНИЙ, РЕГЕНЕРУЮЧИЙ ЗАСІБ НА ОСНОВІ
ПОХІДНИХ γ - КРОТОНОЛАКТОНУ ТА КАРНОЗИНУ ДЛЯ
ЛІКУВАННЯ ІНФІКОВАНИХ РАН ТА ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ
ЗАХВОРЮВАНЬ ШКІРИ**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 25 квітня 2007 р.

Голова Державного департаменту
інтелектуальної власності

М.В. Паладій



УКРАЇНА

UKRAINE



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 33287

**РЕГЕНЕРУЮЧИЙ, ПРОТИМІКРОБНИЙ, ЗНЕБОЛЮЮЧИЙ
ЗАСІБ "КРОТОЗИН" ДЛЯ ТЕРАПІЇ ІНФІКОВАНИХ РАН,
ОПІКІВ, ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ШКІРИ**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на винаходи
10.06.2008.

Голова Державного департаменту
інтелектуальної власності

М.В. Паладій

