ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Гармаев Бато-Цырен Нимаевич

РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ МАЗЕЙ С ЭКСТРАКТОМ *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* (L.) O. SCHWARZ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор,
Хитрихеев Владимир Евгеньевич

Улан-Удэ – 2017

ВВЕДЕНИЕ…….... 3
ГЛАВА1.ОБЗОРЛИТЕРАТУРЫ……. 9
1.1. Основные механизмы развития раневого процесса……... 9
1.2. Современные подходы и методы лечения раневого процесса……... 17
1.3. Краткая характеристика растительных видов сырья и групп биологически активных веществ, оказывающих ранозаживляющее действие…….. 22
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ…….. 31
2.1. Характеристика объектов исследований…… 31
2.2. Способы воспроизведения раневых повреждений кожи.. 33
2.3. Описание методов оценки фармакотерапевтического эффекта исследуемых средств…… 34
ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ МАЗЕЙ С ЭКСТРАКТОМ ПЯТИЛИСТНИКА КУСТАРНИКОВОГО НА ЗАЖИВЛЕНИЕ КОЖНЫХ ЛИНЕЙНЫХ РАН У БЕЛЫХ КРЫС…….. 37
ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ МАЗЕЙ С ЭКСТРАКТОМ ПЯТИЛИСТНИКА КУСТАРНИКОВОГО НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ПЛОСКОСТНОЙ РАНЫ У БЕЛЫХ КРЫС…… 43
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ МАЗИ С ЭКСТРАКТОМ ПЯТИЛИСТНИКА КУСТАРНИКОВОГО, ПОЛУЧЕННОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГОМОГЕНИЗАТОРА NANODEBEE 30, НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ПЛОСКОСТНОЙ РАНЫ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 62
ЗАКЛЮЧЕНИЕ…… 82
ВЫВОДЫ……..... 85
Список литературы…….. 86
Список сокращений……. 112

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Значительное увеличение в последние годы числа больных с дефектами кожного покрова обусловливает актуальность поиска, изучения и внедрения в клиническую практику новых эффективных и безопасных ранозаживляющих препаратов [4,13, 23, 31,54, 154, 199]. Наряду с этим, резистентность микрофлоры к антибактериальным препаратам, повышенный аллергический фон у населения, сниженная сопротивляемость организма затрудняют лечение больных с раневыми повреждениями кожи. Многие используемые лекарственные средства при этом оказывают побочныеэффекты [8,79, 85, 113,150,192].

В связи с этим, возрастает актуальность изыскания новых эффективных и безопасных средств на основе растительного сырья для лечения и профилактики раневых повреждений кожи [64]. К настоящему времени разработка и применение готовых форм из лекарственных растений, произведенных по современной технологии, несмотря на их востребованность, в доступной литературе освещаются недостаточно, имеющиеся сведения разрозненны и отрывочны [163]. Повышение эффективности лечения ран путем обеспечения клинической практики действенными и безопасными средствами зависит от используемого сырья, его доступности, применения рациональной готовой формы препарата и ряда других факторов, обеспечивающих выраженный фармакотерапевтический эффект [13, 111, 114, 141, 208]. При этом необходимо учитывать влияние вспомогательных элементовна биодоступность активных веществ, соотношения их, дисперсность частиц, характер распределения в готовой форме и других обстоятельств, влияющих на эффективность препаратов [20, 22, 34, 129, 168].

В этой связи актуальным представляется использование современных технологий, позволяющих создавать эффективные и безопасные средства из

растительного сырья с учетом «фармацевтических факторов», которые особенно важны при местном применении ранозаживляющих препаратов [14, 19, 112, 154, 215].

Из потенциально перспективных видов сырья, в этом отношении, особый интерес представляет *Pentaphylloides fruticosa* (L) O.Schwarz (пятилистник кустарниковый, Курильский чай), который распространен в Сибири [145]. Пятилистник кустарниковый богат биологически активными веществами и, прежде всего, флавоноидами, танинами, полисахаридами, витаминами, микро- и микроэлементами и другими природными соединениями [96, 145]. Благодаря этому указанное растительное сырье находит широкое приеменение в народной и традиционной медицине; извлечения из этого вида сырья популярны в России как гемостатическое, противовоспалительное, антибактериальное, обезболивающее, регенерирующее средства.

В отделе биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (ИОЭБ СО РАН) ранее из побегов пятилистника кустарникового был получен экстракт сухой (Патент РФ за №2109517), который оказывает многостороннее действие – противовоспалительное, сахароснижающее, иммуномодулирующее, антимикробное, десенсибилизирующее, антиокислительное [96, 145]. Указанные свойства полученного экстракта, особенно, противоальтеративное и регенерирующее предопределили целесообразность создания мягкой формы с равномерным распределением в ней высокодисперсных частиц действующих веществ. Учитывая значимость «фармацевтического фактора» для улучшения качества ранозаживления, мы предположили о потенциальной перспективности мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученного с использованием высокоэффективного гомогенизатора NanoDeBee 30, для лечения раневых повреждений кожи в условиях эксперимента, включая влияние на заживление ран при экспериментальном сахарном диабете.

Целью исследований явилось определение ранозаживляющего действия мазей с экстрактом пятилистника кустарникового, приготовленных фармакопейным способом и с использованием высокоэффективного гомогенизатора, при раневых повреждениях кожи в условиях эксперимента.

Для достижения указанной цели были сформулированы следующие **задачи**:

– изучить влияние мазей с экстрактами пятилистника кустарникового, полученных фармакопейным способом и с использованием высокоэффективного гомогенизатора, на течение линейной и плоскостной раны у белых крыс;

– исследовать влияние мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученного с использованием высокоэффективного гомогенизатора, на течение раневого процесса у белых крыс с экспериментальным сахарным диабетом;

– определить основные механизмы стимуляции заживления ран у белых крыс при использовании указанных мазей.

Научная новизна. В работе установлено ранозаживляющее действие мазей с экстрактом пятилистника кустарникового, полученных фармакопейным способом и с использованием высокоэффективного гомогенизатора NanoDeBee 30, при раневых повреждениях кожи у белых крыс. При местном применении указанные средства сокращают площади раневого дефекта, стимулируя эпителизацию раны. Показано, что скорость контракции ран у крыс на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученной с использованием высокоэффективного гомогенизатора, превышает показатели в контроле и при использовании мягкой формы с экстрактом пятилистника кустарникового, полученной фармакопейным способом.

Стимуляция тканевой репарации раневых повреждений при применении указанных средств обусловлена возросшей синтетической активностью клеток в зоне ран, о чем свидетельствуют повышенные уровни

содержания нуклеиновых кислот (РНК, ДНК) в гомогенате грануляционно-фиброзной ткани на фоне торможения свободнорадикальных процессов и повышения антиоксидантной защиты организма. В раневых срезах при применении указанных средств наблюдали повышенную базальную активность эпидермиса, наиболее выраженную на фоне применения средства, полученного с использованием высокоэффективного гомогенизатора. Впервые доказано стимулирующее заживление раневого дефекта при местном применении мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученной с использованием высокоэффективного гомогенизатора, у белых крыс с экспериментальным сахарным диабетом. Показано, что использование данного средства активирует ангиогенез на более ранних сроках на фоне ингибирования свободнорадикальных процессов с последующим повышением синтетической активности клеток.

Практическая значимость. Результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, полученную с использованием высокоэффективного гомогенизатора, для клинического применения в качестве эффективного и безопасного ранозаживляющего средства в комплексе с другими методами лечения раневых повреждений.

Материалы исследований используются на кафедре фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии, а также на кафедре госпитальной хирургии медицинского института Бурятского государственного университета Министерства образования и науки РФ (Акт № 5 от 11.09.17, Акт №7 от 11.09.17). По результатам проведенных исследований подготовлена заявка на предполагаемое изобретение «Способ получения средства, обладающего ранозаживляющим действием».

Основные положения, выносимые на защиту

– мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученные фармакопейным способом и с использованием высокоэффективного гомогенизатора, оказывают ранозаживляющее действие благодаря наличию в

них биологически активных веществ, прежде всего, фенольной природы и других соединений;

– мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, полученная с использованием высокоэффективного гомогенизатора, характеризуется более выраженным действием при раневых повреждениях за счет высокой степени гомогенизации экстрактивных веществ, однородности частиц, обеспечивающих высокую биодоступность действующих веществ;

– применение мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученнойс использованием высокоэффективного гомогенизатора, при лечении ран у крыс с сахарным диабетом сопровождается ускорением заживления ран за счет активации ангиогенеза, синтетической функции клеток на фоне торможения свободнорадикальных процессов и активации эндогенной антиоксидантной защиты.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: IV научно-практической конференции молодых ученых Сибирского и Дальневосточного федеральных округов (Иркутск, 2014); III международной научно-практической конференции «Формы и методы социальной работы в различных сферах жизнедеятельности» (Улан-Удэ, 2014); II международной научно-практической конференции «Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов. Опыт и перспективы использования в целях профилактики заболеваний, лечения и реабилитации больных» (Кызыл, 2015); ежегодных научных конференциях при Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ, 2014, 2015, 2016).

Личный вклад автора. Вклад соискателя заключается в определении направления исследований, планировании их, непосредственном выполнении экспериментов, постановке и решении конкретных задач, интерпретации данных, обосновании и формулировании выводов.

Данная работа выполнена в рамках реализации задач РАН по приоритетному направлению «Биомедицинские и ветеринарные технологии» (Постановление Правительства РФ за № СН-П8-5676 от 11.08.2011 г.)

Публикации. По результатам выполненных исследований опубликованы 11 научных работ, из них 4 статьи – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК МО и науки РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 112 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, изложения собственных результатов, заключения, выводов, списка литературы. Диссертация иллюстрирована 27 рисунком и 15 таблицами. Список литературы включает 234 источника, из них 70 – на иностранных языках.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Основные механизмы развития раневого процесса

Использование в современной клинике последних достижений естественных наук при заживлении ран не гарантирует абсолютной эффективности рекомендуемых методик. Отсутствие высокоэффективных и безопасных средств, ускоряющих заживление раны, привело к углубленному изучению маханизма развития раневого процесса. Основы были заложены еще в XIX веке совместными усилиями клиницистов и патологов Р. Вирхов, Ю. Конгейм, Н.И. Пирогов, И.И. Мечников, П. Эрлих. В дальнейшем с расширением возможностей исследовательский процесс был углублен до клеточного, биохимического и молекулярного уровней, что позволило создать представление о течении раневого процесса. Во-первых, было установлено, что раневой процесс являет собой частный случай воспаления, во-вторых, все реакции, наблюдающиеся при раневом процессе–суть проявление общего адаптационного синдрома [32, 33, 81, 82, 103, 105, 115, 147]. Общий адаптационный синдромсопровождает любое раздражающее воздействие – стресс и характеризуется фазными изменениями нейро-вегетативных реакций, гормонального баланса, соответствующими метаболическими и функциональными расстройствами. Известны основные стадии данного процесса, включающие реакции тревоги, резистентности и истощения. Первая фаза общей реакции организма развивается в течение 48 часов после травмы или операции. Пусковым механизмом данного этапа является активация стресс-системы, которая достигается передачей информации об альтерации посредством нейрогуморальных импульсов в центральную нервную систему, откуда следует отклик в виде ответной нейрогуморальной стимуляции органов,ответственных за приспособительные реакции [32, 103, 105, 143, 147, 153, 156, 205, 234]. Адаптационный ответ берет начало в гипоталамусе с возбуждения симпатической нервной системы, выброса в кровь АКТГ и

глюкокортикоидов, вазопрессина, катехоламинов, инсулина, паратгормона, реализация эффектов которых приводит к форсированию процессов жизнедеятельности и обеспечивает повышенную потребность органов и тканей в кислороде и энергии[32, 39, 41, 70, 78, 82, 103, 202]. Во вторую фазу общие реакции организма на повреждение характеризуются мобилизацией парасимпатической системы и доминирующим действием ацетилхолина, альдостерона, соматотропного гормона и пролактина, вкупе вызывающих ограничение катаболических реакций и стимулирующих анаболические эффекты – нормализацию обмена белков в сторону усиления синтеза и торможения распада, выхода липидов из депо, а также изменениями кислотно-щелочного состояния в сторону алкалоза. Эти реакции способствуют активации регенераторных процессов. В случае длительно сохраняющегося действия стрессорного фактора, чрезмерного воздействия и/или многократного, отмечается исчерпывание ресурсов организма, развивается стадия истощения, знаменующая собой переход адаптивной стресс-реакции в патологию [32, 40, 82, 103, 147, 205].

В клинической практике при терапии раневого процесса подобные ситуации возникают нередко при обширных термических поражениях кожного покрова, трофических язв на фоне недостаточности артериального и венозного кровообращения, а также присистемных заболеваниях и сахарном диабете. Воспалительная реакция на раневое повреждение, зависящая от объемаи характера и состояния макроорганизма, по сути, определяет потенциал заживления раны.

Согласно классическому определению, воспаление – это возникшая в ходе эволюции реакция живых тканей организма на местные повреждения, состоит из сложных поэтапных изменений микроциркуляторного русла, системы крови и соединительной ткани, которые направлены на изоляцию и устранение повреждающего агента и восстановление (или замещение) поврежденных тканей [32, 156, 234]. Являющееся защитно-приспособительной реакцией организма на повреждение любого рода,

воспаление направлено на устранение альтерирующего фактора и регенерацию поврежденных тканей. Тот факт, что некоторые формы воспаления значительно осложняют раневой процесс и могут привести к летальному исходу (например, в случае гнойного воспаления раны, осложненного сепсисом) известен хирургам и фармакологам уже давно. Классические признаки воспаления ранее были описаны Цельсом - краснота (rubor), опухоль тканей (tumor), жар (calor), боль (dolor); а последний признак указан Галеном – нарушение функций (functiolaesa). Клинические признаки определенные античными врачами, соответствуют первой и второй фазам воспаления – альтерации и экссудации, последняя стадия – пролиферация – достижение нового времени. Отсутствие хотя бы одной из этих трех составляющих реакций не позволяет утверждать о воспалении [35, 39, 77, 105, 123]. Классификация раневого процесса (М.И. Кузин, 1990) также выделяет следующие три основные фазы: первая фаза воспаления, состоящая из двух периодов – сосудистых изменений и очищения раны от некротизированных тканей; вторая фаза регенерации, образования и созревания грануляционной ткани; третья фаза – образования и реорганизация рубца. Предлагаемая классификация наиболее точно отражает основные этапы течения раневого процесса, самые существенные его особенности, определяет строгую патогенетическую направленность при лечении соответствующей фазывоспалительного процесса [62,63,65,213,219].

Процессы воспаления развиваются в ответ на первичную альтерацию – повреждение тканей, имеющую продолжениев виде вторичной альтерации. Альтерация запускает основное направлениепроцесса воспаления – локализацию и нейтрализацию повреждающего фактора. Главными механизмами, реализующимиих, являются активированные в очаге воспаления лейкоциты, моноциты-макрофаги, лаброциты, клетки эндотелия, система гемостаза и система комплемента, калликреин-кининовая система. Ресурсное обеспечение всех процессов и усиление буферных механизмов противовоспалительной устойчивости, как указывалось выше,

достигаетсяэффектами провоспалительного варианта общего адаптационного синдрома, а также острофазного ответа организма и некоторыми другими реакциями. Процессы альтерации объединяют тканевой распад и усиленный обмен веществ («пожар обмена»), приводящие к ряду физико-химических изменений в зоне воспаления: ацидоз, осмотическая гипертензия и гиперонкия.Первичная местная реакция включает вазодилатацию и увеличение проницаемости сосудистой стенки, особенно посткапиллярных венул,последнюю И.И. Мечников (1891) расценил как защитную с целью облегчения доступа лейкоцитов и других иммунокомпетентных клеток в очаг поражения [45, 71, 102, 229].В результате реализации эффекта совокупной хемоаттракции в зоне повреждения возникает первичная кооперация клеток, продуцирующих медиаторы воспаления. Только находясь в очаге повреждения, эти клетки обеспечивают выброс тканевых медиаторов и начало воспаления с последующейреализацией функции всех клеток крови, иммунной системы и тканей [9, 70, 73, 75, 86, 96, 102, 120, 142, 149, 153].

Клеточные медиаторы, продуцируемыеактивированными клетками-мигрантами,эндотелиоцитами и резидентными макрофагами микрососудов, вызывают сосудистую реакцию,повышение проницаемости микрососудов, фагоцитоз, оказывают бактерицидное действие, вызывают вторичную деструкцию тканей, активизируют иммунный компонент воспалительного процесса, регулируют дифференцировку и пролиферацию клеток [18, 41, 70, 78, 105, 123, 187, 197, 204, 226]. Огромный спектр клеточных медиаторов, источники и эффекты которых описаны с развитием биохимических и биофизических методов исследования [32, 41, 46, 49, 70, 71, 75, 78, 84, 86, 105, 203]. Они активируютвкупе с собственно травмирующим фактором действие плазменных медиаторов воспаления – системы комплемента, калликреин-кининовой системы и системы гемостаза. Основными эффектами данной группы медиаторов являются лизис бактерий и клеток, повышение проницаемости сосудов, вазодилатация, активация полиморфноядерных лейкоцитов, моноцитов и макрофагов, стимуляция лимфоцитов и

фибробластов, агрегация тромбоцитов, активация других медиаторов воспаления [32, 41, 71, 72, 102, 105, 121, 207]. Изменения микрососудистой проницаемости нарастают первые 48-72 ч, способствуя поддержанию воспалительной фазы [72, 105, 123, 142]. Клинически данная фаза характеризуется появлением отека, инфильтрацией тканей, местной гипертермией, выпадением фибрина на поверхности раны (например, как компонента содержимого пузырей при ожогах III а,б степени). Вторичные некрозы тканей, образующиеся в это время, обусловлены тромбозом микрососудов, что ведет к быстрой деструкции периваскулярных тканей и формированию реактивных полинуклеарных инфильтратов [32, 80, 102, 204], а также ишемией, возникающей при экстравазальном нарушении проходимости сосудов (например, при быстро прогрессирующих массивных отеках, сопровождающих клостридиальные флегмоны) [65]. За счет высокой ферментативной активности в зоне повреждения в данный период реализуется феномен очищения раны от некротизированных тканей и патогенных микроорганизмов. Дальнейшее заживление раневого повреждения происходит путем эпителизации, под струпом (или нагноение раны) в основном за счет клеточного компонента воспалительной реакции. В случае нагноения возникает демаркация зоны повреждения, образующаяся за счет лейкоцитарной инфильтрации, в основном полиморфноядерными нейтрофилами. Гной состоит главным образом из нейтрофилов и их остатков [1, 26, 55, 62, 65, 127, 133, 176, 191].

В патогенезе первой фазы воспаления и одновременно раневого процессадействуют факторы, непосредственно влияющие на течение раневого процесса. Это так называемый респираторный взрыв нейтрофилов, представляющий собой массированный выброс активных форм кислорода при усиленном потреблении кислорода и глюкозы, что происходит в ишемизированной зоне раневого повреждения. Впервые на роль лейкоцитов в заживлении ран обратил внимание А.Флеминг (цит.По Абаеву Ю.К., 2006). В своих работах он показал, что антисептики губят не только

микроорганизмы, но и лейкоциты, обеспечивающие первую линию защиты организма от бактерий. Началу концентрации лейкоцитов в очаге первичной альтерации способствует появление хемоаттрактантов, благодаря которым первые 24 ч в ране доминируют полиморфно-ядерные лейкоциты, позже – макрофаги и лимфоциты [1, 28, 32, 73, 86, 105, 120].Следующим по времени эффектами хемоаттрактантов является связывание их с мембранными рецепторами лейкоцитов, приводящих к активации последних, проявлению цитотоксической активности, осуществляется лейкоцитарный фагоцитоз– наиболее древняя иммунная реакция, направленная на уничтожение чужеродных клеток или веществ биополимерной природы [2, 86, 102, 106, 132, 182, 186]. В результате респираторного взрыва образуются сильные бактерицидные агенты: супероксидный анион (O_2^-), перекись водорода (H_2O_2), синглетный кислород ($^1O_2$), гидроксильные радикалы (OH^-) и др. [6, 86, 84, 223]. Сочетание перекиси водорода, миелопероксидазы и ионов галогенов создает мощную систему галогенирования, приводящую к появлению крайне агрессивных вторичных метаболитов: гипохлорной кислоты (HOCl), хлорамина, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Именно активные формы кислорода и его дериваты проявляют выраженный цитотоксический эффект. Однако данный эффект не является селективным и реализуется не только по отношению к бактериям, изначально инфицирующим рану, но и ко всем окружающим клеткам – клеткам макроорганизма. Под влиянием продуктов ПОЛ происходит дестабилизация лизосом, освобождение протеолитических ферментов и появляются высокотоксичные продукты – альдегиды, кетоны, спирты, накопление которых вызывает повреждение мембраносвязанных ферментов, нарушение мембранного транспорта и гибель клеток.

Таким образом, при стрессе активация перекисного окисления липидов является составной частью повреждающего фактора, наряду с травмирующим агентом. Существенная роль ПОЛ в патогенезе стрессорных повреждений подтверждается положительным эффектом антиоксидантных

препаратов на функцию и структуру клеток. В связи с этим, дальнейшие разработки в данном направлении позволят развивать фармакотерапевтические стратегии против чрезмерной цитотоксичности нейтрофилов [2, 14, 17, 50, 100, 106, 200]. Одной из основных причин чрезмерной интенсификации перекисного окисления липидов биологических мембран является действие высоких концентраций катехоламинов, присутствующих на первом этапе общей реакции организма [82, 103, 105, 147, 210]. Результатом длительной продукции глюкокортикоидов является подавление воспалительной реакции, препятствующей дальнейшему распространению инфекционного агента за пределы зоны внедрения. Стресс-реакция характеризуется также активацией протеолитических систем, что приводит к денатурации белковых структур, и в том числе деградации матриксных белков раны. При этом, не наблюдается достаточного увеличения ингибиторов протеолиза, каковыми, например, при воспалении являются белки острой фазы [103, 105, 120, 147, 222]. В клинике давно замечено, что длительные стрессы предрасполагают к обострению хронических инфекционных заболеваний или способствуют возникновению новых инфекций.

Пролиферативная стадия завершает острое воспаление и обеспечивает репарацию тканей. В эту стадию происходит уменьшение воспаления за счет снижения интенсивности эмиграции форменных элементов крови, снижения лейкоцитов в зоне воспаления. Очаг воспаления постепенно заполняют макрофаги гематогенного происхождения, выделяющие интерлейкины – хемоаттрактанты для фибробластов, стимулирующие, кроме того, новообразование сосудов. В ране продолжается размножение фибробластов, скопление клеток иммунной системы, плазмоцитов, при резком уменьшении экссудата, активация анаболических процессов – интенсивности синтеза ДНК и РНК, основного вещества и фибриллярных структур соединительной ткани, санация поля воспаления за счет активации гидролаз лизосом моноцитов, макрофагов, гистиоцитов и других клеток, пролиферация

эндотелиоцитов с образованием новых сосудов, формирование грануляционной ткани после ликвидации некротического детрита [7, 9, 19, 28, 45,86, 102, 105, 121,149, 209]. Появление грануляций в ране означает безусловную позитивную динамику течения заболевания, гарантирующую, в том числе,барьер для вторичного инфицирования, но при условии соблюдения принципов лечения согласно стадийности раневого процесса[9, 30, 62,101, 105, 128, 149]. Наиболее важным компонентом гранулирующей ткани считается фибронектин,способствующий контракции раны и восстановлению базальной мембраны. При электронно-микроскопическом исследовании обнаруживаются в большом количестве параллельно расположенные пучки филаментов клеточного фибронектина, что позволило ряду исследователей назвать фибробласты раны миофибробластами [1, 7, 9, 28]. Фибронектин в межклеточном матриксе выполняет роль «стропил» и обеспечивает прочное сцепление фибробластов с матриксом соединительной ткани, создает определенную ориентацию фибробластов и коллагеновых волокон в зоне репарации. Благодаря фибронектину фаза собственно воспалительной инфильтрации в ране переходит к гранулематозно-фиброзной стадии [62, 63, 107].

На данной стадии раневого процесса фибробласты являются основными продуцентами коллагена и эластина, составляющих основу соединительной ткани. Появляются они уже на начальных этапах воспаления под влиянием цитокинов макрофагов, в значительной степени обеспечивая восстановление поврежденных тканей. Эти клетки, а также внеклеточный матрикс, компоненты соединительной ткани взаимодействуют между собой благодаря многочисленным активным веществам, определяющим клеточную и внеклеточную рецепцию – цитокинам и факторам роста. Последних содержится в ране большое количество. Тромбоцитарный фактор роста (PDGF) стимулирует пролиферацию клеток мезенхимального происхождения, таких как фибробласты, гладкомышечные клетки; трансформирующий фактор роста-β (TGF-β) стимулирует хемотаксис

фибробластов и продукцию ими коллагена,митогенез и ангиогенез;эпидермальный фактор роста (EGF) усиливает пролиферацию и миграцию кератиноцитов; трансформирующий фактор роста α(TGF-α) влияет на митогенез и ангиогенез, стимулирует эпителиальные клетки, фактор роста кератиноцитов стимулирует заживление раны, а фактор роста основного фибробласта (bFGF) – положительно влияет на развитие всех типов клеток, стимулирует продукциюпротеаз, хемотаксис фибробластов и кератиноцитов, продукцию компонентов внеклеточного матрикса [7, 38, 46, 97, 155, 165, 171, 178]. Реагируя с рецепторами клеток и внеклеточного матрикса, они активируют функции клеток, участвующих в регенерации [7, 46, 149]. Возможность воздействовать на процессы регуляции клеточной пролиферации, дифференцировки и клеточной подвижности с помощью факторов роста позволяет разрабатывать новое направление терапии раневых повреждений, и особенно сложных в курации хронических ран, в патогенезе формирования которых доказан высокий уровень металлопротеаз, инактивирующих факторы роста [5, 23, 80, 98, 101, 104, 135, 136, 194].

Завершающая стадия заживления раны называется фазой созревания или перестройки. Рубец приобретает прочность, уменьшается в размерах и его окраска становится менее эритематозной. Он бледнеет, становится более мягким и менее выпуклым. Все эти изменения вторичны по отношению к происходящей перестройке и реорганизации [170].

1.2. Современные подходы и методы лечения ран

Методы терапии раневого процесса постоянно совершенствуются. Изменение физиологического статуса макроорганизма, трансформация микробной флоры и рост вариабельности их влияет на течение и характер раневого процесса. Отсюда проистекают новые подходы и методы лечения ран, совершенствующиеся по мере развития медицинской науки. Известно, что лечение раны начинается с первичной хирургической обработки с

адекватной анестезией, последующее ведение требует ухода и коррекции терапии в зависимости от особенностей течения раневого процесса [31, 51, 65, 82, 128]. В зависимости от природы и характера раневого повреждения, стадии раневого процесса используют соответствующие методы и средства, способствующие активной репаративной регенерации. В настоящее время помимо традиционных способов терапии ран широко применяются:

1) вакуум-терапия, которая базируется на создании дозированного разряжения в ране в пределах 0,1-0,15 атм.; эффективность методики обусловлена активным удалением избыточного раневого отделяемого, усилением кровотока, нормализацией pH среды в ране, мобилизацией аэробного гликолиза и энергетического обеспечения в течении раневого процесса, а также ускоренной деконтаминацей раны [69, 99, 173, 189, 220, 227, 228];
2) местная озонотерапия основана на антимикробном, фунгицидном действии, активации метаболизма, противовоспалительном эффекте [152, 154];
3) гипербарическая оксигенация – метод выбора при лечении анаэробной инфекции, основной эффект связан с устранением гипоксии и улучшением энергетических процессов в ране, бактерицидным и бактериостатическим действием; кроме того, кислород повышает чувствительность микроорганизмов к антибиотикам, активизирует фагоцитоз [37];
4) при NO-терапии лечебное действие связано с нормализацией микроциркуляции за счет вазодилатации, антиагрегантного эффекта, прямого и опосредованного бактерицидного действия, а также активации антиоксидантной защиты [98];
5) лазерная обработка раны с помощью высокоинтенсивного лазерного излучения приводит к ограничению некрозов, гибели бактерий, снижению воспаления, заживление раны по срокам приближается к

первичному; применение метода ограничено в анатомически значимых областях [98, 154];

6) обработка раны пульсирующей струей антисептика используется в случаях сложных и обширных раневых дефектов; на раневую поверхность подается струя антисептика под переменным давлением, рана освобождается от бактерий и некротических тканей [98, 232];

7) ультразвуковая обработка раны – в рану наливают раствор антисептика и подводят генератор ультразвука; в жидкости при прохождении ультразвука возникает эффект кавитации, что приводит к гибели бактерий и отторжению некротических тканей [87,98];

8) криотерапия вызывает образование струпа под воздействием экстремально низких температур, что позволяет добиться эпителизации под струпом, либо радикального очищения раны после отторжения некрозов [67, 98];

9) использование композитных перевязочных средств позволяет удалять экссудат и токсины, непосредственно доставлять антисептик в раневую зону и контролировать уровень влажности в ранах [66, 98, 166, 177, 179, 218];

10) лечение раны в управляемой абактериальной среде (гнотобиологическая изоляция) используется у пациентов с иммунодефицитными состояниями [30, 59, 61 , 90, 118,142, 185].

Адекватное местное медикаментозное лечение раны в зависимости от фазы раневого процесса позволяет быстро достигнуть заживления [183, 184, 186, 211]. С целью удаления некротических тканей, эвакуации экссудата и подавления инфекции применяются протеолитические ферменты и препараты на основе ферментов, гипертонические растворы, сорбенты, мази на гидрофильной основе, а с целью санации – антисептики. Так, широко применяются протеолитические ферменты (трипсин, химотрипсин, мазь «Ируксол»), 10% раствор натрия хлорида, сорбенты, мази на гидрофильной основе («Левосин», «Левомеколь»), растворы антисептиков (перекись водорода, диоксидин, мирамистин, хлоргексидин, хлорофиллипт и др.). Во

вторую фазу - регенерации, образования и созревания грануляционной ткани, необходимо добиваться подавления инфекции, стимулировать регенерацию и защитить раневую поверхность. На данном этапе используются мази с антибактериальными свойствами, стимуляторы регенеративных процессов (комбутек, альгипор, солкосерил, куриозин, хонсурид) и различные раневые покрытия. В третьей фазе раневого процесса – образования и организации рубца, по-прежнему, требуется активация регенерации с целью формирования адекватного рубца [139, 231, 233]. На данном этапе рекомендуется терапия стимуляторами регенеративных процессов [46, 139].

В последнее время используютсядостижения биотехнологии – коллагенсодержащие препараты – Коллост; средства тканевой инженерии и клеточной терапии – богатой тромбоцитами аутоплазмы, аутогенного тромбоцитарного геля, биопрепаратов – Эбермин (мазь, содержащая эпидермальный фактор роста человеческий рекомбинантный), а также клеточных технологий –культивирование кератиноцитов на коллагеновом геле, эпидермальных клеток на культуре фибробластов, созданные «живые эквиваленты кожи» и комбинированные субстраты (Apligraf, Integra, Epicell, Epidex, Myskin, AlloDerm и др.), инновационных препаратов (Полихил) [3, 12, 61, 93, 126, 151, 174, 190, 201, 209, 214, 218]. Необходимо отметить достаточно высокую стоимость перечисленных препаратов. С целью предупрежденияобразования и для лечения гипертрофических рубцов используются лидаза, лонгидаза, йодистый калий и, по показаниям, противорубцовые комплексы, включающие препараты различных фармакологических групп: купренил, ферменкол, кело-кот, контрактубекс, а также физиотерапия и другие методы [123, 130,169].

Восстановление анатомических взаимоотношений в области раны достигается наложением швов – раннего вторичного и позднего вторичного; последние выполняются после полного очищения раны от гноя и некротических тканей, при отсутствии выраженных воспалительных изменений в околораневой зоне и при условии возможности сопоставления

краев раны без натяжения. При использовании методов активного воздействия на рану, таких как вакуум-терапия, лазерное воздействие, ультразвуковая обработка, можно значительно ускорить процессы заживления раны [29, 87, 101, 188, 192, 224]. Важными дополняющими компонентами общего воздействия на организм на всех этапах лечения раневого процесса являются рациональная антибактериальная терапия, методы детоксикации (инфузионная терапия, форсированный диурез, применение детоксикационных средств, плазмозаменителей, при необходимости экстракорпоральная детоксикация), иммунокоррекция, а также препараты, стимулирующие регионарное кровоснабжение, нормализующиеметаболизм, улучшающие трофику, усиливающие репарацию. Кроме того, для стимуляции заживления ран в настоящее время используются эмбриональные ткани растений: женьшеня, эхинацеи, эдельвейса, винограда и других видов [6, 8, 42, 43, 59, 60, 74, 92, 159, 215, 217, 225]. Наряду с этим в лечении ран широко применяются средства из растений. В них содержатся биологически активные вещества, оказывающие действие на всех стадиях раневого процесса – абиотические вещества, витамины, органические кислоты, аминокислоты, фенольные соединения, эфирные масла, слизи, макро- и микроэлементы, углеводы и др. [95, 145]. В настоящее время в России из 240 фармакопейных видов растений лишь 130 перерабатываются химико-фармацевтической промышленностью. Между тем, в народной и традиционной медицине применяется большое число видов растений для получения лекарственных форм [68, 90, 95, 158, 193].Обнадеживающие успехи в настоящее время достигнуты специалистами, исследующими и внедряющими опыт народной и традиционной медицины. В Сибири, особое внимание уделяется опыту тибетской медицины. Для местного населения лечение травами является исконной традицией [11, 124, 140]. В этой связи исследования биологически активных веществ растений, издавна используемых при лечении ран, является особенно актуальным.В растениях содержится комплекс

биологически активных веществ. Некоторые выполняют структурную функцию, например целлюлоза, другие вовлечены в клеточный метаболизм, например, многочисленные ферментные системы. В них также образуются органические молекулы для защиты от вирусов, бактерий, грибов, насекомых, животных и даже от других растений, которые угрожают их жизни. Большая часть этих соединений обладает выраженной активностью, поэтому растения – это богатый источник фармакологически активных веществ. К сожалению, многие потенциально перспективные виды растительного сырья для лечения ран не изучены и до конца не разработаны биотехнологические способы получения эффективных готовых форм ранозаживляющих препаратов из растений.

1.3. Краткая характеристика растительных видов сырья и групп биологически активных веществ, оказывающих ранозаживляющее действие

Ранее проведенные исследования показали, что более выраженным ранозаживляющим эффектом обладают флавоноиды, дубильные вещества и эфирные масла, содержащиеся в растениях. Менее значимым действием при заживлении ран обладают слизи, витамины и другие, биологически активные вещества. Флавоноиды – группа природных биологически активных соединений – являются гидроксипроизводными флавона (флавоноиды), 2,3-дигидрофлавона (флаваноны), изофлавона (изофлаваноиды), 4-фенилкумарина (неофлавоноиды), а также флавоны с восстановленной карбонильной группой (флаванолы). Таким образом, в основе их химического строения лежит соединение С6-С3-С6 углеродных единиц. Флавоноиды широко распространены в растительном мире. Особенно богаты флавоноидами высшие растения, относящиеся к семействам розоцветных (различные виды боярышников, черноплодная рябина), бобовых (софора японская, стальник полевой, солодка), гречишных (различные виды горцев –

перечный, почечуйный, птичий и гречиха), астровых (бессмертник песчаный, сушеница топяная, пижма), яснотковых (пустырник сердечный) и др. Это кристаллические соединения, бесцветные (изофлавоны, катехины, флавононы, флавононолы), желтые (флавоны, флавонолы, халконы и др.), а также окрашенные в красный или синий цвета (антоцианы). Они обладают оптической активностью, имеют определенную температуру плавления, способны к кислотному и ферментативному гидролизу. Диапазон фармакотерапевтического применения растительного сырья, богатого флавоноидами, очень широк. Флавоноиды мало токсичны для человека при любом способе введения. Многие флавоноиды обладают Р-витаминной активностью, уменьшают хрупкость кровеносных капилляров (рутин), усиливают действие аскорбиновой кислоты, оказывают седативное действие (боярышник, пустырник). Используются как противовоспалительное, противоязвенное (корень солодки) средство. Некоторые обладают кровоостанавливающими свойствами (водяной перец, почечуйная трава); применяются при геморрое (стальник пашенный, конский каштан); служат хорошими желчегонными средствами (бессмертник, пижма) [16, 64, 68, 88, 96, 117, 125, 134, 139, 146, 206]. Эфирные масла – летучие ароматные жидкости сложного химического состава, главными компонентами которых являются терпеноиды. Эфирными они названы из-за своей летучести. Они содержат, как правило, смесь различных органических веществ как жидких, так и кристаллических, легко растворимых. Так, в мятном масле содержится 50% и более кристаллического ментола, а в анисовом – до 80% анетола. Выделенные из растений эфирные масла представляют собой бесцветные или слегка желтоватые маслянистые жидкости со своеобразным запахом. Исключение составляют ромашковое масло, окрашенное в темно-синий цвет, масло горькой полыни – сине-зеленое. Эфирные масла содержатся у растений различных семейств: губоцветных, гвоздичных, сложноцветных, зонтичных, а также у хвойных растений. Образуются они в различных органах: цветках, плодах, листьях, корнях, стеблях. Эфирные масла даже

одного растения могут быть разными по составу в различных органах. Действие их зависит от химического состава [109, 148]. Дубильные вещества (таниды, танины) – высокомолекулярные соединения, производные многоатомных фенолов, со средней молекулярной массой, способные осаждать белки, алкалоиды и обладающие вяжущим вкусом. На воздухе эти вещества окисляются, образуя флобафены – продукты, окрашенные в бурый цвет и не обладающие дубящими свойствами. Выделенные из растений дубильные вещества представляют собой аморфные или кристаллические вещества, растворимые в воде и спирте. С солями тяжелых металлов они образуют осадки, а с солями трехвалентного железа – окрашенные соединения. Осаждают слизи, белки, клеевые вещества, алкалоиды, отчего несовместимы с ними в лекарствах. С белками они образуют нерастворимые в воде альбуминаты, на чем основано их применение в медицине (бактерицидное, противовоспалительное действие). Дубильные вещества делят на 3 группы: гидролизуемые (галлотанины); частично гидролизуемые (эллаготанины); конденсированные (катехины) [90, 117]. Витамины – это группа низкомолекулярных незаменимых факторов пищи, которые обладают выраженной биологической активностью, содержатся в пище в незначительных количествах, некоторые не могут синтезироваться в организме человека. Роль витаминов заключается в обеспечении ряда каталитических реакций, в процессе которых многие из них участвуют в образовании составных частей ферментов (коферментов). Число известных витаминов, имеющих непосредственное значение для питания и здоровья, достигает двадцати. Все они имеют большое значение в регуляции обмена веществ и обеспечении физиологических функций. Недостаточное содержание витаминов в пище, а также нарушение их усвоения организмом приводит к развитию тяжелых нарушений обмена веществ. Состояние, возникающее в результате дефицита того или иного витамина в организме, называют гиповитаминозом. Вреден и избыточный прием ряда витаминов, так как ведет к нарушениям обменных функций, известных под названием

гипервитаминозов. Витамины делят на жирорастворимые – A, D, E, F, K и водорастворимые – все остальные. К группе витаминов Е относят несколько соединений – токоферолов; наиболее активным является альфа-токоферол. Эти вещества играют важную роль в обмене белков, синтезе нуклеиновых кислот и стероидов, способствуют накоплению в организме витамина А, защищая его от окисления. Токоферолы являются эффективными внутриклеточными антиоксидантами, регулируют клеточную проницаемость. Они содержатся в растительных маслах, например, подсолнечном, льняном, арахисовом, соевом, кунжутном и др. Значительное количество витамина Е содержится в облепиховом масле, плодах морошки, аронии черноплодной, шиповника и др. Витамины группы К являются производными нафтохинона. Витамин К (филлохинон) образуется в хлорофилловых зернах растений. Много его в листьях крапивы, траве люцерны, хвое сосны и ели, листьях конского каштана, моркови и петрушки, ягодах клюквы, черной смородины и голубики. Он содержится и в продуктах животного происхождения. Производные нафтохинона способны регулировать процесс свертывания крови (при недостатке возникают кровотечения), содействуют процессу регенерации (восстановления) эпителия сосудистой стенки, ускоряя, таким образом, заживление ран. Витамин С – водорастворимый. Его свойствами обладает левовращающая аскорбиновая кислота и продукт ее обратимого окисления – дегидроаскорбиновая кислота. Эти формы легко переходят одна в другую. В организме человека витамин С не образуется и поступает в готовом виде с пищей или лекарственными формами. Он имеет многостороннее действие. Витамин А имеется только в продуктах животного происхождения. В растениях содержатся каротиноиды, являющиеся провитаминами витамина А. Они превращаются в витамин А в печени и стенках кишечника. Этот процесс происходит при наличии в пище жира, а также желчи и некоторых ферментов в кишечнике [52, 57, 76, 96]. Слизи – смесь гетеро- и гомополисахаридов, образующие вязкие коллоидные растворы. Образуются в результате нормального слизистого перерождения

клеточных стенок или клеточного содержимого. Ослизняться могут как отдельные клетки, так и целые слои. По химическому строению делятся на 2 группы – нейтральные слизи – продукты полимеризации моносахаридов и кислые слизи – их кислотность обусловлена наличием в их составе уроновых кислот, имеющих в своем составе свободные незамещённые карбоксильные группы. Они наиболее часто встречаются среди семейств растений: льновые, мальвовые, подорожниковые, бобовые, липовые. Слизи в основном играют роль запасных веществ. Выделенные в чистом виде представляют собой белые или с сероватым оттенком аморфные вещества без запаха, со слизистым, иногда сладковатым вкусом, хорошо растворимы в воде, оптически активны, осаждаются ацетоном, спиртом 50%, гидролизуются кислотами или ферментами с образованием моносахаридов. Применяются как отхаркивающие, ранозаживляющие, обволакивающие средства [74, 96, 117].

Перечень потенциально перспективных видов растений для создания ранозаживляющих препаратов: череда трехраздельная (*Bidens tripartita L.*); шиповник майский (*Rosa cinnamonea L.*); чистотел большой (*Chelidoniummajus L.*); щитовник пахучий (*Dryopteris fragrans (L.) Schott*); льнянка бурятская (*Linaria buriatica Turcz. ex Ledeb.*); полынь скалистая (*Artemisia rupestris L.*); ирис молочнобелый (*Iris lactea Pall.*); бадан толстолистный (*Bergenia crassifolia (L.) Fritsch.*); ревень тангутский (*Rheum palmatum L. var tanguticum Maxim.*); шалфей лекарственный (*Salvia officinalis L.*); какалия копьевидная (*Cacalia hastata L.*) и др. [139, 157]. Указанные и другие виды растительного сырья содержат комплекс биологически активных веществ. Готовые галеновые лекарственные формы из них представляют определеннные трудности в стандартизации и не стойки при хранении. К сожалению, использование их при раневых повреждениях кожи в виде порошков, соков, сгущенных экстрактов, отваров и других форм не удобны в применении, представляют определнные трудности для больных. Интересно, что в ряде исследований показано, что вещества в малых дозах

более эффективны, имеют значительно меньшую токсичность, не кумулируются [20, 22, 89, 91, 160, 221]. Биологически активные вещества растений в меньших размерах в силу высокой поверхностной активности и проникающей способности могут активно воздействовать на обмен веществ в клетках, стимулируя регенерацию тканей [20, 22, 58, 137, 138].

Одним из растений, применяюшихся в традиционной тибетской медицине, является «спэн-ма» – пятилистник кустарниковый. Это растение широко используется в народной и традиционной медицине многих стран Евразии. «Вайдурья-онбо» рекомендует использовать «спэн-ма» как мочегонное средство, а золу растения – при лихорадке [11, 95, 139, 157]. По этому тибетскому руководству, побеги пятилистника кустарникового используются при болезнях желудка, легких, зола надземной части лечит жар грудной железы и водянку. В многокомпонентных прописях пятилистник входит в препараты для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, туберкулеза легких, а ветви – в терапии крупозной пневмонии и используются как отхаркивающее. В Забайкалье и на Камчатке отвар из пятилистника применяется при диарее, листья и венчики как питье, наряду с малиной и кипреем [96]. В Бурятии, по настоящее время пятилистник кустарниковый находит применение как желчегонное и потогонное средство [90, 94]. На Кавказе издавна практикуется лечение им цинги и диареи. На Дальнем Востоке препараты из надземной части растения используют в качестве вяжущего средства при стоматитах, энтеритах и колитах, а также как ранозаживляющее – при ожогах, препараты из корней – при гинекологической патологии. Аналогичные показания для препаратов пятилистника кустарникового определены и в Монголии, где это растение известно как «Сугун-Боролзгоно» [140]. Настои из листьев и его цветков используются как вяжущее в гастроэнтерологии, особенно при колитах, а также в терапии нервных болезней, «густой» отвар – при ожогах. Имеется определенный опыт использования готовых форм пятилистника и в клинической практике. По наблюдениям педиатров, отвар из указанного

сырья является хорошим средством для лечения дисбиоза кишечника, не вызывая при этом нарушений моторики кишечника, нормализует обмен веществ, обладает мочегонным действием, купирует явления дизурии при цистите и эффективен при лечении ночного энуреза. Необходимо отметить, что препарат также используется в качестве седативного средства. Несомненная эффективность и доступность данного лекарственного сырья явились определяющими факторами широкого использования пятилистника кустарникового во многих странах [96, 139].

Пятилистник кустарниковый, курильский чай кустарниковый, или лапчатка кустарниковая (лат.*Pentaphylloides fruticosa* (L) O.Scwarz) – кустарник из семейства *Rosaceae*. Это голарктический вид (т.е. произрастает во всей внетропической части Северного полушария и Северной Америки), имеет обширный ареал. Основная (азиатская) часть ареала охватывает всю Восточную Сибирь и Дальний Восток, Алтае-Саянскую горную область, горы Средней Азии, Монголию, Китай и Японию. Остальные фрагменты ареала значительно меньше по площади и удалены от его азиатской части: в Северной Америке, в Европе, на Кавказе. Практически во всех точках своего ареала данный вид тяготеет к горным местообитаниям, реже к сырым, временно затопляемым местам (Северной и Приатлантической Европе). Типичный мезофит, холодоустойчив и способен произрастать в условиях вечной мерзлоты. Растет в лесах, на лугах, в поймах рек и речек, вдоль ручьев, на галечнике, каменных россыпях и в высокогорных тундрах. Светолюбив. В горы «поднимается» почти до предела распространения растительности. Всюду предпочитает хорошо дренированные, влажные почвы. В горных районах Восточной Сибири цветет с конца июня и почти до конца вегетационного периода. Одновременно с цветением идет постепенное созревание семян. Первые семена высыпаются в конце августа, значительная часть семян в высокогорных районах вызреть не успевает. Прямостоячий, листопадный, иногда простертый кустарник 10-150 см высотой, с ветвями, покрытыми красновато-коричневой или буровато-серой отслаивающейся

корой, молодые ветки шелковисто-волосистые. Листья перистосложные с 2 (редко с 3) парами листочков, самые верхние – иногда тройчатые. Листочки продолговатые или продолговато-яйцевидные, 5-30 мм длиной, 1-10 мм шириной, с обеих сторон обычно прижато-волосистые, редко почти голые. Цветки одиночные или в числе 2-7 на верхушках ветвей. Образуются на побегах текущего года. В каждом цветке до 30 тычинок, что делает серединку цветка пушистой. Для пятилистника кустарникового характерна однократность распускания цветков разных половых типов. Продолжительность цветения отдельного цветка колеблется от 6 часов до 2 дней и зависит от температуры и влажности воздуха. Плоды – сборные семянки, после созревания покрывают куст коричневыми, с тонкими волосками «пуговками». Семянки очень мелкие с отогнутой верхушкой, реже встречается семянка слегка серповидно изогнутой формы, длиной 1,5–2 мм и шириной 0,7–1 мм [96, 145].

Ранее фармакологические свойства извлечений пятилистника кустарникового были исследованы сотрудниками Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ). Так, полученный экстракт сухой из пятилистника кустарниковго оказывает влияние на течение экспериментального сахарного диабета у животных, что проявлялось меньшей степенью поражения островков Лангерганса в поджелудочной железе, более быстрым снижением уровня глюкозы в крови и большей устойчивостью к токсическому действию аллоксана. Было отмечено, что спиртовые извлечения курильского чая более эффективны, чем отвар. Были определены противовоспалительное и радиозащитное свойства сухих стандартизированных экстрактов. Установлено, что экстракт из пятилистника кустарникового оказывает выраженное противовоспалительное действие, а при дозе облучения 7 Гр на 32,4% увеличивает среднюю продолжительность жизни животных и повышает их выживаемость в 2,7 раза [96]. В экспериментах Г.М. Федосеевой с сотрудниками (1998) были изучены антимикробная активность препаратов различных видов лапчаток, в том числе кустарниковой. Настойка и экстракты из лапчатки кустарниковой

несколько уступают препаратам из лапчатки пижмолистной в бактерицидном действии, однако все они проявляют антимикробную активность. Для экстракта из лапчатки кустарниковой установлена более выраженная антимикробная активность, по сравнению с настойкой. При хранении препаратов отмечалось снижение фармакологической активности. При изучении фибринолитической и тромбопластической активности экстракта из побегов пятилистника кустарникового установлены высокая активность по обоим параметрам. При изучении влияния препаратов пятилистника кустарникового на иммунитет наблюдалось значительное изменение ряда показателей – повышался средний показатель фагоцитарного числа лейкоцитов, а также возрастал уровень образования антител [96, 145].

Таким образом, пятилистник кустарниковый обладает несомненным высоким лечебным потенциалом, имеет особенности проявления лечебного эффекта в зависимости от используемых лекарственных форм. Препараты, используемые в виде настоек и отвара, не имеют постоянного состава и не стойки при хранении, трудно дозируются, а спиртовые формы (настойка, экстракты и др.) не во всех случаях показаны. С учетом изложенных предпосылок целесообразным представляется создание мягкой формы из пятилистника кустарникового и определение его ранозаживляющей активности. Указанные свойства экстракта, особенно, установленные противоальтеративные и регенерирующие предопределили целесообразность создания и изучения мягкой формы с равномерным распредлением в ней высокодисперсных частиц действующих веществ. Учитывая значимость «фармацевтического фактора» для повышения качества ранозаживления, мы предположили о перспективности мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученной с использованием высокоэффективного гомогенизатора NanoDeBee 30, для лечения раневых поражений кожи в условиях эксперимента, включая влияние на заживление ран при экспериментальном сахарном диабете.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Фармакологические исследования проведены в лаборатории экспериментальной фармакологии Отдела биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН. В работе использовано 317 половозрелых белых крыс-самцов линии Wistar с исходной массой 200-210 г. Крыс получали из питомника РАМН «Столбовая» (г. Москва). Животные содержались в виварии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН на стандартном пищевом рационе (полноценный комбикорм ПК-120, ГОСТ Р 50258-92) со свободным доступом к корму и воде. Фармакологические исследования проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу МЗ СССР №755 от 12.08.77), «Правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных» и Приказа МЗ РФ за №708н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики». Содержание и дизайн исследований согласованы этическим комитетом Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (протокол №27 от 10.10.2013 г.).

2.1. Характеристика объектов исследований

1. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, полученная фармакопейным способом (по индивидуальному рецепту), представляет эмульсионно-суспензионную смесь с экстрактом из побегов пятилистника кустарникового, ланолином и вазелином с использованием аптечного оборудования; в предварительных опытах использовались 1%,3%,5%,7% и 10% мази с экстрактом сухим[1].

[1]Мази получены в лаборатории химико-фармацевтических исследований Отдела биологически активных веществ ИОЭБ СО РАН д. фарм. наук, ст.н.с. Николаевой И.Г., за что автор выражает благодарность.

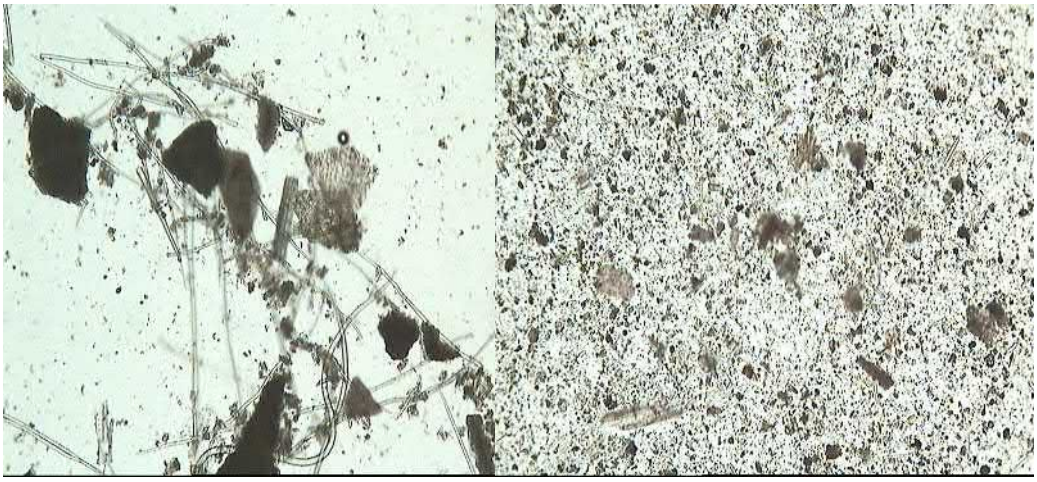
2. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, полученнаяс использованием высокоэффективного гомогенизатора NanoDeBee30 (США), обеспечивающего получение микрочастиц экстрактивных веществ в размерах 10-30 мкм[2].

3. Мазевая основа без содержания экстракта пятилистника кустарникового, состоящая из водно-спирто-глицериновой смеси на вазелин-ланолиновой основе[2].

4. В качестве референтного средства при изучении ранозаживляющего действия 5% мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученной с использованием гомогенизатора, у белых крыс с сахарным диабетом служил линимент бальзамический (по Вишневскому).

На рисунке 1.1 приведены микрофотографии мазей с экстрактом пятилистника кустарникового, полученными фармакопейным способом (а) и с применением высокоэффективного гомогенизатора NanoDeBee 30 (б). Мазь с экстрактом приготовленным фармакопейным способом, характеризуется неоднородностью частиц размерами 50-100 мкм и имеет нестабильную текстуру, а мазь, с экстрактом, полученным на высокоэффективном гомогенизаторе, отчается высокой дисперсностью микрочастиц экстракта с размерами 10-30 мкм, равномерным распределением в среде, имеет стабильную структуру, что потенциально может увеличить биодоступность действующих веществ.

[2]Мази получены в лаборатории химико-фармацевтических исследований Отдела биологически активных веществ ИОЭБ СО РАН д. фарм. наук, ст.н.с. Николаевой И.Г., за что автор выражает благодарность.



а б

Рисунок 1.1 – Микрофотографии 5% мазей с экстрактами пятилистника кустарникового, полученными фармакопейным способом (а) и с использованием гомогенизатора (б) . 10х40.

В использованных мазях был использован экстракт сухой из побегов пятилистника кустарникового, полученный по технологии, приведенной в Патенте РФ за №2109517. В полученном экстракте содержатся флавоноиды – 11,70%, дубильные вещества – 39,53%, катехины – 3,75%, галловая кислота – 2,10% и в сумме фенольные вещества в полученном экстракте составляют 57,08%. Из микроэлементов в экстракте наличествуют железо, кремний, кальций, марганец, магний, цинк, медь и другие элементы. Экстракт богат также полисахаридами, аминокислотами, витаминами, органическими кислотами и другими природными веществами. Наличие их потенциально предполагает активное ранозаживляющее его действие.

2.2. Способы воспроизведения раневых повреждений кожи

Линейную рану у крыс воспроизводили нанесением под легким эфирным наркозом повреждения покровных тканей в области спины после предварительной подготовки кожного покрова длиной 5 см до собственной фасции; раны ушивались 3 узловыми швами (викрил 3/0) до сопоставления краев [53]; плоскостное кожно-фасциальное раневое повреждение у крыс

осуществляли, после предварительной подготовки кожного покрова, путем нанесения под легким эфирным наркозом плоскостных дефектов покровных тканей на спине размерами 2,0 х 2,0 см (площадью 400мм^2) [108].

Экспериментальный сахарный диабет воспроизводили у крыс однократным внутрибрюшинным введением аллоксана моногидрата (Sigma-Aldrich, США) и через 2 суток в области спины, на предварительно подготовленном участке, наносили плоскостную рану размером 2,0х2,0см (400 мм^2).

На раневую поверхность крыс наносили мази с экстрактом пятилистника кустарникового в дозе 100мг (экспериментально-терапевтическая доза), в течении 14 дней, референтной группе животных – линимент бальзамический в эквиобъемном количестве и аналогичном режиме, а контрольной – мазевую основу ежедневно в течении 14 суток.

2.3. Описание методов оценки фармакотерапевтического эффекта исследуемых средств

Для оценки ранозаживляющего действия прочность формирующихся у животных рубцов при линейных ранах определяли на 7 сутки тензиометрическим методом. При измерении данного показателя использовали прибор для оценки модуля эластичности резины ВН-5307. Принцип метода заключается в том, что иссекался участок кожи, несущий свежий рубец шириной 1 см и длиной 3 см (кожу забирали на протяжении 1,5 см от линии рубца с каждой стороны); один конец кожи фиксировали в верхней точке, а к нижнему концу – приспособление для гирь, массу которых постепенно увеличивали до получения разрыва рубца [139].

Для исследования состояния ран изучали срезы тканей из зоны ран [55]. Полученный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Срезы толщиной 5-7 мкм готовили на санном микротоме с последующей окраской гематоксилином и эозином. Для выявления

коллагеновых волокон срезы окрашивали по Ван-Гизон. Гистологические препараты изучали и производили микрофотографирование исследуемых объектов с помощью микроскопа Axiostar*plus* (C.Zeiss) со встроенной видеокамерой MicroCam 5M в 10 полях зрения. Обращали внимание на строение эпителия, сосочкового слоя, дермы, характер формирования сосудов и производных элементов кожи. Количество клеточных элементов в рубцующейся ткани подсчитывали, используя окулярную сетку.

Ранозаживляющее действие указанных средств при плоскостных ранах при ежедневном нанесении в дозе 100 мг в течение 14 дней определяли планиметрическим методом по скорости контракции раневого дефекта на 7, 14 и 21 сутки эксперимента.На рану накладывали прозрачную рентгеновскую пленку, на которой маркером фиксировали контур дефекта. Площадь контура в квадратных миллиметрах измеряли путем наложения на миллиметровую бумагу [110]. Скорость контракции раны вычисляли по формуле: V=(Sn-S)/Sox100%, где Sn-площадь раны при предыдущих измерениях в мм^2; S-площадь раны при соответствующих сроках (7, 14, 21 сутки) в мм^2; So-исходная площадь раны в мм^2; V-скорость контракции раны в %[108]. Исследования образцов тканей из зоны раневого дефекта при плоскостных ранах проводили по рекомендации Коржевского с соавт. [55].

В гомогенате биоптатов (грануляционно-фиброзной ткани) определяли содержание нуклеиновых кислот по Шмидту и Тангаузеру в модификации М.Р. Трудолюбовой[3][139].

Наряду с этими исследованиями, проводили оценку состояния свободнорадикальных процессов по концентрации ТБК-активных продуктов в сыворотке крови животных, антиоксидантного потенциала организма – по активности каталазы и содержаниювосстановленного глутатиона в сыворотке крови крыс на 7, 14, 21 сутки эксперимента [10, 24, 44, 47, 48, 56 162]. Для подтверждения развития сахарного диабета у белых крыс при введении

[3] Исследования проведены при консультации д.б.н., проф. Хибхенова Л.В., за что автор выражает благодарность.

аллоксана определяли содержание глюкозы в крови [15, 47], а также патоморфологическое исследование поджелудочной железы у крыс.

Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием программы Microsoft Office Excel, с определением средней величины M, ошибки средней m; значимость различий между данными сравниваемыхгрупп оценивали с помощью t-критерия Стъюдента [27, 115, 122].

В предварительных опытах изучали влияние мази с 1%, 3%, 5%, 7% и 10% содержанием экстракта пятилистника кустарникового, полученных фармакопейным способом и с использованием высокоэффективного гомогенизатора NanoDeBee 30, на течение линейной раны у белых крыс. При этом было установлено, что наиболее выраженный ранозаживляющий эффект по данным тензиометрии наблюдается при использовании мази с 5%, 7% и 10% содержанием экстракта пятилистника кустарникового, что согласуется с данными O.A. Sammour с соавт. (2011) о том, что наиболее эффективными являются лекарственные формы с содержанием действующих веществ от 5% – 10% [216].

На основании этих данных последующие эксперименты были проведены с 5% мазью, полученной фармакопейным способом, и с 5% мазью, полученной с использованием высокоэффективного гомогенизатора, в эксперементально-терапевтической дозе 100 мл. В контроле в аналогичном режиме и эквиобъемном количестве применяли мазевую основу; в экспериментах на крысах с сахарным диабетом в качестве референтного препарата использовали линимент бальзамический (по Вишневскому) в дозе 100 мг по аналогичной схеме. Перед применением их проводили туалет раневых дефектов.

ГЛАВА3. ВЛИЯНИЕ МАЗЕЙ С ЭКСТРАКТОМ ПЯТИЛИСТНИКА КУСТАРНИКОВОГО НА ЗАЖИВЛЕНИЕ КОЖНЫХ ЛИНЕЙНЫХ РАН У БЕЛЫХ КРЫС

Первая серия эксперимента с использованием мазей с экстрактом пятилистника кустарникового позволила оценить морфологическую картину заживления ран и особенности формирования рубцовой ткани. Для оценки последней использован метод тензиометрии. При изучении ранозаживляющего действия мази с экстрактом пятилистника кустарникового животные были разделены на 3 группы: в первой группе крыс (опытная 1), которым применяли мазь с экстрактом, полученную с использованием высокоэффективного гомогенизатора NanoDeBee 30; во второй группе крыс (опытная 2) использовали мазь с экстрактом, полученную фармакопейным способом; в третьей группе животных (контрольной) на рану наносили мазевую основу.

Данные тензиометрии (Таблица 3.1), полученные при измерении прочности рубца на разрыв на 7 сутки опыта, указывают на значимую разницу в показателях прочности рубца. Наибольшая прочность рубца зафиксирована при использовании мази,изготовленной на аппарате NanoDeBee30, и достигала 93% относительно показателей, зарегистрированных у животных контрольной группы.

Таблица 3.1 – Влияние мазей с экстрактом пятилистника кустарникового на заживление линейной раны у белых крыс по данным тензиометрии (7 сутки)

Группы животных	Прочность рубца, кг
Контрольная (n=8)	0,410±0,030
Опытная 1 (n=8)	0,792±0,090*
Опытная 2 (n=9)	0,637±0,010*

Примечание: * - здесь и далее означает, что различия по сравнению с контролем значимы при $p \leq 0,05$, n - количество животных.

Значительно прочным был рубец, сформировавшийся при использовании мази, изготовленной по фармакопейной технологии – 0,637±0,01, что составляет 35% от показателей контрольной группы ($p<0,05$).

Таким образом, биомеханические характеристики рубцовой ткани у крыс, при раневых повреждениях которых применяли мази с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленной на аппарате NanoDeBee30 и фармакопейным способом превосходят таковые у контрольной группы.

Гистологическая картина дефектов (Рисунок 3.1) у животных первой опытной группы характеризуется на 7 сутки эксперимента наличием значительного количества сосудистых петель (а), направленных перпендикулярно к поверхности раны. Содержание клеточных элементов, особенно нейтрофильных лейкоцитов снижено, обнаружено небольшое количествомакрофагов, гистиоцитов (б), а также видны уже зрелые фибробласты (в).Коллагеновые волокна направлены параллельно (г).

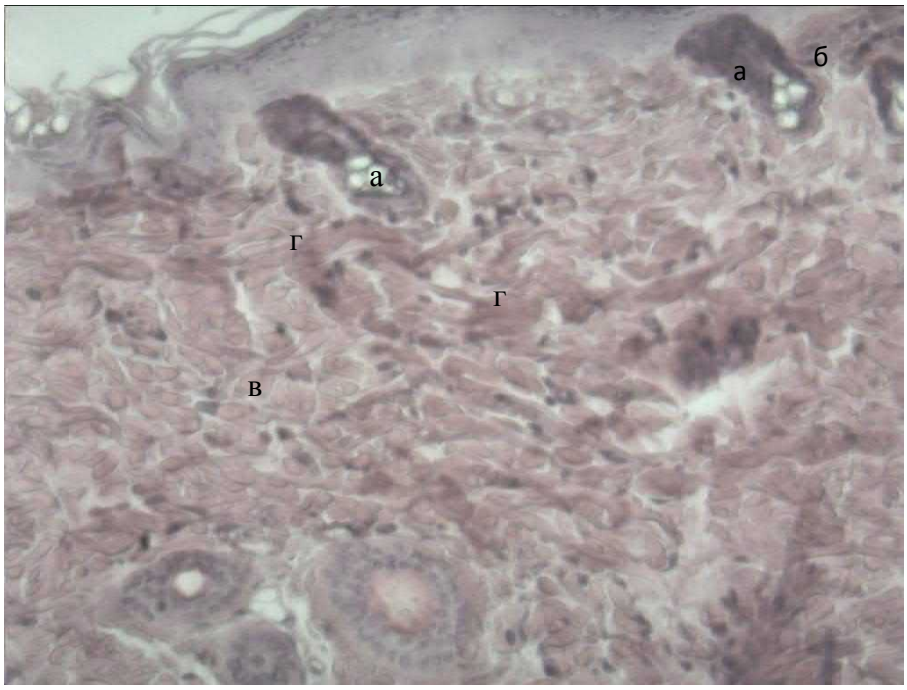


Рисунок 3.1 – Гистологическая картина заживления линейной раны на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленной на аппарате NanoDeBee 30. 7 сутки опыта. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

На краю раневой поверхности определяется эпителий с дифференцированными слоями. При окраске по Ван-Гизон располагающиеся между клеточными элементами коллагеновые волокна (а) имеют красноватый цвет, что свидетельствует об их относительной зрелости, пучки сформированы в тяжи, параллельные поверхности раны (Рисунок 3.2).

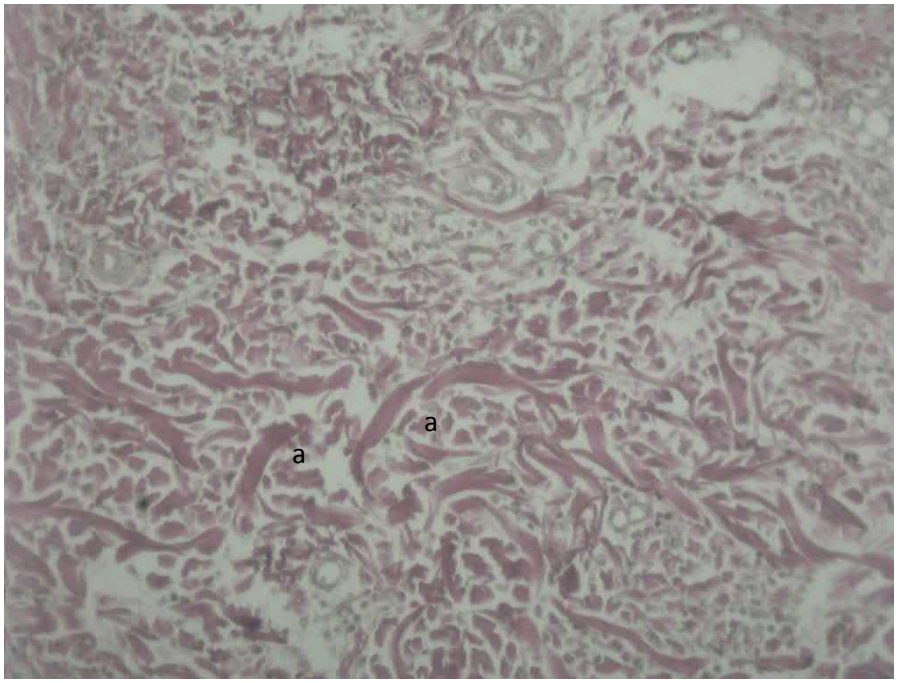


Рисунок 3.2 – Гистологическая картина заживления линейной раны на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленной на аппарате NanoDeBee 30. 7 сутки опыта. Окраска по Ван-Гизон. 10х20

У животных второй опытной группы в зоне повреждения обнаруживали соединительную ткань с новообразованными капиллярами обычного типа (а) и созревающую грануляционную ткань с коллагеновыми волокнами (б) в соотношении 1:3. В последней отмечали пролиферацию фибробластов на фоне формирования коллагеновых волокон. В грануляциях сохранялись небольшие рыхлые лейкоцитарные инфильтраты. В краевых отделах раны находили мелкие островки малодифференцированных эпителиальных клеток (Рисунок 3.3).

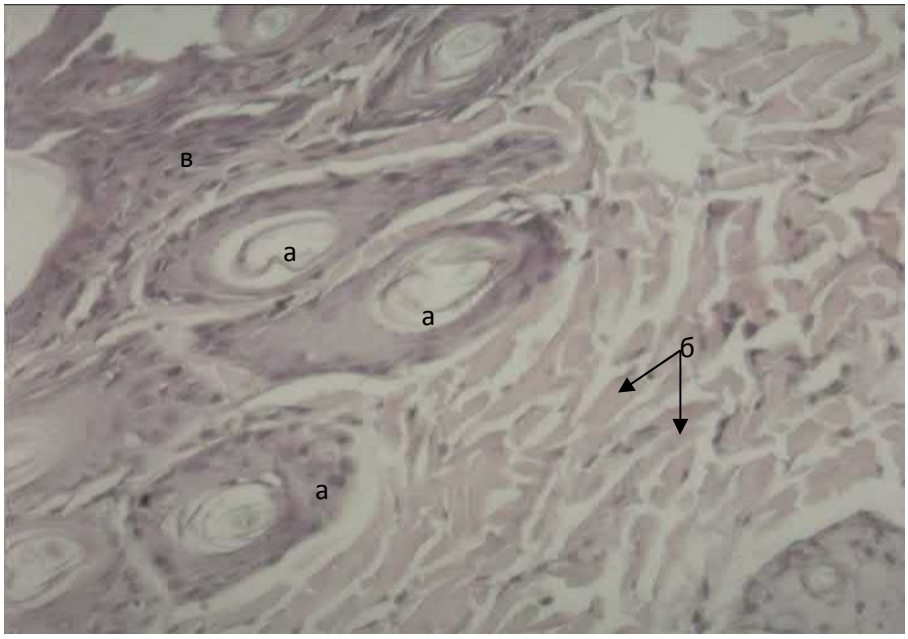


Рисунок 3.3 – Гистологическая картина заживления линейной раны на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленной по фармакопейной технологии. 7 сутки опыта. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

При окраске срезов по Ван-Гизон (Рисунок 3.4) морфологическая картина характеризуется наличием незрелых тонких пучков коллагеновых волокон (а) с хаотичной ориентацией.

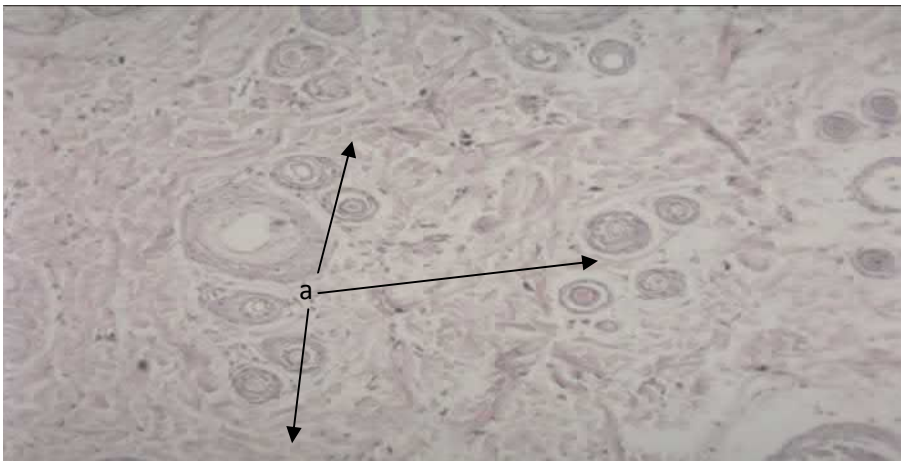


Рисунок 3.4 – Гистологическая картина заживления линейной раны на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленной по фармакопейной технологии. 7 сутки опыта. Окраска по Ван-Гизону. 10х20

У животных третьей группы (контрольная) (Рисунок 3.5) наблюдали наличие формирующихся единичных капилляров без форменных элементов крови (а), определяется неравномерная и скудная пролиферация гистиогенных элементов (б).

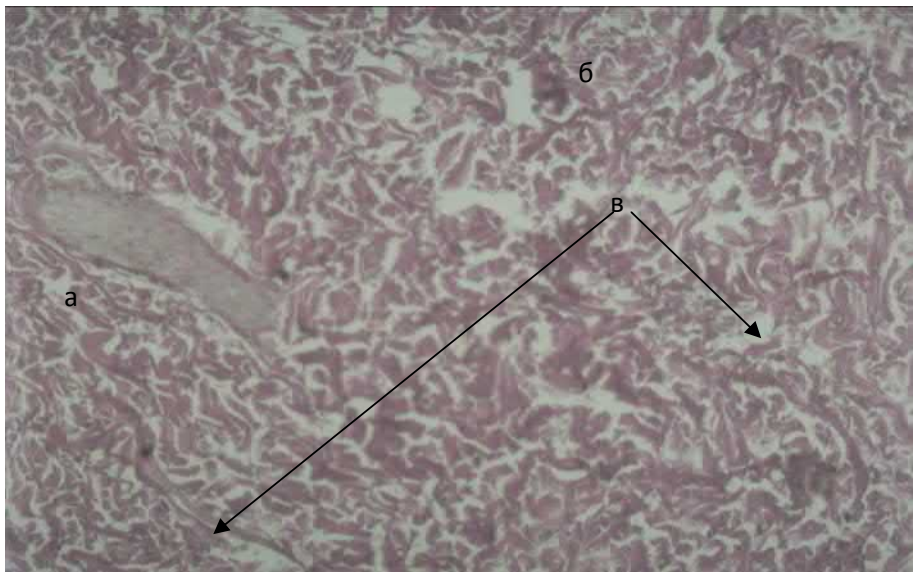


Рисунок 3.5 – Гистологическая картина заживления линейной раны на фоне глицерин-вазелиновой основы мази (контроль). 7 сутки опыта. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Таким образом, морфологическая картина ранозаживления при использовании мазей пятилистника кустарникового, изготовленных на аппарате NanoDeBee30 и по фармакопейной технологии соотносится с результатами тензометрии сформированных рубцов. Поскольку биомеханическая стабильность рубцовой ткани на любом этапе его созревания зависит от состояния коллагеновых волокон, межколлагеновых связей и их структурной организации [1, 9, 19, 65, 98, 118, 139]. В данном эксперементе очевидна структурно-функциональная параллель, подтверждаемая тензиометрией при измерении прочности рубца. Более выраженная степень зрелости коллагеновых волокон, правильного характера их ориентации в грануляционной ткани и значительное количество клеток фибробластического ряда наблюдали у животных, получавших мазь

пятилистника кустарникового, изготовленной на аппарате NanoDeBee30. У крыс второй опытной группы при применении мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученной по фармакопейному способу, наблюдали аналогичную картину, но в менее выраженной активности регенераторных процессов. Использование их превосходит контроль и демонстрирует более прочные рубцы, а морфологическая картина свидетельствует об ускорении темпов созревания коллагеновых волокон и сроков заживления раны. В контрольной группе животных наблюдаются явления активации ангиогенеза, начала пролиферации гистогенных элементов, сохраняется выраженная инфильтрация и меньшее количество коллагеновых и эластических волокон по сравнению с данными в опытных (первая, вторая) группах.

Таким образом, морфологическая картина регенерации раны при использовании мазей с экстрактом пятилистника кустарникового, полученных с использованием высокоэффективного гомогенизатора и фармакопическим способом, свидетельствует о стимулирующем действии их на заживление раны. Мазь полученная на аппарате NanoDeBee 30 проявляет некоторое преимущество в ускорении репаративной регенерации.

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ МАЗЕЙ С ЭКСТРАКТОМ ПЯТИЛИСТНИКА КУСТАРНИКОВОГО НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ПЛОСКОСТНОЙ РАНЫ У БЕЛЫХ КРЫС

Во второй серии экспериментов изучали влияние 5% мазей с экстрактами пятилистника кустарникового, полученных с использованием высокоэффективного гомогенизатора и фармакопейным способом, на заживление плоскостных ран у белых крыс. На 7, 14 и 21 сутки опыта у животных методом планиметрии определяли площади ран в мм^2. Крысам первой опытной группы применяли мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, полученной с использованием гомогенизатора NanoDeBee30. Животным второй опытной группы наносили мазь с экстрактом, полученную фармакопейным способом, а в третьей (контрольной) группе животных использовали мазевую основу. Результаты планиметрии раневого дефекта приведены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Влияние мазей с экстрактом пятилистника кустарникового на величину площади плоскостной раны (мм^2)у белых крыс

Сроки	Группы животных		
	Контрольная группа	Опытная группа 1	Опытная группа 2
7	329,0±2,83 (n=8)	245,0±2,30* (n=8)	287,0±2,80* (n=8)
14	187,0±1,40 (n=8)	95,8±1,20* (n=8)	171,0±2,05 (n=8)
21	145,0±3,80 (n=8)	50,0±1,71* (n=8)	95,0±1,97* (n=8)

Примечание: *– здесь и далее означает, что различия по сравнению с контролем значимы при $p \leq 0.05$, n – количество животных.

Данные, приведенные в указанной таблице показывают, что на фоне использованния мягких форм с экстрактом пятилистника кустарникового значительно сокращаются площади ран. Причем, скорость контракции ран в первой и второй группах животных была значимо выше, особенно, с 14 суток эксперимента, что характеризует процессы активной репаративной регенерации под действием мягких форм с экстрактом пятилистника кустарникового.

Представленные результаты отражают течение раневого процесса в зависимости от использованного средства: заметна разница в темпах сокращения раневого дефекта, самый высокий в первой опытной группе животных, наиболее медленный в контрольной группе и промежуточный у крыс, получавших мазью экстракта пятилистника кустарникового, изготовленного по фармакопейной технологии. Динамика изменения площади раны соответствует стадийности раневого процесса, а ускоренное заживление раны наблюдается у животных получавших мазь, изготовленную на аппарате NanoDeBee 30.

В первой опытной группе крыс, скорость контракции ран была значимо выше, чем у животных второй опытной группы, а также по сравнению с данными в контрольной группе. Причем, в последней сохранялись значительные площади «остаточной» раны на 21 сутки эксперимента (Таблица 4.2). При исследовании образцов тканей из раневой зоны в первой

Таблица 4.2 – Влияние мазей с экстрактом пятилистника кустарникового на скорость контракции раны

Сроки	Группы животных		
	Контроль	Опытная группа 1	Опытная группа 2
7сутки	18,70%	38,75%	28,25%
14сутки	24,50%	36,55%	36,50%
21сутки	10,50%	16,50%	12,20%

Опытной группе животных на 7 сутки опыта наблюдали: в пограничной зоне, в непосредственной близости от раны были видны многочисленные капилляры, которые в зависимости от плоскости сечения имели округлую, овальную или вытянутую форму (Рисунок 4.1). Характерным было увеличенное количество вновь образованных капилляров по направлению к поверхности раны. Каждая сосудистая петля (а) муфтообразно была окружена большим количеством юных соединительнотканных клеток (б), представляющих собой круглые клетки с круглым интенсивно окрашенным ядром и незначительной массой цитоплазмы. Отмечается небольшое количество лейкоцитов(г),заметны были фибробласты (д), напоминающие плоский эпителий,с крупным округлым ядром, занимали значительную массу цитоплазмы. Среди остальных клеточных элементов наличествуют единичные тучные клетки(в) и лимфоциты. Отчетливо видна активная эпителизация раны, происходящая путем нарастания эпителия на раневую поверхность с краев раны. Следует отметить, что митозы эпителиальных клеток в области краев ран еще малочисленны, их значительно больше в стороне от краев раневого дефекта. Эпителиальный пласт, покрывающий дефект кожи, состоит уже из пяти – шести слоев клеток, волоконца имеют менее плотную структуру, чем на неповрежденном участке, сосочки эпидермиса крупнее, чем в зоне без повреждений, неправильной формы, по контурам сосочкового слоя расположены базальные клетки. Необходимо указать, на четкость стратификации эпидермиса у крыс первой группы, она была выражена значительнее, чем в контрольной группе. Дерма состояла из активно формирующих коллагеновых волокон и аморфного вещества, что свидетельствует об активной фазе регенерации. Микроскопически определяется четкое отграничение дермы от эпидермиса базальной мембраной, в ней отчетливо заметны кровеносные сосуды (Рисунок 4.1).

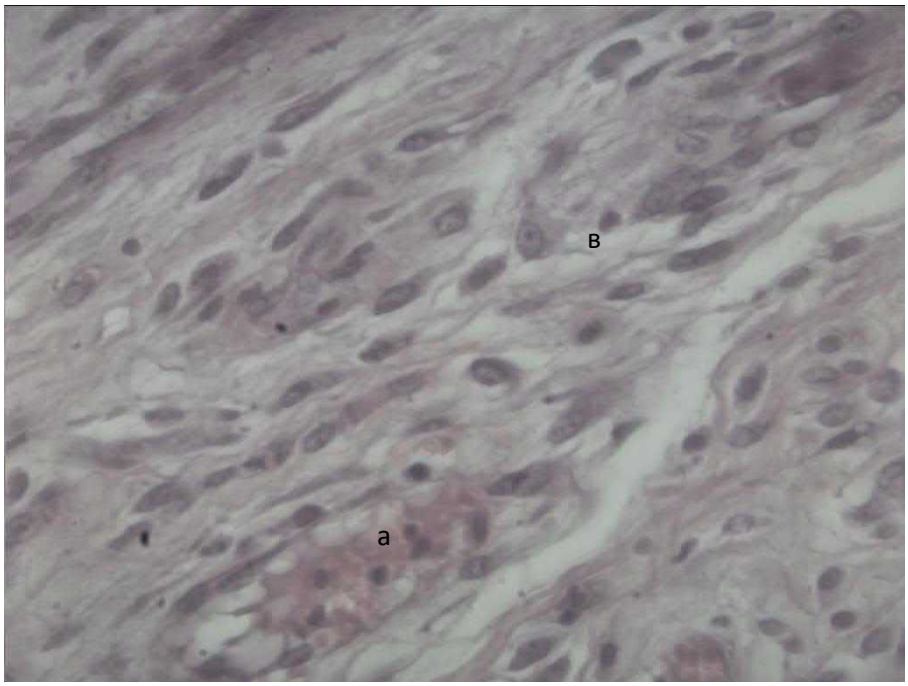


Рисунок 4.1 – Гистологическая картина заживления раны, 7 сутки эксперимента. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, произведенная на аппарате NanoDeBee30. Окраска гематоксилином и эозином. 10х40

Заживление ран у животных второй опытной группы, также характеризовалось формированием в пограничной зоне грануляционной ткани за счет активного капиллярогенеза. В грануляциях была заметна полиморфноклеточная инфильтрация, наблюдалась усиленная пролиферация гистиоцитов (а) и скопление лейкоцитов (б) вокруг капиллярных петель (в) (Рисунок 4.2). Количество сосудистых петель, а также дифференцированных фибробластов (г) было сопоставимо с данными животных первой группы. Также можно отметить высокую степень эпителизации раневого дефекта. Известно, что интенсивная эпителизация раневого дефекта обусловливает ускоренную контракцию раны [109, 117, 139, 166, 179].

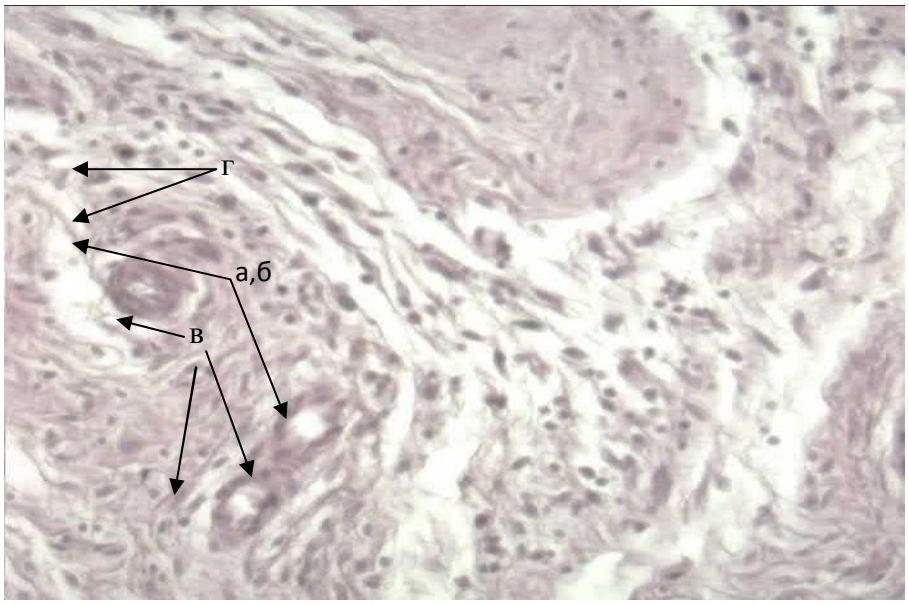


Рисунок 4.2 – Гистологическая картина заживления раны, 7 сутки эксперимента. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленная по фармакопейной технологии. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

В контрольной группе животных гистологическая картина на 7 сутки опыта характеризуется следующим образом (Рисунок 4.3): вновь образованные капиллярные петли (а) значимо не отличались от количества у животных с мазью пятилистника кустарникового, изготовленной по фармакопейной технологии; а число гистиоцитов (б) было значительно меньше, присутствовало большое количество лейкоцитов (в). Лейкоциты были в основном нейтрофильные, локализовались в скоплениях, частично были разрушенными. Фибробласты (г) выявлены лишь в единичных случаях. Причем, к 7 суткам опыта наиболее активные изменения наблюдаются у животных первой группы. Аналогичная тенденция наблюдается в группе крыс второй опытной группы. Они менее заметны были у животных контрольной группы.

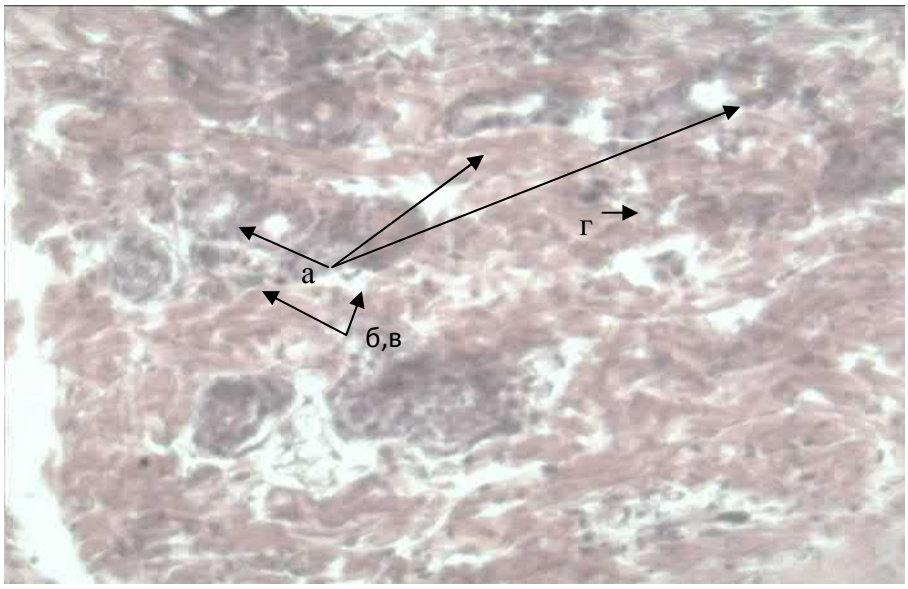


Рисунок 4.3 – Гистологическая картина заживления раны, 7 сутки эксперимента. Контрольная группа. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Анализ качественного и количественного состава элементов в зоне ран показал, что во всех группах характерна общность морфологической картины для первого этапа раневого процесса при различиях в количествах клеточных единиц (Таблица 4.3). Течение раневого процесса на первом этапе характеризуется наличием в поле зрения значительного количества полиморфноядерных лейкоцитов у животных. Значимое увеличение их определяется также в ранах животных второй группы – число лейкоцитов больше на 59%. Данные показатели свидетельствуют о весьма активном хемотаксисе лейкоцитов в зону очага воспаления и опосредованно можно судить о высоком уровне обеспечения бактерицидного эффекта лейкоцитами, что обеспечивает в плоскостной ране микробную деконтаминацию. Значительное увеличение гистиоцитов и фибробластов на 7 сутки наблюдения в указанных группах животных в сравнении с контролем позволяет констатировать стадию активной пролиферации клеток, что согласуется с данными И.О. Убашеева (1998).

Таблица 4.3 – Количественное соотношение элементов раны на фоне применения мазей с экстрактом пятилистника кустарникового у крыс на 7 сутки опыта

Показатели	Группы животных		
	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
Сосудистые петли	4,0±0,40	4,60±0,30	4,37±0,40
Гистиоциты	32,3±2,10	53,5±2,01*	41,3±1,13*
Лейкоциты, всего: в т.ч.:	30,0±2,70	49,5±1,06*	47,8±2,99*
– ПМЯ	19,6±2,13	21,1±1,31	23,5±1,67
–мононуклеарные	10,4±1,89	28,4±1,03	24,3±1,96
Фибробласты	3,8±0,30	8,75±2,10*	6,37±0,50*
Фиброциты	нет	нет	нет

В опытах с первой группой животных на 14 сутки степень зрелости грануляционной ткани значительно возрастала. (Рисунок 4.4) Характерна активная эпителизация дефекта кожного покрова, покрывающая формирующуюся рубцовую ткань сверху, слои эпителия хорошо дифференцированы. Отмечается изменение клеточного состава: количество юных соединительнотканных клеток – гистиоцитов (а) незначительно уменьшилось, а число дифференцированных фибробластов (б) – увеличилось. Фибробласты на препаратах имеют веретенообразную форму с вытянутыми ядрами, занимают горизонтальное положение и активно продуцируют коллагеновые волокна (в). Соотношение коллагена и клеточных элементов демонстрирует преобладание коллагеновых пучков. На этом этапе регенерации фиксируется увеличение зрелых соединительнотканных клеток – фиброцитов (г). Клетки имеют вытянутую форму, их ядра более компактные, чем у фибробластов .

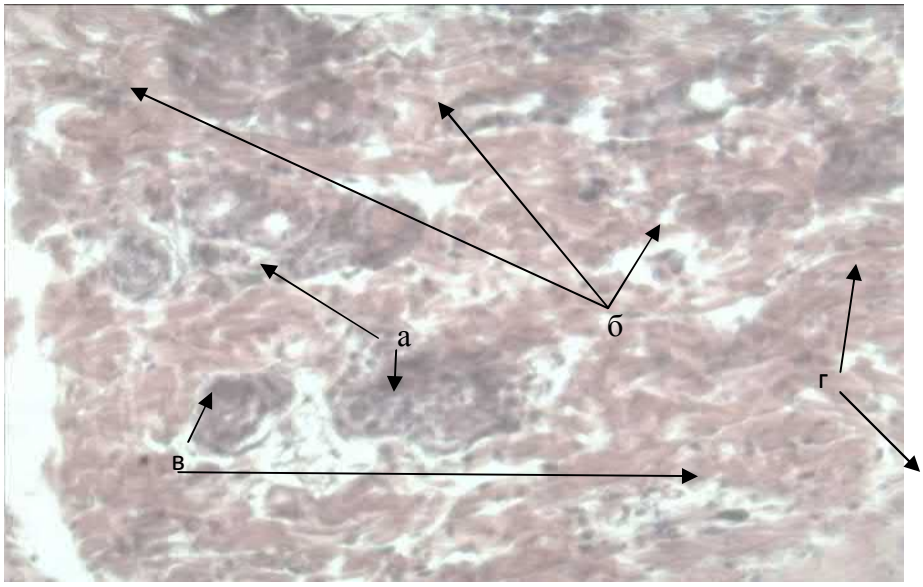


Рисунок 4.4 – Гистологическая картина заживления раны, 14 сутки эксперимента. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, произведенаяна аппарате NanoDeBee30. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Регенеративные процессы в зоне ран у животных,получавших мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленного по фармакопейной технологии, также характеризуются активным процессом заживления раны: значительное содержание капиллярных структур (а), характерно появление в поверхностных зонах раны большого количества крупных дифференцированных фибробластов (б). Инфильтративные процессы в грануляционной ткани не выражены и представлены немногочисленными нейтрофилами и лимфоцитами. В более глубоких слоях наблюдаются дифференцированные фибробласты и фиброциты с созревающими коллагеновыми структурами (в) на фоне активной перестройки ориентации их относительно раневой поверхности (Рисунок 4.5).

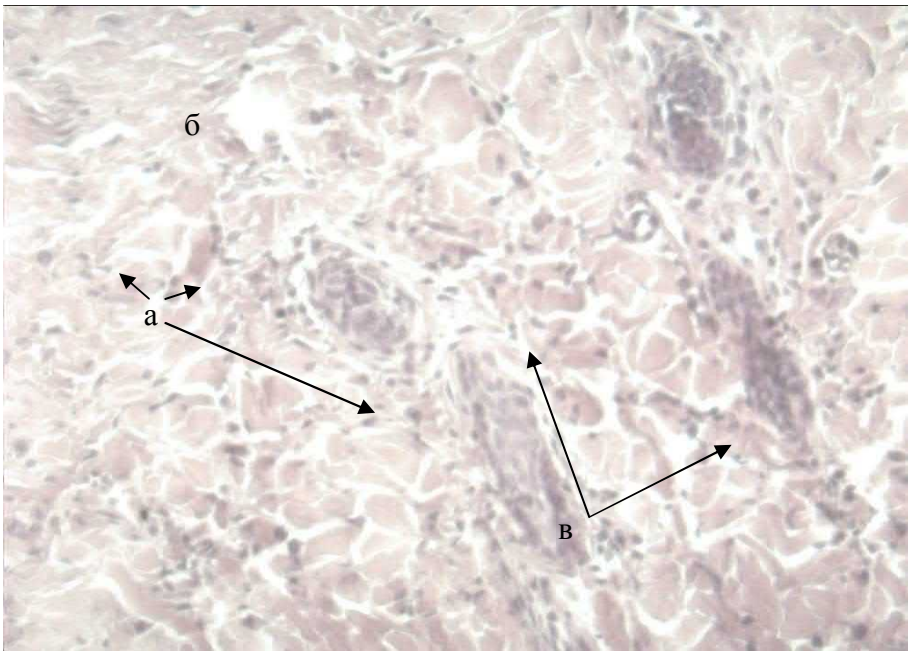


Рисунок 4.5 – Гистологическая картина заживления раны, 14 сутки эксперимента. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленная по фармакопейной технологии. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

На этот срок наблюдения у животных контрольной группы (рисунок 4.6) характерны наличие отека межуточного вещества, сохраняются полиморфноклеточные инфильтраты и другие признаки воспаления. Определяются начальные признаки репаративных процессов – формируются капиллярные структуры в виде единичных сосудистых петель (а), характерна умеренная пролиферация гистиоцитов (б) и фибробластов (в), находящихся на разной стадии дифференциации. Наблюдается лишь краевая эпителизация раны. Фиброцитов на данном этапе в этой группе крыс не обнаружено.

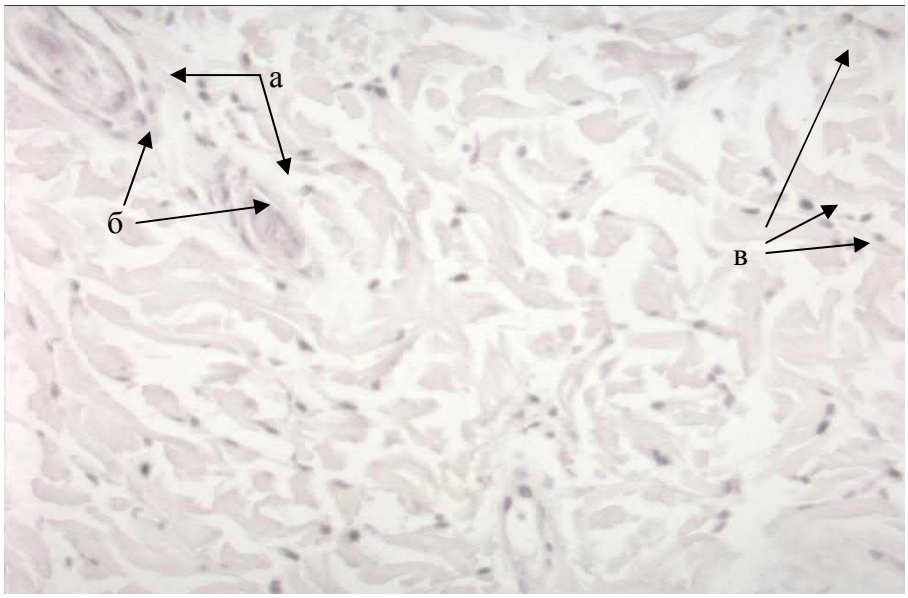


Рисунок 4.6 – Гистологическая картина заживления раны, 7 сутки эксперимента. Контрольная группа. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Количественный состав элементов (Таблица 4.4) на 14 сутки эксперимента демонстрирует более значительную степень созревания грануляционной ткани в ранах с мазями из экстракта пятилистника кустарникового, что подтверждается выраженной степенью неокапиллярогенеза, преобладанием веретенообразных форм фибробластов и фиброцитов, активным коллагеногенезом с формированием фибрилл и волокон соединительной ткани.

Таблица 4.4 – Количественный состав элементов раны у крыс на фоне мазей с экстрактом пятилистника кустарникового.14 сутки опыта

Показатели	Группы животных		
	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
Сосудистые петли	3,50±0,40	4,25±0,30*	4,10±0.88*
Гистиоциты	30,00±1,00	48,75±1,10*	38,25±0,88*
Лейкоциты, всего: в т.ч.: – ПМЯ – мононуклеарные	37,25±2,4 27,21±2,18 10,04±2,16	27,6±2,85* 13,20±2,52 14,40±2,29	34,32±2,29* 21,16±2,14 13,16±2,24
Фибробласты	4,60±0,60	10,8±0,80*	9,6±2,70*
Фиброциты	нет	4,1±0,38*	2,0±0,29*

К 21 суткам эксперимента площади ран у крыс первой и второй опытных групп, значительно уменьшились. В патоморфологическом аспекте можно отметить некоторое сходство в мобилизации репаративных процессов на 21 сутки эксперимента у животных на фоне применения указанных мазей (Рисунок 4.7). Раневая поверхностьв первой опытной группе животных практически полностью эпителизировалась. Эпителий хорошо дифференцирован. Рубцовая ткань состоит из параллельных коллагеновых пучков (а). Значительно уменьшеночисло макрофагов и лейкоцитов. Местами определяются крупные фибробласты (б). Фибробласты в глубоких отделах раны вытянуты между коллагеновыми волокнами. В краевых отделах раны идет восстановление придаточных образований кожи: незрелых волосяных фолликулов и потовых желёз.

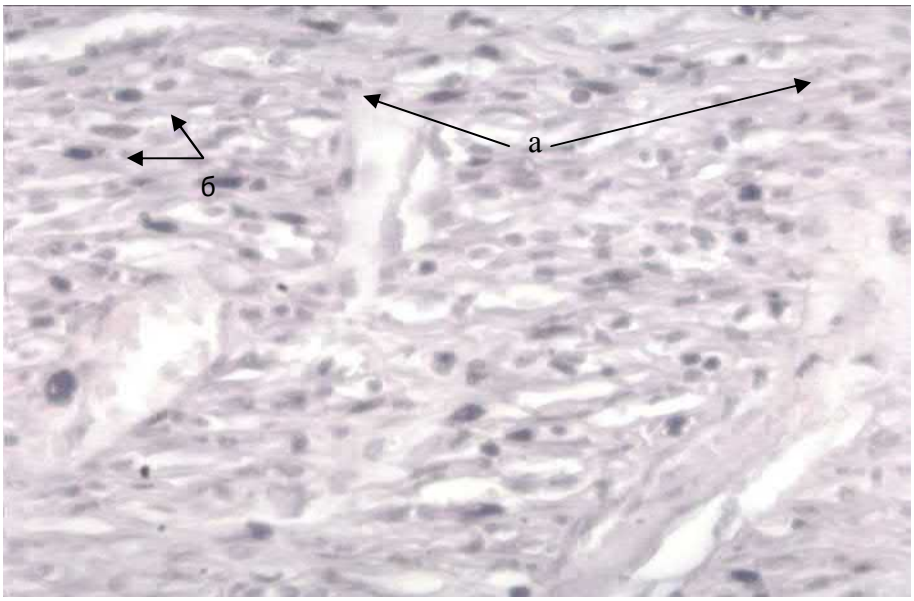


Рисунок 4.7 – Гистологическая картина заживления раны. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, произведенная на аппарате NanoDeBee30. 21 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Во второй группе животных видно, что рана (Рисунок 4.8) также практически эпителизирована, покрыта многослойным плоским ороговевающим эпителием с развитыми сосочковыми структурами. Под эпителием заметно разрастание волокнистой рубцовой соединительной ткани различной степени зрелости. Местами на границе эпителия и рубцовой ткани имеются остаточные инфильтраты, представленные лимфоцитами, плазматическими клетками и сидерофагами. Коллагеновые волокна ориентированы параллельно (а), преобладают фибробласты (б).

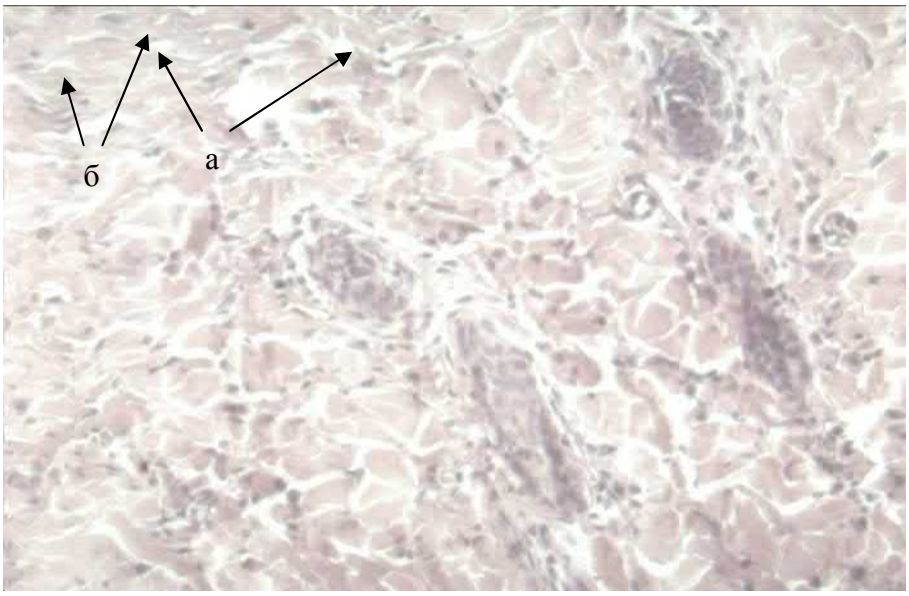


Рисунок 4.8 – Гистологическая картина заживления раны, 21 сутки эксперимента. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленная по фармакопейной технологии. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Течение раневого процесса у крыс контрольной группы характеризовалось замедленными темпами регенеративных процессов (Рисунок 4.9). На этот срок эпителиальный пласт, закрывающий раневой дефект состоял лишь из пяти – шести слоев, они были расположены неравномерно, имелись утолщенные участки, дифференциация эпидермиса на слои была слабо выражена, сосочки базального слоя имели неправильную форму. Дерма состояла из формирующихся коллагеновых волокон (а) с имеющимися участками переплетения (б), их формирование выражено ближе к краю дефекта. Необходимо отметить, что в этой группе не наблюдаются производные элементов кожи (волосяные фолликулы и сальные железы).

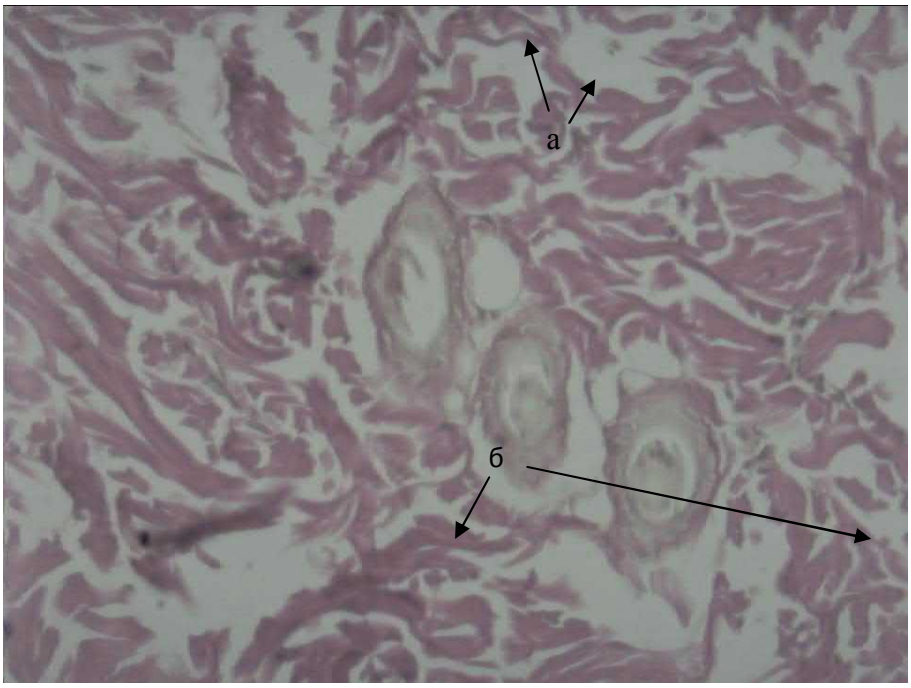


Рисунок 4.9 – Гистологическая картина заживления раны, 21 сутки эксперимента. Контрольная группа. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

При сравнительном подсчете элементов в срезах раны у животных первой и второй опытных групп (Таблица 4.5) по количеству сосудистых петель сопоставимы, а в контрольной группе, по-прежнему, было меньше гистиоцитов, фиброцитов и фибробластов. Представленная картина качественного и количественного состава элементов в ранах позволяет утверждать о значительно выраженном репаративном эффекте мазей с экстрактом пятилистника кустарникового, с выраженным неоангиогенезом, активной пролиферацией и дифференцировкой клеток.

Таблица 4.5 – Количественный состав регенерата на 21 сутки опыта на фоне применения мазей с экстрактом пятилистника кустарникового

Показатели	Группы животных		
	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
Сосудистые петли	3,20±0,30	4,10±0,10*	3,25±0,30
Гистиоциты	29,00±2,10	40,50±1,20*	36,80±1,80*
Лейкоциты, всего: в т.ч.: – ПМЯ – мононуклеарные	23,80±1,70 12,04±1,63 11,76±1,51	13,70±1,40* 3,54±2,54 10,16±2,39	17,25±0,90* 5,18±1,57 12,07±1,46
Фибробласты	3,25±0,40	16,00±0,90*	12,25±1,00*
Фиброциты	1,80±0,30	6,60±0,40*	4,10±0,30*

Для определения механизмов ранозаживляющего действия мазей с экстратом пятилистника кустарникового проведено исследование состояния антиоксидантной системы организма животных и уровня содержания в крови продуктов перекисного окисления липидов. Полученные результаты, в зависимости от технологии получения мазей подтверждают результаты по ускоренной репарации раневого дефекта (Таблица 4.6).

Таблица 4.6 – Влияние мазей с экстрактом пятилистника кустарникового и глицерин-вазелиновой основы мази на состояние свободнорадикальных процессов при плоскостной ране у крыс

Показатели, ед. измерения	Группы животных		
	Контроль (n=8)	Опытная 1 (n=10)	Опытная 2 (n=10)
7 сутки			
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	11,60±0,10	7,76±0,15*	8,02±0,37*
Каталаза, кат/л	9,67±0,10	10,64±0,12*	10,07±0,11*
GSH, ммоль/л	1,78±0,05	2,76±0,08*	2,59±0,12*
14 сутки			
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	9,21±0,55	5,94±0,05*	5,37±0,23*
Каталаза, кат/л	10,69±0,11	12,71±0,34*	11,94±0,17*
GSH, ммоль/л	2,9±0,20	5,19±0,10*	3,97±0,12*
21е сутки			
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	7,79±0,05	2,99±0,12*	4,69±0,23*
Каталаза, кат/л	13,81±0,11	16,74±0,35*	14,26±0,38*
GSH, ммоль/л	4,77±0,56	7,46±0,10*	5,98±0,15*

Из приведенных в таблице 4.6 данных следует, что применение мазей с экстрактом пятилистника кустарникового при плоскостных ранах у крыс сопровождается торможением интенсивности свободнорадикального окисления биомакромолекул и активацией антиоксиданстной защиты

организма. На 7 сутки опыта у животных наблюдаеется значительное повышение продуктов ПОЛ, что подтверждается увеличением ТБК-активных продуктов; В дальнейшем прослеживается отчетливая динамика снижения уровня данного показателя, наиболее выраженная у животных, получавших мазь, изготовленную с помощью высокоэффективного гомогенизатора: содержание ТБК-активных продуктов в первой группе снизилось на 14 сутки эксперимента на 35,6% от от контроля, а на 21 сутки достигло 2,99 мкм/л, что значительно приблизилось к норме. Данные, полученные при использовании мази с экстрактом пятилистника кустарникового, приготовленной по фармакопейной технологии показали снижение активности свободнорадикальных процессов, но в умеренной степени. Так на 14 сутки эксперимента уровень ТБК-активных продуктов снизился во второй группе на 30,9%, а на 21 сутки – на 39,8%. Оба вида исследуемых мазей превосходят значительно мазевую основу, лишенную какого-либо лечебного компонента, за исключением относительно изолирующего характера глицерин-вазелиновой обработки раневого дефекта. Наряду с этим, при применении указанных средств активируется защитная антиоксидантная реакция организма с повышением активности. Данные, начиная с 7 сутокэксперимента, демонстрируют повышение активности каталазы, значимо выраженное прогредиентное в случаях использования мази с экстрактом пятилистника кустарникового, приготовленной с помощью высокоэффективного гомогенизатора: при начальном росте активности каталазы на 7 сутки опыта, следует нарастающее повышение активности на 14 сутки и на 21 сутки. Превосходящее действие мазей с экстрактом пятилистника кустарникового отмечается и при оценке содержания восстановленного глутатиона в сыворотке крови крыс. Определенно, что именно равномерное распределение микрочастиц действующих веществ экстракта определяет относительно высокую биодоступность, выраженный местный и системный эффект со стимуляцией заживления раны. Об этом свидетельствуют и данные, полученные при изучении содержания ДНК и

РНК в грануляционно–фибринозной ткани из ран (Таблица 4.7). Из представленных данных следует, что на фоне применения мазей пятилистника кустарникового значимо стимулируется синтетическая активность клеток в зоне повреждения. Более выражена функциональная биосинтетическая активность клеток на фоне использования мази, полученной на аппарате NanoDeBee30. Так, уровень содержания РНК в ранах, превышает таковой в контрольной группе на 33,4%, а при использовании мази приготовленной по фармакопейной технологии – только на 3,8%. Высокий уровень содержания ДНК в раневом биоптате подтверждает протекание в ране активного регенерационного гистогенеза на 14 сутки эксперимента, когда в раневом процессе отмечается доминирование клеток пролиферативного ряда. ДНК в гомогенате ран у крыс, получавших мазь пятилистника кустарникового, изготовленную на аппарате NanoDeBee30, на 45,7% превышает показатель в контрольной группе, а мазь пятилистника кустарникового, изготовленную по фармакопейной технологии на –20,9%.

Таблица 4.7 – Влияние мазей с экстрактом пятилистника кустарникового на содержание нуклеиновых кислот в грануляционно-фиброзной ткани из плоскостных ран на 14 сутки экспиремента (мкг/г)

Группы животных	РНК	ДНК
Контроль (n=8)	0,675±0,010	0,612±0,010
Опытная 1 (n=8)	0,901±0.010*	0,892±0,020*
Опытная 2 (n=8)	0,701±0,020*	0,740±0,020*

Таким образом, данные экспериментов свидетельствуют, что на фоне применения мазей пятилистника кустарникового наблюдали признаки

пролиферации гистиогенных клеток и эндотелиоцитов с последующим активным неокапилярогенезом, а также формирование грануляционной ткани, её созревание и процессами эпителизации наблюдаются в более ранние сроки, чем в контроле. Характер динамики клеточных реакций у животных отчетливо соответствует темпам сокращения ран: раннее появление клеток фибробластического дифферона сопровождается ускоренной контракцией раны при использовании мазей с экстрактом пятилистника кустарникового. Соответствие результатов планиметрии плоскостных ран у животных уровню содержания в них нуклеиновых кислот на фоне использования мазей с экстрактом пятилистника кустарникового отражают активацию регенераторных процессов в ранах в сравнениии с контрольной группой. Механизмы повышения репаративной регенерации связанысо снижением уровня продуктов перекисного окисления липидов, активацией антиоксидантной системы, что обусловливает пролиферацию клеточных элементов в ране. Подобные результаты были получены ранее И.О. Убашеевым (1998), при изучении ранозаживляющего действия извлечений из растений, содержащих флавоноиды.

На основании полученных данных можно полагать, что значительное содержание фенольных соедитнений в экстракте пятилистника кустарникового обусловливает ограничение пероксидации биомакромолекул, активацию митоза клеток со стимуляцией регенерации. Очевидно, что именно с указанными механизмами связано ускорение заживления ран при применении мазей с экстрактом пятилистника кустарникового. Результаты согласуются с данными [16,19, 49, 95, 139, 206], показавшими усиление регенерации тканей при использовании флавоноидсодержащих средств. Более выраженное ранозаживляющее действие мази, полученной на высокоэффективном гомогенизаторе, связано с высокой дисперсностью действующих веществ экстракта, равномерным распределнием их в мазевой основе, что повышает биодоступность и эффективность [34, 137, 195, 218, 230].

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ МАЗИ С ЭКСТРАКТОМ ПЯТИЛИСТНИКА КУСТАРНИКОВОГО, ПОЛУЧЕННОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОГО ГОМОГЕНИЗАТОРА, НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ПЛОСКОСТНОЙ РАНЫ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Учитывая особенности течения раневого процесса при сахарном диабете и установленный наиболее выраженный стимулирующий эффект на заживление ран мази с экстрактом, полученноЙ с использованием высокоэффективного гомогенизатора NanoDeBee30, был воспроизведен сахарный диабет у белых крыс путем введения аллоксана моногидрата по рекомендации, приведенной в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [115]. Спустя 2 суток после введения аллоксана у всех животных воспроизводили плоскостную рану, под эфирным наркозом, размером 2,0х2,0 см (400мм^2) в области спины. Все животные после введения аллоксана и воспроизведения раневого повреждения были распределены на 3 группы: в первой группе (опытная 1) применяли 5% мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, полученного с использованием высокоэффективного гомогенизатора, в дозе 100мг; во второй группе (опытная 2) животных использовали линимент бальзамический в дозе 100мг (препарат сравнения); в третьей (контрольной) группе применяли мазевую основу в аналогичном объеме. Указанные средства назначали ежедневно в течении 14 суток.

Для подтверждения развития сахарного диабета у животных проводили определение уровня гликемии до введения аллоксана и после в сыворотке крови и патоморфологическое исследование поджелудочной железы у крыс на 7 и 14 сутки эксперимента в дополнительном эксперименте. Данные, полученные по определению уровня глюкозы в сыворотке крови у животных контрольной группы приведены в таблице 5.1.

Таблица 5.1 – Содержание глюкозы в сыворотке крови у крыс контрольной группы на фоне введения аллоксана моногидрата

Сроки наблюдений	Содержание глюкозы, ммоль/л
До введения аллоксана	3,8±0,74 (n=8)
7 сутки	12,3±1,40* (n=8)
14 сутки	8,4±0,62* (n=8)

Примечание: *– означает, что различия значимы по сравнению с данными до введения аллоксана при $p \leq 0,05$

Гистологическое исследование поджелудочной железы (Рисунок 5.1) на 7 и 14 сутки с момента введения аллоксана у крыс контрольной группы свидетельствовали о развитии дегенеративных изменений в островках Лангерганса. В β-клетках наблюдаются явления вакуолизации цитоплазмы на фоне отека паренхимы органа, преобладают межклеточные волокнистые образования, вокруг островков, клеточная инфильтрация, наиболее выраженная на 7 сутки опыта. К 14 суткам эксперимента была снижена выраженность воспалительной реакции, в цитоплазме β-клеток всречаются конгломераты зернышек, границы клеток трудно различимы, увеличена масса волокнистых образований. Таким образом, введение крысам аллоксана характеризуется развитием сахарного диабета с гипергликемией и нарушением структуры поджелудочной железы. После этого, крысы с аллоксановым диабетом были распределены на 3 группы: опытная 1, первая группа животных, которым наносили на раневую поверхность мазь, полученную с использованием высокоэффективного гомогенизатора в дозе 100мг, второй группе крыс применяли линимент бальзамический в дозе 100мг (препарат сравнения), а третьей группе (контрольной) наносили на рану мазевую основу (100 мг). Указанные средства назначали ежедневно в течении 14 суток. В сроки 7, 14 и 21 сутки с начала опытов проводили исследования с оценкой ранозаживляющего действия мази с экстрактом

пятилистника кустарникового в сравнении с влиянием линимента бальзамического на течение раневого процесса у крыс с сахарным диабетом. Использование линимента бальзамического по Вишневскому обусловлено доступностью, антисептическим эффектом препарата, ускоряющим регенерацию ран, что доказано клинической практикой [65, 139]

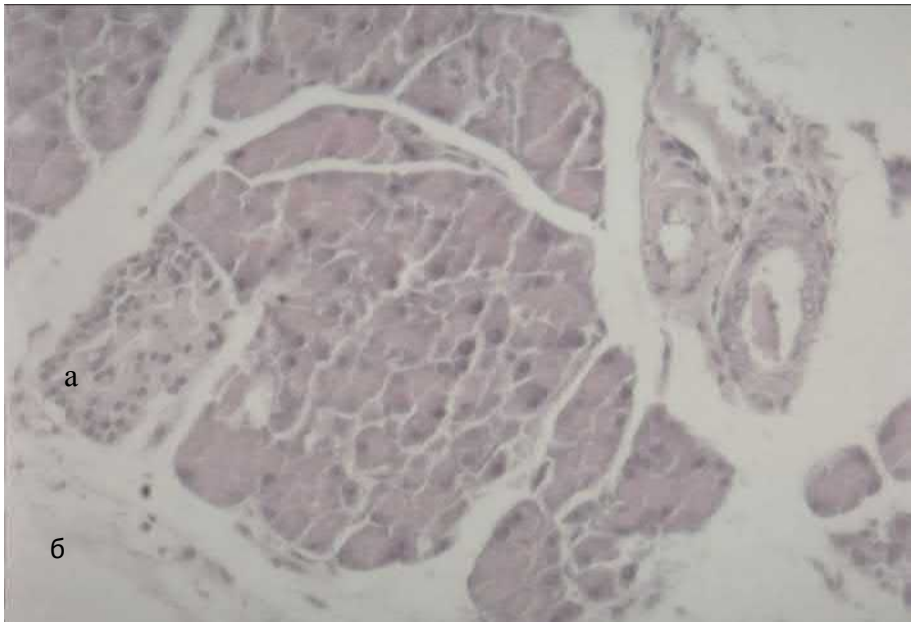


Рисунок 5.1 – Гистологическая картина поджелудочной железы крысы на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового. 7 сутки опыта. Дольки железы с островками Лангерганса (а) соединительной ткани (в). Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Известно, что негативное влияние нарушений обмена веществ, сопровождающих сахарный диабет, отражается на течении раневого процесса [5, 14, 38, 41, 59, 173]. Заметное отсутствие на ранних стадиях динамики уменьшения размеров ран у крыс во всех 3-х группах животных было очевидным. Так, на 7 сутки эксперимента только в первой опытной группе рана не увеличивалась в размерах, тогда как площади ран у крыс второй опытной группы несколько возросли (на 2,5%), а размеры раневого дефекта у крыс, которым применяли основу мази, возросли на 52%. На 14 сутки наблюдения площадь ран у крыс первой группы, уменьшилась на

73,5%, а у крыс с линиментом бальзамическим – на 37,5% относительно контроля, а на 21 сутки опыта в первой опытной группе животных площади ран уменьшились на 69,8%, а у крыс второй опытной группы – на 56,3%. Показатели размеров ран у крыс в контрольной группе свидетельствовали о типичном затяжном течении раневого процесса на фоне сахарного диабета; наблюдается выраженное торможение регенераторных процессов на фоне гипергликемии (Таблица 5.2).

Таблица 5.2 – Влияние мази с экстрактом пятилистника кустарникового и линимента бальзамического на течение раневого процесса у белых крыс с сахарным диабетом

Сроки эксперимента	Площади ран, мм^2		
	Контроль	Опытная группа 1	Опытная группа 2
7 сутки	608,0±8,83 (n=9)	400,0±2,30* (n=8)	410,0±14,8 (n=9)
14 сутки	491,6±7,40 (n=8)	130,3±2,20* (n=8)	307,0±10,05* (n=8)
21 сутки	291,6±5,80 (n=8)	88,2±3,71* (n=8)	127,5±2,97* (n=9)

Примечание: *– здесь и далее означает, что различия по сравнению с контролем значимы при $p \leq 0.05$, n – количество животных.

Отличия в динамике изменения размеров ран обусловлено замедлением репаративных процессов на фоне метаболических нарушений и, в первую очередь, гипергликемии, ведущем синдроме сахарного диабета. При использовании обоих видов мягких форм было очевидным прогредиентное течение раневого процесса, особенно в пределах первых 14 суток эксперимента, однако стадия – плато, наблюдаемая в ранние сроки раневого процесса у крыс с сахарным диабетом, является характерным проявлением

некротической стадии раневого процесса на фоне сахарного диабета, что согласуется с данными [38, 41, 173]. Гистологическая картина у животных на 7 сутки опыта, которым применяли мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, изготовленного на аппарате NanoDeBee30 (первая группа), была представлена значительным количеством сосудистых петель (а), гистиоцитами (б) и лейкоцитами (в), а фибробласты и фиброциты в ранах на данном этапе эксперимента не выявляются (Рисунок 5.2). Значительное количество лейкоцитов в ране, наблюдаемое на 7 сутки, вызвано высоким уровнем медиаторов воспаления и селектинов в очаге воспаления на фоне повышенного образования реактивных оксидантов, а также микротромбообразованием, характерным для микрососудистых нарушений при сахарном диабете.

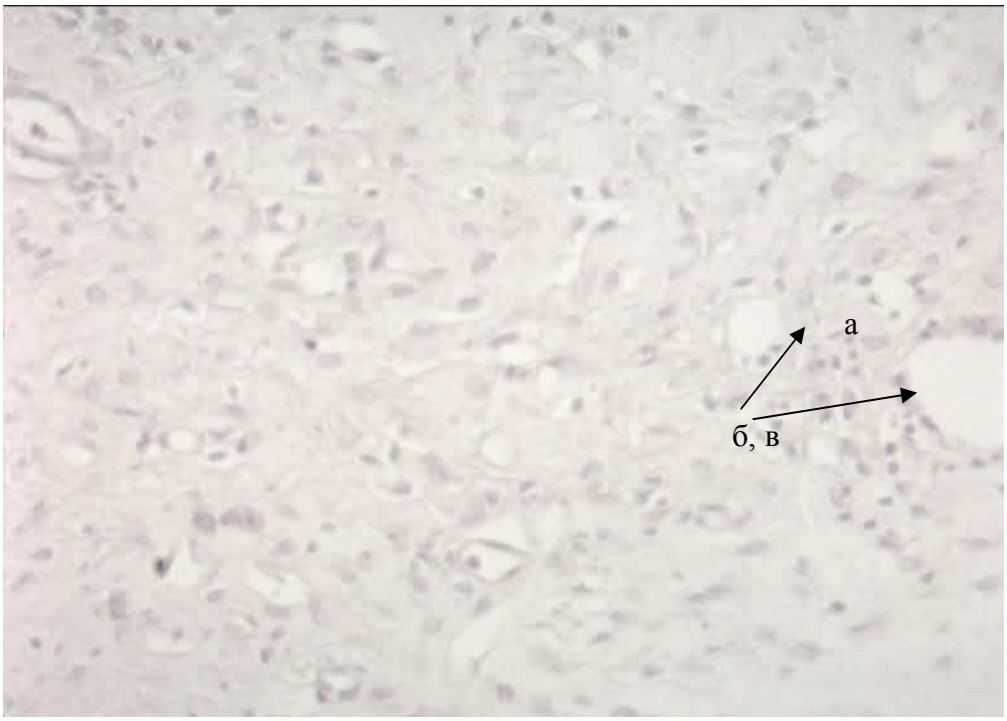


Рисунок 5.2 – Гистологическая картина заживления раны у крысы с экспериментальным сахарным диабетом, 7 сутки эксперимента. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, произведенного на аппарате NanoDeBee30. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Практически аналогичная тенденция наблюдается у животных второй опытной группы. При этом количество сосудистых петель (а), гистиоцитов (б) и лейкоцитов (в) оказалось несколько ниже, иногда всречали в поле зрения фибробласты, а фиброцитов не находили (Рисунок 5.3).

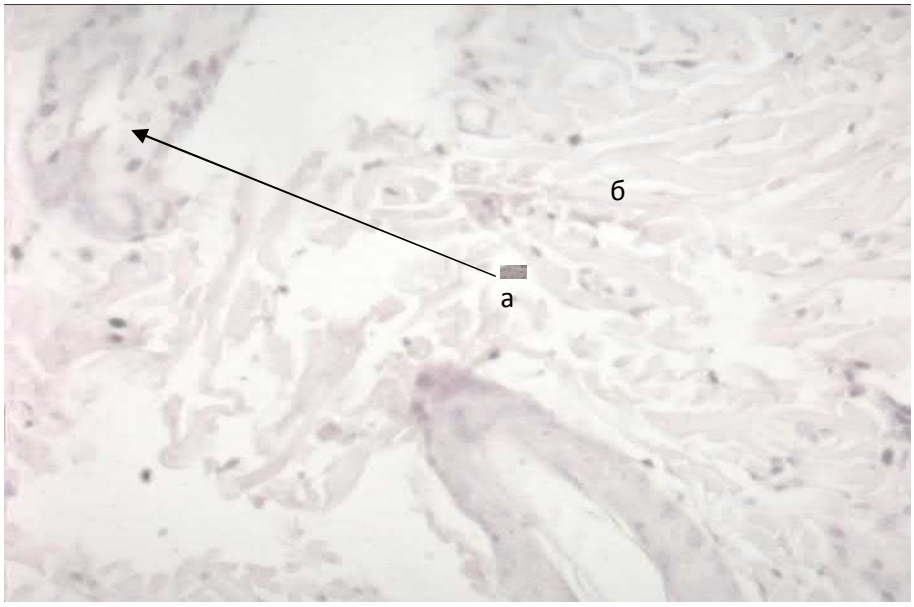


Рисунок 5.3 – Гистологическая картина заживления раны у крысы с сахарным диабетом, 7сутки эксперимента. Линимент бальзамический по Вишневскому. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

В контроле обнаруживали небольшие скопления сосудов, отек раневой зоны, отсутствовали в образцах фибробласты, что свидетельствуют о торпидном течении воспалительного процесса на фоне глубоких биохимических нарушений при гипергликемии у животных (Рисунок 5.4)

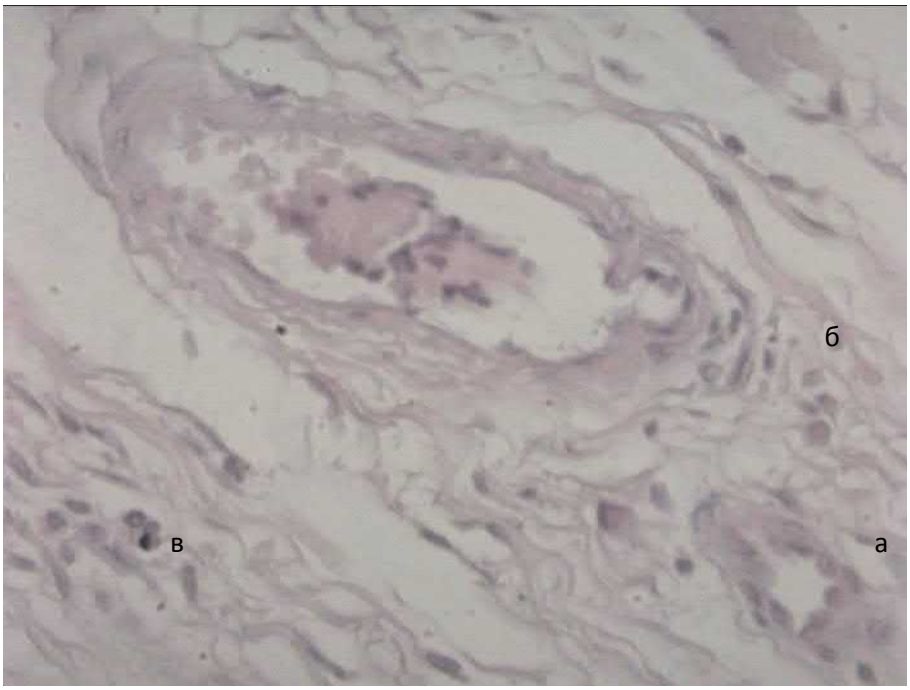


Рисунок 5.4 – Гистологическая картина заживления раны у крысы с сахарным диабетом, 7сутки эксперимента. Глицерин-вазелиновая основа мази. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Данные по составу элементов в образцах из ран приведены в таблице 5.3 и согласуются с морфологической картиной срезов из зоны ран: течение первой фазы раневого процесса у крыс с экспериментальным сахарным диабетом на фоне превалирования некробиотических процессов демонстрирует слабую клеточную реакцию и замедленный неоангиогенез.

У животных первой опытной группы на 14 сутки опыта (Рисунок 5.5) количество сосудистых петель (а) практически мало изменилось; отмечено увеличение количества гистиоцитов (б) и, особенно, лейкоцитов (в). В поле зрения видны отдельные фибробласты (г). Динамичный характер процесса ранозаживления у животных с экспериментальным сахарным диабетом на фоне указанного средства отражает выраженную активность пролиферативных процессов в ране.

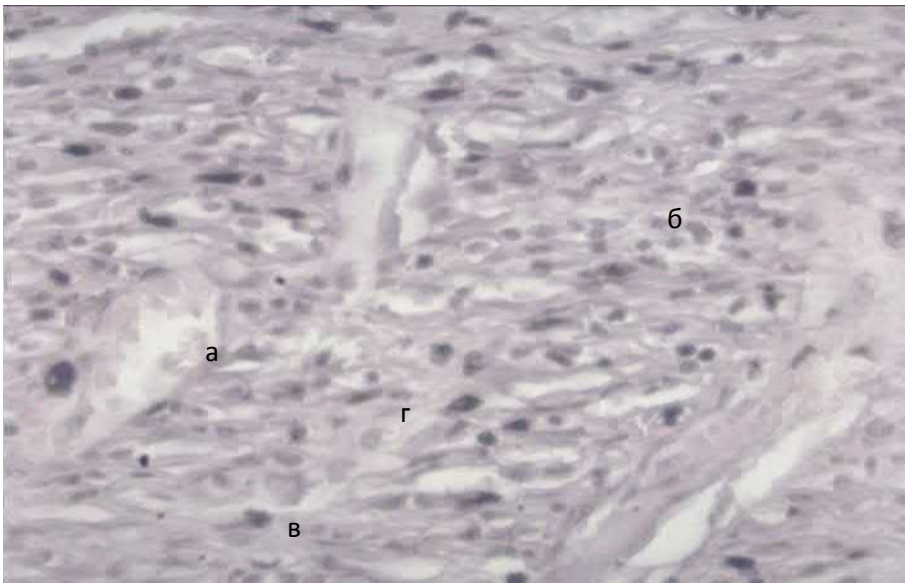


Рисунок 5.5 – Гистологическая картина заживления раны у крысы с сахарным диабетом. 14 сутки эксперимента. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, произведенной на аппарате NanoDeBee30. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Таблица 5.3 – Количественный состав элементов в регенерате у крыс на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового и линимента бальзамического на 7 сутки опыта

Показатели	Группы животных		
	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
Сосудистые петли	1,80±0,30	2,10±0,40*	2,25±0,60*
Гистиоциты	11,30±0,70	24,30±2,20*	20,00±1,90*
Лейкоциты, всего: в т.ч.: – ПМЯ – мононуклеарные	7,70±1,70 5,31±1,49 2,39±0,98	20,30±3,40* 12,40±2,67 7,90±2,90	19,10±1,20* 13,80±1,47 5,30±1,80
Фибробласты	0	0	0
Фиброциты	0	0	0

Регенерат раны у животных второй группы (Рисунок 5.6) в основном представлен сосудистыми петлями (а), гистиоцитами (б) и лейкоцитами (в). Их количество по сравнению с данными 7 суток несколько увеличилось. Отмечаются отдельные фибробласты (г),фиброциты не обнаружены.

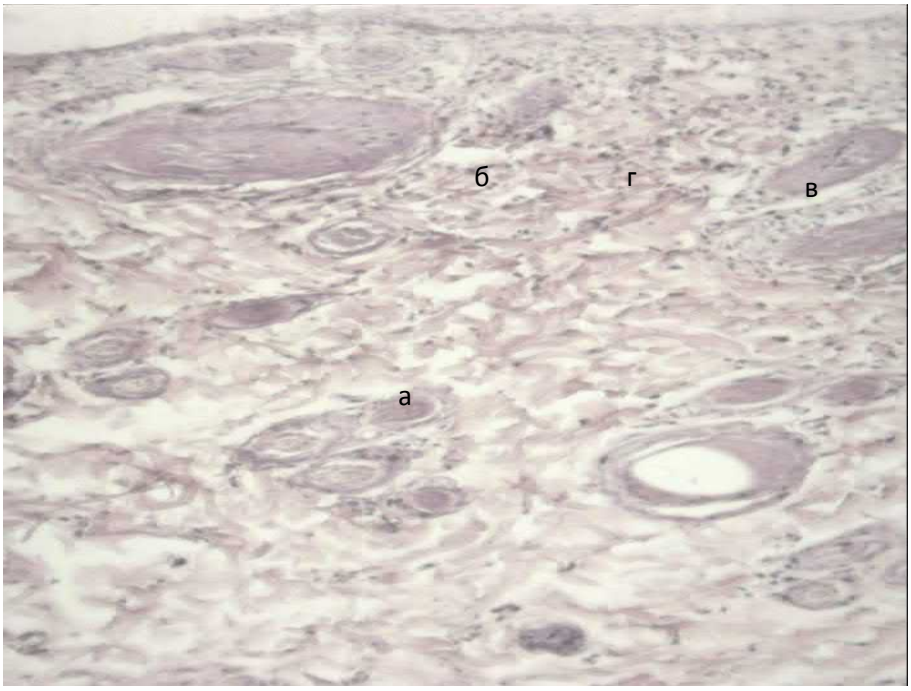


Рисунок 5.6 – Гистологическая картина заживления раны у крысы с сахарным диабетом. 14 сутки эксперимента. Линимент бальзамический по Вишневскому. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

В контроле характерным было более низкое число гистиоцитов (а) и лейкоцитов (б).Кроме того, на этом этапе эксперимента фибробластов нами так же не обнаружено (Рисунок 5.7). Данная картина характерна для торпидного течения раневого процесса на фоне сахарного диабета; дисбалланс клеточных взаимодействий в раневом процессе отражает глубокие биохимические нарушения, возникающие вследствие гипергликемии.

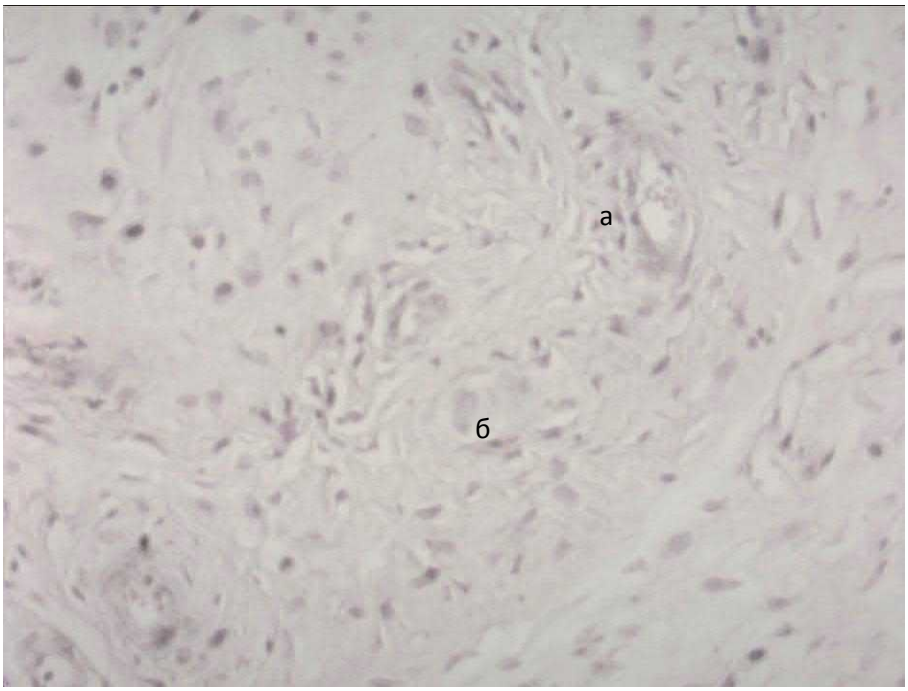


Рисунок 5.7 – Гистологическая картина заживления раны у крысы с сахарным диабетом. 14 сутки эксперимента. Глицерин-вазелиновая основа мази. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

В таблице 5.4 представлены данные, отражающие влияние указанных средств на течение раневого процесса у крыс с сахарным диабетом на 14 сутки наблюдения: все еще сохраняется активность воспалительной реакции у животных первой и второй групп, а в контрольной группе подтверждается вялое течение раневого процесса. При использовании линимента бальзамического (по Вишневскому) проявляется раздражающий эффект со стимуляцией неоангиогенеза. В целом качественный и количественный состав регенерата (низкий уровень капилляров, небольшое количество клеток пролиферативного ряда, и сниженное число лейкоцитов в контрольной группе) отражают нарушения стадийности раневого процесса у крыс с экспериментальным сахарным диабетом. В то же время выявляет значимый эффект воздействия мази с экстрактом пятилистника кустарникового.

Таблица 5.4 – Количественный состав регенерата на 14 сутки опыта на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового и линимента бальзамического

Показатели	Группы животных		
	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
Сосудистые петли	2,30±0,40	2,30±0,10	2,50±0,30
Гистиоциты	14,70±0,70	31,00±2,20*	20,00±2,90*
Лейкоциты, всего:	14,50±1,80	29,30±3.40*	32,40±0,30 *
в т.ч.:			
– ПМЯ	5,23±1,76	10,30±3,18*	7,90±1,45
– мононуклеарные	6,27±1,39	19,0±2,78*	11,20±0,76
Фибробласты	0	0,6±0,03	0
Фиброциты	0	0	0

На 21 сутки эксперимента у животных на фоне применения мази пятилистника кустарникового и линимента бальзамического (Рисунок 5.8, 5.9), а также в контрольной группе (Рисунок 5.10) различия в составе элементов срезов, взытых из раневой зоны сохраняются. В первой группе животныхвыявлено, что вновь образованный эпителий, состоит из пяти – шести слоев, имеются утолщенные участки. Более глубокие слои представлены фибробластами (а) с незначительным количеством капилляров. Наличие фибробластов, а также зрелых клеток из пула фибробластического дифферона свидетельствуют об очищении раны от инфекции и некротизированных тканей. В поверхностных слоях раны преобладают сосудистые петли (б), гистиоциты (в) и лейкоциты(г).

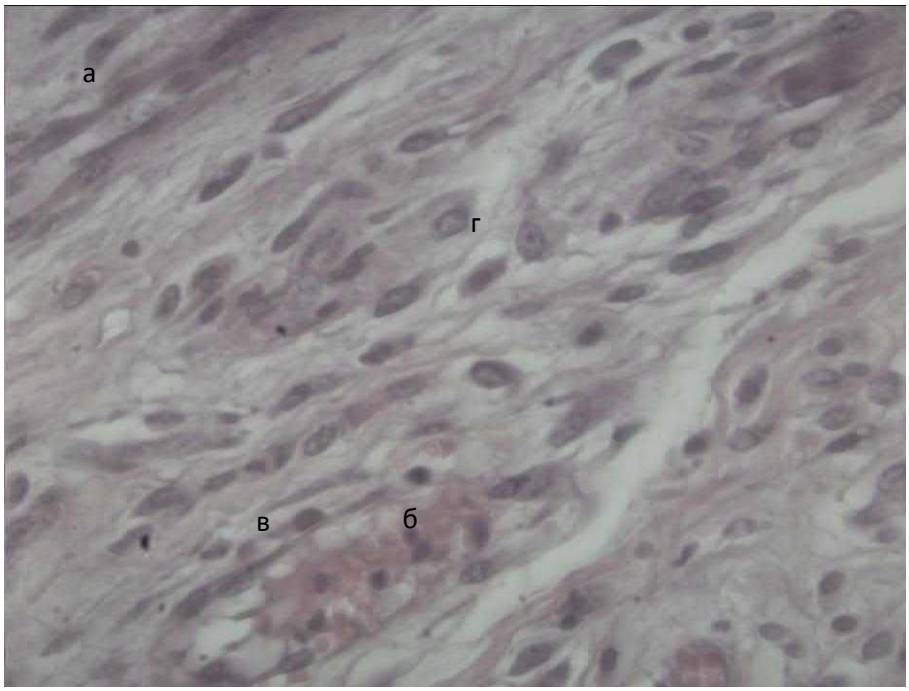
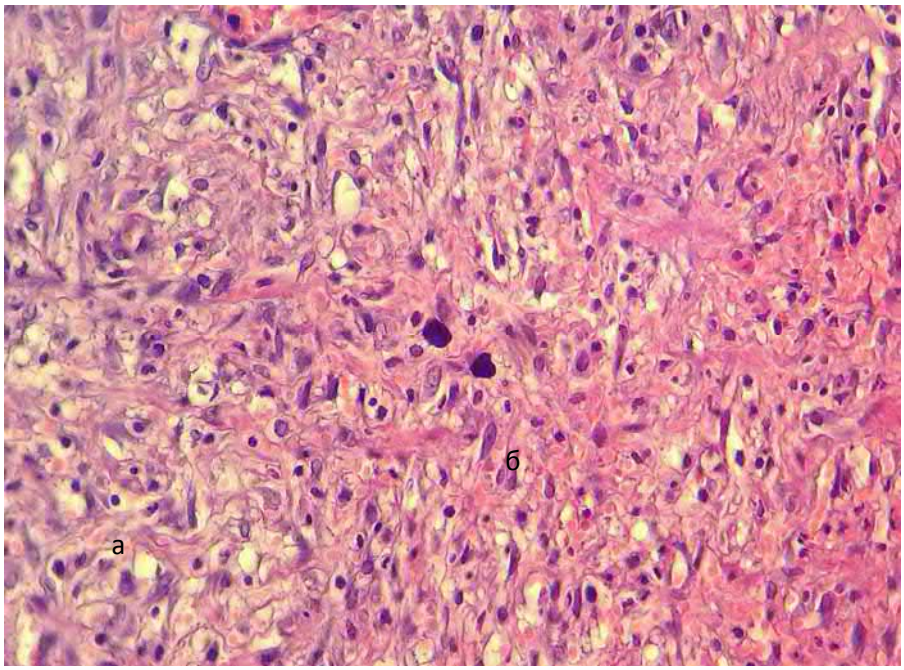


Рисунок 5.8 – Гистологическая картина заживления раны у крыс с сахарным диабетом. 21 сутки эксперимента. Мазь с экстрактом пятилистника кустарникового, произведенного на аппарате NanoDeBee30. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

В гистопрепаратах крыс второй группы с диабетом (Рисунок 5.9), очевидна также активация камбиальных клеток с дифференцировкой гистиоцитов (а) и появлением фибробластов (б), но в меньшей степени, чем в первой группе животных.



Риунок 5.9 – Гистологическая картина заживления раны у крысы с сахарным диабетом. 21 сутки эксперимента. Линимент бальзамический по Вишневскому. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

В контрольной группе отмечено значительно меньшее количество всех клеточных элементов (Таблица 5.5). Морфологическая картина свидетельствует о значительном замедлении заживления раны – количество слоев эпидермиса варьирует, причем наиболее отчетливо выражены поверхностные слои, число сосудистых петель (а), гистиоцитов(б) нарастает очень медленно (Рисунок 5.10), при этом возрастает лейкоцитарная инфильтрация.

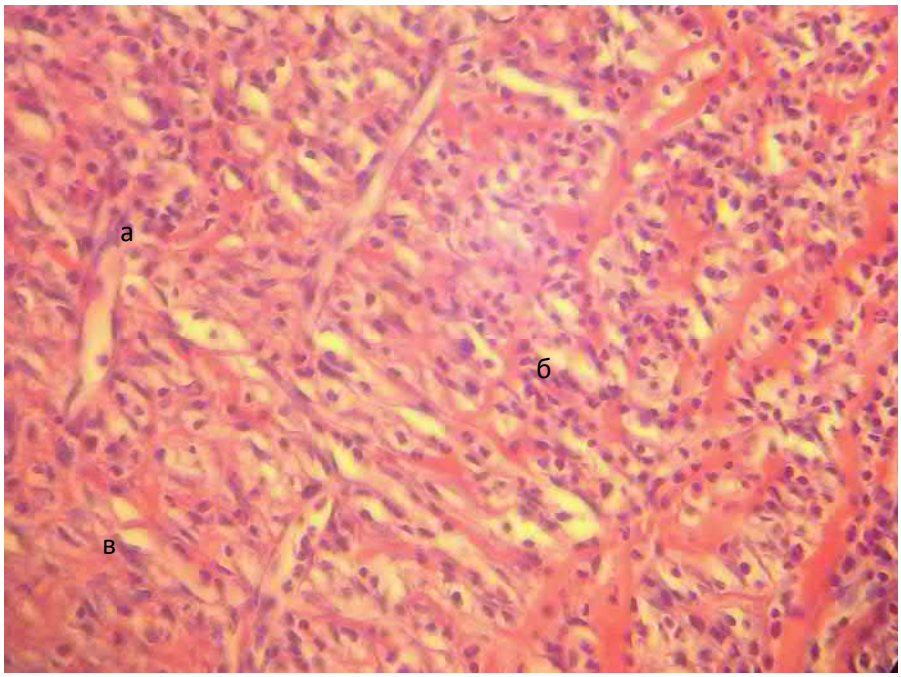


Рисунок 5.10. Гистологическая картина заживления раны. Сахарный диабет. 21сутки эксперимента. Глицерин-вазелиновая основа мази. Окраска гематоксилином и эозином. 10х20

Таблица 5.5 – Влияние мази с экстрактом пятилистника кустарникового и линимента бальзамического на количественный состав регенерата на 21 сутки опыта

Показатели	Группы животных		
	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
Сосудистые петли	2,50±0,10	3,10±0,20*	2,50±0,30
Гистиоциты	19,75±0,50	34,00±2,20*	34,25±1,70*
Лейкоциты, всего: в т.ч.: – ПМЯ – монуклеарные	25,50±1,10 17,26±1,76 8,24±1,43	19,60±3,40* 7,13±2,67 12,47±3,76	24,80±0,90 10,17±1,53 14,63±1,10
Фибробласты	2,5±1,10	2,60±0,30	2,00±0,20*
Фиброциты	0,25±0,10	0,70±0,10*	0,62±0,40*

Этот состав регенерата на 21 сутки эксперимента определенно указывает на положительный прогредиентный характер и сохраняющиеся высокие темпы регенераторных процессов в ране у крыс с сахарным диабетом, получавших мазь с экстрактомпятилистника кустарникового. Важную информацию о степени коллагеногенеза можно получить при окраске препаратов по Ван-Гизон, при этом коллагеновые волокна интенсивно окрашиваются в красноватый цвет, что свидетельствует об их зрелости. Следует отметить, что при использовании мази с экстрактом пятилистника кустарникового они выглядели сформированными, были параллельно ориентированы в пучки (а) (Рисунок 5.11).

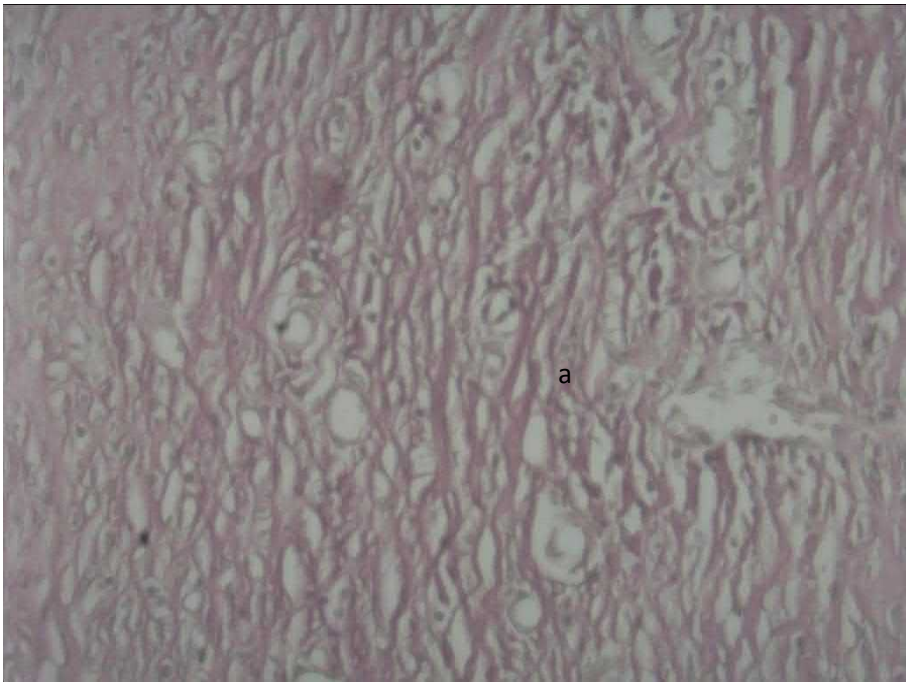


Рисунок 5.11 – Гистологическая картина заживления раны у крыс с сахарным диабетом. Сформировавшиеся коллагеновые волокна. 21 сутки эксперимента. Мазьс экстрактом пятилистника кустарникового, произведенная на аппарате NanoDeBee30. Окраска поВан-Гизон. 10х20

В контрольной группе животных коллагеновые волокна не складывались в параллельные пучки, они более грубые, расположены беспорядочно (а) (Рисунок 5.12).

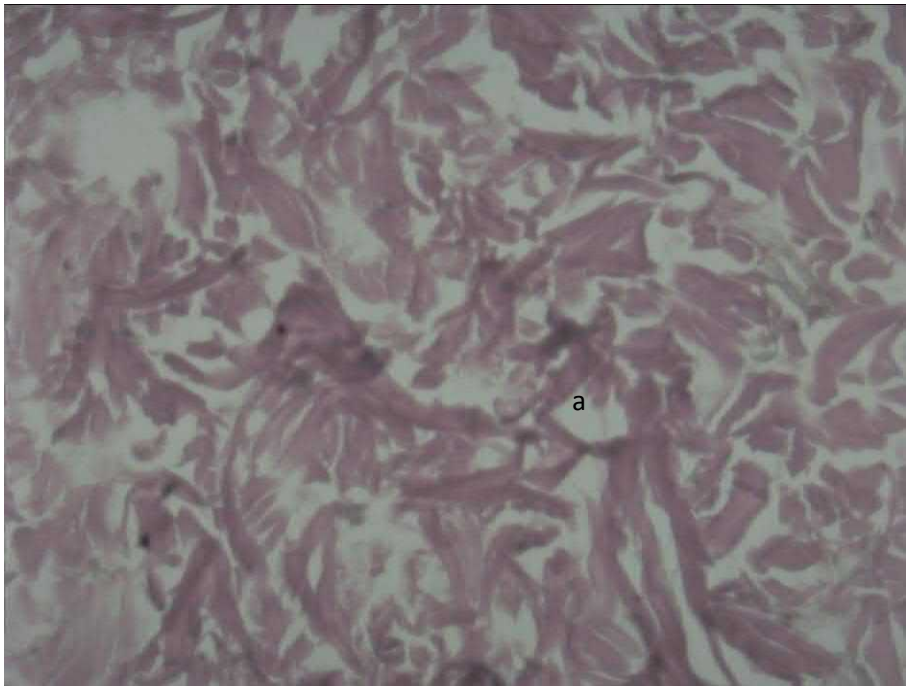


Рисунок 5.12 – Гистологическая картина заживления раны у крыс с сахарным диабетом – Беспорядочно расположенные коллагеновые волокна. 21сутки эксперимента. Глицерин-вазелиновая основа мази. Окраска по Ван-Гизон. 10х20

Выраженная стимуляция заживления раны на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового, обусловлены ингибирующим влиянием наличествующих в них биологически активных веществ на свободнорадикальное окисление биомакромолекул. Из представленных данных (Таблица 5.6) следует, что нанесение на плоскостную рану мази с экстрактом, изготовленной на аппарате NanoDeBee30, у крыс с сахарным диабетом снижает интенсивность ПОЛ и повышает антиоксидантный статус.

Таблица 5.6 – Влияние мази с экстрактом пятилистника кустарникового и линимента бальзамического на состояние свободнорадикальных процессов при раневом повреждении кожи у крыс с сахарным диабетом

Показатели, ед. измерения	Группы животных		
	Контроль (n=8)	Опытная 1 (n=10)	Опытная 2 (n=8)
7 сутки			
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	15,11±0,79	9,08±0,28*	9,50±0,55*
Каталаза, кат/л	7,93±0,10	8,45±0,17*	8,87±0,10*
GSH, ммоль/л	1,34±0,08	1,96±0,02*	1,76±0,11*
14 сутки			
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	8,41±0,10	7,83±0,11*	8,04±0,75
Каталаза, кат/л	7,88±0,15	9,44±0,17*	9,49±0,11*
GSH, ммоль/л	2,31±0,20	3,54±0,08*	2,63±0,11
21 сутки			
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	8,98±0,66	5,78±0,53*	6,61±0,46*
Каталаза, кат/л	12,32±0,05	15,00±0,59*	12,42±0,63
GSH, ммоль/л	3,33±0,22	4,29±0,24*	3,87±0,23

Данные, представленные в таблице, демонстрируют, что в первой опытной группе уровень ТБК-активных продуктов на 7 сутки снижается на 39,93%, на 14 сутки до – 7,83 мкмоль/л, а на 21 сутки – на 36,34%. Параллельно, отмечается повышение показателей антиоксидантного статуса. Избыточное

образование продуктов перекисного окисления липидов, характерное в первую фазу раневого процесса, на фоне применения мази с экстрактом пятилистника кустарникового эффективно сдерживается благодаря влиянию биологически активных веществ, в частности флавоноидов, содержащихся в действующем веществе используемого средства, со значимым повышением активности каталазы и уровня восстановленного глутатиона. Эффекты препарата сравнения – линимента бальзамического были менее выражены. Во второй группе крыс: активность каталазы в сыворотке нарастает медленными темпами, содержание восстановленного глутатиона на фоне применения линимента по Вишневскому мало изменялось в наших опытах. Очевидно, что высокореактивные соединения вызывают не только прямое цитотоксическое действие на поджелудочную железу [14, 17, 139], но и запускают механизмы повреждения сосудистой системы, что имеет прямой негативный эффект при заживлении ран у животных с сахарным диабетом. Существенная роль активации ПОЛ в патогенезе сахарного диабета подтверждается благоприятным эффектом антиоксидантных препаратов на процессы ранозаживления [4, 16, 60, 68, 94, 139, 198]. Ускоренное заживление раневых дефектов на фоне мази с экстрактом пятилистника кустарникового обусловлена стимуляцией синтетической активности клеток и клеточной численности в зоне раневого повреждения. Так, на фоне применения указанной мази повышается синтетическая активность клеток и их численность, что свидетельствует о стимуляции регенерационных процессов на фоне ингибирования свободнорадикальных реакций при повреждении кожи. Так из таблицы 5.7 видно, что активация пролиферативных процессов под влиянием мази с экстрактом пятилистника кустарникового обусловлены повышенной синтетической активностью клеток возросшей клеточности в зоне дефекта у крыс с сахарным диабетом.

Таблица 5.7 – Влияние мази с экстрактом пятилистника кустарникового на содержание нуклеиновых кислот у крыс с плоскостной раной на фоне сахарного диабета на 14 сутки (мкг/г)

Группы животных	РНК	ДНК
Контроль	0,658±0,001	0,831±0,001
Опытная 1	0,892±0,003*	0,914±0,002*
Опытная 2	0,681±0,002*	0,798±0,050*

Применение линимента бальзамического сопровождается менее выраженной активностью клеток, судя по содержанию РНК в гомогенате. Отличительной особенностью в ранозаживляющем действии мази с экстрактом пятилистника кустарникового в данном эксперименте является то, что несмотря на гипергликемию с ранних сроков наблюдаются активные процессы репаративной регенерации. Указанные изменения обусловлены, отчасти, подавлением активности свободнорадикальных процессов у крыс с сахарным диабетом. Так, на 7 сутки опыта наблюдали высокие уровни содержания ТБК-активных продуктов у животных с менее выраженной активацией антиоксидантной защиты организма. Лишь с 14 суток отчетливо заметны преимущества мази с экстрактом пятилистника кустарникового, а затем линимента бальзамического, что связано со снижением интоксикации и началом активации пролиферации клеток в зоне раневого дефекта.

Таким образом, использование мази с экстрактом пятилистника кустарникового сопровождается форсированием заживления ран у животных с сахарным диабетом. Повышенная окислительная нагрузка вызывает значительные нарушения в заживлении ран у крыс с сахарным диабетом Применение мази с экстрактом пятилистника кустарникового сопровождается усилением антиоксидантной защиты и повышением содержания нуклеиновых кислот, что обеспечивает высокий темп протекание

всех фаз раневого процесса, что позволило ускорить заживление ран при использовании мази с экстрактом пятилистника кустарникового. В основе стимулирующего ее действия на заживление ран при сахарном диабете лежат способности – активировать синтетическую функцию клеток на фоне снижения интенсивности свободнорадикальных процессов и активации антиоксидантной защиты организма благодаря содержанию в мази биологически активных веществ, прежде всего фенольных соединений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стимулирующее заживление ран действие мазей с экстрактом пятилистника кустарникового обусловлено преимущественно действием содержащихся в них веществ фенольной природы, способных ингибировать свободнорадикальное окисление биомакромолекул, оказывать антибактериальный эффект (Федосеева Г.М., 1998), стимулировать регенераторые процессы, ограничивать выраженность воспалительной реакции, поддерживать жидкостное состояние крови и другим свойствам. Доминирующие в указанном средстве фенольные соединения, а также витамины, полисахариды, макро- и микроэлементы обеспечивают выраженный ранозаживляющий эффект мази с экстрактом пятилистника кустарникового, включая стимуляцию заживления ран при сахарном диабете. Известно, что фенольные соединения выполняют защитную функцию, важнейшим элементом которой является антиоксидантный эффект [16, 17, 19, 68, 116, 119, 168, 196]. Ограничивая интенсивность свободнорадикального окисления биомакромолекул при раневых процессах, а также стабилизируя тканевые антиоксиданты, они способствуют восстановлению функции и структуры тканей посредством активного размножения клеток [88, 168]. Полученные данные о стимулирующем репаративную регенерацию действии мази с экстрактом пятилистника кустарникового согласуются с результатами исследований Г.Л. Билич (1985), который ранее показал ускоренную под влиянием флавоноидсодержащих препаратов регенерацию тканей. И.О.Убашеевым (1998) доказана активация митоза клеток при применении растительных средств, содержащих фенольные соединения, витамины, макро- и микроэлементы, при раневых повреждениях кожи, заболеваниях органов пищеварения. Стимуляция регенерации при применении мази с экстрактом пятилистника кустарникового при раневых повреждениях кожи у белых крыс, включая активацию репаративной регенерации на фоне сахарного

диабета, определенно связана с содержанием фенольных соединений. Именно вещества фенольной природы ингибируют возросшую пероксидацию, ограничивают интоксикацию и обеспечивают ускоренное заживление ран [68, 182, 205, 208]. Данные о выраженном ранозаживляющем действии полученных средств находят подтверждение в работах Е.Б. Бурлаковой (1970), И.О. Убашеева (1998), показавших зависимость заживления ран от интенсивности свободнорадикального окисления биомакромолекул [20, 21, 139, 175, 178, 180, 181]. Более того, Е.Б. Бурлакова (1970) выдвинула гипотезу о том, что свободнорадикальное окисление является регулятором митоза клеток, с его активностью связывает ограничение размножения клеток и замедление регенеративных процессов, а с торможением указанного окисления –ускорение репаративной регенерации. Полученные данные согласуются с этой точкой зрения. Наиболее выраженный ранозаживляющий эффект при применении мази с экстрактом пятилистника кустарникового, полученного с использованием высокоэффективного гомогенизатора, объясняется тем, что повышается биодоступность микрочастиц биологически активных веществ, близких к наночастицам, происходит равномерное распределение их в среде мазевой основы, обеспечивая непосредственное участие в регуляции окислительно-восстановительных процессов в зоне ран[164, 167, 172, 180]. О стимулирующем репаративную регенерацию эффекте при ранах на фоне использования микро- и наночастиц лекарственных препаратов отмечают Н.С. Пономарев и др. (2012), П.О. Бочков и др. (2016), О.А. Леганькова и др. (2016), Samadetal. (2012), F. Yangetal. (2013), Hongetal. (2014). Очевидно, что высокая дисперсность фенольных соединений способствует легкой отдаче электрона и протона, результатом чего является ингибирование радикальных реакций и, следовательно, стимуляция деления клеток, регенерации. Этим, вероятно, можно объяснить более выраженный эффект у группы животных, получавших мазь, изготовленную с использованием высокоэффективного гомогенизатора. При сахарном диабете у белых крыс гомогенизированная

мазь, наряду с ингибированием свободнорадикальных реакций, обеспечивает, очевидно нейтрализацию токсических агентов и тем самым способствует ститмуляции регенарации на этом фоне, активирует функцию клеток.

ВЫВОДЫ

1. Применение мазей с экстрактом пятилистника кустарникового, полученных фармакопейным способом и с использованием высокоэффективного гомогенизатора, в экспериментально-терапевтических дозах у крыс с раневыми повреждениями кожи характеризуется стимуляцией заживления ран, наиболее выраженного при использовании высокогомогенизированной мази.
2. Активация регенерации ран у крыс с сахарным диабетом на фоне применения гомогенизированной мази с экстрактом пятилистника кустарникового обусловлена нейтрализацией высокотоксичных перекисных продуктов, мобилизацией окислительно-восстановительных процессов в зоне повреждения.
3. Ранозаживляющее действие высокогомогенизированной мази по некоторым показателям превосходит эффект линимента бальзамического при ранах у крыс с сахарным диабетом.
4. В основе ранозаживляющего действия мазей с экстрактом пятилистника кустарникового лежат механизмы, ингибирующие свободнорадикальное окисление биомакромолекул, активирующие антиоксидантную защиту, повышающие на этом фоне синтетическую активность клеток и ускоряющие эпителизацию ран.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абаев, Ю.К. Раны и раневая инфекция : Справочник хирурга / Ю.К.Абаев. - М.: Феникс, 2006. - 426 с.
2. Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И. Человек и противоокислительные вещества / Ж.И. Абрамова, Г.И. Оксенгедлер. – Л., 1985. – 230с.
3. Адда Ф. Способствование рубцеванию в параимплантологии. Тромбоциты с высоким содержанием фибрина [Электронный ресурс] / Ф. Адда. – Стоматология сегодня. – 2003. - №6. – Режим доступа : http://www.dentstarlab.ru/frp.html.
4. Ажунова, Т.А. Гиполипидемическое и сахароснижающее действие комплексного растительного средства / Т.А. Ажунова, С.М. Николаев, В.Г. Банзаракшеев // Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии. – 2007. – № 2. – С. 27– 29.
5. Акопян, Ж.С. Влияние высокой концентрации глюкозы на способность мезенхимальных стромальных клеток контролировать рост кровеносных сосудов / Ж.С. Акопян, Г.В. Шаронов, Т.Н. Кочегура // Сахарный диабет. – 2011. - № 2 (51). – С.32-36.
6. Актовегин в лечении трофических язв нижних конечностей венозной этиологии / Р.Р. Хисматов, С.Л. Гусева, Н.Н. Макарова, В.В. Трухова // РМЖ. - 2008. - Т. 16, № 29. - С. 2022-2024.
7. Алексеева, Н.Т. Участие клеточного компонента в регенерации раны / Н.Т. Алексеева // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2014. – Т. 3, №1. – С. 9-15.
8. Алиев, М.А. Активные методы стимуляции регионарного кровообращения в комплексном лечении синдрома диабетической стопы / М.А. Алиев и др. // Анналы хирургии. – 2010. – № 1. – С. 35–36.
9. Аничков, Н.Н. Морфология заживления ран / Н.Н. Аничков, К.Г. Волкова, В.Г. Гаршин. - М. : Издательство АМН СССР, 1951. – 123 с.

10. Арутюнян, А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма : методические рекомендации / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина. – СПб. : Фолиант, 2000. – 104 с.
11. Атлас тибетской медицины – М.: Галарт, 1994. - 592 с.: ил.
12. Афиногенов, Г.Е. Антисептики в хирургии / Г.Е. Анфиногенов, Н.П. Елинов. - Л. : Медицина, 1987. – 144 с.: ил.
13. Багирова, В.Л. Разработка инновационных препаратов – основа повышения качества лекарственного обеспечения в республике Казахстан / В.Л. Багирова, Л.Г. Сатаева // Рос. мед. журн. – 2008. – № 3. – С. 33–37.
14. Балаболкин, М.И. Лечение сахарного диабета и его осложнений : Руководство для врачей / М.И. Балаболкин, Е.Н. Клебанова, В.М. Креминская. – М. : Медицина, 2005. – 512 с.
15. Балаховский, И.С. Границы нормы и точность лабораторных анализов / И.С. Балаховский // Клинич. лаб. диагностика. – 2007. – № 10. – С. 47–54.
16. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека / В.А. Барабой. – М., 1984. – 160с.
17. Барабой, В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений / В.А. Барабой. – Киев. : «Наукова думка», 1976. – 260 с.
18. Батырова А.С., Баканов М.И., Сурков А.Н. Состояние системы ремоделирования сосудов и ангиогенеза печени при хронических формах ее патологии / А.С. Батырова, М.И. Баканов, А.Н. Сурков // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – №1. – 2016. – С. 73 – 78.
19. Билич Г.Л. Фармакология регенерации: фило-, онтогенетические и биохимические аспекты // Сравнительные аспекты изучения регенерации и клеточной пролиферации:тез. VII Всесоюз. конф. по

вопросам регенерации и клеточного деления. – М., 1985. – Ч. 1. – С. 17-20.

20. Бурлакова, Е.Б. Действие сверхмалых доз биологических веществ и низкоинтенсивных физических факторов / Е.Б. Бурлакова, А.А. Конрадов, Е.Л. Мальцева // Проблемы регуляции в биологических системах : сб. статей ; под ред. А.Б. Рубина. – Москва, Ижевск. – 2007. – 480 с.
21. Бурлакова, Е.Б. Исследование физико-химических свойств липидов при некоторых патологических состояниях): автореф. дис. … докт. биол. наук : 03.00.13 / Бурлакова Елена Борисовна – Москва, 1970. – 49 с.
22. Бурлакова, Е.Б. Механизмы воздействия сверхнизких конценртаций химических агентов на биосистемы [Электронный ресурс] / Е.Б. Бурлакова. - Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук. - М. – 2009. – Режим доступа : www.biophys.ru/archive/congress2009/abs-p96.pdf
23. Винник, Ю.С. Особенности патогенеза длительно незаживающих ран /Ю.С. Винник и др. // Новости хирургии. - 2011. – № 3. – С. 101–110.
24. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков, Г.М. Франк. - М. : Наука, 1972. – 252 с.
25. Влияние препарата ионизированного серебра на репаративную регенерацию кожи и подлежащих тканей при моделировании термических и химических ожогов у крыс / Н.С. Пономарев, Ю.С.Макляков и др. // Биомедицина. – 2012. – Т.1, №1. – С. 143 – 148.
26. Военно-полевая хирургия : Учебник / под ред. Е.К. Гуманенко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 768 с.
27. Герасимов, А.Н. Медицинская статистика : Учебное пособие / А.Н. Герасимов. - М. : Мед. информ. агентство, 2007. – 480 с

28. Гистология, эмбриология, цитология : учебник для ВУЗов / под ред. Э.Г. Улумбекова, Ю.А. Чепышева - 3-е изд. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 480с.: ил.
29. Горюнов, С.В. Гнойная хирургия : Атлас / С.В. Горюнов, Д.В. Ромашов, И.А. Бутивщенко. - М. : Бином, 2004. – 558с.
30. Гостищев, В.К., Общая хирургия : Учебник для ВУЗов / В.К. Гостищев. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2002. - 608 с.
31. Гуманенко Е.К. Практикум по военно-полевой хирургии / Е.К. Гуманенко. - М. : Фолиант, 2006. - 312 с.
32. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть 1. Общая характеристика процесса / Е.Ю. Гусев, В.А. Черешнев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2012. - №4. – С.3 – 14.
33. Давыдовскимй, И.В. Общая патология человека / И.В. Давыдовский. - 2-е изд., перераб. и доп. – М. : 1969. – 610 с.
34. Действие высокодисперсного порошка цинка на синтез ДНК в клетках регенерирующей печени мышей / Е.Б.Бурлакова, Л.Д. Фаткуллина, Н.Н. Глущенко и др. // Физикохимические и биологические основы функционирования живых систем : сб. статей. - М. : Наука. - 1985. - С.- 17-19.
35. Древние цивилизации / С.С. Аверинцев, В.П. Алексеев, В.Г. Ардзинба и др. ; под общ. ред. Г.М. Бонгард-Левина. – М. : Мысль, 1989. – 479 с.: с ил.
36. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) ETS № 123.
37. Ефуни, С.Н. Руководство по гипербарической оксигенации / С.Н. Ефуни. - М. : Медицина, 1986. –413с.

38. Зайцева, Е.Л. Роль факторов роста и цитокинов в репаративных процессах в мягких тканях у больных сахарным диабетом / Е.Л. Зайцева, А.Ю. Токмакова // Сахарный диабет. – 2014. – № 1. – С.57–62.
39. Зайчик, А.Ш. Общая патофизиология с основами иммунопатологии / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2008. – 656 с.
40. Зайчик, А.Ш. Основы общей патологии : Учебное пособие для медицинских ВУЗов / А.Ш.Зайчик, Л.П.Чурилов. - СПб. : Элби, 1999. – 624 с.
41. Зайчик, А.Ш. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения) / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2007. – 768 с.
42. Зарубина, И.В. Молекулярная фармакология антигипоксантов / И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов. – СПб. : Изд-во Н-Л, 2004. – 368 с.
43. Звягинцева Т.В. Метаболитотропная терапия хронических ран / Т.В. Звягинцева, И.В. Халин. - Харьков, 2011. - 183 с.
44. Зилов, В.Г. Влияние разнодозового введения медиаторов на механизмы адаптации / В.Г. Зилов, А.А. Хадарцева, В.Л. Морозов, К.А. Хадарцева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - М. - 2014. - Т. 158, №12. - С. 665-669.
45. Значение клеток крови фиброцитов при травме, развитии рубца и келоида / Ю. А. Петрович и др. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2008. - № 4. - С. 31-34 .
46. Использование факторов роста в восстановлении костной ткани : обзорная статья / В.С. Казакова, В.П. Чуев, О.О. Новиков, Е.Т. Жилякова и др. // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина, Фармация ; №4 (99). Выпуск 13/2. – 2011. – С. 5-12.
47. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. - М. : МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.

48. Кишкун, А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А.А. Кишкун. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 800 с.
49. Клебанов, Г.И. Антиоксидантная активностьингибиторов свободнорадикальных реакций, используемых в перевязочном материале для лечения ран / Г.И.Клебанов, О.Б. Любицкий и др. // Биомедицинская химия. - 2006. - Т. 52, вып. 1. – С. 69–82.
50. Клиническая фармакология. Избранные лекции. / С.В. Оковитый, В.В. Гайворонская, А.Н. Куликов, С.Н. Шуленин. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 608 с.
51. Клиническая хирургия : Национальное руководство: в 3 т. / под. ред. В.С. Савельева, А.И. Кириенко. – М. : ГЭОТАР–Медиа, 2008–2010.
52. Ключников, С.О. Антиоксидантное средство, проверенное временем / С.О.Ключников // Лечащий врач. – 2005. – № 1. – С. 72–73.
53. Кованов, В.В. Оперативная хирургия и топографическая анатомия : Учебник / В.В.Кованов. – М. : ГЭОТАР-Медиа, - 2001. – 576 с.
54. Колсанов, А.В. Новое в лечении ран и раневой инфекции кожи и мягких тканей / А.В. Колсанов, А.В. Толстов, А.С. Воронин // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. - №3. – С. 146.
55. Коржевский О.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники / О.Э. Коржевский, А.В. Гиляров // СПб, 2010. – 95с.
56. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. - №1. – С. 16 – 19.
57. Коррекция дефицита витаминов и микроэлементов у детей / Н.А. Коровина, И.Н. Захарова, А.Л. Заплатников, Е.Г. Обыночная // Медицинский совет. – 2013.– №8. – С. 94 – 98.
58. Косарев, В.В. Испытания лекарственных средств и их оценка с позиции медицины, основанной на доказательствах / В.В. Косарев, В.С. Лотков, С.А. Бабанов // Клинич. фармакология и терапия. – 2006. – Т. 15, № 5. – С. 92–96.

59. Косинец, А.Н. "ФитоМП" в комплексном лечении трофических язв // А.Н. Косинец, А.В. Фролова, В.П. Булавкин, В.И. Денисенко // Новости хирургии. - 2006. – Т.14, № 2. - С. 26-31.

60. Косинец, А.Н. "ФитоМП". Целесообразно ли применение фитосредств при хирургической инфекции? / А.Н. Косинец, А.В. Фролова, В.П. Булавкин // Новости хирургии. - 2006. – Т. 14, № 1. - С. 20-29.

61. Костина, Г.А. Использование гиалуроновой кислоты в медицине и косметологии / Г.А. Костина, Н.Н. Рындаева // Научный альманах «Косметика и медицина». – 1999. - № 2 – С. 53—57.

62. Кошевенко, Ю.Н. Кожа человека Том II. Варианты патогенного воздействия на структуру и функции кожи, причины, патофизиологические основы и принципы лечения ее болезней / Ю.Н. Кошевенко. - М. : Медицина, 2008.- 756с.: ил.

63. Кошевенко, Ю.Н. Кожа человека. Том I. Структура, физиология и предназначение функциональных элементов кожного органа человека / Ю.Н. Кошевенко. - М. : Медицина, 2012. - 360 с.: ил.

64. Крепкова, Л.В. Экспериментальное и клиническое изучение фитопрепаратов из расторопши пятнистой / Л.В. Крепкова, А.А. Шкаренков, Т.А. Сокольская // Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии. – 2008. – № 4. – С. 3–6.

65. Кузин, М.И. Раны и раневая инфекция : Руководство для врачей / М.И.Кузин, Б.М.Костюченок. – 2-е изд., перераб. и доп. - М. : Медицина, 1990. – 592 с.

66. Кузнецов, Н.А. Щадящие хирургические вмешательства и интерактивные повязки в лечении инфицированных ран / Н.А.Кузнецов. В.Г. Никитин // CONSILIUM medicum: Хирургия (прилож). - 2006. - Т. 8, № 2. – С. 39-46.

67. Курганский, К.Н. Использование криогенной стимуляции в лечении хронических ран / К.Н. Курганский, В.Л. Климин // Тезисы

всероссийской 68-ой итоговой студенческой конференции им. Н.И.Пирогова. – Томск, 2009. – С.34-36.

68. Куркин, В.А. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений [Электронный ресурс] / В.А.Куркин, А.В.Куркина, Е.В.Авдеева // Фундаментальные исследования. – 2013. - №11 (с.9). – С.1897-1901. – Режим доступа: URL:http://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=33478

69. Ларичев, А.Б. Вакуум-терапия в лечении хронических ран : методическое пособие для врачей / А.Б. Ларичев, А.В. Антонюк, В.С. Кузьмин ; Федер. агентство по здравоохранению и соц. развитию Рос. Федерации, ГОУ ВПО Яросл. гос. мед. акад. Федер. агентства по здравоохранению и соц. развитию. - Ярославль : Аверс-Плюс, 2007. - 43 с. : ил.

70. Липшиц, Р.У., Звягинцев, Т.В. Освобождение гистамина и серотонина и проницаемость сосудов в очаге острого асептического воспаления /Р.У. Липшиц,Т.В.Звягинцев //Физиол. журн. -1992. -Т.28, №1. -С.107 -109.

71. Липшиц, Р.У. Межклеточные взаимодействия в раневом процессе / Р.У. Липшиц, Т.В. Звягинцева // Клин. аспекты теор. мед. - 1999. - № 4. – С. 120 - 123.

72. Литвицкий, П. Ф. Патофизиология: учебник : в 2 т / П.В. Литвицкий. - 3-е изд., испр. и доп. – М. : ГЭОТАР–Медиа, 2006. – Т. 2. – 808 с.

73. Луценко, М.Т. Цитофизиология / М.Т. Луценко. - Новосибирск-Благовещенск, 2011. – 216 с.

74. Мазо, В.К. Растительные адаптогены в специализированном питании / В.К. Мазо, В.В. Володин // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии : Материалы XXI междунар. конф. и дискуссион. науч. клуба. - Ялта – Гурзуф ; Крым, 2014. - С. 124-127.

75. Мазуров, А.В. Физиология и патология тромбоцитов / А.В.Мазуров. – М. : Литтерра, 2011. - 480с. : ил.
76. Макаров, В.Г. Изучение механизма антиоксидантного действия витаминов и флавоноидов / В.Г. Макаров, Н.М. Макарова, А.И. Селезнева // Вопросы питания. – 2005. – Т. 74, № 1. – С. 10–13.
77. Марчукова, С.М. Медицина в зеркале истории / С.М. Марчукова. - М. : Европейский дом, 2003. - 272 с.
78. Маршалл, В.Дж. Клиническая биохимия : Руководство / В.Дж. Маршалл, С.К.Бангерт ; пер. с англ. Под ред. С.А. Бережняка. – 6-е изд. перераб. и доп. - М. : Бином ; СПб. : Диалект, 2011. - 408 с. : ил., табл.
79. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Мащковский. - 16-е изд. перераб. испр. и доп. - М. : Новая волна, 2012. – 1216 с.
80. Маянский, Д.Н. Хроническое воспаление : Монография / Д.Н. Маянский. - М. : Медицина, 1991. – 270с. : ил.
81. Медицинские лабораторные технологии : Руководство по клинической лабораторной диагностике : в 2 т. / В.В. Алексеев и др. ; под ред. А.И. Карпищенко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Т. 2. – 792 с.
82. Меерсон, Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшенникова. - М. : Медицина, 1988. – 252 с. : ил.
83. Международные рекомендации (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (разработан и принят в 1985 г. Советом международных научных организаций).
84. Меньщикова, Е. Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Б. Е. Меньщикова и др. – Новосибирск : АРТА, 2008. – 284 с.
85. Метаболический синдром / О.В. Александров, Р.М. Алехина, С.П. Григорьев и др. // Рос. мед. журн. – 2006. – № 6. – С. 50–55.

86. Миллер, А.В. Механизмы праймирования респираторного взрыва нейтрофилов. Афтореф. дис. … канд. биол. наук: 03.00.02 / Миллер Анна Викторовна, Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, 2004. – 126 с.

87. Минченко, А.Н. Раны. Лечение и профилактика осложнений: Учебное пособие для ВУЗов / А.Н. Минченко. - СПб. : СпецЛит, 2003. – 207 с.

88. Миронова, Г.Д. Влияние некоторых флавоноидсодержащих препаратов растительного происхождения на активность митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала / Г.Д. Миронова, М.И. Шигаева, Н.В. Белослудцева и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2008. – Т. 146, № 8. – С. 195–199.

89. Моисеев, В.С. Проблемы клинических исследований новых лекарств как основы современной медицины, основанной на доказательствах / В.С. Моисеев // Терапевт. арх. – 2008. – Т. 80, № 12. - С. 5–10.

90. Намзалов, Б.Б. Этнобиотические исследования. Справочник растений бурятской народной медицины / Б.Б. Намзалов, Т.Г. Басхаева. - Улан-Удэ. : Изд-во Бур. гос.ун-та, 2008. - 183с.

91. Некоторые аспекты изучения биологически активных веществ и фармакологических свойств лекарственных растений / В.Д. Белоногова, Н.С. Корепанова, Г.И. Олешко и др. // Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии. – 2003. – № 4. – С. 16–20.

92. Немцова, Е.Р. Антиоксиданты в интенсивной терапии / Е.Р. Немцова, М.М. Уткин, А.А. Звягин и др. // Рос. мед. журн. – 2006. – № 4. – С. 18–22.

93. Нестеренко, В.Г. Нативный нереконструированный коллаген «Коллост» – физиологическая матрица для коррекции дефектов кожи / В.Г. Нестеренко, А.А. Кубанова, А.А. Сафоян и др. ; Санкт–Петербургский институт красоты, ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва : Тезисы 2–го форума медицины и красоты НАДК. М., 2009.

94. Николаев С.М. Растительные лекарственные препараты при повреждениях гепатобилиарной системы / С.М. Николаев. – Новосибирск, «Наука», 1992. – 155с.

95. Николаев, С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний / С.М. Николаев. – Улан-Удэ : Изд - во БНЦ СО РАН, 2012. – 286с.

96. Николаева, И.Г. Серия. Лекарственные растения тибетской медицины. Пятилистник кустарниковый (Курильский час кустарниковый) / И.Г. Николаева, В.Б. Хобракова, М.М. Арьяева. – Улан-Удэ : Изд - во БНЦ СО РАН, 2001. – 110с. : ил.

97. Оболенский, В.Н. Применение тромбоцитарных факторов роста и коллагеновых биопрепаратов в лечении больных с хроническими трофическими язвами различной этиологии / В.Н. Оболенский, Д.А. Ермолова // Хирургия. - 2012. - №5. - С. 42-46.

98. Оболенский, В.Н. Хроническая рана: обзор современных методов лечения / В.Н. Оболенский // Русский медицинский журнал. Рубрика Хирургия. - 2013г. – Т. 21, №5 - С. 282-289.

99. Оболенский, В.Н., Вакуум–ассистированное лечение венозных трофических язв нижних конечностей / В.Н.Оболенский, В.Г. Никитин, Н.А.Кузнецов // Флебология. - 2011. - № 2, Т. 5. - С. 58–63.

100. Оковитый, С.В. Клиническая фармакология антигипоксантов и антиоксидантов / С.В. Оковитый, С.Н. Шуленин, А.В. Смирнов. – СПб. : ФАРМиндекс, 2005. – 72 с.

101. Остаточные длительно существующие ожоговые раны: определение и особенности лечения [Электронный ресурс] / А.Э. Бобровников и др. - Комбустиология. - 2010. - № 40. – Режим доступа : http://www.burn.ru/all.

102. Очерки о нейтрофиле и макрофаге/ А.Н.Маянский, Д.Н.Маянский; отв. ред.В.П.Казначеев; АН СССР, Сибирское отд-ние, АМН СССР, Сибирское отд-ние, Институт клинической и

экспериментальной медицины. – 2 изд., перераб. и доп. – Новосибирск : Наука, Сибирское отделение, 1989. – 340 с.

103. Павлов, С.Е. Адаптация / С.Е. Павлов. - М. : «Паруса», 2000. – 282с.

104. Патологическая анатомия болезней плода и ребенка: Руководство для врачей : в 2 т. / под ред. Т.Е.Ивановской, Б.С.Гусман. - М. : Медицина, 1981. – 2 т.

105. Патофизиология : учебник : в 2 т. / под ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольдберга, О.И. Уразовой. - 4-е изд., перераб. и доп. - ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 2 т.

106. Перекисное окисление липидов и стресс / В.А.Барабой, И.И.Брехман, В.Г.Голотин и др. - СПб. : Наука, 1992. - 149 с.

107. Петров, Ю.П. Влияние коллагена 1 типа и фибронектина на морфологию мезенхимальных клеток стромы человека в культуре / Ю.П. Петров, Д.В.Кухарёва, Т.А. Крылова // Цитология. – 2013. – Т. 55, № 7. – С. 452–461.

108. Пономарева-Астраханцева, Л.З. Метод экспериментального получения ран и язв / Л.З.Пономарева-Астраханцева // Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований. - М., 1954. – С.66-73.

109. Пономарёва, Е.И., Молохова Е.И., Хохлов А.К. Применение эфирных масел в фармации [Электронный ресурс]/ Е.И. Пономарёва, Е.И. Молохова, А.К. Хохлов – Современные проблемы в науке и образовании. – 2015.– №4. – Режим доступа: http://www.science-education.ru

110. Попова, Л.Н. Как изменяются границы вновь образующегося эпидермиса при заживлении ран / Л.Н. Попова // Автореф. дисс…..канд. мед. наук. – Воронеж, 1942. – 18 с.

111. Пюльман Б., Пюльман А., Квантовая биохимия / Б.Пюльман, А. Пюльман.– М. : Мир, 1965. – 523с.

112. Раны и их лечение в тибетской медицине / И.О. Убашеев, В.Э. Назаров-Рыгдылон, С.М. Баторова и др. - Новосибирск: Наука, 1990. - 192 с.

113. РЛС Доктор. – М. : ООО «РЛС-2004», 2004. – 960 с.

114. Руководство к практическим занятиям по физиологии человека : Учебное пособие для ВУЗов физической культуры / под общ. ред. А.С.Солодкова ; НГУ им.П.Ф.Лесгафта – 2-е изд., испр. и доп. – М. : Советский спорт, 2011. – 200 с. : ил.

115. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / редкол. : А.Н. Миронов (председатель ред. коллегии) и др. ; Минздравсоцразвития Росии, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения». – М., 2012. – 944с.

116. Рустамова, Р.П. Влияние некоторых флавонов на энергетический метаболизм митохондрий (сообщ. 2) / Р.П. Рустамова, Г.М. Иргашева, З.А. Хушбактова и др. // Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии. - 2004. - № 2. - С. 16–20.

117. Сазанчук, В.С. Лекарственные средства и фитопрепараты ранозаживляющего действия : Лекция [Электронный ресурс] / В.С. Сазончук, Ж.М. Дергачева. – Витебск, 2012. – Режим доступа : http://www.allbest.ru

118. Саркисов, Д.С. Морфология гнойной раны в процессе лечения в регулируемой среде / Д.С. Саркисов, Б.М. Костюченок, Л.И. Музыкант // Арх. патол. – 1981. – Т. 43, № 8. – С. 34-41.

119. Светухин, А. М. Клиника, диагностика и лечение хирургического сепсиса. Автореф. дис. … докт. мед. наук: 14.00.27/ Светухин Алексей Михайлович, АМН СССР, Институт хирургии им. А.В.Вишневского. - М., 1988. – 36с.

120. Свободнорадикальные процессы и воспаление (Патогенетические, клинические и терапевтические аспекты) : Учебное

пособие для врачей / Т.В. Сологуб, М.Г. Романцева, Н.В. Кремень и др. - М. : Академия естествознания, 2008. – 68 с.

121. Северин, Е.С. Биохимия: учебник / Е.С. Северин. - 5-е изд., исп. и доп. - М. : ГЭОТАР–Медиа, 2012. - 768 с.

122. Сергиенко, В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 304с.

123. Серов В.В. Воспаление : Руководство для врачей / под. ред. В.В. Серова, В.С. Паукова. - М. : Медицина, 1995. – 640 с. : с ил.

124. Сорокина, Т.С., История медицины / Т.С.Сорокина. - М. : Академия, 2008. – 560 с.

125. Сравнительная характеристика антиоксидантов растительного происхождения в составе жировых эмульсионных продуктов / Н.В. Печерская, В.Г. Байков, А.А. Кочеткова и др. // Вопросы питания. – 2006. – Т. 75, № 4. – С. 20–22.

126. Сравнительная характеристика тромбоцитарных лизатов от разных доноров / Н.В. Калмыкова, Е.В. Скоробогатая, М.А. Берестовой и др. // Клеточные технологии в биологии и медицине. - 2011. - № 2. - С. 114–117.

127. Стейниер, Р. Мир микробов: монография : в 3-х т. / Р. Стейниер, Э. Эдельберг, Дж. Ингрэм. - М. : Мир, 1979. – 3 т.

128. Стручков, В.И. Руководство по гнойной хирургии / В.И. Стручков, В.К. Гостищев, Ю.В. Стручков - М. : Медицина, 1984. – 512 с.

129. Сычев, Д.А. Клиническое значение фармакокинетического взаимодействия лекарственных средств и фитопрепаратов / Д.А. Сычев, В.Г. Кукес, Е.В. Ших и др. // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2006. – Т. 69, № 2. – С. 75–79.

130. Таганов, А.В. Морфологические отличия тканей гипертрофических и келоидных рубцов / А.В. Таганов // Актуальные вопросы дерматологии и венерологии. Сборник трудов юбил. конф. - 1997. - С. 114-117.

131. Телль, Л.З. Патологическая физиология: Интерактивный курс лекций / Л.З. Телль, С.П. Лысенков, С.А. Шастун. – М.: Мед. информ. агентство, 2007. – 672 с.

132. Темнов, А.А. Контроль продукции активных форм кислорода лейкоцитами позволяет прогнозировать устойчивость организма к стрессорному повреждению / А.А. Темнов, Н.А. Онищенко // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2007. – № 2. – С. 9–11.

133. Теория и практика местного лечения гнойных ран (проблемы лекарственной терапии) / Под ред. Б.М.Даценко. – Киев: Здоров'я, 1995. – 383с.

134. Токаев, Э.С. Биологически активные вещества, улучшающие состояние печени / Э.С. Токаев, Н.П. Блохина, Е.А. Некрасов // Вопросы питания. – 2007. – Т. 76, № 4. – С. 4–9.

135. Токмакова, А.Ю. Современная концепция ведения больных с хроническими ранами и сахарным диабетом / А.Ю. Токмакова, Г.Ю. Страхова, Г.Р. Галстян // Сахарный диабет. - 2005. - № 1. – С.42 – 49.

136. Трофические язвы нижних конечностей – обзор проблемы / В.Н. Оболенский и др. // РМЖ. Рубрика Хирургия. - 2009. - Т. 17, № 25. - С. 1647–1662.

137. Тушмалова, Н.А. Влияние малых доз пирацетама на условно-рефлекторную память крыс / Н.А. Тушмалова, Л.Л. Прагина, А.Н. Иноземцев и др. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1995. - № 7. - С. 60-61.

138. Тушмалова, Н.А. Поведение донервных организмов индикатор эффекта сверхмалых доз / Н.А. Тушмалова, Е.Б. Бурлакова, Н.Е.

Лебедева и др. // Вестн. МГУ. - Сер. 16. Биология. – 1998. - № 4. - С. 24-25.

139. Убашеев, И.О., Природные лекарственные средства при повреждениях органов и тканей / И.О. Убашеев. - Улан-Удэ, издательство БНЦ, Ассоциированный член Издательства СО РАН, 1998. – 224 с. : ил.

140. Учебник тибетской медицины – Репринтное воспроизведение издания от 1908 года. Приложения, перевод с тиб. и мон. Позднеева А.М. - Л.: Экополис и культура, 1991. – 498 с.

141. Факторы, влияющие на биологическую доступность лекарственных препаратов / П.О. Бочков, Р.В. Шевченко и др. // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. – №1. – с.12-20.

142. Фалер, Д.М. Молекулярная биология клетки: руководство для врачей : пер. с англ. / Д.М.Фалер, Д. Шилдс. – М.: БИНОМ, 2006. – 256 с.

143. Фармакологические методы коррекции стресса / Л.А. Гойкова, Е.В. Зорян, Е.Н. Анисимова и др. // Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии. – 2004. – № 3. – С. 3–5.

144. Фармакотерапия, местные и дополнительные методы лечения при синдроме диабетической стопы / В.Н. Оболенский, В.Г. Никитин, П.Ш. Леваль и др. // Фарматека. – 2012. - №10. – С. 35-41.

145. Федосеева, Г.М. Фармакогностическое исследование растений родов POTENTILLA L. и PENTAPHYLLOIDES DUN., произрастающих в Восточной Сибири: автореферат дис. ... доктора фармацевтических наук: 15.00.02 / Федосеева Галина Михайловна. - Иркутский гос. мед. ун-т. - Москва, 1998. - 44 с.

146. Фенольные соединения и их биологические функции/под. Ред. Эмануэль М.Н.–М. : Мир, 1968. – 311с.

147. Физиология адаптационных процессов : Руководство по физиологии / под ред. Ф.З.Меерсона. - М. : Наука, 1989. – 635с.

148. Фролова, А.И. Эфирные масла – перспективные источники при разработке антимикробных лекарственных средств для местного лечения гнойных ран / А.И.Фролова // Вестник ВГМУ. – Витебск. – 2010. – Т.9, №1. – С. – 1-10.

149. Хаитов, Р.М., Иммунология : структура и функция иммунной системы : Учебное пособие/ Р.М. Хаитов. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 280с.

150. Харкевич, Д.А. Фармакология: учебник / Д.А.Харкевич. - 8-е изд., перераб., доп. и испр. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. -736 с.

151. Хирургическая коррекция мочевых свищей у женщин с использованием биоматериала «Коллост» / О.Б. Лоран, А.В. Серегин, Л.А. Синякова и др. : Материалы 2–го регионального научного форума «Мать и дитя». - Сочи, 28–30 апреля 2008 г. - С. 171.

152. Хирургическая обработка гранулирующих ран у обожженных / А.А. Алексеев, О.А. Кудзоев, П.Н. Татюма и др. // Комбустиология на рубеже веков: междунар. конгр. - М. - 2000. – С.131-132.

153. Хитров, Н.К. Руководство по общей патологии человека : Учебное пособие для студентов старших курсов, интернов, ординаторов, аспирантов и начинающих преподавателей-патологов / Н.К.Хитров, Д.С.Саркисов, М.А.Пальцев. - М. : Медицина, 1997. – 728 с.

154. Храмилин, В.Н. Современные аспекты местного лечения хронических ран нижних конечностей у больных сахарным диабетом / В.Н.Храмилин // Научно–практический медицинский журнал ЭНЦ РАМН. - 2005. – Т. 8, №4. – С. 26-30.

155. Чекалина, Е.Н. Роль тромбоцитарного концентрата в восстановлении и регенерации тканей [Электронный ресурс] /

Е.Н.Чекалина // Дентал Юг. 2005. - № 3(32). – Режим доступа : http://www.stom.ru/kuban/article/32/art06.shtml.

156. Чернух, А.М. Воспаление : очерки патологии и экспериментальной терапии / А.М.Чернух. – М.: Медицина, 1979. – 448с.: ил.

157. Чжуд-ши, т.III «Тантра наставлений» - перевод с тиб. и примеч. Дашиева Д.Б. – Улан-Удэ, 1991г

158. Чиков, П.С. Лекарственные растения - путь к здоровью / П.С.Чиков. - М. : Науч. Издат. Центр «Инженер», 1997. - 489с.: ил.

159. Шанин, Ю.Н. Антиоксидантная терапия в клинической практике : теоретическое обоснование и стратегия проведения / Ю.Н. Шанин, В.Ю. Шанин, Е.В. Зиновьев. – СПб. : ЭЛБИ–СПб, 2003. – 128 с.

160. Шепелев, А.П. Применение сверхмалых доз химических элементов в медицине / А.П. Шепелев, Л.А. Шовкун, П.А. Шепелев. – Ростов-на Дону, Ростовкнига, 2014. – 492с.

161. Шехтер, А.Б. Морфологическая характеристика рубцовых тканей и новая клинико-морфологическая классификация рубцов кожи человека / А.Б. Шехтер, А.Е. Гуллер // Арх. пат. - 2008. - Т. 70, №1. - С.6 - 13.

162. Шушкова, И.Г. Популяционное исследование общей антиоксидантной активности сыворотки крови и мочи человека / И.Г. Шушкова, О.В. Островский, В.Г. Зайцев // Клинич. лаб. диагностика. – 2012. – № 5. – С. 12–16.

163. Экспериментальная скрининговая оценка стресспротекторного действия фитопрепаратов / Р.Н. Аляутдин, Б.К. Романов, М.Д. Гусейнов, П.В. и др. // Рос. мед. журн. – 2008. – № 3.– С. 29-32.

164. Экспериментальное исследование влияния нанодисперсного диоксида чезия на раневую репарацию / О.А. Легонькова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 162, №9. – С. 382-387.

165. A platelet derived growth factor delivery system for bone regeneration / J.J. Delgado, E. Sánchez, M. Baro et al. // J Mater Sci Mater Med. – 2012. – Vol. 29, № 8. – P.1903–1912.

166. A proposed assessment framework for developing best practice recommendations for wound assessment / D.H. Keast, K. Bowering, A.W. Evans et al. // Wound Rep Reg. – 2004. – № 13. – P. 1–17.

167. Adzick, N.S. Scarless fetal healing. Therapeutic implication / N.S.Adzick, M.N.Longaker// Ann Surg. - 1992. – Vol. 21(1). – P. 3 - 7.

168. Aleeva G.N., Zhuravleva M.V., Khafizyanova R.K. The role of excipients in determining the pharmaceutical and therapeutic properties of medicinal agents (review) / G.N. Aleeva, M.V. Zhuravleva, R.K. Khafizyanova // Pharm. Chem. J. – 2009. – Vol. 43, №4. – P. 230-234.

169. Alster, T.S. Laser treatment of hypertrophic scars, keloids, and striae // Dermatol. Clin. - 1997. – Vol. 15(3). – P. 419—429.

170. Alster, T.S. Treatment of scars: a review / T.S.Alster, T.B.West //Ann. Plast.Surg. – 1997. – Vol.39 (4). – P. 418 – 432.

171. Andrae J. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine / J. Andrae, R. Gallini, C. Betsholtz // Genes Dev. – 2008. – Vol. 22. № 10. – P.1276–1312.

172. Angiogenesis in chronic inflammatory lives diseases / J. Medina, A.G. Arroyo et al. // J. Hepatology. – 2004. – Vol. 39 (5). – P. 1185 – 1195.

173. Armstrong, D. Negative pressure wound therapy after partial diabetic foot amputation: a multicentre, randomised controlled trial / D. Armstrong, L. Lavery // Lancet. – 2005. – № 366. – P. 1704–1710.

174. Autologousplatelets as a source of proteinsforhealingand tissue regeneration / E. Anitua, I. Andia, B. Ardanza et al. // ThrombHaemost. – 2004. –Vol. 91, № 1. – P. 4-15.

175. Ballaun, C. Human kerotinocytes express the three major splice forms of vascular endothelial growth factor/ C.Ballaun, W.Weniger, A.Uthman et al.// J. Invest. Dermatol. – 1995. – Vol. 104 (1). - P. 7 - 10.

176. Bergan, J. Venous ulcers / J. Bergan, C. Shortell // Elsevier Academic Press publications. – 2007. –Section II. Chapter 9. –P. 105–112.

177. Bolton, J. Operational definition of moist wound healing /J. Bolton // J Wound Ostomy Continence Nurs . – 2007. – № 34. – 23-29.

178. Brown, D.L. Apoptosis down-regulates inflammation under the advancing epithelial wound edge: delayed patterns in diabetes and improvement with topical growth factors / D.L. Brown, W.W. Kao, D.G. Greenhalgh // Surgery. – 1997. – № 121. – P. 372-380.

179. Bryan, J. Moist wound heling: a concept that changedour practice / J. J. Bryan // Wound Care. – 2004. – № 13. – P. 227-228.

180. Cerium fluoride nanoparticles protect cell against oxidative stress / A.B. Sherbakov, N.M. Zholac et al. // Material Sci. Eng. C. – 2015. – Vol. 50. – P. 151 – 159.

181. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds / D.R. Knighton, V.D. Fiegel, K.F. Ciresi et al. // Ann. Surg. – 1986. – Vol. 204. – P. 322–330.

182. Collier, M. Wound bed preparation: theory to practice / M. Collier // Nurs Stand. – 2003. – № 17. – P. 45-52.

183. Consensus statement on negative pressure wound therapy for the management of diabetic foot wounds / G.Andros, D.G. Armstrong, C. Attinger et al. // Vasc. Dis Manage. – 2006. – Suppl., July.

184. Di L., Fish P.V., Mano T. Bridging solubility between drug discovery and development / L. Di, P.V. Fish, T. Mano // Drug discovery today. – 2012. –Vol. 17, №9. – P. 486 – 495.

185. Dissolution enhancement of gliclazide uging in situ micronization by solvent change method / L. Varchosaz, R. Talari et al.// Powder Technol. – 2008. – Vol. 187, №3. – P. 222-230.

186. Dressings for acute and chronic wounds. A systematic review / G. Chaby, P. Senet, M. Veneau et al. // Arch Dermatol. – 2007. – № 143. – P. 1297–1304.

187. Elpek G.O. Angiogenesis and lives fibrosis / G.O. Elpek // World J. Hepatology. – 2015. – Vol. 7 (3). – P. 377 – 391.

188. Ennis, W.J. Wound Healing at the local level: the stanned wound / W.J. Ennis, P. Meneses // Ostomy Wound Menage. – 2000. – № 45 (1A Suppl). – 39S-48S.

189. Espensen, E.H. Use of subatmospheric (VAC) therapy to improve bioengineered tissue grafting in diabetic foot wounds / E.H. Espensen, B.P. Nixon, L.A. Lavery, D.G. Armstrong // J Am Podiatr Med Assoc. – 2002. – Vol 92, № 7.– P. 392-397.

190. Fagien, S. Facial soft–tissue augmentation with injactable autologous and allogeneic human tissue collagen matrix (autologen and dermalogen) / S. Fagien // Plast. Reconstr Surg. – 2000. – Vol. 105, № 1. – P. 362–373.

191. Falanga, V. Classifications for wound bed preparation and stimulation of chronic wounds / V. Falanga // Wound Repair Regen. – 2000. – Vol. 8, № 5. – P. 347-352.

192. Falanga, V. Introducing the concept of wound bed preparation / V. Falanga // Int Forum Wound Care. – 2001. – № 16. – P. 1-4.

193. Falanga, V. Wound Bed Preparation and the Role of Enzymes. A Case for Multiple Actions of Therapeutic Agents // Wounds. – 2002. – Vol. 14, № 2. – P. 47–57.

194. Fowler, E. Chronic wounds: an overview / E. Fowler // Chronic wound care / Edited by D. Krasner. Health Management Publications, Inc. King of Prussia, Pennsylvania. – 1990. – P. 12–18.

195. Fu Q., Sun J., Zhang D. Nimodipine nanocrystals for oral bioavailabity improvement: preparation, characterization and farmacocinetic studies / Q. Fu, J. Sun, D. Zhang // Colloids Surf., B: Biointerfaces. – 2013. – № 109. – P. 161 - 166.

196. Hong C., Dang Y., Lin G. Effects of stabilizing and its characterization: An in vitro and vivo evaluation / C. Hong, Y. Dang, G. Lin // Int. J. Pharm. – 2014. – Vol. 477, №1. – P. 251 – 260.

197. In vivo angiogenesis in normal and portal hypertensive rats: role of basic fibroblast growth factor and nitric oxide / C.C. Sieber, L.T. Sumanovski et al. // J. Hepatol. – 2001. – №34. – P. 644 – 650.

198. Kameswararao, B. Evaluation of antidiabetic effect of Momordica cymbalaria fruit in alloxan diabetic rats // B. Kameswararao, M.M. Kesavulu, C.Apparao // Fitoterapia – 2003. - №74. - P.7-13.

199. Kawabata Y., Wada K., Nakatani M. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical application / Int. J. Pharm. – 2011. – Vol. 420, №1. – P. 1-10.

200. Klein, L.K. Topical treatment for chronic wounds: an overview / L.K. Klein, R.L. Lies // Chronic wound care, edited by D. Krasner. // Health Management Publications, Inc. King of Prussia, Pennsylvania. – 1990. – P. 263–265.

201. Kogan L. Polyheal–1 for the treatment of recalcitrant diabetic foot ulcers: a preliminary report / L. Kogan // WUWHS. – 2004.

202. Kolde, H.J. Heamostasis. Physiology, pathology, diagnostics/ H.J. Kolde. – 2nd edition. – Basel / Switzerland : Pentapharm Ltd. – 2004. – 164 p.

203. Makanya A.N., Hlushchuk R., Djonor V.G. Intussusceptive angiogenesis and its role in vacular morphogenesis, patterning and

remodeling / A.N. Makanya, R. Hlushchuk, V.G. Djonor // Angiogenesis. – 2009. –№12. – P. 113-123.

204. Marco S.B., Damon D.H. VEGF promotes vascular sympathetic innervation / S.B. Marco, D.H. Damon // Amer. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2008. – №294. – P. 2646 – 52.

205. Medcalf, R.L. Fibrinilysis, inflammation and regulation of the plasminogen activating system / R.L. Medcalf // XXI Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis – Journal of Thrombosis and Haemostasis. — 2007. – № 5 (Suppl. 1). – P. 132-142.

206. Middleton, E. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer / E. Middleton, C.Kandaswami, T.C.Theoharides // Pharmacol. Rev. – 2000. - №52. – P. 673–751.

207. Murasawa S., Asahara T. Endothelial progenitor cells for vasculogenesis / S. Murasawa, T. Asahara // Physiology. – 2005. – №20. – P. 36 – 42.

208. Nagori, B.P. Role of medicinal plants in wound healing / B.P.Nagori, R.Solanki // Res. J. Med. Plant. - 2011. - Vol.5, №4. - P.392-405

209. Natural inhibitor of transforming growth factor-β protects against scarring in experimental kidney disease / W.A. Border, N.A. Noble at al. // Nature. – 1992. – Vol. 360. – P. 361-364.

210. Othman, D. Negative Pressure Wound Therapy Literature Review of Efficacy, Cost Effectiveness, and Impact on Patients' Quality of Life in Chronic Wound Management and Its Implementation in the United Kingdom / D. Othman // Plast Surg Int. – 2012. – P. 374–398.

211. Palfreyman, S. Dressings for venous leg ulcers: systematic review and meta–analysis / S. Palfreyman, E.A. Nelson, J.A. Michaels // BMJ. – 2007. – № 335. –244 p.

212. Park, H.J., Yang, F., Chos, W. Nonviral delivery of genetic medicin for therapeutic angiogenesis / H.J. Park, F. Yang,W.Chos // Adv. Drug Deliver. Rev. – 2012. – Vol. 64, №1. – P. 40-52.

213. Peacock, E. Wound Repair / E.Peacock, W.Van Wincle // Philadelphia-London-Toronto : W.B.Saunders. – 1976. – 699 p.

214. Platelet–rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts / R.E. Marx, E.R. Carlson, R.M. Eichstaedt et al. // Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radial Endod. 1998. № 85. P. 638–646.

215. Prabhakar, P.K. A target based therapeutic approach towards diabetes mellitus using medicinal plants / P.K.Prabhakar, M.Doble // Curr. Diabetes. Rev. - 2008. - №4. - P. 291-308.

216. QbD approach of rapid disintegrating tablets incorporating indomethacin solid dispersion / O.A. Sammour, M.A. Hammad et al. // Int. J. Pharm. – 2001. – Vol. 227 (1). – P. 177 – 185.

217. Robson, M. C. Wound infection: a failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria / M. C. Robson // Surg. Clin. North. Am. – 1997. – Vol. 77. – P. 637–650.

218. Role of Polyheal microsphers in wound healing in subjects with chronic ulcers / M. Ritter, G. Rosenblat, S. Maretski et al. // WUWHS. – 2004. P. 29.

219. Rolstadt, B.S. Principles of wound management / B.S Rolstadt, L. Ovington // Acut & Chronic Wounds: Current Management Concepts. – 3rd ed. – St.Louis, MO: Mosby /Elsevier ; 2007. – P. 342.

220. Schintler, M.V. Negative pressure therapy: theory and practice / M.V. Schintler // Diabetes Metab Res Rev. – 2012. – Vol. 28, Suppl. 1. – P. 72–77.

221. Sels nanopricipitating preconcentrate of tamoxifen citrate for enhanced bioavailability / S.V. Kapse, R.V. Gaikwad et al. // Int. J. Pharm. – 2012. – Vol. 429, №1. – P. 104 – 112.

222. Shirakawa, M. Topical negative pressure devices: Use for enhancement of healing chronic wounds / M. Shirakawa, R.R. Isseroff // Arch. Dermatol. – 2005. – № 141. – P. 1449–1453.

223. Special Considerations in Wound Bed Preparation 2011: an update / R.G. Sibbald, L. Goodman, K.Y. Woo et al. // Wound Care Canada. – 2011. – Vol. 10, № 2. – P. 20–35.

224. Steed, D.L. Effect of extensive debridment and treatment on the heling of diabetic foot ulcers / D.L. Steed, D. Donohoe, M.W. Webster et al. // Diabetic Ulcer Study Group. J Am Coll Surg – 1996, № 183. – P. 61-64.

225. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics / F.J.Alarcon-Aguilara, R.Roman-Ramos, S.Perez-Gutierrez et al. // J Ethnopharmacol. – 1998. - №61. - P.101-110.

226. The relationship between fenestrations, siove plates and rafts in the lives sinusoidal endothelial cells / D. Sristounov, A. Warren et al. // Plos One. – 2012. – Vol. 7 (9): e 46134.

227. The Theory and Practice of Vacuum Therapy / Edited by C. Willy. Germany. 2006. 405 p.

228. Vacuum–assisted closure: Microdeformations of wounds and cell proliferation / V. Saxena, C.W. Hwang, S. Huang et al. // Plast. Reconstr.Surg. –2004. – 114 (5). – P. 1086–1096.

229. Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis / J.A. Nagy, L. Benjamin et al. // Angiogenesis. – 2008. – Vol. 11, №2. – P. 109 – 119.

230. Vilar G., Tulla-Puche J., Albericio F. Polimers and drug delivery systems // G. Vilar, J. Tulla-Puche, F. Albericio // Curr. Drug Deliver. – 2012. – Vol. 9, №4. – P. 367 – 394.

231. WHO Traditional medicine strategy: 2014-2023. - Hong Kong. - 2013. – 75 p.

232. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management / G.S. Schultz, R.G. Sibbald, V. Falanga et al. // Wound Rep Reg. – 2003. – № 11. – P. 1–28.

233. Yang L., Lin H. Stimuliresponsive magnetic particles and their applications in biomedicinal field / L. Yang, H. Lin // Powder Technol. – 2013. – Vol. 240. – P. 54 – 65.

234. Zacharowsky, K. New reflections on inflammation and coagulation // Anaestetist. - 2007. - May. - 56 (5). – P. 482-484.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

– РНК – рибонуклеиновая кислота

– ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

– GSH – восстановленный глутатион

– ТБК – тиобарбитуровая кислота

– ПОЛ – перекисное окисление липидов

– ПМЯ– полиморфноядерный