

© УДК 616-092.9

Силина Е.В.¹, Мантурова Н.Е.², Артюшкова Е.Б.³, Литвицкий П.Ф.¹, Васин В.И.², Синельникова Т.Г.¹,
Гладченко М.П.³, Крюков А.А.³, Аниканов А.В.³, Каплин А.Н.³, Наимзада М.Д.З.³, Ступин В.А.²

Динамика заживления кожной раны при применении инъекционных стимуляторов регенерации у крыс

¹ ФГАОУ ВО «Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет),

119991, г. Москва, Россия, ул. Трубецкая, д. 8, с. 2;

² ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия, ул. Островитянова, д. 1;

³ ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, 305041, г. Курск, Россия, ул. Карла Маркса, д. 3

Проблема эффективного, качественного и эстетического заживления ран, особенно у лиц зрелого и пожилого возраста, остается высокоактуальной.

Цель исследования – выявление особенностей динамики заживления кожной раны у экспериментальных крыс зрелого возраста; сравнение эффективности зарегистрированных и применяющихся в клинической практике инъекционных стимуляторов регенерации тканей: депротенинизированного гемодеривата крови телят и коллагена.

Методика. Экспериментальное слепое исследование проведено на 9-месячных крысах самцах Wistar массой 443,6±6,5 г. Квадратную рану стандартного размера (каждая сторона 11 мм, глубина раны до фасции, площадь в среднем 123,5±2,1 мм²) наносили на поверхность спины животных. В течение 14 сут изучали эффективность и возможные механизмы действия на заживление кожных ран двух инъекционных лекарственных средств: депротенинизированного гемодеривата крови телят (ДГК, актовегин) и коллагена (Коллост) в сравнении с контролем (физиологический раствор натрия хлорида). В динамике оценивали изменение площади ран, их объема, состояния микроциркуляции.

Результаты. Площадь ран группы Контроль сократились к концу 7-х сут в 1,1 раза, 14-х – в 5,0 раза, группы ДГК – в 1,4 и 8,3 раза, группы Коллаген – в 1,5 и 11,9 раза соответственно. В группах Контроль и ДГК заживление ран проходило в горизонтальном направлении, в группе Коллаген – вертикальном. Увеличение площади ран в фазу острого воспаления (в первые 3–5 сут) было только в группах Контроль и ДГК, при которых оно было перпендикулярно линиям напряжения кожи. Это свидетельствует о значимости направлений хирургических разрезов и наложения швов не только при создании, но и при последующем лечении ран. Уровень микроциркуляции в коже, непосредственно примыкающей к краю раны, на 3-и сут увеличивался только в группе ДГК, на 7-е сут – в группе Коллаген, на 14-е сут – во всех ранах всех групп, но наибольшие изменения микрогемоперфузии были в группе Коллаген.

Заключение. Установлена эффективность обоих стимуляторов регенерации. Вместе с тем скорость и характер заживления ран при их применении существенно различались, что связано с разными механизмами действия препаратов. Это необходимо учитывать в клинической практике при подборе препаратов для ускорения сроков регенерации раны, уменьшения размеров послеоперационного рубца и повышения его эстетичности.

Ключевые слова: рана; заживление ран; микроциркуляция; крысы зрелого возраста; физиологический раствор; коллаген; депротенинизированный гемодериват крови.

Для цитирования: Силина Е.В., Мантурова Н.Е., Артюшкова Е.Б., Литвицкий П.Ф., Васин В.И., Синельникова Т.Г., Гладченко М.П., Крюков А.А., Аниканов А.В., Каплин А.Н., Наимзада М.Д.З., Ступин В.А. Динамика заживления кожной раны при применении инъекционных стимуляторов регенерации у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64(3): 54-63.

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.54-63

Для корреспонденции: Силина Екатерина Владимировна, e-mail: naesikliaterina@mail.ru

Участие авторов: все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы, подготовку протокола исследования, выполнение его, в работу по статистическому анализу фактических материалов, в написание статьи и ее корректуру. Все авторы прочли и одобрили финальную версию данной рукописи до ее публикации.

Финансирование. Материал был получен в ходе выполнения гранта ФГБУ Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (232GRNTIS5/35963), посвященного разработке вариантов биомедицинского полимерного продукта, стимулирующего заживление ран, для оценки эффективности которого в качестве групп сравнения использовали Коллаген и ДГК.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Ранее был опубликован фрагмент исследования по вышеуказанному гранту, посвященного эффективности нового полимерного перевязочного средства, содержащего наночастицы (Silina E.V. et al. Efficacy of a novel smart polymeric nanodrug in the treatment of experimental wounds in rats. *Polymers*, 2020, 12, e1126. doi:10.3390/polym12051126).

Поступила 13.08.2019

Принята к печати 24.06.2020

Опубликована 21.08.2020

Silina E.V.¹, Manturova N.E.², Artyushkova E.B.³, Litvitskiy P.F.¹, Vasin V.I.², Sinelnikova T.G.¹, Gladchenko M.P.³, Kryukov A.A.³, Anikanov A.V.³, Kaplin A.N.³, Naimzada M.D.Z.³, Stupin V.A.²

Dynamics of skin wound healing with the use of injectable regeneration stimulators in rats

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University,

Trubetskaya Str. 8, Bld. 2, Moscow 119991, Russia;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University,

Ostrovityanova Str. 1, Moscow 117997, Russia;

³Kursk State Medical University,

Karla Marksa Str. 3, Kursk 305041, Russia

The issue of effective and aesthetic wound healing, particularly, in mature and elderly individuals, remains relevant.

Aim. To characterize the dynamics of skin wound healing in mature experimental rats and to compare the effectiveness of approved clinical injectable stimulants of regeneration (deproteinized hemoderivative of calf blood and collagen).

Methods. This experimental blind study was conducted on 9-month-old Wistar male rats weighing 443.6 ± 6.5 g. Square wounds of a standardized size (each side, 11 mm; wound depth, down to fascia; mean area, 123.5 ± 2.1 mm²) were inflicted on the rat back. Efficacy and mechanism of action of two injectable drugs were studied for 14 days. Effects of deproteinized hemoderivative of calf blood (DHB, Actovegin) and collagen (Collost) were compared with control wounds (saline treatment). The wound size and volume and the state of microcirculation were evaluated in dynamics.

Results. The area of the wounds decreased by 9.1% at 7 days and 80% at 14 days in the control group; by 28.6% and 88%, respectively, in the DHB group; and by 33.3% and 91.6%, respectively, in the collagen group. In the control and DHA groups, the wound healing was predominantly horizontal while in the collagen group it was vertical. An increase in the wound area in the phase of acute inflammation during the first 3-5 days was observed only in the control and DHB groups; this increase was localized perpendicular to skin tension lines. This indicates the importance of preoperative planning not only for the lines and directions of surgical incisions and suturing but also for the subsequent treatment of wounds. Microcirculation in the skin immediately adjacent to the wound edge increased on day 3 only in the DHB group; in the collagen group, it increased on day 7; and on day 14, it was increased in all wounds of all groups with the greatest vascular effect being observed in the collagen group.

Conclusion. Both regeneration stimulants were effective; however, the wound healing patterns and rates were different, which might be due to different mechanisms of action of the drugs. This fact should be taken into account in clinical practice in order to reduce the regeneration time as well as to reduce the size and aesthetics of postoperative scar.

Keywords: wound; wound healing; microcirculation; rat adulthood; physiological solution of sodium chloride; collagen; deproteinized hemoderivative of blood.

For citation: Silina E.V., Manturova N.E., Artyushkova E.B., Litvitskiy P.F., Vasin V.I., Sinelnikova T.G., Gladchenko M.P., Kryukov A.A., Anikanov A.V., Kaplin A.N., Naimzada M.D.Z., Stupin V.A. Dynamics of skin wound healing with the use of injectable regeneration stimulators in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(3): 54-63. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03. 54-63

For correspondence: Ekaterina V. Silina, Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Human Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8, Trubetskaya Str, 119991, Moscow, Russia, e-mail: silinaekaterina@mail.ru

Funding. The publication did not have sponsorship. The presented material was obtained in the course of the grant of the FSBI Fund for the Promotion of the Development of Small Forms of Enterprises in the Scientific and Technical Field (232GRNTIS5/35963), dedicated to the development of options for a biomedical polymer product that stimulates wound healing, to assess the effectiveness of which Collagen and DHA were used as comparison groups.

Acknowledgments. This study was a part of a project supported by the Foundation for Assistance to Small Innovative Enterprises in Science and Technology (232GRNTIS5/35963).

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

Earlier, a fragment of the study on the above grant was published on the effectiveness of a new smart polymer nanodrug (Silina E.V. et al. Efficacy of a novel smart polymeric nanodrug in the treatment of experimental wounds in rats. *Polymers*, 2020, 12, e1126. doi: 10.3390/polym12051126). The materials of this article have not been published anywhere else.

Information about the authors:

Silina E.V., <http://orcid.org/0000-0002-0246-5149>

Manturova N.E., <http://orcid.org/0000-0003-4281-1947>

Artyushkova E.B., <http://orcid.org/0000-0003-3777-6622>

Litvitskiy P.F., <http://orcid.org/0000-0003-0151-9114>

Vasin V.I., <https://orcid.org/0000-0002-8644-300X>

Sinelnikova T.G., <http://orcid.org/0000-0003-2803-5531>

Gladchenko M.P., <http://orcid.org/0000-0003-3627-9747>

Kryukov A.A., <http://orcid.org/0000-0002-3181-7828>

Anikanov A.V., <http://orcid.org/0000-0001-5862-6143>

Kaplin A.N., <http://orcid.org/0000-0001-5968-7132>

Naimzada M.D.Z., <http://orcid.org/0000-0002-7894-6029>

Stupin V.A., <http://orcid.org/0000-0002-9522-8061>

Received 13.08.2019

Accepted 24.06.2020

Published 21.08.2020

Введение

Актуальность проблемы заживления ран постоянно нарастает, что связано с ростом распространенности хронических трофических язв [1–3], а также увеличением числа хирургических вмешательств и травм [4–6]. Независимо от этиологии ран и сопутствующей патологии в процессе их заживления можно выделить ключевые процессы. Вначале это последовательно сменяющиеся друг друга этапы собственно воспалительного процесса, образования грануляционной ткани, пролиферации фибробластов и кератиноцитов с формированием межклеточного матрикса, что приводит к закрытию поверхности раны. В последующем происходит реорганизация внеклеточного матрикса, от чего зависят качество и эстетичность рубца, особенно при глубоком повреждении дермы [7, 8]. Нарушение любого этапа приводит к хронизации процесса заживления ран, их длительному незаживлению и/или неполной репарации [9, 10]. Часто это связано с изменением фиброгенеза, образованием не рыхлой, а плотной волокнистой соединительной ткани, не способной адекватно участвовать в выполнении функций кожи [11–13]. Механизмы фиброгенеза могут быть нарушены в связи с генетическими дефектами у пациентов, но в основном из-за наличия у них соматической патологии, приводящей к локальной гипоперфузии и гипоксии в связи с поражением микрососудов и/или нервных структур в регионе раны. Чаще всего эти нарушения наблюдаются во второй половине жизни. Именно поэтому исследование данной проблемы *in vivo* целесообразно проводить на животных зрелого, пожилого и старческого возраста.

Цель исследования – выявление особенностей динамики заживления кожной раны у экспериментальных крыс зрелого возраста (9 мес); сравнение эффективности зарегистрированных и широко применяющихся в клинической практике стимуляторов регенерации тканей: депротеинизированного гемодеривата крови телят и коллагена.

Методика

Экспериментальное проспективное рандомизированное пилотное контрольно-сравнительное слепое исследование выполнено на белых крысах-самцах Wistar одного возраста (9 мес) массой $443,6 \pm 6,5$ г; (95ДИ 395–475 г). Исследование было слепым – гистологи не были информированы о группах эксперимента и работали с маркированным материалом.

Моделирование ран. После наркотизации животных (хлоралгидрат 300 мг/кг внутривентриально) на спине крыс выбривали кожу и создавали раны стандартизированного размера¹ – квадратная рана с длиной каждой стороны 11 мм, глубиной примерно 2 мм (до фасции).

Группы и исследованные препараты. В работе представлен анализ данных по 3 группам ран: 1-я группа – Контрольные раны (физиологический раствор 0,9% NaCl);

2-я – группа Коллаген (для лечения использовали препарат Коллост 7%),

3-я – группа ДГК (для лечения применяли депротеинизированный гемодериват крови телят, препарат Актовегин). Оба инъекционных стимулятора регенерации тканей зарегистрированы в РФ и широко применяются в клинической практике. В день моделирования ран (0-е сутки), сразу после проведения их измерения, инъецировали соответствующие рандомизации растворы по единой методике: единым проколом в угол раны вводили по 0,1 мл раствора исследуемого вещества в дерму латерально-каудального края раны. Для минимизации травматизации раны использовали тонкие иглы инсулинового шприца. Физиологический раствор и препарат Коллост (7% нативный нереконструированный коллаген в 10% стерильном растворе глюкозы) вводили однократно в день моделирования раны (0-е сутки). Актовегин (раствор

¹Патент РФ на полезную модель №79701/10.01.09.

для инъекций, 40 мг/мл), помимо 0-х суток, дополнительно вводили на 1-е и 3-и сут внутримышечно в дозе 0,2 мл.

Выведение животных из эксперимента. После наркотизации (хлоралгидрат 300 мг/кг внутривенно) и завершения исследования животных выводили из опыта, проводя вскрытие правого желудочка сердца.

Этическая экспертиза. Все процедуры, связанные с содержанием и использованием животных, проводили с соблюдением директив Европарламента и Совета европейского союза (2010/63/EU), регламентирующих использование животных в научных целях. Исследование одобрено Региональным этическим комитетом ФГБОУ ВО Курский ГМУ МЗ РФ (протокол №5).

Условия проведения. Крысы в течение всего эксперимента содержались в стандартных условиях вивария. До начала эксперимента животных выдерживали в этих условиях в течение 2 нед. Сразу после рандомизации крыс содержали в индивидуальных клетках, что позволяло избежать дополнительного воздействия на раны других животных.

Методы исследования и контрольные точки. Определены 6 контрольных точек исследования: 0-е сутки (моделирование ран, проведение измерений и инструментальных исследований, а также лечение ран в экспериментальных группах); на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е и 14-е сут выполняли осмотр, взвешивание животных и оценку динамики размеров и состояния ран, а в дни вывода (3-и, 7-е, 14-е сут) проводили инструментальные исследования и подготовку ран для последующей морфометрии.

На каждой точке исследования проводили фотодокументирование ран (Canon EOS550D, Япония, расстояние до объекта 30 см ± до 10%, формат Jpeg). Рядом с раной в кадре размещали миллиметровую линейку для последующего определения размеров: длина раны (параллельная линия от головы до хвоста, мм), ширина раны (по фронтальной плоскости, мм). Площадь раны (в мм²), точно ограниченная ее краями, рассчитывалась с помощью программы JMicroVision 1.2.7 (Швейцария). Определяя планиметрические размеры ран, оценивали периоды, а также направленность процесса заживления ран. Горизонтальным считали заживление, когда ширина раны сокращалась в большей степени, чем их длина, а вертикальным — когда в большей степени заживление раны происходило по ширине.

На 0, 3-и, 7-е, 14-е сут определяли объем раны и оценивали состояние микрогемодинамики.

Объем раны определяли в см³ при помощи изготовленного и откалиброванного до начала эксперимента каплемера (объем одной капли 0,051 см³). Нар-

котизированное животное располагалось так, чтобы рана находилась в горизонтальной плоскости, при помощи каплемера рана по одной капле наполнялась стерильной дистиллированной водой до появления выпуклого мениска над краями раны.

Для исследования состояния микрогемодинамики использовали аппаратно-программный комплекс для электрофизиологических исследований MP150 (BIOPAC Systems, Inc, США), который включает модуль для лазер-доплеровской флоуметрии LDF100C, датчик игольчатый для лазер-доплеровской флоуметрии TSD145 и программное обеспечение AcqKnowledgeversion 4.4.1. Комплекс фиксирует наличие сдвига частоты отраженного сигнала и в соответствии с разработанными производителем прибора алгоритмами программной обработки сигнала переводит их в перфузионные единицы (BPU = Blood Perfusion Units). Для каждой раны измерение проводили в 4 точках, расположенных на коже по центру каждой из 4 сторон стандартной квадратной раны. На область кожи (по центру каждой из сторон квадратной раны) на расстоянии 2 мм снаружи от края раны устанавливался перпендикулярно коже игольчатый датчик TSD145 при помощи держателя. Итоговый показатель микроперфузии ткани вокруг раны представлял собой его усредненную величину по 4 сторонам каждой раны.

Фоновая однородность групп и размер выборки. Изучали по 7 ран в группе на каждой точке исследования. Животные были изначально рандомизированы по возрасту и полу, группы по массе тела. Исходная площадь исследуемых ран в момент их моделирования была одинаковой в исследуемых группах и в среднем (медиана) составили 128,1 мм² в группе «Контроль», 129,5 мм² в группе «Коллаген» и 126,0 мм² в группе «ДГК» ($p>0,05$). Статистически сопоставимыми на 0-е сут также были длина, ширина ран и их объем. Уровень микроциркуляции, определяемый в течение первых минут после моделирования ран, был одинаковым в исследуемых группах, составив в среднем 122,3 п.ед. в группе «Контроль», 124,2 п.ед. в группе «Коллаген» и 118,1 п.ед. в группе «ДГК» ($p>0,05$). Фоновая сопоставимость всех изучаемых в динамике показателей дает обоснованное право на проведение адекватного сравнительного анализа на протяжении всего исследования.

Статистический анализ результатов исследования проведен с использованием программы SPSS 23.0 с применением стандартных параметрических и непараметрических критериев оценки статистической значимости различий. Описательная статистика непрерывных количественных данных представлена в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего, а

также в виде медианы (Me), значений нижнего (25%) и верхнего (75%) квартилей, 95%-доверительного интервала (95ДИ). Для сравнения двух независимых непараметрических выборок использовали критерий Манна-Уитни, двух зависимых - критерий Вилкоксона. Качественные переменные сравнивались с помощью теста χ^2 (анализ таблиц сопряженности). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты оценки линейных размеров и площади ран. В ходе исследования динамики площади ран было установлено, что через 24 ч от момента моделирования площадь ран у животных группы «Контроль» значимо увеличилась в среднем в 1,19 раза ($p = 0,001$). Она сохранялась на 3-и сут на значимо более высоком, чем в 0-е сутки, уровне ($p < 0,01$), и до 7-х сут площадь ран группы «Контроль» статистически не отличалась от первоначального размера. Лишь на 14-е сут эксперимента зарегистрирован значимый регресс площади контрольных ран в среднем в 4,95 раза относительно исходного размера ($p < 0,05$). Таким образом, при имитировании местной инъекционной анестезии, выполняемой при хирургической обработке ран, путем введения 0,9% NaCl регистрировали период значимого расширения площади ран на 1-е – 3-и сут, период стабилизации площади ран с возвратом к исходным размерам на 5-е – 7-е сут. Только со 2-й нед выявлено 5-кратное уменьшение площади контрольных ран, достигшее к 14-м сут в среднем 25,9 мм² (колебание в пределах от 12,1 мм² до 34,6 мм²).

Площадь ран группы «ДГК» была значимо больше относительно 0-х суток в среднем в 1,19 раза на 1-е сут ($p < 0,001$) и в 1,12 раза на 3-и сут ($p = 0,016$). К 5-м сут площадь ран группы «ДГК» была незначительно (в 1,08 раза) больше по сравнению с исходным размером ($p = 0,476$). На 7-е сут площадь ран этой группы существенно регрессировала: в 1,27 раза ($p = 0,011$), а к 14-м сут площадь ран сократилась в среднем в 8,34 раза ($p < 0,001$). Таким образом, при использовании ДГК площадь ран значимо расширялась на 1-е–3-и сут, на 5-е сут она вернулась к исходным размерам (характеризуя стабилизацию и завершение фазы воспаления), как это было зарегистрировано и для контрольных ран. Однако в отличие от ран у животных группы «Контроль», площадь ран в группе «ДГК» начала значимо сокращаться с 7-х сут, достигнув к 14-м сут в среднем 15,1 мм². Сравнительный анализ этого показателя в группах «Контроль» и «ДГК» на 14-е сут установил статистически значимое различие в 1,71 раза, демонстрируя преимущество применения ДГК ($p = 0,024$), несмо-

тря на больший диапазон показателя площади в группе «ДГК» на 14-е сут (от 8,4 мм² до 42,9 мм²).

Площадь ран, для лечения которых применяли Коллаген, не имела периода ее статистически значимого расширения. На 1-е сут она была всего в 1,02 раза больше исходного размера ($p = 0,569$), а на 3-и сут – в 1,06 раза ($p = 0,202$). Следовательно, площадь ран группы «Коллаген» уже на 1-е сут исследования была наименьшей. Площадь ран группы «Контроль» была в 1,15 раза больше ($p = 0,001$) группы «ДГК» и в 1,14 раза больше ($p = 0,011$), чем в группе «Коллаген». Кроме того, в группе «Коллаген» наблюдалось самое раннее начало уменьшения площади ран, значимо отличающееся от исходного размера уже на 5-е сут, а также наиболее выраженное сокращение размеров ран к 7-м и 14-м сут. К концу 2-й нед исследования площадь составила 10,9 мм², колеблясь в самых низких пределах: от 1,0 мм² до 18,4 мм². Площадь ран группы «Коллаген» по сравнению с группой «Контроль» помимо 1-х сут статистически значимо различалась на 7-е сут (в 1,36 раза, $p = 0,003$), а также в 2,38 раза на 14-е сут ($p = 0,0001$).

Сравнительный анализ динамики изменения площади ран групп «Коллаген» и «ДГК» показал преимущество использования препарата «Коллаген», как на 1-е, так и на 14-е сут, когда раны группы «ДГК» были в среднем в 1,39 раза больше, чем в группе «Коллаген» ($p = 0,031$).

Таким образом, наиболее динамичным процесс заживления ран был в группе «Коллаген» (табл. 1).

Анализ динамики длины и ширины ран позволил установить различия между группами и показал важность учета направлений линий хирургических разрезов в зависимости от планируемого в дальнейшем лечения с целью потенцирования заживления. В течение 24 ч от момента моделирования ран длина их в контроле значимо увеличилась в среднем в 1,2 раза (с 10,3 мм до 12,3 мм, $p = 0,0001$), к 3-м сут она уменьшилась относительно 1-х сут до 12,0 мм, оставаясь значимо (в 1,17 раза) выше, чем в 0-е сутки ($p = 0,001$). На 5-е сут длина контрольных ран сократилась до 11,4 мм, что в 1,11 раза больше, чем на «0 сут» эксперимента ($p = 0,002$). На 7-е сут исследования длина ран группы «Контроль» соответствовала первоначальным размерам, составив 10,4 мм ($p > 0,05$). К концу 2-й нед длина ран группы «Контроль» значимо сократилась до 5,5 мм, став на 45,5% меньше (на 4,8 мм), чем в день моделирования ($p = 0,0001$).

Ширина ран группы «Контроль» значимо увеличилась в период с 0-х по 1-е сут в среднем с 11,9 мм до 12,7 мм ($p = 0,007$), оставаясь на этом же уровне и на 3-и сут. На 5-е сут ширина контрольных ран несколь-

ко сократилась (до 12,4 мм), на 7-е сут ширина ран в группе «Контроль» в среднем составила 11,3 мм, что значимо не отличалось от 0-х суток ($p > 0,05$). Только на 14-е сут ширина контрольных ран была значимо меньше исходной в среднем в 2,38 раза, составив 5,0 мм ($p = 0,001$).

Таким образом, при инъекционном введении в рану физиологического раствора на момент ее моделирования и при отсутствии в последующем лечения длина таких ран вначале нарастала (период увеличения раны) вплоть до 5-х сут, после чего к 7-м сут длина стала такой же как на 0-е сутки (период перехода фазы воспаления в фазу регенерации раны). Ширина ран группы «Контроль» увеличивалась в течение первых 3 сут, возвращаясь к первоначальному размеру в период 5-е–7-е сут. Важно отметить, что увеличение размера ран происходило перпендикулярно линиям напряжения кожи (линии Лангера). Это свидетельствует о важном значении учета направления линий разреза кожи и наложения швов.

К 14-м сут длина и ширина ран у животных группы «Контроль» значимо сократились в 1,83 и 2,34 раза соответственно в сравнении с исходными. Следовательно, в контрольной группе ширина ран в динамике сокращалась в большей степени, чем длина, то есть заживление контрольных ран было преимущественно горизонтальным.

Длина ран группы «ДГК» в среднем на 0, 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е сут составила 10,4 мм, 12,2 мм, 11,1 мм, 10,9 мм, 10,1 мм, 4,5 мм, соответственно. Установлено, что применение ДГК привело к статистически значимому увеличению длины ран в течение первых 24 ч в среднем в 1,17 раза ($p = 0,001$) с сохранением увеличенного размера до 3-х сут ($p = 0,021$). На 5-е сут в этой

группе длина ран вернулась к исходному размеру и на 7-е сут исследования она также статистически значимо не отличалась от 0-х суток ($p > 0,05$). Только на 14-е сут выявлен значимый регресс длины ран в группе «ДГК» в среднем в 2,30 раза ($p = 0,001$). В целом за 14 суток длина ран уменьшилась в среднем на 56,4% (на 7,9 мм). В отличие от контрольных ран в группе «ДГК» период увеличения их длины был короче на 2 суток. В результате на 14-е сут длина контрольных ран была больше в 1,22 раза, чем в группе животных с применением ДГК ($p > 0,05$). Однако статистически значимых различий показателей длины ран между группами «ДГК» и «Контроль» не выявлено на протяжении всего исследования.

Длина ран группы «Коллаген» в среднем на 0, 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е сут составила 10,8 мм, 10,1 мм, 10,9 мм, 10,5 мм, 8,8 мм, 3,4 мм, соответственно. Длина ран этой группы значимо не менялась в период с 0-е по 5-е сут, а на 7-е сут она статистически значимо уменьшилась. Так, на 0 сутки исследования длина ран была больше, чем на 7-е и 14-е сут в среднем в 1,23 раза ($p = 0,001$) и в 3,15 раза ($p = 0,001$) соответственно. В целом за 14 сут регресс длины ран составил в среднем 68,2% (на 7,4 мм) от исходного размера.

В отличие от группы «ДГК» по показателю длины ран зарегистрировано статистически значимое различие в сравнении с группой крыс «Контроль» на протяжении всего исследования с 1-х по 14-е сут: в 1,22 раза на 1-е сут ($p = 0,0001$), в 1,10 раза на 3-и сут ($p = 0,001$), в 1,09 раза на 5-е сут ($p = 0,009$), в 1,18 раза на 7-е сут ($p = 0,002$) и в 1,61 раза на 14-е сут ($p = 0,0001$). Кроме того, статистически значимое различие длины ран между группами «ДГК» и «Коллаген» выявлено на 1-е сут исследования (в среднем длина ран была в 1,21 раза

Таблица 1

Динамика площади ран при применении «Коллагена» и «ДГК» в сравнении с физиологическим раствором натрия хлорида (мм²)

Сутки	Контроль, 0,9%NaCl(0)	Коллаген	ДГК	p (0/Кол)	p (0/ ДГК)	p (Кол/ ДГК)
1-е	151,8 ## [137,4 - 159,8]	131,7 [121,6 - 147,6]	150,4 ## [129,6 - 169,0]	0,001*	0,948	0,011*
3-и	145,3 # [128,4 - 157,7]	137,0 [122,7 - 150,9]	139,6 # [109,7 - 146,6]	0,213	0,276	0,302
5-е	135,4 [107,9 - 145,0]	122,5 (#) [112,7 - 133,1]	125,3 [106,4 - 114,2]	0,110	0,345	0,950
7-е	115,4 [96,8 - 125,3]	84,7 ## [71,6 - 99,2]	91,1 # [70,3 - 111,9]	0,003*	0,099	0,660
14-е	25,9 ## [18,4 - 29,0]	10,9 ## [8,1 - 17,1]	15,1 ## [11,7 - 25,7]	0,001*	0,024*	0,031*

Примечание. Данные представлены в виде: медианы (1-я строка), 25%- 75% квартилей (2-я строка). * – различие между группами при $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни); # – различие динамики связанного показателя в пределах отдельной группы относительно 0-х суток при $p < 0,05$; ## – при $p < 0,01$ (критерий Вилкоксона).

больше в группе «ДГК», $p=0,001$) и на 14-е сут (в 1,32 раза больше в группе «ДГК», $p=0,019$), что свидетельствует о существенном преимуществе применения Коллагена для потенцирования процесса заживления ран в сравнении с препаратом ДГК (рис. 1).

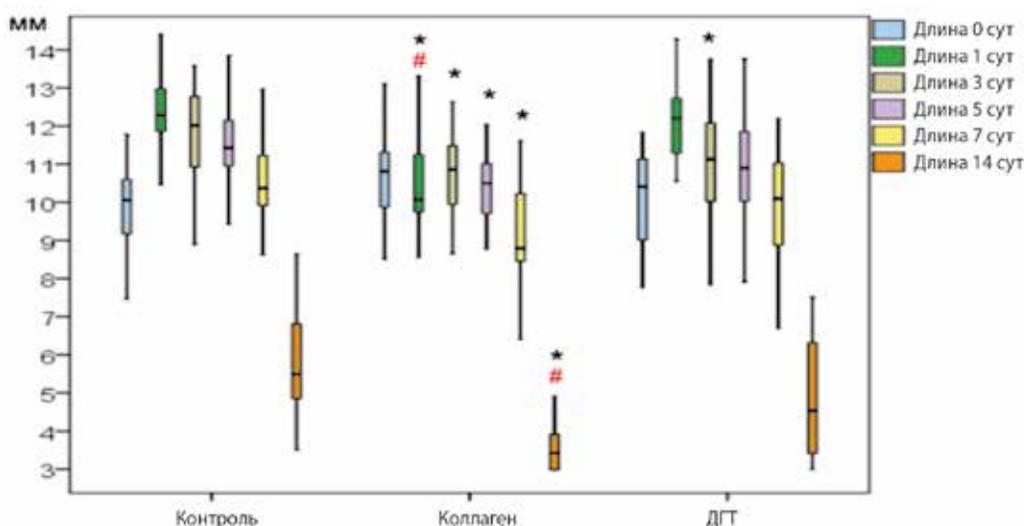
Ширина ран у крыс группы «ДГК» на 0, 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е сут составила 11,9 мм, 13,4 мм, 11,9 мм, 11,5 мм, 9,9 мм, 4,50 мм, соответственно. Установлено, что применение «ДГК» сопровождалось статистически значимым увеличением ширины ран на 1-е сут в 1,13 раза ($p=0,001$). На 3-и и 5-е сут этот показатель соответствовал первоначальным размерам. Значимое уменьшение ширины ран в группе «ДГК» зарегистрировано с 7-х сут, на 0-е сутки исследования ширина была больше, чем на 7-е сут в 1,20 раза ($p=0,007$) и чем на 14-е сут в 2,64 раза ($p=0,001$). В целом за 14 сут ширина ран уменьшилась на 62,2% (на 7,4 мм) от исходной. Статистически значимых различий ширины ран в группах «ДГК» и «Контроль» не было.

Ширина ран группы «Коллаген» на 0, 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е сут составила 12,9 мм, 13,5 мм, 13,6 мм, 12,7 мм, 10,8 мм, 4,15 мм, соответственно. Существенно ширина ран этой группы не изменилась в период с 0 по 5-е сут, значимо уменьшалась она лишь на 7-е сут в среднем в 1,19 раза ($p=0,001$) и на 14-е сут в 3,11 раза ($p=0,001$). Итог за 14 сут – регресс ширины ран в группе «Коллаген» 67,8% (на 8,8 мм). Установлено значимое различие по ширине ран между группами «Контроль» и «Коллаген» на 14-е сут в 1,20 раза ($p=0,012$).

Таким образом, за 14 сут эксперимента длина ран в группе «Коллаген» сократилась в 3,15 раза (68,2%), а ширина – в 3,11 раза (67,8%), конечные средние размеры составили 3,43 мм (длина) и 4,15 мм (ширина). Следовательно, при использовании «Коллагена» заживление ран протекает преимущественно вертикально. При использовании «ДГК» за 14 сут длина ран сократилась в 2,30 раза (56,4%), ширина – в 2,64 раза (62,2%). И хотя итоговые размеры были сопоставимы (по 4,5 мм), более значимое сокращение ширины ран позволяет заключить, что при использовании «ДГК» заживление ран преимущественно горизонтальное, как и в контрольных ранах.

Динамика объема ран. В ходе исследования динамики объема ран установлено преимущество введения в рану раствора Коллагена. Это позволило на самых ранних сроках заживления сократить глубину ран (табл. 2).

На 3-и сут объем ран в группе «Контроль» был в среднем в 2,10 раза больше, чем в группе «Коллаген» ($p=0,001$), на 7-е сут больше в 7,77 раза ($p=0,0001$). Показатель глубины ран в группе «ДГК» на всех точках исследования статистически был сопоставим с объемами ран группы «Контроль». Применение же «Коллагена» позитивным образом отразилось на динамике показателя объема ран: статистически значимые различия зарегистрированы на 3-и и 7-е сут не только с группой «Контроль», но и с группой «ДГК». Объем ран при использовании «ДГК» был на 3-и сут в 2,05 раза больше ($p=0,022$), а на 7-е сут – в 6,77 раз больше, чем в группе «Коллаген» ($p=0,020$).



Динамика показателя длины ран (в мм) при применении «Коллагена» и «ДГК» в сравнении с физиологическим раствором; * – отличие показателя от группы «Контроль» ($p<0,05$); # – различие между группами «Коллаген» и «ДГК» ($p<0,05$); критерий Манна-Уитни.

Результаты исследования состояния микроциркуляции в коже по краю раны. Объем перфузии микрососудов в коже вокруг раны (2 мм от ее края) в течение первых минут после моделирования раны был одинаковым во всех исследуемых группах, однако в дальнейшем он изменялся по-разному при применении «Коллагена» и «ДГК» (табл. 3).

На 3-и сут только в группе «ДГК» установлено увеличение объема кровотока в сосудах микрогемодинамики кожи вокруг раны по сравнению с фоновыми данными. В других группах объем микроциркуляции оставался без изменений и имел тенденцию к снижению у крыс в группах «Контроль» (в 1,07 раза, $p > 0,05$) и «Коллаген» (в 1,05 раза, $p > 0,05$). Так, в группе «ДГК» уровень микрогемодинамики в коже вокруг раны на 3-и сут значимо увеличился (в 1,17 раза) по сравнению с ее объемом на 0 сут. Именно в микрососудах кожи вокруг ран группы «ДГК» был самый высокий объем перфузии крови на 3-и сут. Это было в 1,17 раза больше, чем в группе «Коллаген» ($p < 0,05$), а также в 1,20 раза больше, чем в группе «Контроль». Однако за счет вариабельности показателя микроциркуляции в группе «Контроль» статистически значимых различий не выявлено.

На 7-е сут объем микроциркуляции в коже вокруг раны повысился относительно фоновых значений и по сравнению с 3-и сут во всех группах, кроме «ДГК». В

группе «ДГК» уровень перфузии снизился относительно 3-х сут в среднем в 1,10 раза, хотя и был в среднем в 1,06 раза больше, чем на 0 сутки ($p > 0,05$). В наибольшей степени показатель уровня микроциркуляции на 7-е сут вырос в группе «Коллаген» (в среднем в 1,43 раза, $p < 0,05$). Самым низким уровень перфузии в коже вокруг раны на 7-е сут был в группе «ДГК». Установлены статистически значимые различия по показателю объема перфузии между группами «Контроль» и «Коллаген» (в группе «Коллаген» объем перфузии оказался больше в 1,33 раза, $p < 0,05$), а также между группами «Коллаген» и «ДГК» (в группе «Коллаген» перфузия была больше в 1,42 раза, $p < 0,05$).

Таким образом, на 7-е сут увеличение объема микроциркуляции было зарегистрировано у животных только в группе «Коллаген».

Показатель перфузии микрососудов кожи вокруг раны на 14-е сут во всех группах был статистически значимо выше, чем на момент моделирования ран. Наибольшим он был в группе «Коллаген» (в среднем 268,7 п. ед). Именно в этой группе было отмечено наибольшее увеличение перфузии микрососудов кожи вокруг раны – в 2,15 раза ($p < 0,01$) относительно 0-х суток. В группе «ДГК» к 14-м сут уровень микроперфузии повысился относительно 0 суток в среднем в 1,79 раза ($p < 0,01$), в группе «Контроль» – в 1,64 раза ($p < 0,01$). Установлено, что в группе «Коллаген» уро-

Таблица 2

Динамика объема ран при применении «Коллагена» и «ДГК» в сравнении с физиологическим раствором натрия хлорида (см³)

Сутки	Контроль, 0,9%NaCl(0)	Коллаген	ДГК	p (Кол/ДГК)
3	0,313±0,060 0,306 [0,192-0,434]	0,149±0,041 0,102* [0,088-0,243]	0,306±0,033 0,281 [0,270-0,294]	0,022
7	0,171±0,025 0,199 [0,102-0,217]	0,022±0,021 0,010 * [0,00-0,051]	0,149±0,039 0,128 [0,101-0,204]	0,020

Примечание. * – различие с группой «Контроль» (0-е сутки), $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни)

Таблица 3

Динамика микрогемодинамики в коже края раны при применении «Коллагена» и «ДГК» в сравнении с физиологическим раствором натрия хлорида (в перф.ед.)

Сутки	Контроль, 0,9%NaCl(0)	Коллаген	ДГК	p (Кол/ДГК)
0	122,3 [98,4-141,6]	124,2 [104,8-135,0]	118,1 [92,6-122,8]	0,159
3-и	114,8 [107-141]	117,9 [105-124]	138,2 # [121-169]	0,047
7-е	133,4 [129-147]	177,7 * # [146-204]	125,1 [111-160]	0,049
14-е	211,0 # [201,0-263,5]	268,7 # [238,2-276,9]	208,0 # [148,1-220,5]	0,025

Примечание. Медиана (1-я строка), нижний /верхний квартиль (2-я строка).

* $p < 0,05$ – различие с группой «Контроль» (0-е сутки) (критерий Манна-Уитни);

$p < 0,05$ – различие динамики связанного показателя в пределах отдельной группы относительно 0-х суток (критерий Вилкоксона).

вень микроциркуляции был в 1,29 раза больше, чем в группе «ДГК» ($p < 0,05$).

Таким образом, выявлен факт увеличения объема микрогемодикуляции в коже края раны на 3-и сут только в группе «ДГК», на 7-е сут только в группе «Коллаген», на 14-е сут – во всех группах, при этом наибольший эффект наблюдался в группе «Коллаген».

Обсуждение

Исследование выявило эффективность обоих инъекционных стимуляторов регенерации, применение которых позволило ускорить процесс заживления ран. Вместе с тем скорость и результат заживления ран при применении «ДГК» и «Коллагена» различались. Это может быть связано с разными механизмами их действия, что нужно учитывать во врачебной практике. Наибольшая эффективность была достигнута при применении «Коллагена». Если площадь ран группы «Контроль» сократилась за 7 сут в 1,1 раза, а за 14 сут – в 5,0 раз, то раны группы «ДГК» в большей мере: в 1,4 и 8,3 раза соответственно, а раны группы «Коллаген» – еще более значимо: в 1,5 и 11,9 раза соответственно.

Важно, что использование «ДГК» обеспечивало горизонтальное заживление ран, как и в контроле, а при применении «Коллагена» оно было вертикальным. Это может стать основой для разработки методов контроля толщины и эстетичности послеоперационного рубца, чему будут посвящены наши дальнейшие исследования.

Как показало исследование, площадь ран у животных групп «Контроль» и «ДГК» увеличивалась в первые 3-5 сут. Далее следовал период стабилизации размеров ран, означающий смену фазы воспаления на фазу регенерации, с возвратом к исходным размерам на 5-е – 7-е сут в группе «Контроль» и на 5-е сут в группе «ДГК». Установлено также удлинение ран, которое происходило перпендикулярно линиям напряжения кожи (линиям Лангера). Это аргументирует необходимость учета направлений указанных линий при выполнении хирургических разрезов и последующем наложении швов на рану. В период предоперационного планирования манипуляций на коже важно определять не только направление кожных линий напряжения, но и хирургических разрезов, что имеет значение для последующего управления процессом заживления ран. Это может способствовать сокращению сроков регенерации, уменьшению размеров послеоперационного рубца и повышению его эстетичности.

Применение «Коллагена» (препарат Коллост) оказалось наиболее эффективным, так как позволило не только устранить период послеоперационного увели-

чения площади ран, но и ускорить процесс их заживления, сразу сократив объем ран. Значимое сокращение размеров ран уже с 3-х сут может свидетельствовать о более раннем и эффективном процессе регенерации. Введенный однократно в рану гель коллагена в процессе ее хирургической обработки может быть более эффективным, чем сосудистые и метаболические стимуляторы регенерации ткани, вводимые многократно. Это достигается в связи с отсутствием необходимости создавать и стимулировать в ране рост межклеточного матрикса. Вместо этого в рану может быть принесена его коллагеновая основа. Заполнение раны коллагеном позволяет уменьшить ее глубину, а, следовательно, и масштаб воспалительного ответа. В амбулаторной практике это позволит увеличить сроки между перевязками и уменьшить нагрузку на пациента и медицинский персонал.

Более низкая эффективность «ДГК» (препарат Актотевин) может быть обусловлена отсутствием ишемии ткани в ходе нашего эксперимента, в которой это средство реализует свой эффект действия. Последнее подтверждается наличием при использовании «ДГК» сосудистой реакции с повышением объема микроциркуляции в большей мере, чем в других группах на 3-и сут эксперимента. Однако этот эффект был кратковременным и существенно не влиял на итог заживления. Причина и следствия этого явления требуют дальнейшего изучения.

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о различной эффективности применяемых в настоящее время в клинической практике ранозаживляющих средств. При выборе средства, способствующего регенерации, необходимо учитывать как направление разрезов кожи и слизистых, так и будущее формирование рубца. Последнее в существенной мере зависит от механизмов собственно регенерации и, в связи с высокими требованиями к эстетичности рубца, следует склоняться к средствам, имеющим белковые универсальные межклеточные конструкции, в частности препаратам коллагена.

Литература/References

1. Antonopoulos C.N., Lazaris A., Venermo M., Geroulakos G. Predictors of Wound Healing Following Revascularization for Chronic Limb-Threatening Ischemia. *Vasc Endovascular Surg.* 2019;12:1538574419868863. <https://doi.org/10.1177/1538574419868863>
2. Han G., Ceilley R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Adv Ther.* 2017; 34(3): 599-610. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0478-y>

3. Rosberg H.E., Dahlin L.B. An increasing number of hand injuries in an elderly population - a retrospective study over a 30-year period. *BMC Geriatr.* 2018; 18(1): 68. <https://doi.org/10.1186/s12877-018-0758-7>
4. Aghdash S., Aghaei M.H., Sadeghi-Bazarghani H. Epidemiology of Road Traffic Injuries among Elderly People; A Systematic Review and Meta-Analysis. *Bull Emerg Trauma.* 2018; 6(4): 279-91. <https://doi.org/10.29252/beat-060403>.
5. Baron J.M., Glatz M., Proksch E. Optimal Support of Wound Healing: New Insights. *Dermatology.* 2020; 17: 1-8. <https://doi.org/10.1159/000505291>.
6. Cai Y.L., Ju J.T., Liu W.B., Zhang J. Military trauma and surgical procedures in conflict area: a review for the utilization of forward surgical team. *Mil Med.* 2018; 183: e97–e106. <https://doi.org/10.1093/milmed/usx048>
7. Eming S.A., Martin P., Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6: 1–16. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009337>
8. Landen N.X., Li D., Stähle M. Transition from inflammation to proliferation: A critical step during wound healing. *Cell. Mol. Life Sci.* 2016; 73(20): 3861-85. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>
9. Stupin V.A., Gabitov R.B., Sinelnikova T.G., Silina E.V. Biological mechanisms of the chronic wound and diabetic foot healing: The role of collagen. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research.* 2018; 19(4): 373-82. <https://doi.org/10.2478/SJECR-2018-0077>
10. Nosenko M.A., Ambaryan S.G., Drutskaya M.S. Proinflammatory Cytokines and Skin Wound Healing in Mice. *Molecular Biology.* 2019; 53: 653–64. <https://doi.org/10.1134/S0026893319050121>
11. Wick G., Grundtman C., Mayerl C., Wimpfissinger T.F., Feichtinger J., Zelger B. et al. The immunology of fibrosis. *Annu. Rev. Immunol.* 2013; 31: 107-35. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095937>
12. Walmsley G.G., Maan Z.N., Wong V.W., Duscher D., Hu M.S., Zielins E.R. et al. Scarless wound healing: Chasing the holy grail. *Plast. Reconstr. Surg.* 2015; 135(3): 907-17. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000972>
13. Manturona N.E., Kononov A.V., Gorodilov R.V., Stupin V.A., Litvitsky P.F., Silina E.V. Age dependent changes of cell update markers and endothelial activity related to the involutionary transformations of the skin system. *Biomedical Research.* 2018; 29(20): 3684-7. <https://doi.org/10.4066/biomedicalresearch.29-18-815>

Сведения об авторах:

Силина Екатерина Владимировна, доктор мед. наук, проф., каф. патологии человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, e-mail: silinaekaterina@mail.ru;

Мантурова Наталья Евгеньевна, доктор мед. наук, проф., зав. каф. пластической и реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова;

Артюшкова Елена Борисовна, доктор мед. наук, проф., директор НИИ экспериментальной медицины ФГБОУ ВО Курский ГМУ Минздрава России;

Литвицкий Петр Францевич, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, член-корр. РАН;

Васин Виталий Иванович, ст. лаборант и соискатель каф. госпитальной хирургии № 1 лф РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Синельникова Татьяна Георгиевна, канд. мед. наук, доцент каф. патологии человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова;

Гладченко Михаил Петрович, канд. фарм. наук, ст. науч. сотр., НИИ Экспериментальной медицины Курский ГМУ,

Крюков Алексей Анатольевич, канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотр. НИИ Экспериментальной медицины Курский ГМУ;

Ашиканов Александр Васильевич, науч. сотр. НИИ Экспериментальной медицины Курский ГМУ, аспирант;

Каплин Антон Николаевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. НИИ Экспериментальной медицины Курский ГМУ;

Наимзада Мухаммад Давид Зияуддин, мл. науч. сотр. НИИ Экспериментальной медицины Курский ГМУ;

Ступин Виктор Александрович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. госпитальной хирургии № 1 лф РНИМУ им. Н.И. Пирогова.