

На правах рукописи

БЕРЧЕНКО ГЕННАДИЙ НИКОЛАЕВИЧ

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЗАЖИВЛЕНИЯ ОСЛОЖНЕННЫХ  
РАН**

(14.00.15 - патологическая анатомия)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

МОСКВА — 1997

Работа выполнена в Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова и  
Центральном научно-исследовательском институте травматологии и ортопедии  
им. Н.Н. Приорова

Научный консультант:  
доктор медицинских наук, профессор **А.Б. ШЕХТЕР**

Официальные оппоненты:  
академик РАЕН, доктор медицинских наук, профессор **В.С. ПАУКОВ**  
доктор медицинских наук, профессор **О.Я. КАУФМАН**  
член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор **Э.В. ЛУЦЕВИЧ**

Ведущая организация - Институт хирургии им. А.В. Вишневского РАМН

Защита диссертации состоится “\_\_\_” \_\_\_\_\_ 1997 г. в \_\_\_\_\_ час. на  
заседании специализированного совета Д.074.05.05 при Московской медицин-  
ской академии им. И.М. Сеченова (Москва, 119881, Б. Пироговская ул., д. 2/6).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Московской медицинской  
академии (Москва, Зубовская площадь, д. 1).

Автореферат разослан “\_\_\_” \_\_\_\_\_ 1997 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

**В.А. ВАРШАВСКИЙ**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Проблема заживления осложненных ран (гнойных, огнестрельных, пролежневых, трофических язв и др.), характеризующихся той или иной степенью выраженности отклонений от стереотипной динамики воспалительно-репаративного процесса, остается одной из важнейших в хирургии мирного и, особенно, военного времени. У хирургических больных послеоперационные инфекционные осложнения, по данным различных авторов, развиваются от 0,5 до 10% оперированных (Покровский В.И., 1996; Bencini, 1991; Hambreus, 1991; Lawrence, 1994). Огнестрельные ранения продолжают занимать господствующее положение в военно-полевой хирургии, вместе с тем, наблюдается возрастание числа этих повреждений и среди гражданского населения как у нас в стране, так и за рубежом (Шапошников Ю.Г. и др., 1994; Гринев М.В. и др., 1996; Phillips, 1992; Bowyer, 1996). К числу самых частых и грозных осложнений у больных с травматическим повреждением спинного мозга относятся пролежневые раны, развивающиеся в 25-95% случаев (Горшков З.С. и др., 1991; Leigh, 1994; Salzb erg, 1996). Несмотря на большое число предложенных методов профилактики и лечения трофических язв венозной этиологии, они продолжают оставаться социальным злом - ими страдает не менее 0,2-2% взрослого населения, а лечение трофических язв остается одной из труднейших и далеко нерешенных проблем современной хирургии (Гостищев В.К. и др., 1995, 1996; Burton, 1994; Brown et al., 1996).

Распространенность среди населения осложненных ран, длительность течения, недостаточно эффективная терапия, экономический ущерб, вызванный временной потерей трудоспособности, заставляют углубленно изучать эту патологию. Известны многочисленные исследования, посвященные гистологическим и гистохимическим аспектам заживления осложненных ран у человека: гнойных ран (Аничков Н.Н. и др., 1951; Саркисов Д.С., 1984-1995; Каем Р.И. и др., 1990;), огнестрельных ран (Давыдовский И.В., 1946-1952; Сурвилло О.Н., 1952; Swan et al., 1991), пролежневых ран (Коган О.Г. и др., 1979; Leigh et al., 1994), трофических язв венозной этиологии (Пауков В.С. и др., 1996; Herrick et al., 1992; Burton, 1994). Вместе с тем имеются лишь отдельные элек-

тронно-микроскопические работы, посвященные в основном заживлению гнойных и ожоговых ран (Саркисов Д.С. и др., 1984-1995; Втюрин Б.В. и др., 1987; Пальцын А.А. и др., 1989; Пауков В.С. и др., 1996;). Морфология и патогенез огнестрельной раны во многом отличается от таковых периода Второй мировой войны (Шапошников Ю.Г. и др., 1984-1995; Wang, 1996), однако исследования по изучению поражающего действия на ткани современных ранящих снарядов малочисленны. Мало изучены на клиническом материале ультраструктурные особенности огнестрельных и пролежневых ран, трофических язв.

Многие морфологические аспекты заживления осложненных ран человека еще мало разработаны и не выяснены. Остаются малоизученными ультраструктурные механизмы торможения роста и созревания грануляционной ткани (ГТ), дифференцировка и структурно-функциональные особенности соединительнотканых клеток, взаимодействие клеточных элементов между собой и с межклеточным матриксом, взаимоотношение между воспалением, регенерацией и фиброзом в осложненных ранах. Традиционные средства и методы лечения осложненных ран часто малоэффективны и не всегда предупреждают развитие различных осложнений. Это определяет необходимость дальнейшего поиска новых и совершенствование известных средств и методов лечения, стимулирующих репаративные процессы в осложненных ранах, а также углубленного изучения их механизмов действия, в том числе с применением морфологических методов исследования.

**Цель и задачи исследования.** Настоящее исследование предпринято с целью изучения морфологических (прежде всего, ультраструктурных) особенностей заживления осложненных ран, а также влияния различных стимуляторов на процессы репарации. Для достижения этой цели в работе были поставлены следующие задачи:

- 1) изучить на экспериментальном материале с помощью количественного гистологического и электронно-микроскопического методов исследования динамику соотношения и структурно-функциональные особенности клеточных элементов в процессе заживления условно

асептических полнослойных плоскостных ран кожи без лечения и при стимуляции репаративных процессов коллагеном, хитозаном и рекомбинантным основным фактором роста фибробластов (**b FGF**);

2) изучить гистологически, гистохимически и электронно-микроскопически на экспериментальном и клиническом (биопсийном и операционном) материале основные общие закономерности и особенности морфофункционального состояния, роста и инволюции соединительной ткани в осложненных ранах (гнойные, огнестрельные, пролежневые раны и трофические язвы венозной этиологии);

3) с помощью морфометрического метода исследования изучить динамику изменения площадей зон первичного и вторичного некроза, а также зоны сотрясения по ходу раневого канала при заживлении экспериментальных огнестрельных ран;

4) изучить тонкие механизмы стимулирующего действия препаратов коллагена и иммобилизованного трипсина на репаративные процессы в осложненных ранах больных;

5) изучить в эксперименте влияние иммобилизованных на различных матрицах (поливиниловый спирт, карбоксиметилцеллюлоза, альгиновая кислота, марля, капрон, коллаген) протеолитических ферментов животного (трипсин, коллагеназа) и бактериального (террилитин) происхождения на заживление гнойных ран;

6) изучить влияние антиоксидантов, коллагеновых препаратов и иммобилизованных ферментов на заживление экспериментальных огнестрельных ран.

Исследование выполнено в лаборатории патоморфологии (зав. - профессор Шехтер А.Б.) Научно-исследовательского центра (зав. - академик РАЕН, профессор Грачев С.В.) Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова (ректор - академик РАН, профессор Пальцев М.А.) и в лаборатории патологической анатомии (зав. канд. мед. наук Берченко Г.Н.) Центрального научно-исследовательского института травматологии и ортопедии (директор - член-корр. РАН, профессор Шапошников Ю.Г.).

**Научная новизна.** Независимо от характера повреждающего фактора в осложненных ранах развиваются принципиально близкие патоморфогенетические признаки: пролонгированная

воспалительная реакция, расстройство системы микроциркуляции, ослабление миграции в рану макрофагов (**Мф**), уменьшение числа макрофагально-фибробластических контактов, замедление пролиферации и дифференцировки фибробластов (**Фб**), процессов фибриллогенеза, созревания ГТ, её эпителизации.

Заживление гнойных и огнестрельных ран характеризуется менее выраженным отклонением от стереотипной кинетики воспалительно-репаративной реакции, тогда как заживление нейротрофических пролежней и трофических язв отличается нарушением ауторегуляторных механизмов воспалительно-репаративной реакции и стереотипной кинетики заживления, что приводит к десинхронизации фаз воспаления и регенерации, пролонгированию и извращению воспалительной реакции, значительному торможению репаративных процессов, возникновению вторичных некротических изменений и образованию незаживающих ран и язв.

На основании морфометрических исследований с помощью видеонализатора IBAS - 2 впервые установлено, что огнестрельные раны отличаются достоверным увеличением в первые 5 суток площадей зон первичного и вторичного некроза, а также зоны сотрясения.

Синтетические и природные антиоксиданты, особенно иммобилизованный на коллагене атокоферол, стабилизируя эндогенную антиоксидантную систему и тормозя развитие свободно-радикального перекисного окисления липидов биомембран и других клеточных структур, ограничивают расширение зоны вторичного некроза в огнестрельных ранах.

Коллагеновые препараты, альгинатные покрытия, хитозан стимулируют репаративные процессы, в основном воздействуя на макрофагальное звено воспалительно-репаративной реакции. При этом усиливается хемотаксис в рану Мф, активизируется функциональная активность этих клеток, вырабатываемые в Мф биологически активные вещества (в том числе фибро- и ангиогенные) воздействуют на клетки микроокружения, способствуя восстановлению нарушенного межклеточного взаимодействия, образованию и созреванию ГТ, её эпителизации.

Иммобилизованные протеолитические ферменты микробного (террилитин) и, особенно, животного (трипсин, коллагеназа) происхождения, способствуя лизису тканевого детрита,

значительно ускоряют заживление гнойных и огнестрельных ран. Лизируя некротическую ткань, протеолитические ферменты значительно повышают концентрацию в ране пуриновых нуклеозидов и нуклеотидов, которые стимулируют пролиферацию и дифференциацию клеток, участвующих в процессе заживления ран.

По данным морфометрического исследования b FGF стимулирует заживление ран в основном путем активизации процессов ангиогенеза, оказывая прямое воздействие на эндотелиоциты.

Приоритет некоторых результатов исследований защищен авторскими свидетельствами: Авторское свидетельство № 814341 на изобретение "Способ стимуляции заживления кожных и кожно-мышечных ран", 1980; Авторское свидетельство № 835140 на изобретение "Полимерная композиция", 1981; Авторское свидетельство № 1047177 на изобретение "Полимерная композиция для лечения ран", 1983; Авторское свидетельство № 1615920 на изобретение "Индивидуальное перевязочное средство", 1990.

**Теоретическая значимость и практическая ценность работы.** Развиваемое в работе направление репаративной регенерации соединительной ткани на основе межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий имеет важное значение для исследований в различных областях патоморфологии. Работа является исследованием, которое расширяет и углубляет знания в области патологии заживления ран, раскрывает новые аспекты в изучении ультраструктурных механизмов межклеточного взаимодействия и функциональной морфологии клеток соединительной ткани, обосновывает необходимость и перспективность поиска новых путей стимуляции репаративных процессов при заживлении осложненных ран. В работе закладывается теоретическая база для изыскания способов управления местными регуляторными механизмами развития и инволюции соединительной ткани. Изучение тонких механизмов стимулирующего действия препаратов коллагена, хитозана, антиоксидантов, рекомбинантного основного фактора роста фибробластов и иммобилизованных протеолитических ферментов на репаративные процессы в обычных и осложненных ранах будет способствовать созданию и применению новых, более эффективных способов лечения этой патологии.

Проведенные исследования дают основание рекомендовать широко использовать клиническую морфологию (изучение биопсийного и операционного материала) при лечении осложненных ран в качестве критерия эффективности проводимого лечения.

Использование в лечении осложненных ран изученных препаратов, стимулирующих репаративные процессы, значительно улучшает результаты лечения и сокращает сроки пребывания больных в стационаре, что имеет важное социально-экономическое значение.

Основные положения, выносимые на защиту.

1.Осложненные раны, возникающие за счет повреждающих факторов различной природы (механических, инфекционных, нейротрофических и др.), характеризуются развитием принципиально близких патоморфологических признаков.

2.Заживление гнойных и огнестрельных ран, в связи с отклонением от стереотипной кинетики воспалительно-репаративной реакции и ее пролонгации, заторможено.

3.Заживление нейротрофических пролежней и трофических язв венозной этиологии характеризуется нарушением и извращением ауторегуляторных механизмов воспалительно-репаративной реакции и стереотипной кинетики заживления, десинхронизацией фаз воспаления и регенерации.

4.По данным морфометрического исследования огнестрельные раны отличаются увеличением площадей зон некроза и сотрясения в первые пять суток после повреждения, в связи с чем необходимо проводить вторичную хирургическую обработку огнестрельных ран.

5.При лечении осложненных ран коллагеновые препараты активизируют макрофагальную реакцию, уменьшают воспалительные изменения, восстанавливают нарушенные межклеточные взаимодействия, усиливают ангиогенез, пролиферацию и дифференцировку Фб, синтез и секрецию коллагена, созревание и ремоделирование ГТ, ее эпителизацию.

6.Иммобилизованные на различных матрицах протеолитические ферменты животного (трипсин, коллагеназа) и бактериального (террилин) происхождения, значительно активизирующие очищение ран и сокращающие стадию

воспаления, способствуют более раннему заживлению гнойных и огнестрельных ран.

7. Альгинатные покрытия и хитозан стимулируют заживление ран, в основном воздействуя на макрофагальное звено воспалительно-репаративной реакции; b FGF главным образом активизирует процессы ангиогенеза.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены и обсуждены на съездах патологоанатомов, хирургов, травматологов и ортопедов, 26 всесоюзных и республиканских конференциях.

**Публикации.** По изучаемой проблеме опубликовано 98 работ.

**Внедрение.** Результаты исследования патогенеза заживления осложненных ран и механизмов стимулирующего действия коллагеновых препаратов, антиоксидантов, иммобилизованных на различных носителях ферментов используются в отделе по изучению и применению коллагена в медицине Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, Московском текстильном институте, НИИ текстильных материалов для создания новых эффективных лекарственных форм, а также при

лечении больных в Городской клинической больнице № 23 им. Медсантруд, Городской клинической больнице № 29 им. Н.Э. Баумана, клинической больнице МПС РФ № 4, Одесской областной клинической больнице, на кафедре онкологии ММСИ им. Н.А. Семашко, в НИИ лазерной хирургии, ЦИТО им. Н.Н. Приорова и других медицинских учреждениях.

Результаты исследования использованы в монографии "Протеолитические ферменты, иммобилизованные на волокнистых материалах, в хирургии" и в 4-х методических рекомендациях, утвержденных МЗ РФ.

**Объем работы.** Диссертация состоит из введения, 9-ти глав, посвященных обзору литературы, материалам и методам исследования, результатам собственного исследования, а также общего заключения, выводов и библиографии. Текст изложен на 345 страницах машинописи (в том числе 296 страниц собственно текста), иллюстрирован 23 таблицами, 11 диаграммами, 140 рисунками (микрофотографиями и электронограммами). Указатель литературы содержит 1103 источника, из них 401 работа отечественных и 702 - иностранных авторов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧАСТИ РАБОТЫ изучено заживление обычных и осложненных ран у 747 животных, разделенных на 4 серии.

В 1-ой серии опытов (128 крыс линии "Август"), разделенной на 2 группы, исследовали морфологические особенности заживления условно асептических полнослойных плоскостных ран кожи площадью 4 см<sup>2</sup>. В 1-ой группе (73 животных) раны заживали без лечения, во 2-ой (55 животных) - при покрытии ран коллагеновым порошком.

Во 2-ой серии опытов (420 крыс-самцов), разделенных на 14 групп, изучались морфологические особенности динамики заживления гнойных ран без лечения, а также при использовании в качестве покрытий коллагеновых препаратов (коллаген-фурагиновый порошок, губка), иммобилизованных на различных матрицах (марлевая или капроновая салфетка, пленка поливинилового спирта, губка альгиновой кислоты) протеолитических ферментов

(террилитин, трипсин, коллагеназа). Модель плоскостной кожно-мышечной гнойной раны воспроизводилась путем иссечения в межлопаточной области кожи с подкожной клетчаткой площадью 400мм<sup>2</sup> с последующим размозжением мышечной ткани, в которую вводилась патогенная культура стафилококка (штамм № 75) в количестве 1,5 x 10<sup>9</sup> микробных тел в 1 мл физиологического раствора. Перед введением патогенной культуры дно раны травмировали зажимом Кохера.

В 3-ей серии опытов на 169 животных (42 крысы, 35 свиней, 92 кролика), разделенных на 16 групп, изучены морфологические особенности заживления огнестрельных ран. Проведено морфометрическое исследование изменения площадей зон некроза и сотрясения в динамике заживления огнестрельных ран. Изучены морфологические особенности заживления огнестрельных ран, наносимых из современного стрелкового оружия пулями с устойчивым и неустойчивым полетом. Исследовалось влия-

ние препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами (раствор эпигида, феназана, линимент дибунола), комбинированных коллагеновых препаратов (коллагеновая губка, содержащая дибунол; аэрозоль "ликозоль", содержащий коллаген, витамин Е, многоатомные спирты, антисептик), а также иммобилизованных ферментов (дальцекс- и пакс-трипсин) на заживление огнестрельных ран мягких тканей. Модель огнестрельной раны бедра воспроизводили путем нанесения огнестрельного повреждения мягких тканей средней трети бедра снарядами калибром 5,6 мм с начальной скоростью полета 330 м/сек, а также калибром 5,45 и 5,56 мм со скоростью полета 750 и 800 м/сек. соответственно.

В 4-ой серии опытов (30 мини-свиней) изучались особенности заживления условно асептических полнослойных плоскостных ран кожи, леченных b FGF и хитозаном. Животным в паравертебральной области спины наносили по 6 ран кожи площадью 7,065 см<sup>2</sup>. Лечение ран производили различными концентрациями фактора роста фибробластов, препаратами хитозана, в том числе хитозановой губкой, содержащей b FGF.

Во всех сериях исследований морфологическое исследование ран проводили в динамике их заживления.

В КЛИНИЧЕСКОЙ ЧАСТИ РАБОТЫ изучены морфологические особенности заживления осложненных ран ( гнойные, огнестрельные, пролежневые раны и трофические язвы ) у 345 больных.

Больные с гнойными ранами (182 пациента), образовавшимися после вскрытия гнойно-воспалительных очагов мягких тканей различной локализации (абсцессы, флегмоны, нагноившиеся послеоперационные раны), составили 5 групп. В 1-ой группе больных (55 человек) после вскрытия гнойно-некротического очага и удаления некротических масс местное лечение ран проводили традиционными методами физической антисептики. В 5-ой группе (56 больных) после операции в полость гнойных ран вводили коллагеновую губку колоцил, в 6-ой группе (26 больных) вводили коллагеновую губку метуракол. В 10-ой и 11-ой группах больных местное лечение гнойных ран проводили иммобилизованными ферментами. После вскрытия и санации гнойного очага осуществлялась местная энзимотерапия препаратами

иммобилизованного трипсина на целлюлозном (дальцекс-трипсин) и капроновом (пакс-трипсин) носителе. Дальцекс-трипсин применяли в 10-ой группе (21 больной), пакс-трипсин - в 11-ой группе (24 больных).

Больные с огнестрельными ранами (70 пациентов) вошли во 2-ю, 7-ю, 12-ю и 13-ю группы. Срок давности существования огнестрельной раны при поступлении раненых в госпиталь исчислялся от 24-48 часов до 1 месяца после ранения. Во 2-ой группе (16 больных) лечение огнестрельных ран проводили традиционными способами. В 7-ой группе (22 больных) после хирургической обработки огнестрельной раны и промывания ее растворами антисептиков раневой дефект заполняли полосками коллагенового препарата колоцил.

В 12-ой и 13-ой группах больных местное лечение огнестрельных ран осуществляли иммобилизованными ферментами: дальцекс-трипсином (14 больных) и пакс-трипсином (18 больных) соответственно.

Больные с пролежневыми ранами, развившимися у пациентов с травмой позвоночника, осложненной синдромом полного поперечного повреждения спинного мозга, вошли в 3-ю и 8-ю группы (46 больных). У большинства больных имелись множественные пролежни, относящиеся к 3-4 стадиям развития. В 3-ей группе (19 больных) лечение 28 пролежневых ран проводили средствами консервативной традиционной терапии, выбор которых зависел от стадии пролежневого процесса. В 8-ой группе (27 больных) местное лечение пролежневых ран осуществляли с помощью коллагеновой губки колоцил.

Больные с трофическими язвами венозной этиологии составили 4-ю и 9-ю группы (44 пациента). Длительность основного заболевания (прогрессирующее варикозное расширение вен, посттромбофлебитический синдром) колебалась от 3-х месяцев до 30-ти лет. В 4-ой группе (26 больных) лечение трофических язв венозной этиологии проводилось общепринятыми методами физической антисептики. В 9-ой группе (21 больной) местное лечение трофических язв проводили коллагеновым препаратом колоцил.

Морфологическое исследование биопсийного материала у всех больных проводили в динамике лечения ран. Производили планиметрические и микробиологические исследования,

также изучали клеточный и гуморальный иммунный ответ на апплицируемый коллаген.

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.** Изучение материала производили с помощью комплекса морфологических методов: гистологических, гистохимических, морфометрических, электронно-микроскопических, а также метода изучения полутонких препаратов.

Для гистологических и большинства гистохимических методик ткань фиксировали в жидкости Карнуа. Кроме окраски гематоксилином и эозином использовали методы, выявляющие незрелые (аргирофильные) и зрелые коллагеновые волокна: окраска по Маллори, окраска по ван Гизону, импрегнация серебром по Гомори. Методами гистохимии определяли кислые гликозаминогликаны (ГАГ, окрашивание толуидиновым синим при рН 2.7; 4.9; 6.0 с контролем тестикулярной и стрептококковой амилазой, окрашивание альциановым синим по Хейлу), гликопротеины и гликоген (ШИК - реакция с контролем амилазой), РНК (реакция Браше с контролем рибонуклеазой). В нефиксированных криостатных срезах выявляли кислую и щелочную фосфатазы (методом азосочетания нафтолофосфатов с гексозатированным парарозанилином, Lojda et al., 1964), а также неспецифическую эстеразу по Берстону.

Для трансмиссионной электронной микроскопии материал фиксировали, обезвоживали и заливали в дуркупан или аралдит по методу фирмы "Рейхерт" (Австрия). Ультратонкие срезы контрастировали азотнокислым свинцом и уранилацетатом по Reynolds (1967) и изучали

в электронном трансмиссионном микроскопе JEM-100В. Для выявления на ультраструктурном уровне протеогликанов (20 животных) материал контрастировали рутениевым красным по методу Luft (1971). Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим по Philpott (1966), а также методом Taizan, Mikikiri (1973), специфически выявляющим коллагеновые волокна.

С целью сравнительного изучения динамики количественных изменений клеточного состава и васкуляризации условно асептических полнослойных ран кожи, заживающих без лечения и при стимуляции репаративных процессов, применяли гистоморфометрический метод исследования. Для количественного подсчета исследуемого материала применяли окулярную сетку С.Б. Стефанова, содержащую 10 квадратов со стороной квадрата 1 мм. С целью изучения изменения площадей зон некроза и сотрясения в динамике заживления огнестрельных ран с помощью электронного анализатора изображения IBAS 1+2 применяли морфометрический метод исследования.

Для выявления иммунного ответа на коллагеновые препараты с кровью больных были поставлены реакция пассивной гемагглютинации (по методу Veil et al., 1973), реакция торможения гемагглютинации и реакция иммунодиффузии в агарозном геле (модификация метода Rothbard et al., 1972). Клеточный иммунный ответ больных был изучен с помощью реакции торможения миграции лейкоцитов в постановке Soborg et al., (1967).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАЖИВЛЕНИЯ УСЛОВНО АСЕПТИЧЕСКИХ И ГНОЙНЫХ РАН

Исследование экспериментальных условно асептических полнослойных плоскостных ран кожи крыс показало, что к концу стадии травматического воспаления (1-я стадия заживления ран) основными клеточными элементами являются Мф. Последние очищают раневой дефект от фибрина и тканевого детрита, состоящего главным образом из разрушающихся полиморфноядерных лейкоцитов (ПЯЛ) и преобладающих коллагеновых волокон

поврежденной дермы и подкожной клетчатки. Тканевой детрит разрушается под влиянием протеолитических (в том числе коллагеназы) и гликолитических ферментов, выделяющихся в межклеточное вещество из разрушающихся ПЯЛ и активно функционирующих Мф (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Mainardi, 1991; Qasim, 1996). Последние также фагоцитируют в основном продукты распада тканевого детрита, в том числе коллагеновых фибрилл,

так как в цитоплазме Мф обычно не определяются фибриллы с характерной поперечной исчерченностью.

Вторая стадия заживления ран - пролиферативная, с которой собственно начинается репаративный процесс, включает в себя формирование капилляров, пролиферацию Фб и клеток эпидермиса, синтез и накопление кислых ГАГ и коллагена, фибрилlogenез и формирование коллагеновых волокон.

Стадия формирования и перестройки рубца (3-я стадия заживления ран) характеризуется сочетанием фибрилlogenеза (формирование фибрилл, волокон и пучков волокон) с процессами резорбции коллагеновых структур, разрушения части клеток и уменьшением числа сосудистых элементов.

В процессе формирования, созревания и перестройки соединительной ткани по ультраструктурным признакам можно выделить следующие типы Фб: 1) незрелые клеточные формы - малодифференцированные и юные Фб; 2) дифференцированные клеточные формы - коллагенобласты, миофибробласты, фиброкласты, фиброциты, являющиеся специализированными структурно-функциональными типами Фб. Так как все дифференцированные формы Фб в той или иной степени способны к синтезу коллагена и фиброклазии, а также содержат цитоплазматические миофиламенты, можно предполагать, что направление дифференцировки каждой клеточной формы из незрелых Фб определяется не генотипом, а влиянием микроокружения и действием гуморальных регулирующих факторов.

Морфометрическое исследование изменений клеточного состава и васкуляризации условно асептических полнослойных плоскостных ран кожи крыс показало, что к концу стадии травматического воспаления (3-и сутки после операции) преобладающими клеточными элементами являются ПЯЛ, очищающие рану от микробов, инородных тел и продуктов распада поврежденных тканей. Васкуляризация раны в этот период выражена слабо, о чем свидетельствует низкое содержание эндотелиоцитов (1.69%) и почти полное отсутствие вертикальных сосудов.

Резкое возрастание между 3-ми и 5-ми сутками числа эндотелиоцитов и вертикальных сосудов свидетельствует о том, что именно в стадию пролиферации в ранах происходит наиболее

интенсивное образование сосудистых элементов. Максимальная васкуляризация ГТ определяется к 7-м суткам, так как к этому сроку достигают максимального значения число эндотелиоцитов и число вертикальных сосудов, характерных для ГТ.

Наиболее активная пролиферация эндотелиоцитов по времени совпадает с наибольшим увеличением содержания в ранах Мф - клеток, играющих ключевую роль в реализации функций специфического (взаимодействие с В- и Т-лимфоцитами) и неспецифического (фагоцитоз) иммунитета, воспаления, регенерации и противоопухолевой защиты (Галактионов В.Г., 1978; Фрейдлин И.С., 1984; Маянский Д.Н., 1991; Шехтер А.Б., Серов В.В., 1991; Кауфман О.Я., Шехтер А.Б., 1995; van Furth, 1979, 1985; Stein et al., 1992; Fenton, 1996). В период формирования ГТ Мф не только осуществляют фагоцитоз тканевого детрита, но и выделяют различные биологически активные вещества, регулирующие межклеточные и клеточно-тканевые взаимодействия. Учитывая сведения о способности Мф выделять индукторы ангиогенеза, стимулирующие пролиферацию эндотелиоцитов (Okabe, 1986; Nom, 1995; Greenhalgh, 1996), можно предположить, что на 3-5 сутки после травмы Мф, мигрирующие в зону воспаления на смену ПЯЛ, выделяют монокины, стимулирующие пролиферацию эндотелиоцитов и рост сосудов. Кроме того Мф секретируют фибронектин, усиливающий хемотаксис Фб (Lemaire, 1986; Koorman, 1995), что объясняет одну из причин наиболее интенсивного увеличения числа Фб между 3-ми и 5-ми сутками после операции. Некоторое уменьшение абсолютного числа (при продолжающемся увеличении относительного количества) эндотелиоцитов и Фб к 10-м суткам (стадия формирования и перестройки рубца) объясняется фиброзной перестройкой ГТ, при которой часть этих клеток подвергается деструкции, но в меньшей степени, чем другие клетки.

Таким образом, абсолютное и относительное количество клеточных элементов и сосудов в заживающих условно асептических полнослойных плоскостных ранах кожи крыс изменяется соответственно стадиям раневого процесса. В полнослойных ранах кожи крыс, заживающих без лечения, наиболее интенсивное увеличение эндотелиоцитов, Мф и Фб наблюдается к 5-м суткам, максимальная васкуляризация - к 7-м суткам после операции.

Ответной реакцией на травму и развитие раневой инфекции является миграция в рану многочисленных ПЯЛ. Последние, фагоцитируя микробы и погибая в ране, выделяют физиологически активные вещества (кислые и нейтральные гидролазы, простагландины, тромбосаны и др.), которые разрушают соседние внеклеточные структуры (фибронектин, протеогликаны, коллаген I, III и IV типов и др.), генерируют медиаторы воспаления, могут повреждать клетки (Саркисов Д.С. и др., 1981; Пауков В.С., Кауфман О.Я., 1983; Серов В.В., Шехтер А.Б., 1981; Yang, 1991; Schleiffenbaum, 1996). Эти вещества вместе с токсическими продуктами микробов (гемоллизин, лейкоцидин, некротоксин и др.), повреждая окружающую ткань и воздействуя на систему микроциркуляции, поддерживают гнойно-инфекционный процесс. Большая доза и высокая вирулентность микробов вызывают длительную миграцию в очаг воспаления ПЯЛ. При этом ферменты последних могут разрушать опсонические факторы -Ig G, C3 и др. (Clark, 1993), что значительно снижает антибактериальную активность ПЯЛ и пролонгирует миграцию в рану этих клеток.

Результаты наших гистологических, гистохимических и ультраструктурных исследований показали, что в большинстве случаев в гнойных ранах наблюдается снижение в ПЯЛ уровня гликогена, слабая активность щелочной и кислой фосфатаз, интенсивный распад клеток. В гнойных ранах значительно выражена деструкция ткани вплоть до крупных фокусов некроза, обычно выявляемых на фоне распространенного расстройства микроциркуляции. Отек и некроз часто преобладают над нейтрофильной инфильтрацией, в ряде случаев последняя имеет гнойный характер. Расстройства микроциркуляции и сопутствующие им явления отека, гемо- и лимфостаза, ацидоза и гипоксии также тормозят формирование и созревание ГТ, ее эпителизацию и заживление раны. То есть длительная инфильтрация ПЯЛ, биологическим смыслом которой является очищение раны от бактерий, приводит к нарушению стереотипной динамики заживления.

Нами обнаружено, что в гнойных ранах человека снижено количество и функциональная активность Мф. В последних угнетена фагоцитарная функция: снижена активность кислой фосфатазы и эстеразы, уменьшено число лизосом и фагосом, отмечается деструкция клеток,

замедление очищения ран. Значительно уменьшено количество макрофагально-фибробластических контактов. Все это приводит к выраженному торможению пролиферативной фазы раневого процесса. Объяснить это явление можно тем, что Мф принимают активное участие в процессе репарации, в частности при заживлении ран (Шехтер А.Б. и др., 1977 - 1984; Серов В.В. Шехтер А.Б., 1981; Берченко и др., 1985; Кауфман О.Я., Шехтер А.Б., 1995; Пауков В.С., Кауфман О.Я., 1995; van Furth, 1985; Stein et al., 1992; Hauser, 1996). Мф секретируют монокины, стимулирующие пролиферацию Фб и продукцию ими коллагена (Leibovich et al., 1987; Hunt, 1988; Rappolee, Werb, 1992; Compton et al., 1996). Эти монокины могут передаваться Фб через макрофагально-фибробластические контакты, играющие важную роль в ауторегуляции заживления.

Торможение пролиферативной фазы раневого процесса у больных с инфицированными и гнойными ранами также проявляется в уменьшении числа митозов Фб, замедлении их дифференцировки в зрелые формы, в слабовыраженных ультраструктурных признаках секреции коллагена и протеогликанов, торможении фибриллогенеза и созревания коллагеновых волокон. В Фб отмечаются признаки деструкции ядер, митохондрий, других органелл и клеточных мембран вплоть до распада клеток. В более поздние сроки реже встречаются миофибробласты, что замедляет контракцию раны. Длительные воспалительные изменения в ГТ тормозят эпителизацию раны, что свидетельствует о нарушении эпителиально-мезенхимальных взаимодействий.

Уменьшение количества Мф в гнойных ранах не только способствует замедлению пролиферации, дифференцировки и синтеза коллагена Фб, но и пролонгирует хемотаксис ПЯЛ и ослабляет миграцию в рану Фб. Это согласуется с данными, полученными *in vitro*, где в культуре Мф секретируют монокины, ингибирующие хемотаксис ПЯЛ, а также синтезируют и выделяют в межклеточное вещество фибронектин, являющийся хемотаксическим и адгезивным фактором для Фб (Clark, 1993; Koorman, 1995). Ослаблением функциональной активности Мф можно также объяснить длительное существование тканевого отека (Струков А.И., 1983; Kiritsky, 1993) и замедленное очищение раны.

Нарушение одного из звеньев стереотипной динамики воспалительно-репаративной реак-

ции (продолжительная инфильтрация ПЯЛ, слабая миграция в рану Мф) приводит к изменениям всей цепи (Шехтер А.Б. и др., 1984), что проявляется в торможении развития репаративных процессов. Однако при этом могут включаться другие регуляторные системы, в частности иммунные, направленные на восстановление ауторегуляторных механизмов заживления. Формирование в ГТ гистиолимфоцитарных инфильтратов с примесью плазматических клеток является ответной иммунной реакцией организма на бактериальную инвазию и извращенную кинетику воспаления. Клетки иммунокомпетентной системы играют важную роль в обеспечении развития восстановительного роста (Бабаева А.Г., 1993). Лимфоциты способны вырабатывать лимфокины, ингибирующие или стимулирующие пролиферацию и функциональную активность Фб (Postlethwaite et al., 1980; Breslin et al., 1988; Barbul, 1990; Adolph et al., 1993). Поскольку любая реакция организма в конечном счете направлена на возврат к физиологической норме, то на данном этапе развития инфекционно-гнойного воспаления, еще не перешедшего в хроническое, по-видимому, синтезируют

ся, в основном, лимфокины, стимулирующие пролиферацию и синтетическую активность Фб, что реализуется в постепенном формировании и созревании ГТ, ее эпителизации. Очевидно, сами ПЯЛ, пролонгирующие воспалительную реакцию, выделяя определенные медиаторы, способны стимулировать миграцию в рану лимфоцитов, нормализующих ауторегуляторные механизмы заживления. Это согласуется с данными, полученными *in vitro*, где супернатант активированных ПЯЛ, независимо от Мф, усиливал пролиферацию, дифференцировку и синтетическую активность Т-лимфоцитов (Fitzgerald et al., 1983; Goto et al., 1984) - клеток, играющих ключевую роль в регулировании иммунного ответа.

Таким образом, заживление гнойных ран характеризуется десинхронизацией фаз воспаления и регенерации, проявляющейся в пролонгировании воспалительных изменений на фоне ослабленной макрофагальной реакции и расстройств системы микроциркуляции. Одновременно происходит торможение процессов репарации, что в некоторых случаях приводит к возникновению длительно не заживающих ран.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАЖИВЛЕНИЯ ОГНЕСТРЕЛЬНЫХ РАН

Полученные нами в экспериментальных исследованиях результаты в соответствии с литературными данными свидетельствуют о том, что при огнестрельных повреждениях развивающиеся структурно-функциональные изменения в наибольшей степени выражены во внутреннем слое зоны сотрясения канала огнестрельной раны. Усиливающиеся расстройства системы микроциркуляции способствуют прогрессированию дистрофических и некробиотических процессов, заканчивающихся обычно развитием вторичных некрозов во внутреннем слое этой зоны. При благоприятном течении раневого процесса структурно-функциональные изменения наружного слоя зоны сотрясения подвергаются обратному развитию, что в значительной степени предотвращает вторичное некротизирование поврежденных тканей.

Впервые проведенное нами с помощью видеоанализатора IBAS-1+2 морфометрическое исследование динамики изменения площадей зон

первичного (зона контузии) и вторичного некроза, а также зоны сотрясения показало, что на 2-е сутки после ранения мягких тканей бедра крысы низкоскоростными снарядами (начальная скорость полета пули 330 м/сек) площадь этих зон по ходу раневого канала различна. Площадь зоны первичного и вторичного некроза в области входного отверстия, средней части канала и выходного отверстия статистически достоверно различна и наибольшую величину составляет в области выходного отверстия канала огнестрельной раны. Причем площадь некроза в области выходного отверстия увеличена по сравнению с входным отверстием в 1,26 раза и по сравнению со средней частью канала - в 1,75 раза. Площадь зоны сотрясения в области входного отверстия и средней части канала статистически достоверно не отличаются, тогда как в области выходного отверстия этот показатель увеличивается в 1,21 раза. В последующие сроки исследования, особенно к 8-м и 12-м суткам после ранения, площадь зон

некроза и сотрясения по ходу раневого канала в значительной степени нивелируется.

Таким образом, в ранние сроки после нанесения огнестрельной раны (48 часов) наблюдается неравномерное распределение зон первичного и вторичного некроза, а также сотрясения по ходу раневого канала, причем наибольшую площадь эти зоны занимают в области выходного отверстия канала огнестрельной раны. Данный эффект, очевидно, обусловлен неравномерной передачей тканям кинетической энергии ранящим снарядом по ходу раневого канала при наибольшей отдаче энергии в области выходного отверстия канала огнестрельной раны. Постепенное нивелирование в последующие сроки исследования площадей зон некроза и сотрясения в области входного отверстия, средней части канала и выходного отверстия, по-видимому, можно объяснить неравномерной резорбцией некротизированной ткани и контракцией вдоль канала огнестрельной раны формирующейся в зоне сотрясения ГТ.

К 5-м суткам после нанесения огнестрельной раны в области входного отверстия и средней части раневого канала огнестрельной раны наблюдается достоверное увеличение площадей зон первичного и вторичного некроза, сотрясения. Площадь зон первичного и вторичного некроза, а также сотрясения по сравнению со 2-ми сутками исследования увеличивается в области входного отверстия в 1,26 раза ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$  соответственно). В области средней части раневого канала к 5-м суткам после ранения площадь зоны первичного и вторичного некроза увеличивается в 1,87 раза ( $p < 0,001$ ), а площадь зоны сотрясения в 1,35 раза ( $p < 0,001$ ). В области выходного отверстия канала огнестрельной раны отмечается недостоверное ( $p > 0,05$ ) незначительное уменьшение площади зоны первичного и вторичного некроза и увеличение площади сотрясения. В последующие сроки (8-12 сутки) во всех трех исследуемых областях раневого канала огнестрельной раны происходит интенсивное достоверное ( $p < 0,001$ ) уменьшение площадей зон первичного и вторичного некроза, сотрясения. То есть впервые с помощью количественного морфометрического метода исследования показано, что в отличие от обычных ран травматического происхождения в огнестрельных ранах отмечается распространение дистрофических и некротических процессов в поврежденных тканях. При-

чем наибольшая площадь зон первичного и вторичного некроза, а также сотрясения отмечается в области входного отверстия и средней части раневого канала к 5-м суткам после огнестрельного ранения. Увеличение площади зон первичного и вторичного некрозов, сотрясения, по-видимому, объясняется усиливающимися расстройствами системы микроциркуляции, прогрессированием гипоксии и, как следствие, дистрофических и некробиотических процессов, приводящих, в конечном счете, к развитию вторичного некроза во внутреннем слое зоны сотрясения и расширению наружного слоя этой зоны.

По ходу раневого канала, наносимого в эксперименте высокоскоростными пулями (начальная скорость полета пули 750-800 м/сек) с последующим проведением через 60 мин. после повреждения первичной хирургической обработки раны, через 24 часа после ранения на фоне резкого расстройства микроциркуляторного русла развиваются выраженные процессы воспаления, дистрофии и некроза. Наличие через 24 часа после ранения некротизированной ткани на границе с первичным раневым каналом свидетельствует о том, что при первичной хирургической обработке, проводимой через 60 минут после ранения не удается полностью удалить поврежденную, явно нежизнеспособную ткань, входящую в зону контузии (зону первичного некроза). К 3-м суткам в результате прогрессирования явлений отека, лимфостаза, ацидоза и гипоксии часть поврежденной, особенно мышечной, ткани во внутреннем слое зоны сотрясения подвергается вторичному некрозу. Огнестрельные ранения, нанесенные пулями с неустойчивым полетом, в результате изменения положения пули в тканях и резкого возрастания сопротивления движению пули, а также соответственно этому значительному увеличению передачи энергии тканям (Шапошников Ю.Г., 1991; 1994; Schaposhnikov et al., 1995), отличаются более выраженным поражением системы микроциркуляции, усилением альтеративных, воспалительных, дистрофических и некротических процессов, что способствует расширению площади зон контузии и сотрясения. Выявленные патоморфологические особенности огнестрельной раны противоречат высказываемому положению о том, что огнестрельная рана не отличается от любой другой механической травмы и что обычная и огнестрельная раны должны вестись хирургически идентично (Fackler, 1986, 1988).

Полученные нами морфометрические данные являются подтверждением мнения ряда хирургов о том, что вторичная хирургическая обработка огнестрельных ран является не исключением и не исправлением ошибок предыдущего этапа, а правилом для хирургов, обеспечивающим более благоприятное течение заживления огнестрельных ран (Шапошников Ю.Г., 1984; Гринев М.В., Воробьев В.В., 1996). По нашим данным вторичную хирургическую обработку огнестрельной раны целесообразнее производить после 5-х суток ранения, что согласуется с некоторыми клиническими наблюдениями (Hoffer, 1991; Ordog et al., 1993).

Местное применение в течение часа после огнестрельного ранения антиоксидантных препаратов способствует ослаблению нарушений микроциркуляторного русла, уменьшению воспалительных и дистрофических изменений, что сопровождается ограничением процессов вторичного некротизирования тканей и активизацией образования и созревания ГТ, более быстрым восстановлением жизнеспособности поврежденных тканей по периферии от раневого канала. Ранее был обнаружен положительный эффект влияния антиоксидантов на предупреждение развития инфекции и заживление гнойных ран, ожогов, трофических язв (Камаев М.Ф., 1975; Сологуб В.К. и др., 1979; Сморгун С.А., 1984; Hinder, 1991; Halliwell, 1994). По-видимому, природные (α-токоферол) или синтетические (дибунол, эпигид, феназан) антиоксиданты в значительной степени стабилизируют эндогенную многокомпонентную антиоксидантную систему и тормозят развитие свободнорадикального перекисного окисления липидов биомембран и других клеточных структур, что проявляется в ослаблении дистрофических и некротических процессов, в ограничении зоны вторичного некроза. Наиболее эффективен при местном лечении огнестрельных ран природный антиоксидант α-токоферол (витамин Е) при его использовании в виде аэрозоля "ликозоль". Среди синтетических антиоксидантов наиболее выраженным положительным эффектом на течение огнестрельной раны обладает дибунол.

Гистологическое, гистохимическое и электронно-микроскопическое исследования био-

псийного материала у больных с огнестрельными ранами мягких тканей, нанесенными из современного стрелкового оружия, показали, что при общепринятом традиционном лечении большинство огнестрельных ран характеризуется торможением репаративных процессов. Характерными особенностями длительно заживающих огнестрельных ран являются пролонгированная воспалительная реакция, ослабленная Мф инфильтрация, резкое расстройство системы микроциркуляции, торможение процессов образования и созревания ГТ. При этом на всех сроках исследования преобладают ПЯЛ, содержание моноцитов и Мф значительно снижено, Фб немногочисленны и представлены малодифференцированными и юными формами, межклеточные контакты между Мф и Фб крайне редки. Расстройства микроциркуляторной системы проявляются в виде гемо- и лимфостаза, набухания эндотелиоцитов, инфильтрации сосудистой стенки ПЯЛ, разрыхления и утолщения базальных мембран сосудов, резкого отека ткани и диапедезных кровоизлияний. Процессы фиброобразования и эпителизации ГТ заторможены.

При длительном существовании ран в сосудах раневого дефекта определяются признаки продуктивно-инфильтративного васкулита. Сохраняется нейтрофильная инфильтрация, повышенная сосудистая проницаемость и отек ткани, еще реже встречаются Мф, замедляется пролиферация и дифференцировка Фб, вблизи последних формируются незрелые коллагеновые фибриллы, встречаются признаки "дефектного" фибриллогенеза, в Фб часто развиваются дистрофические изменения, что значительно тормозит созревание и фиброобразование ГТ, заживление ран. Таким образом, большинство огнестрельных ран мягких тканей, нанесенных из современного стрелкового оружия, отличается торможением репаративных процессов, что проявляется резким расстройством системы микроциркуляции, пролонгированной воспалительной и ослабленной макрофагальной реакциями, слабовыраженными пролиферацией и дифференцировкой Фб, угнетением фибриллогенеза коллагена.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАЖИВЛЕНИЯ ПРОЛЕЖНЕВЫХ РАН

В пролежневых ранах у больных с повреждением спинного мозга одним из наиболее ранних и характерных признаков трофических расстройств в пораженных тканях являются изменения сосудов различных калибров, особенно микроциркуляторных. Эти изменения предшествовали развитию некрозов в коже, подкожной клетчатке и мышцах, сопровождали их, а также обнаруживались в сосудах ГТ, заполняющей раневой дефект после некрэктомии. При световой микроскопии в капиллярах, венах и артериолах отмечаются признаки стаза, агглютинации эритроцитов, отек и набухание эндотелиоцитов, их слущивание, сморщивание и выпячивание в просвет, часть сосудов расширена, у других просвет значительно сужен. Признаками резко повышенной проницаемости стенок сосудов является выраженный отек ткани, выход из просвета сосудов многочисленных ПЯЛ и эритроцитов. В части сосудов обнаруживаются признаки плазматического пропитывания и фибриноидного некроза. Происходит выраженная пролиферация эндотелиоцитов и перцитов, наплыв этих клеток друг на друга, инфильтрация сосудистой стенки многочисленными ПЯЛ, утолщение сосудистой стенки и значительное сужение просвета, то есть формируются эндо-, пери- и панваскулиты, в отдельных случаях - тромбоваскулиты.

Выраженные изменения обнаруживаются в стенках сосудов при электронной микроскопии. В капиллярах, венах и артериолах отмечаются дистрофические изменения эндотелиальных клеток и несколько реже перцитов: вакуолизация и очаговые просветления цитоплазмы, лизис органелл, кариопикноз, хроматолиз, накопление аутофагосом в цитоплазме. Во многих сосудах наблюдается пролиферация эндотелия и перцитов, беспорядочное переплетение этих клеток с резким утолщением стенки и сужением или окклюзией просвета. В стенке сосуда между эндотелиоцитами и перцитами располагаются многочисленные ПЯЛ. В более крупных сосудах лейкоциты инфильтрируют стенку с примесью единичных моноцитов.

Особенно выражена патология базальных мембран: последние выглядят набухшими, размытыми, прерывистыми или не выявляются совсем, заменяясь широкими перикапиллярными зонами, которые при световой микроскопии

принимаются за резко набухшие базальные мембраны. Эти зоны состоят из мелкозернистого вещества и тонких коллагеновых волокон (диам. 150-250 нм) с плохо выраженной периодичностью. Очевидно, кроме коллагена базальных мембран (1Y типа) здесь содержатся коллагены I и III типа, протеогликаны и гликопротеины, секретируемые активированными перцитами. Здесь же встречаются признаки патологического фибриллогенеза в виде формирования поперечно-связанных филаментарных агрегатов или "полосатых телец" с характерной периодичностью 90 нм.

Пролежневые раны отличаются торможением развития пролиферативной стадии. Так, на фоне выраженной инфильтрации раневого дефекта ПЯЛ, отличающихся сниженным уровнем содержания гликогена, слабой активностью кислой и щелочной фосфатаз, вторичных некрозов ГТ, значительно снижено содержание Мф. В последних малочисленны лизосомы и фагосомы, снижена активность кислой фосфатазы и эстеразы. Макрофагально-фибробластические контакты обнаруживаются очень редко. Количество Фб невелико, митотически делящиеся клетки не встречаются, преобладают Фб юного типа, коллагенобласты I и II типа малочисленны, то есть дифференцировка Фб в зрелые формы заторможена. Снижена биосинтетическая активность Фб, что проявляется в слабой пиронинофилии ядрышек и цитоплазмы, в незначительном содержании в межклеточном веществе кислых ГАГ и пучков коллагеновых волокон с характерной периодической исчерченностью. В части Фб наблюдаются признаки вакуолизации цитоплазмы, частичного разрушения плазмалеммы, увеличения содержания лизосом, появления аутофагосом с последующим формированием миелиновых фигур и остаточных телец, хроматолиза, что свидетельствует о дистрофических изменениях в этих клетках. По мере увеличения сроков существования пролежневых ран в них увеличивается число дистрофически измененных и разрушающихся Фб. Важно подчеркнуть, что в пролежневых ранах отсутствуют миофибробласты, характерные для развития нормальной ГТ и отвечающие за ее контракцию (Шехтер А.Б. и др., 1975, 1995; Gabbiani, 1971-1996; Zhang, 1996).

Формирующаяся в пролежневых ранах ГТ отличается наличием фокусов некроза различных

размеров. Нестойкость неполноценной ГТ к повторным разрушениям объясняется не только нейрососудистыми и метаболическими (преобладание катаболизма) расстройствами, но и дефектным фибриллогенезом, проявляющимся в образовании поперечно-исчерченных филаментарных агрегатов ("збровидные тельца") и других несовершенных форм коллагеновых фибрилл.

Эпителизация пролежневой раны прогрессирует вяло. Иногда определяется некроз и отслойка целого пласта новообразованного эпидермиса, чем, по-видимому, можно объяснить полное отсутствие эпителизации пролежневых ран у 30% больных, леченных традиционными средствами.

Значительное торможение репарации эпидермиса, очевидно, объясняется неполноценным развитием и созреванием ГТ, нарушением межклеточного эпителиально-фибробластического взаимодействия в пролежневых ранах. Еще в работах Гаршина В.Г. (1951) установлена тесная взаимосвязь между ростом эпителия и созреванием ГТ. Учитывая сведения о том, что выделяемые из Фб факторы роста, в частности трансформирующий фактор роста- $\beta$  (Aaronsen, 1990), играют ключевую роль во взаимодействии с эпителиаль-

ными клетками в условиях повреждения и репарации (Kelley, 1991; Wu, 1996), нельзя исключить, что в условиях нейротрофических пролежней малочисленность Фб и их замедленная дифференцировка в зрелые формы являются одним из механизмов, обуславливающих отсутствие достаточного количества ростовых факторов, необходимых для нормальной эпителизации раны.

Таким образом, нейротрофические пролежни вследствие нейрососудистых нарушений характеризуются преобладанием экссудативных процессов над пролиферативными, фибринозной экссудацией и нейтрофильной инфильтрацией, угнетением макрофагального звена, выраженным торможением пролиферации, дифференцировки и биосинтетической активности Фб, эпителизации раневой поверхности, усилением признаков дистрофии и некроза в клеточных элементах и в межклеточном матриксе формирующейся ГТ. По-видимому, на фоне нейрососудистых нарушений, расстройства медиаторного взаимодействия и хемотаксиса клеток происходит нарушение межклеточного и клеточно-матриксного взаимодействия (Пальцев М.А., Иванов А.А., 1995) и нарушается стереотипная динамика саморегулирующейся воспалительно-репаративной реакции.

### **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЛИТЕЛЬНО НЕ ЗАЖИВАЮЩИХ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ ГОЛЕНИ ВЕНОЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ**

ГТ трофических язв голени венозной этиологии значительно отличается от ГТ гнойных, огнестрельных и пролежневых ран. У большинства больных на фоне плотной фиброзно-рубцовой ткани формируются различной величины и формы узлы рыхлой и богатой потерянными вертикальную ориентацию сосудами ГТ. Ткань приобретает "ячеистое" или "гроздьевидное" строение. Внутри узлов располагаются многочисленные сосуды (6-25) и аргирофильные коллагеновые волокна. "Ячеистый" характер ГТ объясняется, по-видимому, выраженной извилистостью сосудов, благодаря чему последние теряют строго вертикальную ориентацию, а в срезах создается картина наличия множества сосудов. Извилистость сосудов обусловлена активной пролиферацией и ростом эндотелиоцитов, за что, очевидно, ответственны монокины Мф, обладающие способностью стимулировать миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток (Polverini,

1977, 1985; Hunt, 1988; Taso, 1993; Greenhalgh, 1996). При физиологическом заживлении ран устранение гипоксии в ГТ является сигналом, тормозящим секрецию Мф ангиогенных факторов (Knighton, 1983; Nom, 1992, 1995). Однако, при развитии трофических язв вследствие нарушения репарации устранения гипоксии не происходит и, очевидно, продолжается секреция Мф ангиогенных стимуляторов.

У больных с существованием трофических язв венозной этиологии до 3-5-ти мес. расположенная в раневом дефекте ГТ фиброзирована незначительно, в ней слабо выражены сосудистые изменения: сосуды без четких признаков васкулита сохраняют вертикальное расположение, в них редко выявляются микротромбы и фибриноидные некрозы. Сама ГТ резко отечна, среди клеточных элементов преобладают ПЯЛ.

При существовании язв более 6-ти мес. в большинстве трофических язв условно можно

выделить 3 слоя: глубокий слой склерозированной жировой клетчатки, фиброзно-рубцовый слой с включениями "гроздьевидной" ГТ разной степени зрелости и поверхностный лейкоцитарно-фибринозный слой. При существовании язвы более 2-3 лет фиброзно-рубцовый слой заполняет весь раневой дефект, распространяясь из глубины раны до фибринозно-лейкоцитарного слоя, при этом "гроздьевидная" ГТ сохраняется лишь в отдельных участках раны. Для длительно существующих трофических язв также характерно наличие волн вторичного некроза и воспаления, сменяющихся формированием очагов ГТ.

Отличительной особенностью длительно существующих трофических язв является резкое изменение микроциркуляторного русла, проявляющееся наличием внутрисосудистых, сосудистых и внесосудистых признаков нарушения микроциркуляции. В просвете сосудов (капилляры, артериолы, вены) часто определяются гемолизированные эритроциты и микротромбы смешанного характера. Просвет большинства микрососудов резко сужен или полностью закрыт. Развиваются продуктивно-деструктивные васкулиты, стенки сосудов резко утолщены. Наблюдается отек, деструкция и десквамация эндотелиоцитов, контракция части эндотелиоцитов с образованием широких межэндотелиальных щелей, набухание и деструкция базальных мембран, пролиферация перицитов и эндотелиальных клеток, инфильтрация стенок сосудов и периваскулярных пространств ПЯЛ, отдельными моноцитами и лимфоцитами. Наиболее выражена инфильтрация стенок сосудов ПЯЛ при обострении заболевания, что обычно сопровождается фибриноидным некрозом сосудов и прилежащей ГТ. У большинства больных содержание Мф в ГТ трофических язв значительно снижено, гистохимические и ультраструктурные признаки свидетельствуют об их низкой функциональной активности. У ряда больных с длительным

вершенных форм коллагеновых фибрилл. Также, как и при других видах осложненных ран (гнойных, огнестрельных, пролежневых), значительно реже встречаются макрофагально-фибробластические контакты и появляются межклеточные контакты, обычно не выявляемые в заживающих ранах: лимфоцитарно-макрофагальные, лимфоцитарно-плазматические, контакты между плазматическими клетками, а также между ПЯЛ и Фб, что,

существованием трофических язв и наличием гистио-лимфо-плазматических инфильтратов наблюдается высокий уровень содержания Мф секреторного типа, для которых характерно наличие хорошо развитых цистерн зернистой цитоплазматической сети (ЗЦС) и, особенно, пластинчатого комплекса (ПК) с многочисленными везикулярными образованиями и почти полное отсутствие лизосомального аппарата. Фибробластические элементы ГТ малочисленны, последние в основном определяются периваскулярно. Нельзя исключить, что в результате нарушения медиаторного взаимодействия и хемотаксиса нарушается миграция Фб в ГТ. Среди Фб преобладают малодифференцированные и юные формы, коллагенобласты и миофибробласты единичны, причем часть из них подвержена дистрофическим изменениям, процессы формирования коллагеновых волокон резко заторможены, наблюдаются признаки дефектного фибриллогенеза. При длительном существовании трофических язв характерны гистио-лимфо-плазматические инфильтраты, имеющие в основном периваскулярную локализацию. Обычно, чем больше срок существования трофической язвы, тем более выражена инфильтрация ткани плазматическими клетками. Реже встречаются лимфоциты, причем преобладают малые формы. Наличие в ГТ длительно существующих трофических язв Мф секреторного типа, многочисленных плазматических клеток, лимфоцитов, фибриноидных некрозов, очевидно, свидетельствует о развитии иммунного воспаления, склонного к непрерывному течению с чередованием периодов затихания и обострения, что согласуется с литературными данными (Пауков В.С. и др., 1995, 1996; Гостищев В.К. и др., 1996; Baxter, 1994). Нестойкость неполноценной ГТ к повторным разрушениям объясняется не только сосудистыми, метаболическими и иммунопатологическими расстройствами, но и дефектным фибриллогенезом, проявляющимся в образовании несо-

очевидно, свидетельствует о выраженном нарушении межклеточного взаимодействия и стереотипной кинетики заживления в трофических язвах.

Таким образом, изменения сосудов предшествуют развитию язв и выявляются в ГТ, возникающей на месте дефекта. Расстройства микроциркуляции являются одним из ключевых патогенетических факторов, ведущих к про-

лонгированию и извращению воспалительных процессов, торможению репарации, возникновению вторичных некротических изменений и образованию хронических рецидивирующих трофических язв. В связи с повреждением ауторегуляторных механизмов заживления, резкого расстройства микроциркуляторного русла, медиаторного и контактного взаимодействия клеток, нарушается взаимосвязь между повреждением, воспалением, регенерацией и фиброзом, что ведет к образованию "порочного круга", при котором персистирующее повреждение (некроз) ведет к хроническому вос-

палению, последнее к незавершенной регенерации (персистирующая ГТ), та в свою очередь к прогрессирующему склерозу, а неполноценная грануляционная и фиброзная ткани склонны к вторичному некрозу. "Порочный круг" патологических взаимосвязей замыкается, формируя новую патологическую самоподдерживающуюся систему, выходящую, в известной мере, из-под регулирующего влияния организма (Шехтер А.Б. и др., 1984, 1987; Шехтер А.Б., Серов В.В., 1991, 1995; Серов В.В., 1994; Пауков В.С. и др., 1996).

### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАЖИВЛЕНИЯ ОСЛОЖНЕННЫХ РАН ПРИ СТИМУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ КОЛЛАГЕНОМ

При лечении гнойных ран коллагеновыми препаратами параллельно ослаблению воспалительных изменений в тканях происходит активирование процессов репарации. Уже в первые дни после операции (1-3 сутки) и применения препаратов воспалительные изменения в окружающей рану тканях в виде повышенной сосудистой проницаемости, явления отека, лимфостаза, инфильтрации ткани ПЯЛ выражены в значительно меньшей степени по сравнению с группой больных, леченных общепринятыми средствами. К 4-5-м суткам формируются островки ГТ с вертикальными сосудами и активно пролиферирующими Фб. Значительно увеличивается содержание активных Мф. Ультраструктура последних отличается хорошо развитым ПК, иногда ЗЦС, большим количеством первичных и, особенно, вторичных лизосом, фагоцитарных и липидных вакуолей, остаточных телец. В цитоплазме этих Мф усиливается активность кислой фосфатазы и неспецифической эстеразы. Значительно чаще определяются макрофагально-фибробластические контакты. Изменяется соотношение клеток фибробластического ряда: реже обнаруживаются мало дифференцированные и юные Фб при одновременном увеличении числа зрелых Фб. Характерно появление гиперактивных коллагенобластов, в которых практически вся цитоплазма (до 90 %) занята цистернами ЗЦС. Вблизи этих коллагенобластов в межклеточном матриксе происходит интенсивное образование зрелых коллагеновых фибрилл нативного типа с последующим формированием пучков фибрилл - волокон.

По сравнению с группой больных, леченных традиционными средствами, в ГТ в более ран-

ние сроки (к 6-8-м суткам) появляются миофибробласты. Последние, помимо контракции новообразованной ткани (Gabbiani, 1992, 1996), очевидно, детерминируют пространственную ориентацию формирующихся пучков коллагеновых волокон (Шехтер А.Б., Берченко Г.Н., 1984). В созревающей ГТ увеличивается содержание фиброкластов, участвующих в фагоцитозе и резорбции коллагеновых фибрилл при перестройке соединительной ткани. Отмечается активная эпителизация ГТ, что свидетельствует о восстановлении нарушенных эпителиально-мезенхимальных связей.

Результаты иммунологических исследований (определение в крови больных уровня антиколлагеновых антител в ответ на используемый коллаген, а также исследование индекса миграции в реакции торможения миграции лейкоцитов) показали, что у большинства больных исследуемые параметры остаются в пределах нормы, свидетельствуя тем самым о слабой антигенной активности применяемых коллагеновых препаратов.

Несколько более эффективное влияние метуракола по сравнению с колоцилом на заживление гнойных ран больных объясняется тем, что входящий в состав метуракола метилурацил, являющийся производным пиримидина, обладает выраженным противовоспалительным действием, анаболической и антикатаболической активностью, ускоряет процессы клеточной регенерации (Машковский М.Д., 1988).

Значительное уменьшение воспалительных изменений, ускоренное формирование и созревание ГТ в гнойных ранах, леченных коллагеновыми препаратами, позволило уже на 6-8-е

сутки после операции у большинства больных произвести наложение ранних вторичных швов или липкопластырное стягивание краев раны, что способствовало сокращению сроков лечения больных в стационаре в среднем на 10,7 дня.

Коллагеновые препараты являются высокоэффективными средствами для местного лечения огнестрельных ран. Коллагеновая губка, введенная в канал огнестрельной раны мягких тканей бедра кролика, уменьшает воспалительные, дистрофические и микроциркуляторные изменения, что ограничивает расширение зоны коммоции и вторичное некротизирование поврежденной мышечной ткани, стимулирует репаративные процессы, ускоряя тем самым заполнение раневого канала созревающей ГТ и сокращая сроки заживления огнестрельных ран.

Коллагеновый препарат колоцил, используемый в клинике при местном лечении огнестрельных ран мягких тканей, оказывает положительное влияние на течение раневого процесса. Как и при лечении гнойных ран, применение коллагенового препарата колоцил при огнестрельных ранах способствует уменьшению воспалительных изменений, нормализации системы микроциркуляции, активации макрофагальной реакции, восстановлению нарушенного межклеточного взаимодействия и стимуляции репаративных процессов. Это проявляется в ослаблении нейтрофильной инфильтрации и отечности тканей, повышенной проницаемости стенок сосудов, уменьшении вторичного некротизирования поврежденных тканей, увеличении числа и функциональной активности Мф, макрофагально-фибробластических контактов, усилении пролиферации и дифференцировки Фб, процессов фибриллогенеза, что ускоряет формирование и созревание ГТ, сокращает сроки подготовки раны к пластическим методам закрытия.

Таким образом, исследование экспериментального и клинического материала показало, что комплексный коллагеновый препарат колоцил является высокоэффективным средством для местного лечения огнестрельных ран мягких тканей.

При лечении нейротрофических пролежней коллагеновой губкой колоцил отмечается выраженное стимулирование репаративных процессов. Уменьшаются воспалительные явления:

экссудация, нейтрофильная инфильтрация, отек ткани. Коллагеновая губка постепенно резорбируется появляющимися в ране крупными отростчатыми Мф, имеющими ультраструктуру активно фагоцитирующих клеток с последующим формированием макрофагально-фибробластических контактов. Активизируется пролиферация и дифференцировка Фб, а также синтез и фибриллогенез коллагена.

В поверхностных рыхлых участках формирующейся ГТ развиваются многочисленные сосуды, причем признаки васкулита выражены слабо. Периваскулярно определяются мало дифференцированные и юные Фб, одной из функций последних является, по-видимому, синтез и секреция кислых ГАГ. В более зрелых участках ткани располагаются ориентированные отростчатые Фб с выраженной биосинтетической активностью, о чем свидетельствует высокое содержание РНК в цитоплазме, значительное количество кислых ГАГ в межклеточном матриксе, а также выраженный фибриллогенез. Признаков патологического фибриллогенеза не определяется. Среди Фб значительно увеличивается число активно продуцирующих коллаген коллагенобластов 1-го и 2-го вида, дистрофически измененные фибробласты почти не встречаются. Многие фибробластические элементы в слое горизонтальных Фб приобретают структурные признаки миофибробластов. В глубоких участках ГТ подвержена фиброзированию. Среди клеточных элементов преобладают малоактивные фиброциты с редуцированными ЗЦС и ПК. Встречаются немногочисленные фиброкласты, содержащие единичные вакуоли с фагоцитированными коллагеновыми фибриллами. Появление этих клеток знаменует начало стадии перестройки рубца. Часть Фб, к границам которых прилегают коллагеновые волокна, находится в различных фазах деструкции, что является характерным для фиброзирующейся соединительной ткани.

В созревающей ГТ происходит некоторое увеличение числа лимфоцитов и плазматических клеток, что, по-видимому, является отражением местных иммунорегуляторных реакций. До настоящего времени была не совсем ясна роль лимфоцитов при заживлении ран, однако, учитывая накапливающиеся данные о регулирующей роли этих клеток в ангиогенезе (Kaminski, 1988; Kohl et al., 1991), функциональной активности Мф (Barbul, 1990) и Фб (Cairo, 1991; Adolph et al., 1993), необходимо признать, что

лимфоциты имеют важное значение в процессах репарации, особенно в условиях патологии.

В пролежневых ранах, леченных колоцилом, ГТ не подвержена некротизированию, а дистрофические изменения и разрушение Фб наблюдается лишь в зоне фиброобразования.

При использовании для лечения пролежневых ран дебризана (McClement, 1979) или декстраномера (Parish, 1981), то есть синтетических материалов, обладающих только абсорбционными свойствами, в ряде случаев также получены положительные результаты. В отличие от синтетических материалов колоцил обладает выраженным прямым стимулирующим репаративную регенерацию эффектом (см. ниже). Необходимо подчеркнуть, что стимулирующий эффект колоцила сохраняется и в условиях повреждения спинного мозга, то есть при нарушении нейрососудистой регуляции репаративных процессов.

При лечении трофических язв венозной этиологии коллагеновой губкой колоцил происходит постепенное ослабление микроциркуляторных расстройств, что сопровождается уменьшением периваскулярного отека межклеточного матрикса, а также внутриклеточного отека и дистрофических изменений эндотелиоцитов и перицитов. Ослабевают пролиферативная активность этих клеток, значительно реже обнаруживаются микротромбы и агглютинация эритроцитов, фибриноидные некрозы стенок сосудов, участки некротизированной ГТ. Наблюдается увеличение числа Мф, причем у части больных с длительным существованием трофических язв уменьшается содержание Мф секреторного типа и увеличивается число Мф фагоцитарного типа с развитыми цистернами ПК и ЗЦС, многочисленными лизосомами. На фоне появления многочисленных макрофагально-фибробластических контактов активизируется фибробластическая реакция - увеличивается число активно синтезирующих и секретирующих коллаген Фб. По сравнению с группой больных леченных традиционными способами, значительно реже встречаются дистрофические изменения в Фб, признаки патологического фибриллогенеза. В процессе проводимого лечения происходит постепенное фиброобразование формирующейся ГТ и ее эпителизация, причем в отличие от исходного состояния узлы рыхлой и богатой сосудами ГТ не определяются.

Таким образом, в условиях стимуляции заживления нейротрофических пролежней и трофических язв венозной этиологии коллагеном на фоне нормализации микроциркуляции и ослабления воспалительной реакции определяется стимуляция репаративных процессов, проявляющаяся в активизации макрофагального звена, появлении макрофагально-фибробластических контактов, усилении пролиферации и дифференцировки Фб, их биосинтетической активности, а также фибриллогенеза, что в конечном счете ведет к созреванию и ремоделированию ГТ, ее эпителизации. По-видимому, механизм действия коллагеновых препаратов заключается в значительном ускорении естественных репаративных процессов, при этом включаются нарушенные звенья ауторегуляции роста соединительной ткани, возникающие в пролежневых ранах и трофических язвах в связи с нейротрофическими и сосудистыми нарушениями.

Положительный эффект лечения осложнённых ран коллагеновыми препаратами может быть объяснен несколькими причинами: 1) обладая высокими абсорбционными свойствами, коллагеновая губка выполняет дренажную функцию, всасывая в себя раневую экссудат, содержащий большое количество ПЯЛ, фибрин, микроорганизмы и их токсины, многочисленные медиаторы воспаления, способствуя тем самым очищению раны, ослаблению ацидоза и воспалительной реакции, уменьшению отека, гемо- и лимфостаза, нормализации микроциркуляторного русла, что, в свою очередь, приводит к уменьшению гипоксии и активации репаративных процессов в ране; содержащийся в коллагеновой губке колоцил фурацилин также способствует уменьшению бактериальной обсеменности раны; 2) коллаген и продукты его распада являются хемотаксическими факторами для Мф (Diegelman, 1981; Rappolee, Werb, 1992), Фб и эндотелиоцитов (Cohen et al., 1979; Mian, 1992), что увеличивает содержание этих клеток в ране; наши гистоморфометрические исследования на асептических полнослойных плоскостных ранах кожи подтверждают это положение (Берченко Г.Н., Берченко В.В., 1987); экзогенный коллаген, обладая слабыми антигенными свойствами (Берченко В.В., 1983), может также неспецифически стимулировать увеличение количества и функциональную активность Мф; 3) увеличивается число макрофагально-фибробластических контактов, что, очевидно, связано с восстановлением на-

рушенных механизмов межклеточной кооперации (Шехтер А.Б. и др., 1977, 1984; Серов В.В., Шехтер А.Б., 1981); 4) резорбция экзогенного коллагена Мф способствует усиленной выработке последними факторов, активизирующих пролиферацию Фб и эндотелиоцитов, синтез и секрецию коллагена, что значительно ускоряет образование и созревание ГТ. Индуцирующий фактор от Мф к Фб, помимо паракринного механизма, по-видимому, может передаваться через межклеточные контакты или непосредственно в цитоплазму или на соответствующие рецепторы плазмалеммы Фб. Выделяя различные биологически активные вещества, в том числе факторы роста - интерлейкин-1, фактор некроза опухолей, фактор роста Фб, эпидермальный фактор роста, трансформирующие факторы роста а и b, тромбоцитопроизводный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста ((Mooney et al., 1990; Bennett, Shultz, 1993; Fenton, 1996), при репаративных и патологических процессах Мф не только модулируют пролиферативную и синтетическую функции Фб, но и путем паракринной стимуляции активизируют миграцию и пролиферацию эндотелиоцитов, процессы ангиогенеза. Кроме того, экзогенный коллаген в качестве прямого индуктора ангиогенеза, подобно коллагену межклеточного матрикса, по-видимому, способствует прикреплению, миграции, пролиферации и дифференцировке эндотелиоцитов.

Мф не только воздействуют на начальные этапы репарации, но и принимают участие в ремоделировании новообразованной ткани путем секреции ферментов, способных разрушать все компоненты соединительной ткани (Castra et al., 1996), а также регулируют количество и активность фиброкластов. Это подтверждается полученными на смешанных культурах Фб и Мф данными (Laub, 1982), согласно которым монокины способствуют усилению продукции коллагеназы и фагоцитозу коллагеновых фибрилл фиброкластами.

Учитывая изложенные факты, а также данные Leibovich, Ross (1975) и Cohen et al. (1987) о значительном замедлении заживления ран при действии антимакрофагальной сыворотки и сведения Aho et al. (1983) о выраженном антифиброгенном эффекте антисыворотки против макрофагальной РНК, необходимо признать принципиально важную роль Мф в динамической саморегулирующейся системе - заживлении ран.

Таким образом, лечение осложнённых ран коллагеновыми препаратами уменьшает воспалительные изменения, активизирует макрофагальную реакцию, восстанавливает нарушенные межклеточные взаимодействия, усиливает ангиогенез, пролиферацию и дифференцировку Фб, синтез и секрецию коллагена, процессы фибриллогенеза, созревание и ремоделирование ГТ и ее эпителизацию.

#### **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАЖИВЛЕНИЯ ОСЛОЖНЕННЫХ РАН ПРИ СТИМУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ ФЕРМЕНТАМИ**

При местном лечении гнойных и огнестрельных ран иммобилизованными протеолитическими ферментами на раневой процесс влияют как сами протеолитические ферменты, так и используемые для их иммобилизации матрицы. Так, закрытие ран марлей, капроном или пленкой поливинилового спирта, очевидно, защищает ее поверхность от плазмопотери и вторичного инфицирования, что ускоряет образование и созревание ГТ, ее эпителизацию, сокращает сроки заживления ран. Используемая в качестве матрицы для иммобилизации ферментов альгиновая губка (лиофилизированный гель натриевых и кальциевых солей альгиновой кислоты), обладая высокими абсорбционными и дренирующими свойствами

(Piacquadro, 1992; Seldaric, 1992), способствует нормализации микроциркуляции, уменьшению отека, гемо-и лимфостаза, ацидоза и гипоксии, что благоприятствует восстановлению репаративных процессов в ране. Альгиновая губка, по-видимому, как и другие полисахариды животного и растительного происхождения, вызывает усиленную миграцию в рану Мф с последующей активизацией пролиферации эндотелиоцитов и Фб, синтеза последними коллагеновых и неколлагеновых белков, что ускоряет течение пролиферативной стадии раневого процесса и заживление ран.

Среди иммобилизованных ферментов наиболее эффективными в лечении гнойных ран являются

ся ферменты животного происхождения, особенно иммобилизованная на коллагене коллагеназа. Протеолитический фермент микробного происхождения террилитин (сравнительно дешевый в производстве и легко получаемый в лабораторных условиях) является эффективным препаратом в лечении гнойных ран и может быть рекомендован для клинического использования. Также установлено, что среди различных матриц (марля, капрон, поливиниловый спирт, альгиновая кислота, коллаген) одним из наиболее перспективных материалов, на котором возможна иммобилизация ферментов, является природный биополимер коллаген, обладающий непрямыми противовоспалительными свойствами и выраженной способностью стимулировать процессы репаративной регенерации.

Используемые при лечении гнойных ран в эксперименте и клинике дальцекс- и пакс-трипсин (трипсин, иммобилизованный на марлевой и капроновой матрицах соответственно) уменьшают воспалительные изменения в ране, ускоряют очищение ран от тканевого детрита, увеличивают число зрелых и активных Мф и макрофагально-фибробластических контактов, активизируют процессы ангиогенеза, усиливают пролиферацию, дифференцировку и созревание клеток фибробластического ряда, процессы фибриллогенеза и эпителизации, что сопровождается ускорением заживления ран.

Пакс- и дальцекс- трипсин, используемые при лечении огнестрельных ран мягких тканей в эксперименте, значительно ускоряют очищение ран от девитализированных тканей зоны контузии и внутреннего слоя зоны сотрясения, уменьшают воспалительные, дистрофические и микроциркуляторные изменения в зоне сотрясения, тем самым предотвращая расширение этой зоны и уменьшая некротизирование ее внутреннего слоя, активизируют образование и созревание ГТ, заживление огнестрельной раны. Использование при местном лечении огнестрельных ран мягких тканей пакс- и дальцекс-трипсина у больных вызывает ускорение очищения ран от некротизированных тканей, сокращение стадии воспаления и более раннее развитие стадии пролиферации. Уменьшение расстройства микроциркуляторного русла, отека, нейтрофильной инфильтрации сочетается с более ранним развитием ГТ, при этом на ульт-

раструктурном уровне обнаруживается увеличение числа функционально активных Мф, макрофагально-фибробластических контактов, дифференцировки и синтетической активности Фб, что подтверждается увеличением содержания зрелых форм Фб - коллагенобластов, миофибробластов, активным фибриллогенезом.

Иммобилизованные ферменты, используемые при лечении гнойных и огнестрельных ран, оказывают влияние на течение раневого процесса в воспалительной и пролиферативной стадиях. В стадии воспаления ферменты способствуют активному гидролитическому расщеплению тканевого детрита, фибрина, сгустков крови и других крупномолекулярных компонентов экссудата, что значительно ускоряет очищение раны. Важно подчеркнуть, что протеолитические ферменты атакуют только мертвые ткани и не повреждают живые клетки. Уменьшая в ране количество токсичных продуктов, различных медиаторов воспаления, расщепляя избыток белка в отечной ткани с последующим выравниванием внутрисосудистого капиллярного и онкотического тканевого давления, иммобилизованные протеолитические ферменты восстанавливают дренажную систему на уровне микроциркуляции, что способствует ослаблению воспалительной реакции, отека, ацидоза и гипоксии, ускоряя тем самым наступление стадии пролиферации. Активизируя лизис некротической ткани, что особенно важно при лечении огнестрельных ран, протеолитические ферменты, по-видимому, значительно повышают концентрацию в ране пуриновых нуклеозидов и нуклеотидов (Rathbone, 1992), высвобождающихся из поврежденных и некротизированных тканей, являющихся потенциальными митогенами для различных типов клеток - Фб, эндотелиоцитов и др., вовлеченных в раневой процесс. Таким образом, иммобилизованные на различных матрицах протеолитические ферменты животного (трипсин, коллагеназа) и бактериального (террилитин) происхождения, являются высокоэффективными препаратами, значительно ускоряющими очищение раны и сокращающими стадию воспаления, способствующими более раннему и активному развитию стадии пролиферации при лечении гнойных и огнестрельных ран.

## **ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ОСНОВНОГО ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ (b FGF) НА ЗАЖИВЛЕНИЕ УСЛОВНО АСЕПТИЧЕСКИХ РАН КОЖИ**

Однократное и, особенно, трехкратное применение b FGF наряду с ослаблением признаков воспалительной реакции (число ПЯЛ в ране, по сравнению с контролем, к 3-м суткам статистически достоверно уменьшается в 1,91 раза) заметно активизирует процессы стадии пролиферации заживления ран. Так, при использовании b FGF митотический индекс Фб к 3-м суткам, по сравнению с контрольными ранами, увеличивается в 1,86 раза, а абсолютное число Фб - к 3-м суткам в 1,49 раза, к 6-м суткам - в 1,93 раза. Увеличение пролиферативной функции Фб сопровождается более ранним и активным синтезом кислых ГАГ и коллагена, активным фиброзированием ГТ.

Под влиянием bFGF, особенно при его трехкратном (b FJFх3) применении, значительно активизируются процессы ангиогенеза. Так, уже к 3-м суткам в ране появляются островки ГТ с характерными вертикальными сосудами, чего не наблюдается в контрольных ранах. Абсолютное число эндотелиоцитов, по сравнению с контрольными ранами, увеличивается в 4,09 раза на 3-и сутки, в 2,91 раза на 6-е сутки после операции. Максимальное число эндотелиоцитов в ГТ контрольных ран наблюдается на 10-е сутки, тогда как при использовании b FGF - на 6-е сутки после операции. b FGF способствует фиброзированию и ремоделированию ГТ, ускорению заживления ран, при этом к 30-м суткам после операции раны обычно полностью эпителизованы, чего не отмечалось в группе контрольных животных.

Ускорение заживления ран под влиянием b FGF, по-видимому, обусловлено усилением хемотаксиса различных клеточных элементов в рану, стимуляцией пролиферации Фб, клеток эпидермиса и, особенно, эндотелиоцитов, усилением синтеза элементов внеклеточного матрикса - коллагена и других белков и протеогликанов. В отличие от других ростовых факторов b FGF может стимулировать пролиферацию всех типов клеточных элементов, вовлеченных в процесс заживления ран (Benett, Shultz, 1993; Greenhalgh, 1996).

Использование при лечении ран хитозановой пластины ускоряет процессы образования и созревания ГТ, ее эпителизацию, но в меньшей степени, чем при использовании b FGF. Хито-

зановая пластина, являясь полисахаридом животного происхождения (Muzzarelli et al., 1990), способствует миграции и значительному увеличению содержания в ране Мф: число этих клеток, по сравнению с контрольными ранами, на 3-и сутки увеличивается в 1,32 раза, а на 6-е сутки - в 2,36 раза. Период наиболее активной резорбции хитозана совпадает с максимальным числом Мф в ГТ. Мф, выделяя специфические монокины, стимулируют пролиферацию эндотелиоцитов и Фб, синтез последними коллагеновых и неколлагеновых белков, что ускоряет течение пролиферативной стадии раневого процесса, фиброзирование и ремоделирование ГТ. Действительно, по сравнению с контрольными ранами, число эндотелиоцитов к 3-м суткам увеличивается в 2,62 раза, к 6-м суткам - в 2,05 раза; митотический индекс Фб увеличивается к 3-м суткам в 1,12 раза, к 6-м суткам - в 1,6 раза; число Фб к 3-м суткам увеличивается в 1,12 раза, к 6-м суткам - в 1,24 раза, к 10-м суткам - в 1,36 раза. Именно в этой группе ран отмечается наибольшее содержание Фб к 10-м суткам после операции, что связано с наличием в этих ранах значительного содержания Мф. Определяемые в поздние сроки исследования в ГТ отдельные частицы хитозана, по-видимому, вызывают некоторое торможение процессов эпителизации.

Использование при лечении ран хитозана в виде геля, по сравнению с хитозановой пластиной, оказывает несколько менее выраженное влияние на процессы заживления ран, хотя, по сравнению с контрольными ранами, наблюдается ускорение образования, созревания и ремоделирования ГТ. Применение геля хитозана способствует, особенно в ранние сроки исследования (3 и 6 сутки), увеличению содержания Фб и их митотически делящихся форм, активизации макрофагальной реакции, усилению ангиогенеза и фибриллогенеза. Однако все эти процессы выражены слабее, чем при использовании пластины хитозана.

Использование при лечении ран комплексного препарата в виде хитозановой губки, содержащей b FGF, вызывает ослабление воспалительных изменений, активизирует процессы образования, созревания и ремоделирования ГТ, ее эпителизации. В процессе заживления ран число ПЯЛ, по сравнению с контрольными рана-

ми, уменьшено на 3-и сутки - в 1,67 раза, на 6-е сутки - в 3,33 раза, на 10-е сутки - в 2,8 раза. В этих ранах также отмечается достоверное увеличение содержания Мф, но не такое значительное, как при использовании пластины хитозана. В результате проводимого лечения значительно активизируются пролиферативные процессы, но несколько в меньшей степени, чем при использовании b FGF. Так, митотический индекс Фб при лечении ран хитозаном, по сравнению с контрольными ранами, к 3-м суткам увеличен в 1,57 раза, к 6-м суткам - в 1,71 раза, к 10-м суткам - в 1,32 раза. Увеличение митотической активности Фб сопровождается увеличением абсолютного числа Фб в ГТ. Так, к 3-м суткам после операции, по сравнению с контрольными ранами, число Фб увеличено в 1,22 раза, к 6-м суткам - в 1,33 раза, к 10-м суткам - в 1,22 раза. Активная пролиферация Фб сопровождается более ранним и активным синтезом кислых ГАГ и коллагена, что способствует более быстрому фиброзированию и ремоделированию ГТ и, в конечном счете, заживлению раны. b FGF в комплексе с хитозаном способствуют значительной активизации процессов ангиогенеза. Так, если к 3-м суткам после операции число эндотелиоцитов, по сравнению с контрольными ранами, увеличено в 2,65 раза,

то к 6-м суткам - в 3,35 раза. Причем васкуляризация в этих ранах более выражена, чем в ранах, леченных b FGFx3 (число эндотелиоцитов на 6-е сутки достоверно увеличено по сравнению с ранами, леченными b FGFx3 ). К 10-м суткам число эндотелиоцитов уменьшается и достоверно не отличается от большинства других ран, что объясняется, по-видимому, ремоделированием ГТ и коллабированием части сосудов. К 16-м и 30-м суткам после операции заполняющая раневой дефект ткань имеет более зрелый характер по сравнению с ранами, леченными хитозановыми препаратами и, особенно, контрольными ранами. Эпителизация раневой поверхности несколько слабее лишь по сравнению с ранами, леченными b FGFx3. Возможно, это связано с некоторым повышением содержания в поверхностных участках фиброзной ткани Мф.

Таким образом, использование при лечении ран хитозановой губки, содержащей b FGF, за счет воздействия хитозана на макрофагальное звено, а b FGF в основном на процессы ангиогенеза, значительно активизирует образование, созревание, ремоделирование и эпителизацию условно асептических полнослойных плоскостных ран кожи и их заживление.

## ВЫВОДЫ

1. В основе процесса заживления ран кожи, частью которого является развитие грануляционной ткани, лежит динамическая саморегулирующаяся система со стереотипной кинетикой: повреждение - медиаторная и микроциркуляторная реакция - экссудация и эмиграция клеток из сосудов - очищение от продуктов распада - пролиферация фибробластов, рост сосудов и эпителизация - фибриллогенез коллагена - созревание и фиброзирование грануляционной ткани - реорганизация и инволюция рубца. По данным морфометрического исследования соотношение клеточных элементов в процессе заживления ран кожи изменяется соответственно стадиям раневого процесса. Динамика соотношения клеточных элементов в заживающих ранах животных различна в связи с видовой специфичностью исследуемого материала.

2. Независимо от характера повреждающего фактора - механического, инфекционного, нейротрофического, сосудистого - воспалительно-репаративная реакция в гнойных, огнестрель-

ных, пролежневых ранах и трофических язвах, имеющих значительные патогенетические и морфологические особенности, в основном сохраняет общую стереотипную динамику осложненных ран, что ведет к развитию принципиально близких патоморфогенетических признаков.

3. Заживление гнойных и огнестрельных ран, по сравнению с пролежневыми ранами и трофическими язвами, характеризуется менее выраженным отклонением от стереотипной кинетики воспалительно-репаративного процесса, при этом в результате интенсификации и пролонгации фазы воспаления наступление последующих фаз заживления заторможено.

4. Гнойные раны характеризуются торможением репаративных процессов, при этом на фоне выраженной воспалительной реакции уменьшено количество и функциональная активность макрофагов, значительно уменьшено число макрофагально-фибробластических контактов, среди фибробластических элементов наиболее

часто определяются малодифференцированные и юные фибробласты, тогда как зрелые формы фибробластов появляются значительно позже, чем в асептических ранах, в межклеточном веществе наблюдается торможение процессов формирования коллагеновых волокон, а также признаки "дефектного" фибриллогенеза, отмечается замедление процессов эпителизации.

5. Огнестрельные ранения мягких тканей, нанесенные из современного стрелкового оружия, особенно пулями с неустойчивым полетом, отличаются резко выраженными микроциркуляторными расстройствами, воспалительными, дистрофическими и некротическими процессами в поврежденных тканях, что проявляется в усилении отека, явлений гемо- и лимфостаза, геморрагических кровоизлияний, нейтрофильной инфильтрации, увеличении числа дистрофически измененных и некротизированных клеточных элементов, мышечных и коллагеновых волокон.

6. Как показало морфометрическое исследование, огнестрельные раны характеризуются достоверным последующим увеличением площадей зон некроза и сотрясения, что свидетельствует о необходимости обязательного проведения вторичной хирургической обработки этих ран.

7. Заживление нейротрофических пролежней и трофических язв венозной этиологии характеризуется значительным нарушением ауторегуляторных механизмов воспалительно-репаративной реакции и стереотипной кинетики заживления, что приводит к резкому торможению репаративных процессов, формированию патологических связей в виде "порочного круга" между повреждением, воспалением и регенерацией, образованию незаживающих ран и язв. В трофических язвах, по сравнению с нейротрофическими пролежнями, более значительно выражены сосудистые изменения, при этом на фоне фиброзно-рубцовой ткани формируются узлы различной степени зрелости грануляционной ткани с резко измененными сосудами микроциркуляторного русла, для которых характерно набухание и деструкция базальных мембран, десквамация эндотелиоцитов, формирование сладж-феномена, микротромбов и продуктивно-деструктивных васкулитов со значительной абтурацией просвета сосудов, развитием капиллярофиброза и артериосклероза.

8. Коллагеновые препараты стимулируют заживление осложненных ран, в основном воздействуя на макрофаги - клетки, которые не только подготавливают условия перехода от экссудативной фазы воспаления к собственно репаративной, но и непосредственно принимают в ней участие путем макрофагально-фибробластического взаимодействия и регуляции процессов ангиогенеза, что сопровождается восстановлением нарушенных межклеточных взаимодействий и нормализацией стереотипной кинетики заживления.

9. Имобилизованные на различных матрицах (поливиниловый спирт, карбоксиметилцеллюлоза, альгиновая кислота, марля, капрон, коллаген) протеолитические ферменты животного (трипсин, коллагеназа) и бактериального (террилитин) происхождения являются высокоэффективными препаратами, значительно ускоряющими очищение раны и сокращающими стадию воспаления, способствующими более раннему и активному развитию стадии пролиферации при лечении гнойных и огнестрельных ран. Одним из наиболее перспективных материалов, на котором возможна иммобилизация ферментов, является природный биополимер коллаген, среди иммобилизованных протеолитических ферментов наиболее эффективными в лечении гнойных ран являются ферменты животного происхождения, особенно иммобилизованная на коллагене коллагеназа.

10. Местное применение в эксперименте в течение часа после огнестрельного ранения мягких тканей антиоксидантных препаратов способствует ослаблению нарушений микроциркуляторного русла, уменьшению воспалительных изменений, что сопровождается ограничением процессов вторичного некротизирования и более быстрым восстановлением жизнеспособности поврежденных тканей по периферии от раневого канала. Среди испытанных синтетических антиоксидантов наиболее эффективен при местном лечении огнестрельных ран - дибунол, а среди комплексных препаратов - аэрозоль "ликозоль", в состав которого входит природный антиоксидант а-токоферол (витамин Е) и коллаген.

11. Полисахарид хитозан стимулирует процессы репарации путем активизации макрофагального звена цепи ауторегуляции заживления ран. Хитозановая губка обладает более выраженной активностью в стимуляции репаратив-

ных процессов в ранах по сравнению с хитозановым гелем.

12. Однократное и, особенно, трехкратное местное применение рекомбинантного основного фактора роста фибробластов стимулирует за-

живление ран путем воздействия в основном на процессы ангиогенеза, что сопровождается ускорением образования, созревания и ремоделирования грануляционной ткани, ее эпителизации.

## СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Фибробласты и развитие соединительной ткани: ультраструктурные аспекты биосинтеза, фибриллогенеза и катаболизма коллагена. //Архив патологии. 1978. № 8. С. 30-40 (в соавт. с А.Б. Шехтером).
2. Ультраструктурные особенности репаративных процессов при нейротрофических поражениях. В кн.: Фармакологическая регуляция регенераторных процессов. Йошкар-Ола, 1979. С. 195-196 (в соавт. с А.Б. Шехтером, А.В. Николаевым).
3. Грануляционная ткань нейротрофических пролежней, леченных коллагеновой губкой. В кн.: Актуальные вопросы экспериментального моделирования патологических процессов и методы их лечения. М., 1979. С.38-41 (в соавт. с А.Б. Шехтером, А.В. Николаевым).
4. Ультраструктурный анализ взаимодействия клеточных и волокнистых элементов в растущей соединительной ткани и культуре клеток. В кн.: Современные проблемы экспериментальной и клинической медицины. М., 1979. С. 154-156 (в соавт. с А.Б. Шехтером).
5. Взаимодействие полиморфноядерных лейкоцитов и фибробластов в инфицированных ранах человека. В кн.: Физиология и патология соединительной ткани. Новосибирск, 1980. Т. № 2, с. 28-29 (в соавт. с Ю.К. Харитоновым).
6. Структурные аспекты биосинтеза, фибриллогенеза и катаболизма коллагена. В кн.: Физиология и патология соединительной ткани. Новосибирск, 1980. Т. № 1. С. 22-24 (в соавт. с А.Б. Шехтером, З.П. Миловановой).
7. Способ стимуляции заживления кожных и кожно-мышечных ран. Авторское свидетельство № 814341 на изобретение. Бюллет. Госкомизобретений. 1981. № 11 (в соавт. с А.Б. Шехтером, А.В. Николаевым).
8. Морфология глубоких ожоговых ран при поэтапном лечении комплексными коллагеновыми препаратами. В кн.: Репаративные процессы и методы их стимуляции. М., 1981. С. 28-31 (в соавт. с Е.В. Савченко, Р.К. Абоянцем, И.А. Сычениковым).
9. Особенности регуляции роста соединительной ткани при заживлении ран кожи. Тезисы докладов Всесоюз. конф., посвященной 100-летию со дня рождения А.А. Богомольца. Киев, 1981. С. 48-50 (в соавт. с А.Б. Шехтером, А.В. Николаевым).
10. Полимерная композиция. Авторское свидетельство № 835140 на изобретение. 1981 (в соавт. с В.К. Гостищевым, П.И. Толстых и др.).
11. Имобилизованные ферменты протеолиза, возможности и перспективы использования. В кн.: Септические заболевания. Тбилиси, 1982. С. 285-287 (в соавт. с В.К. Гостищевым, З.Ф. Васильковой и др.).
12. Лечение гнойно-воспалительных заболеваний коллагеновыми препаратами. Там же. С. 349-351 (в соавт. с А.В. Николаевым, Ю.К. Харитоновым).
13. Сравнительное изучение влияния кислоторастворимого, щелочно- и ферментнорастворенного коллагена на репаративные процессы в ранах кожи. В. кн.: Современные проблемы регенерации. Йошкар-Ола, 1982. С. 225 (в соавт. с В.В. Берченко).

14. Некоторые вопросы фибриллогенеза при репаративном росте соединительной ткани у человека. В кн.: Актуальные проблемы клинической морфологии. М., 1982. С. 58-61 (в соавт с А.Б. Шехтером).
15. Влияние иммобилизованного террилитина на заживление гнойных ран в эксперименте. //Актуальные вопросы военной травматологии. 1983, № 13. С. 53-56 (в соавт. с В.К. Гостищевым, А.В. Николаевым и др.).
16. Ранняя некрэктомия с одновременной коллаgenoпластикой глубоких ожогов при радиационно-термических поражениях в эксперименте. //Актуальные вопросы военной травматологии. 1983, № 13. С. 81-86 ( в соавт. с Р.К. Абянцем, А.В. Тюленевым и др.).
17. Применение иммобилизованных ферментов и их природных ингибиторов в хирургии. //Хирургия. 1983, № 6. С. 94-98 ( в соавт. с П.И. Толстых, В.К. Гостищевым и др.).
18. Ультраструктурный анализ воспалительной реакции в инфицированных ранах человека. В кн.: Воспаление, гиперчувствительность, иммунопатология. Материалы 7-го съезда патологоанатомов. Ташкент, 1983. С. 81-82.
19. Ангиопатия при нейротрофических расстройствах в клинике и эксперименте. Ультраструктурное и гистохимическое исследование. В кн.: Васкулиты, ангиопатии, ангиодисплазии. Львов, 1983, С. 178-180 (в соавт. с А.Б. Шехтером, А.В. Николаевым).
20. Полимерная композиция для лечения ран. Авторское свидетельство № 1047177 на изобретение. 1983 (в соавт с В.К. Гостищевым, А.В. Николаевым и др.).
21. Технология и изучение ранозаживляющих свойств мази и губок витамина "У" на основе коллагена. //Фармация. 1984. № 1, С. 26-30 (в соавт. с Л.А. Ивановой, И.А. Сычениковым и др.).
22. Грануляционная ткань: воспаление и регенерация. //Архив патологии. 1984. № 2. С. 20-29 (в соавт. с А.Б. Шехтером, А.В. Николаевым).
23. Лечение гнойных ран человека коллагеновым препаратом - метуракол.//Актуальные вопросы военной травматологии. 1984. № 15.С. 113-117 (в соавт. с И.А. Сычениковым, Л.П. Истрановым, Р.К. Абянцем).
24. Использование низкочастотного ультразвука в лечении трофических язв. //Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 1984. № 3. С. 92-95 (в соавт с В.К. Гостищевым. А.М. Хохловым и др.).
25. Влияние коллагеновой губки на количественную характеристику клеточного состава грануляционной ткани ран кожи. В кн.: Количественные методы в изучении морфогенеза и регенерации. Иваново, 1984. С. 16.
26. Морфофункциональные особенности репаративной функции соединительной ткани. В кн.: Проблемы реактивности и адаптации. Иркутск, 1984. С.138-139 (в соавт. с А.Б. Шехтером).
27. Влияние низкочастотного ультразвука на течение раневого процесса. //Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 1984. № 10. С. 110-113 (в соавт. с В.К. Гостищевым, Э.Х. Байчоровым).
28. Взаимоотношение воспаления и регенерации при заживлении ран. В кн.: Современные аспекты изучения регенерации и клеточной пролиферации. М., 1985. С. 335-337 (в соавт. с А.Б. Шехтером).
29. Причины послеоперационных осложнений и их профилактика при лечении варикозной болезни с нарушениями трофики мягких тканей.//Хирургия. 1985. № 6. С. 102-107 (в соавт. с А.М. Хохловым).

30. Применение гипербарической оксигенации в комплексном лечении больных с одонтогенными флегмонами. //Методические рекомендации МЗ СССР. М., 1985. 8 стр. (в соавт. с Н.Н. Бажановым, К.З. Шалабаевой и др.).
31. Особенности заживления гнойных ран у больных при лечении коллагеновыми препаратами (гистохимическое и электронно-микроскопическое исследование).//Архив патологии. 1985. № 12. С. 37-44(в соавт. с А.Б. Шехтером, А.В. Николаевым и др.).
32. Влияние лизоцима на морфологическую характеристику трофических язв голени венозной этиологии. 8-ой Всесоюз. съезд дерматовенерологов. Ставрополь. 1985. Ч. 1. Ч. 34 (в соавт с А.М. Хохловым).
33. Сравнительное изучение влияния аллотрансплантатов кожи и комплексных коллагеновых препаратов на заживление глубоких термических ожогов.//Актуальные вопросы военной травматологии. 1985. № 16. С. 123-128 (в соавт. с Р.К. Абоянцем и др.).
34. Влияние гипербарической оксигенации на морфологию гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области. В кн.: Гипербарическая оксигенация. 3-ий симпозиум по ГБО. М., 1985. С. 93 (в соавт с Н.Н. Бажановым, Г.И. Лыскиным)
35. Определение фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови у больных с одонтогенными флегмонами. В кн.: Изучение репаративных процессов и методов их коррекции. М., 1985. С. 16-19 (в соавт с А.К. Чикориным, В.В. Берченко).
36. Сравнительная оценка влияния аллотрансплантатов кожи и коллагенового препарата коллоцил на заживление ожоговых ран при радиационно-термических поражениях. В кн.: Комбинированные радиационные поражения. Обнинск. 1985. С. 143-147 (в соавт с А.М. Шестаковым, Р.К. Абоянцем, А.В. Тюленевым).
37. Динамика синтеза нуклеиновых кислот в грануляционной ткани кожных ран крыс.//Вопросы медицинской химии. 1986.Т. 32. № 3. С. 126-131 (в соавт. с С.А. Силаевой, Б.Я. Хацерновой и др.).
38. Влияние природных антиоксидантов на заживление ран. В кн.: Биоантиоксидант. Материалы 2-ой Всесоюз. конф., 1986. Т.2. С. 100 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, Б.Я. Рудаковым и др.).
39. Применение иммобилизованных протеиназ в лечении гнойных ран. //Советская медицина. 1986. № 6. С.33-38 (в соавт. с П.И. Толстых, В.К. Гостищевым и др.).
40. Особенности процессов регенерации в трофических язвах. В кн.: Регенерация органов и тканей животных и ее стимуляция. Ереван,1986. С.84-86 ( в соавт. с А.Б. Шехтером, А.В. Николаевым).
41. Морфологические особенности экспериментальных гнойных ран, заживающих под струпом.//Журнал экспериментальной и клинической медицины. 1986. № 2. С. 161-166 (в соавт. с А.В. Николаевым, Б.Н. Арутюнян).
42. Особенности патогенеза и лечения огнестрельных ран. Вкн.:2-я Всесоюз. конф. "Раны и раневая инфекция". М., 1986. С.20-21 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, Б.Я. Рудаковым и др.).
43. Иммобилизованные моно- и полиферменты на текстильных носителях в лечении гнойных ран. Там же. С. 147-148 (в соавт с П.И. Толстых, А.В. Николаевым и др.).
44. Лечение гнойных ран мягких тканей колоцилом и его сочетанием с протеолитическими ферментами.//Вестник хирургии. 1986. № 11. С. 63-66 (в соавт. с Ю.К. Харитоновым, Р.К. Абоянцем).
45. Принципы лечения варикозной болезни нижних конечностей, осложненной трофическими язвами.//Методические рекомендации МЗ СССР. М., 1986. 17 стр. (в соавт. с В.К. Гостищевым, А.М. Хохловым).

46. Морфологическая характеристика гнойных ран человека, леченных иммобилизованным трипсином. // Журнал экспериментальной и клинической медицины. 1986. № 6. С. 575-580 (в соавт. с А.В. Николаевым, П.И. Толстых и др.).
47. Морфологическая характеристика заживления огнестрельных ран экспериментальных животных. // Актуальные вопросы военной травматологии. 1986. № 17. С. 22-27 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, Б.Я. Рудаковым и др.).
48. Использование иммобилизованных ферментов для лечения гнойно-некротических ран. В кн.: XXX Всесоюз. съезд хирургов. Тезисы докладов. Ташкент, 1986. С. 195-196 (в соавт. с В.И. Прониным, В.Н. Филатовым и др.).
49. Местное лечение гнойных ран мазями на гидрофильной основе в комплексном лечении больных с флегмонами челюстно-лицевой области. // Методические рекомендации МЗ СССР. М., 1986. 9 стр. (в соавт. с Н.Н. Бажановым, Е.М. Черноглазовой А.М. Шапиро).
50. Ультрафиолетовое облучение крови при лечении первично-инфицированных и гнойных ран. // Методические рекомендации МЗ СССР М., 1987. 16 стр. (совместно с Ю.Г. Шапошниковым, Г.А. Кесяном).
51. Морфологические особенности заживления экспериментальных гнойных ран под покрытием - альгипор. // Журнал экспериментальной и клинической медицины. 1987. № 1. С. 7-12 (в соавт. с А.В. Николаевым, Б.Н. Арутюнян).
52. Количественная характеристика изменения клеточного состава и васкуляризации асептических ран кожи крыс, заживающих без лечения и при стимуляции репаративных процессов экзогенным коллагеном. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1987. № 9. С. 372-375 (в соавт. с В.В. Берченко).
53. Лечение трофических язв лизоцимом. // Советская медицина. 1987. № 9. С. 96-98 (в соавт. с А.М. Хохловым).
54. Новые препараты местного гемостаза и некролитического действия в лечении ран различного происхождения. Методические рекомендации. ЦВМУ, МО СССР. М., 1987. 18 стр. (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, К.М. Лисицыным, Р.А. Марасановым и др.).
55. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов в зависимости от характера клинического течения одонтогенных флегмон. // Стоматология. 1987. № 3. С. 32-34 (в соавт. с Н.Н. Бажановым, А.К. Чикориним, В.В. Берченко).
56. Влияние коллагеновой губки на заживление огнестрельных ран у экспериментальных животных. // Клиническая хирургия. 1987. № 1. С. 39 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, Р.К. Абоянцем и др.).
57. Экспериментально-морфологическое обоснование лечения острого гнойного лактационного мастита иммобилизованным папаином. // Журнал экспериментальной и клинической медицины. 1987. № 5. С. 433-435 (в соавт. с В.Т. Сторожуком, В.Н. Арутюняном).
58. Регенерация и дисрегенерация: роль соединительной ткани. В кн.: 2-ой Всесоюз. съезд анатомов, гистологов, эмбриологов. М., 1988. С. 195 (в соавт. с А.Б. Шехтером).
59. Лечение гнойно-некротических ран новыми препаратами дальцекс-трипсин и пакс-трипсин. // Методические рекомендации. МЗ СССР. М., 8 стр. (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым и др.).
60. Комплексное лечение гнойных ран с использованием ультрафиолетового облучения крови. // Хирургия. 1988. № 4. С. 17-21 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, Б.Я. Рудаковым, Г.А. Кесяном и др.).

61. Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови после ее ультрафиолетового облучения у больных с гнойными ранами. //Клиническая хирургия. 1988. № 1. С. 26-28 (в соавт с В.В. Берченко, Г.А. Кесяном).
62. Комплексное лечение гнойных ран с использованием иммобилизованного трипсина на текстильной целлюлозной и синтетической матрицах и лазерного излучения.//Методические рекомендации. МЗ СССР. М., 1988. 8 с. (в соавт. с П.И. Толстых, В.К. Гостищевым и др.).
63. Остановка капиллярно-паренхиматозных кровотечений и лечение гнойно-некротических ран при комбинированной травме.//Актуальные вопросы военной травматологии. 1988. № 19. С. 81-85 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, В.И. Прониным и др.).
64. О применении новых перевязочных материалов с заданными биологическими свойствами для остановки капиллярно-паренхиматозных кровотечений и лечения гнойно-некротических ран в военно-полевых условиях. Там же. 1988. № 19. С. 86-91 (в соавт с Ю.Ш. Шапошниковым, Р.А. Марасановым и др.).
65. О применении новых перевязочных материалов с заданными биологическими свойствами для остановки капиллярно-паренхиматозных кровотечений и лечения гнойно-некротических ран в военно-полевых условиях.//Актуальные вопросы военной травматологии. 1988. С. 86-91 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, Р.А. Марасановым и др.).
66. Морфологическая характеристика экспериментальных гнойных ран, леченных иммобилизованным на альгиновой губке террилитином. //Журнал экспериментальной и клинической медицины. 1989. № 2. С. 173-178 (в соавт. с А.В. Николаевым, Б.Н. Арутюняном ).
67. Опыт лечения огнестрельных ран веществами с различной антирадикальной активностью. В кн.:3-я Всесоюзн. конф. "Биоантиоксидант". М., 1989. Т. 1. С. 116-117 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, Б.Я. Рудаковым и др.).
68. Ультраструктурная характеристика грануляционной ткани гнойных ран человека, леченных традиционными методами, а также при использовании в комплексном лечении гипербарической оксигенации. В кн.: Ультраструктурные основы патологии органов и тканей. Тбилиси. 1989. С. 29-30.
69. Протеолитические ферменты, иммобилизованные на волокнистых материалах, в хирургии. Ереван, "Айастан". 1990. 137 стр. (в соавт. с П.И. Толстых, В.К. Гостищевым, Б.Н. Арутюняном, А.Д. Вирником).
70. Использование электронного анализатора изображения в трехмерной реконструкции огнестрельной раны. В кн.: Новые приложения морфометрии и математическое моделирование в медико-биологических исследованиях. Харьков. 1990. С. 24 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, А.А. Сухановым, С.В. Буравковым).
71. Морфологические особенности заживления экспериментальных гнойных ран, леченных иммобилизованными на различных матрицах протеолитическими ферментами. В кн.: Экспериментальная травматология и ортопедия. М., 1990. С. 44-50.
72. Морфологическая характеристика заживления огнестрельных ран челюстно-лицевой области. В кн.: Адаптационно-компенсаторные и восстановительные процессы в тканях опорно-двигательного аппарата. Киев. 1990. С. 37-39 (в соавт с А.К. Чикориным).
73. Роль макрофагов в процессе заживления ран. В кн.: Теоретические вопросы травматологии и ортопедии. М., 1990. С. 19-32.
74. Индивидуальное перевязочное средство. Авторское свидетельство № 1615920 на изобретение. 1990 (в соавторстве с Ю.Г. Шапошниковым, В.И. Прониным, Л.З. Вельшером и др.).

75. Морфологические аспекты длительно заживающих огнестрельных ран. В кн.: Огнестрельная рана и раневая инфекция. Ленинград, 1991. С. 9-10.
76. Использование методов иммуноферментной визуализации креатинфосфокиназы и электронно-плотных трейсеров в оценке жизнеспособности клеточных элементов тканей огнестрельной раны. Там же. С. 52-54 (в соавт с А.А. Сухановым, Г.А. Кесяном).
77. Новые возможности в изучении огнестрельных ран с применением электронного анализатора изображения IBAS -1+2. Там же. С. 63-65 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, А.А. Сухановым, Г.А. Кесяном).
78. Заживление ран в условиях инфекции. В кн.: Профилактика и лечение раневой инфекции у травматолого-ортопедических больных. М., 1991. С. 111-125.
79. Патогенетические особенности течения огнестрельных ран. В кн.: XX11 пленум правления Всесоюзн. научного об-ва травматологов-ортопедов. Иркутск. 1991. С. 28-29 (в соавт с И.Е. Кондратьевой, Г.А. Кесяном и др.).
80. Stimulating influence of collagenic preparations on repair processes by healing of skin wounds. 4th International conference "Biointeractions' 93". Molecular aspects of biomaterials". Noordwijkerhout, The Netherlands, 1993, p. 43.
81. Количественная характеристика изменения клеточного состава асептических полнослойных плоскостных ран кожи мини-свиней, заживающих при стимуляции репаративных процессов хитозаном. В кн.: Раны и раневая инфекция. Материалы международной конференции. М., 1993. С. 311-312 (в соавт. с В.В. Берченко, А.И. Кавешниковым, Е. Дингельдайн).
82. Влияние фактора роста фибробластов на заживление кожных ран. Там же. С. 19-20 (в соавт с А.И. Кавешниковым, А.М. Герасимовым и др.).
83. Influence of collagenic preparation colocil on healing of bedsores. 10th Europ.conf. on biomaterials. Davos, Switzerland, 1993, p.123.
84. Influence of basic fibroblast growth factor on healing of full-thickness incisional skin wounds in mini-pigs according to histological and histomorphometric data. 4th Europ.East-West Conf., Exhibit. on Mater. and Proc. S.-Petersburg, Russia, 1993, p.130 (with Kaveschnikov A. Berchenko V. Dingeldein E. Wahlig H.).
85. Influence of chitosan on healing of full-thickness incisional skin wounds in minipigs according to histological and histomorphometric data. 11th Europ.Conf. on Biomater. Pisa, Italy, 1994, p.123-124 (with Shaposhnikov Y. Berchenko V. Kaveshnikov A.).
86. Effect of basic fibroblast growth factor (bFGF) on the angiogenesis during the wound healing. 5 Annual Meeting Europ. Tissue Repair Society, Padova, Italy, 1995, p. 78 (with Shaposhnikov Y. Kaveshnikov A. Berchenko V. Dingeldein E.).
87. Принципы местного лечения огнестрельных переломов. Материалы 2-го Пленума Ассоциации травматологов-ортопедов России. Ростов-на-Дону. 1996. С. 96 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, Г.А. Кесяном, И.Е. Кондратьевой).
88. Местное лечение огнестрельных переломов. В кн.: Удлинение конечностей и замещение дефектов костей. Республика Крым. Ялта. 1996. С. 11-12 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым, Г.А. Кесяном, И.Е. Кондратьевой).
89. Лечение и профилактика осложнений огнестрельных переломов. У1-ой съезд травматологов и ортопедов России. Тезисы докладов. Н. Новгород, 1997. С. 346 (в соавт с Ю.Г. Шапошниковым, Г.А. Кесяном, И.Е. Кондратьевой).

90. Патоморфологические особенности заживления огнестрельных ран мягких тканей. В кн.:  
Огнестрельные и минно-взрывные ранения. Современные методы диагностики и лечения.  
М., 1997. С. 17-18 (в соавт. с Ю.Г. Шапошниковым).