

05
2740

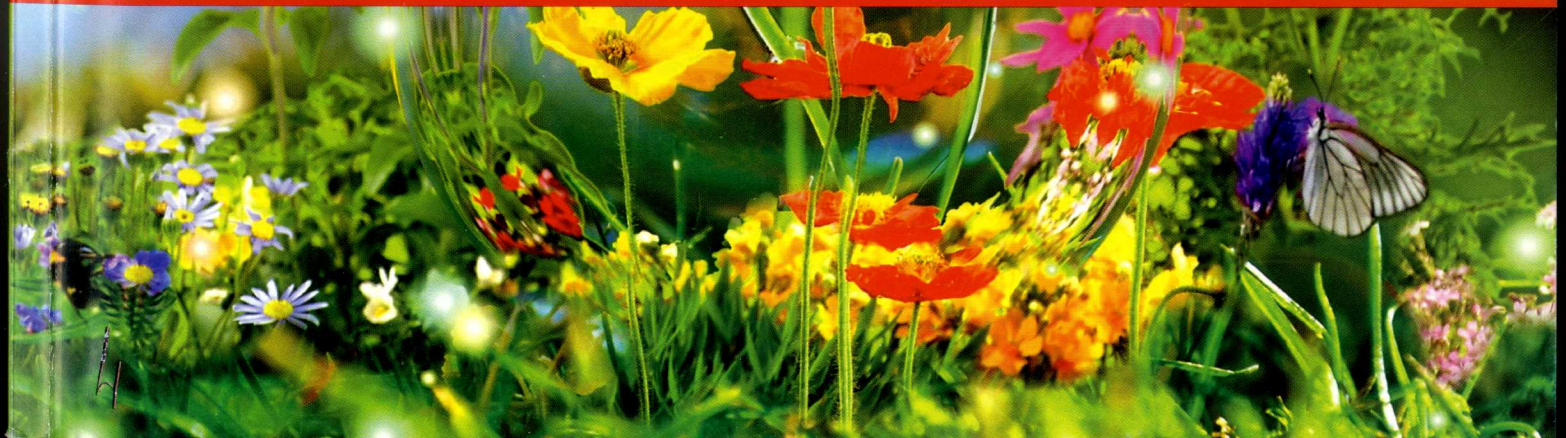
ISSN 2220-8526

2 (97) 2017



МЕДИЦИНА

научно-практический рецензируемый журнал



05
2740



Издаётся в Республике Беларусь с июля 1994 г.
Свидетельство о регистрации № 1375 от 08.07.2010 г.

2 (97)'2017

МЕДИЦИНА

научно-практический рецензируемый журнал

<http://medicine.belmapo.by>

Учредитель журнала:
ОО «Белорусская
ассоциация врачей»

Издатель:
Учреждение «Редакция
журнала "Медицина"»
Адрес редакции:
Пр-т Независимости, 64,
220013, г. Минск
Тел.: 331-92-58
Тел/факс: 292-45-55
Мобильный:
8-029-322-38-05
8-029-624-04-44

Компьютерная вёрстка
Н. И. Кашуба

Выход в свет
23.06.2017
Формат 60 × 84 1/8
Бумага офсетная.
Печать офсетная.
Усл. печ. л. 11,2
Тираж 626 экз.
Заказ № 1286

Отпечатано
в ПДУП «Типография Федера-
ции профсоюзов Беларуси»
ЛП № 02330/54 от 12.08.2013 г.
Пл. Свободы, 23-90, 220030,
г. Минск

Цена журнала указана
в каталоге подписки
на текущий период

© «Медицина», 2017
© Обложка.
А. И. Наумова, 2017

Главный редактор
**Николай Сергеевич
СЕРДЮЧЕНКО**

А. В. Белецкий

**Ю. В. Вороненко (Киев)
А. В. Гейниц (Москва)
И. В. Залуцкий
У. А. Курбанов (Душанбе)
А. В. Марочков**

Д. Л. Пиневич

**А. Ф. Смянович
А. В. Сукало**

О. Г. Суконко

Л. П. Титов

Отв. секретарь
Т. П. Петрович

Д. Е. Шевцов

И. С. Абельская

А. Н. Лызиков

А. В. Сикорский

Н. М. Васильков

Ю. Н. Деркач

А. А. Стрижак

Р. А. Часнойть

В. И. Шрубов

М. А. Герасименко

П. Н. Михалевич

К. В. Яцкевич

Редакционная коллегия

*д-р мед. наук, профессор, академик-секретарь
Отделения медицинских наук НАН Беларуси*

*чл.-корр. НАН Беларуси, директор РНПЦ травматологии
и ортопедии, д-р мед. наук, профессор
академик АМН Украины, д-р мед. наук, профессор
д-р мед. наук, профессор
чл.-корр. НАН Беларуси, д-р мед. наук, профессор
ректор ТГМУ им. Абуали ибни Сино, д-р мед. наук, профессор
зав. реанимационно-анестезиологическим отд.
Могилёвской областной больницы, д-р мед. наук
первый заместитель Министра здравоохранения
Республики Беларусь
академик НАН Беларуси, д-р мед. наук, профессор
заместитель председателя президиума НАН Беларуси,
академик НАН Беларуси, д-р мед. наук, профессор
директор РНПЦ онкологии и медицинской радиологии
им. Н. Н. Александрова, д-р мед. наук, профессор
чл.-корр. НАН Беларуси, д-р мед. наук, профессор*

Редакционный совет

*председатель Белорусской ассоциации врачей
(председатель редакционного совета)*

*главный врач РКМЦ управления делами Президента
Республики Беларусь, д-р мед. наук
(заместитель председателя редакционного совета)*

ректор Гомельского ГМУ, д-р мед. наук, профессор

ректор Белорусского ГМУ, канд. мед. наук, доцент

*начальник управления здравоохранения
Гомельского облисполкома*

*начальник управления здравоохранения
Витебского облисполкома, д-р мед. наук*

*начальник управления здравоохранения
Гродненского облисполкома*

*председатель Белорусского профсоюза работников
здравоохранения, канд. экон. наук*

*начальник управления здравоохранения
Могилёвского облисполкома*

Редакционно-издательская группа

*д-р мед. наук, ректор БелМАПО
(заместитель главного редактора)*

*доцент, канд. мед. наук
(заместитель главного редактора)*

заместитель главного редактора

**ЦНБ им. Я. Коласа
НАН Беларуси**

*Е. В. Баранов, А. В. Буравский, З. Б. Квачева, И. Б. Василевич,
А. В. Мостовников, С. И. Третьяк, И. Д. Волотовский*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ СВЕТОДИОДНОГО ФОТОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ И КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФИЦИРОВАННЫХ РАНЕВЫХ ДЕФЕКТОВ С ЗАМЕДЛЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИЕЙ

Аннотация. Эффективное лечение пациентов с инфицированными раневыми дефектами кожи и мягких тканей различного генеза – особенно длительно незаживающими ранами и трофическими язвами продолжает оставаться проблемной областью современной медицины. Поэтому поиск новых методов лечения, направленных на коррекцию локального «патологического гомеостаза», санацию раневой инфекции, стимуляцию развития и созревания грануляционной ткани, а также на ускорение эпителизации трофических дефектов кожи является весьма актуальным направлением исследований. В статье представлены результаты применения локальной светодиодной фототерапии и клеточных биоматериалов в комплексном лечении гнойных ран с замедленной регенерацией у лабораторных животных. Смоделированные по оригинальной методике гнойные раны без лечения характеризовались длительным существованием микробного загрязнения и продолжительной фазой воспаления. В эксперименте показано, что использование комплексной методики, включающей комбинированную светодиодную фототерапию с выбранными параметрами и локальную клеточную трансплантацию (культивированные дермальные фибробласты и мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани), с учетом фаз раневого процесса позволяет значительно сократить сроки заживления гнойных ран.

Ключевые слова: *локальная светодиодная фототерапия, дермальные фибробласты, мезенхимальные стволовые клетки, гнойная рана, локальная клеточная трансплантация.*

Введение

В течение последних десятилетий в решении проблемы реабилитации пациентов с раневыми дефектами кожи и мягких тканей различного генеза достигнут ряд определенных успехов как в теоретическом, так и в практическом направлении. Лечение пациентов с хроническими длительно незаживающими ранами и трофическими язвами (ТЯ) перестало относиться только к сфере интересов профильных специальностей (травматологии, хирургии, флебологии, комбустиологии и т. д.), а скорее находится в междисциплинарном поле, все чаще привлекая внимание микробиологов, цитологов, биофизиков, иммунологов и многих других специалистов [1–8]. Подобная «заинтересованность» в большей степени связана с неудовлетворительными результатами лечения этой категории пациентов, что обуславливает непрерывный поиск и разработку новых технологий [5; 9–14].

Наибольшие трудности в клинической практике возникают при лечении инфицированных хронических длительно незаживающих ран, особенно при наличии у пациентов суб- и декомпенсированной фоновой и сопутствующей патологии. Это связано как с системными нарушениями обменных процессов, так и с низким локальным регенераторным потенциалом, который оказывается недостаточным для закрытия раневого дефекта [5; 7; 10; 15]. Существующие на сегодняшний день взгляды на лечение хронических раневых дефектов кожи и мягких тканей предусматривают комплексный подход, включающий не только устранение этиопатогенетических факторов (коррекция причинных факторов и гемодинамических нарушений, адекватная хирургическая обработка и санация,

аутодермопластика и т. д.), но и системную терапию по показаниям (антимикробные препараты, нормализация гликемии и обменных процессов, улучшение микроциркуляции и реологических свойств крови и т. д.), а также полноценное местное лечение [9; 11; 13; 16]. Однако даже применение этиопатогенетических хирургических методов лечения в комплексе с системной терапией в ряде случаев не могут обеспечить быстрой реконвалесценции пациентов, либо вообще не гарантируют достижения полного заживления раневого дефекта [5–7; 17]. Во многом это связано с особенностями течения раневого процесса в язвенном дефекте: наличие патологического гомеостаза (снижение резервов устойчивости (ауторегуляции) иммунной системы), переульцерозных осложнений (рожистое воспаление, дерматит, пиодермия, экзема и т. д.) и микробной контаминации, а также толерантность к локальной традиционной терапии [1; 2; 9; 18; 19]. Необходимо также учитывать то, что в хронической ране, как правило, наблюдаются одновременно явления и признаки, характерные для всех фаз раневого процесса, что намного усложняет выбор тактики при проведении местного лечения [11; 13; 16; 17]. ТЯ, особенно при наличии нежизнеспособных тканей, характеризуются бактериальным загрязнением, обуславливающим развитие инфекционного процесса. Микроорганизмы, находящиеся в патологическом очаге, и продукты их жизнедеятельности инициируют и еще в большей степени способствуют увеличению продолжительности фазы воспаления, вызывая при этом сенсбилизацию макроорганизма и значительно угнетая процессы регенерации как местного, так и системного уровней. Микробный пейзаж

ТЯ в 50 % случаев характеризуется наличием полирезистентной флоры [1; 6; 7; 11; 12; 17; 20].

Поэтому поиск новых методов лечения, направленных на коррекцию локального «патологического гомеостаза», санацию раневой инфекции, стимуляцию развития и созревания грануляционной ткани, а также на ускорение эпителизации трофических дефектов кожи является весьма актуальным. Одно из перспективных направлений современной медицины в решении этой проблемы – внедрение методов, основанных на комплексном подходе в лечении инфицированных длительно незаживающих ран с использованием комбинированных физических и биологических факторов [4; 5; 7; 8; 15; 18; 21]. К числу таких методов относятся светодиодная фототерапия, в частности, антимикробное фотодинамическое (АФДВ) и фоторегуляторное воздействия (ФРВ) и клеточная трансплантация с применением мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) из жировой ткани (ЖТ) и фибробластов кожи (ФК) [3; 6; 7; 10; 12; 20; 21; 22].

Цель исследования – оценить эффективность и целесообразность применения комбинированной локальной светодиодной фототерапии и клеточных биоматериалов в комплексном лечении экспериментальных гнойных ран с замедленной регенерацией у лабораторных животных по изменению показателей динамики заживления раневых дефектов, данных микробиологического и гистоморфологического исследований.

Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования *in vitro* выполнялись на базе лаборатории молекулярной биологии клетки ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси».

Культивирование ФКК. Первичную культуру дермальных ФКК готовили методом эксплантов [10] в нашей модификации. Культивирование клеток проводили в питательной среде DMEM (Sigma) с 10 %-ным содержанием сыворотки крови плодов коровы (HyClon) в CO₂-инкубаторе при +37 °С, 5 % CO₂. Смену среды осуществляли каждые 3–4 дня. После миграции клеток из эксплантов и образования первичного монослоя культуры выполняли субпассирование в течение 3–6 пассажей для накопления необходимой биомассы клеток (25–30 миллионов). В эксперименте использовались культуры ФКК на поздней стадии логарифмического роста после образования монослоя (4–5-е сутки). Для перевода биоматериала из монослоя в суспензию культуры обрабатывали растворами 0,25 % Трипсина и 0,02 % Версена в соотношении 1 : 2. Для трансплантации использовали суспензию дермальных фибробластов в концентрации $250 \cdot 10^3$ клеток/мл.

Культивирование ММСК ЖТ. Все манипуляции по выделению и культивированию ММСК проводили по методике, описанной в работе [23] с небольшими модификациями. Полученную ЖТ измельчали. Затем гомогенат ткани подвергали ферментативной обработке в растворах коллагеназы и/или

диспазы, в результате чего получали клеточную суспензию, из которой путем фильтрования и центрифугирования отделяли фракцию стромальных клеток. Клеточный осадок ресуспендировали в полной питательной среде, высевали на культуральные флаконы и помещали в CO₂-инкубатор. Полную смену ростовой среды проводили каждые 72 ч. При достижении 75 %-ной конfluenceности монослоя клеток в первичной культуре ММСК пересевали. Плотность посадки клеток составляла $1,0 \cdot 10^4$ клеток на 1 см² поверхности культурального пластика. Оценку жизнеспособности клеток проводили путем окраски раствором красителя трипанового синего. Дальнейшую смену среды проводили каждые 3–4 дня. Культивирование клеток проводили в CO₂-инкубаторе при 37 °С во влажной атмосфере при постоянном давлении 5 % CO₂. Морфологию клеток, способность формировать колонии оценивали ежедневно в динамике роста культуры с помощью инвертированного микроскопа Биолам П2-1 (ЛОМО, Россия). Подсчет клеток проводили в камере Горяева. Фенотипирование проводили на проточном цитофлуориметре FACScanto II (Becton Dickinson, США). Для идентификации и характеристики культивируемых клеток были использованы наборы моноклональных антител (CD105, CD90, CD44, CD34, CD45), которые являются маркерами, характерными для мезенхимальных клеток-предшественниц. Для трансплантации использовали суспензию ММСК ЖТ (2-го и 3-го пассажей) в концентрации $250 \cdot 10^3$ клеток/мл.

Экспериментальная часть работы *in vivo* выполнялась на базе вивария НИЧ УО БГМУ. Исследования проводились на 102 крысах обоего пола (8–10-недельных) линии Wistar массой тела 180–200 г. Животные содержались в отдельных клетках в стандартных условиях со свободным доступом к пище и воде. Условия кормления и содержания всех лабораторных крыс были одинаковыми. Операции выполнялись с соблюдением правил асептики и антисептики с использованием щадящей методики обезболивания.

Моделирование гнойной раны с замедленной регенерацией. С целью наиболее приближенных к условиям клинического течения раневых дефектов у пациентов с ТЯ была разработана оригинальная экспериментальная модель раны с замедленной регенерацией с последующим ее инфицированием и изучением эффективности предлагаемого комплексного подхода в местном лечении с применением комбинированной локальной светодиодной терапии и клеточных биопрепаратов.

В условиях соблюдения правил асептики и антисептики после внутрибрюшинного введения 0,5–0,7 мл 1 %-ного раствора тиопентала натрия (из расчета 40–60 мг/кг), экспозиции 15–20 мин фиксировали лабораторное животное с помощью четырех держалок в положении лежа на животе. Затем на спине животного выбривали участок кожи размерами 3 × 3 см. На депилированной коже крысы раствором бриллиантового зеленого намечали контур будущей раны. Кожу обрабатывали дважды антисептиком. Наносили рану округлой

формы диаметром 2,5 см, иссекая кожно-фасциальный лоскут. Затем выполняли дополнительное подшивание к коже края раны лабораторного животного силиконовой трубочки в виде кольца диаметром 1,5 мм по периметру послойного дефекта.

После моделирования «чистой» раны дно и края раневого дефекта инфицировали путем инъекций монокультуры, суспензированной в 0,9 %-ном растворе натрия хлорида до $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл (концентрация определялась по стандарту мутности). Использовали 24-часовую монокультуру эталонных штаммов микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Объем вводимой взвеси монокультуры микробов составлял 2 мл. Раневой дефект укрывали стерильным прозрачным раневым покрытием, которое снижало вероятность дополнительной контаминации раны извне, а также обеспечивало адекватный влаго- и газообмен.

Ранее проведенные экспериментальные исследования на животных с моделированными гнойными ранами показали схожее течение инфицированного раневого процесса как при грамотрицательной, так и при грамположительной флоре. Также было выявлено сопоставимое по ответу уменьшение микробного роста на проводимое лечение с использованием метода АФДВ (универсальность воздействия на разные виды бактерий) [20]. Поэтому во всех экспериментах, представленных в статье, при моделировании гнойной раны использовали только монокультуру эталонных штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Структура эксперимента. Общая выборка была разделена на 6 экспериментальных групп. В каждой группе 6 крыс выводились поэтапно в контрольных точках эксперимента для выполнения гистоморфологического исследования раны и околораневых тканей. Остальные животные были предназначены для макроскопической оценки динамики заживления раневых дефектов с применением планиметрического метода исследования.

В первой группе (контроль $n = 17$) – заживление кожного дефекта проходило посредством самостежательной, спонтанной, не стимулированной регенерации (без лечебных воздействий).

Во второй группе ($n = 17$) – ежедневно, начиная с трех суток, внутримышечно вводили антибиотик (гентамицина сульфата) в течение последующих 10 суток.

В третьей группе ($n = 17$) – с 3-х по 7-е сутки эксперимента ежедневно проводилось локальное АФДВ с использованием ФС «Мазь Фотолон» (5 сеансов); далее с 8-х по 14-е сутки эксперимента ежедневно проводилось локальное ФРВ (7 сеансов).

В четвертой группе ($n = 17$) – с 3-х по 14-е сутки применяли последовательно АФДВ (5 сеансов) и ФРВ (7 сеансов), затем на 15-е сутки эксперимента выполняли локальную трансплантацию ФКК инъекционным методом в количестве $250 \cdot 10^3$ клеток.

В пятой группе ($n = 17$) всем крысам с 3-х по 14-е сутки применяли последовательно АФДВ (5 сеансов) и ФРВ (7 сеансов), затем на 15-е сутки

эксперимента выполняли локальную трансплантацию ММСК ЖТ инъекционным методом в количестве $250 \cdot 10^3$ клеток.

В шестой группе ($n = 17$) – с 3-х по 7-е сутки эксперимента ежедневно выполняли локальное АФДВ с использованием ФС «Мазь Фотолон» (5 сеансов). Далее каждой крысе проводили локальную трансплантацию ММСК ЖТ путем инъекции суспензии клеток по краю раневого дефекта и в центральную часть раны по $250 \cdot 10^3$ клеток два раза с интервалом 7 суток (8-е и 15-е сутки).

В группах, где применялась антибиотикотерапия (использовали внутримышечное введение гентамицина сульфата в дозировке не более 3 мг/кг/сутки (0,5 мг в сутки)) и методы АФДВ, лечение начинали с 3-х суток от начала эксперимента. Фиксированный по окружности раны силиконовый катетер удаляли на 7-е сутки эксперимента. Лечение, направленное на стимуляцию регенераторных процессов во всех группах, где применялось ФРВ или клеточные биопрепараты начинали с 8-х суток от начала эксперимента. Последующие введения ФКК или ММСК выполняли на 15-е сутки (в 4–6 группах).

Для проведения локальной фототерапии экспериментальных раневых дефектов был использован комплекс фототерапевтический «Календула» (КФТ), который позволял получать монохроматическое светодиодное излучение с длиной волны $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм и $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,03)$ мкм и обеспечивал достаточно широкий диапазон плотностей энергии (ГНУ «Институт физики им. Б. И. Степанова» НАН Беларуси, НПК «Люзар») [24]. В качестве фотосенсибилизатора (ФС) использовали препарат «Фотолон» в лекарственной форме «Мазь Фотолон» (РУП «Белмедпрепараты») [25].

Методика проведения локального АФДВ. В затемненном помещении на поверхность раневого дефекта предварительно фиксированной крысы наносили мазь «Фотолон» (из расчета 0,3 мл на 1 см^2), которую равномерно распределяли тонким слоем по поверхности раны. В течение 30 мин осуществлялась экспозиция ФС. Затем проводили сеанс локального антимикробного фотодинамического воздействия с применением НСИ с длиной волны $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм и плотность энергии облучения (20 ± 5) Дж/см² за один сеанс. По завершению сеанса АФДВ рану укрывали прозрачным раневым покрытием, и экспериментальное животное помещали в индивидуальную клетку.

Методика проведения локального ФРВ. С поверхности раневого дефекта предварительно фиксированной крысы удаляли раневое покрытие и проводили локальное фоторегуляторное воздействие с применением ПСИ с длиной волны $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,03)$ мкм. Плотность энергии облучения при этом составляла (10 ± 5) Дж/см². Затем раневой дефект снова укрывался прозрачным раневым покрытием, и крыса помещалась в индивидуальную клетку.

Методика проведения локальной клеточной трансплантации. Локальную пересадку клеточного биоматериала выполняли путем инъекций

суспензии клеток по периметру (в четырех точках (3, 6, 9, 12 ч)) и в центральную область раневого дефекта. Количество трансплантируемого материала равномерно распределяли при введении в места инъекций. Общий объем введенной суспензии составлял $250 \cdot 10^3 - 500 \cdot 10^3$ клеток на одну крысу.

День моделирования экспериментальной раны считали первыми сутками эксперимента во всех случаях. Бактериологические и планиметрические исследования, а также визуальная оценка состояния выполнялись ежедневно.

Микробиологические исследования. Забор материала для микробиологического исследования производили с поверхности раны стерильными ватными тампонами промышленного производства, помещенными в пробирки. Изучение качественного и количественного состава микрофлоры выполняли в лаборатории внутрибольничных инфекций НИЧ УО БГМУ. Посевы раневого отделяемого выполняли ежедневно с 3-х по 12-е сутки эксперимента, а также на 14, 21 и 28-е сутки. Фиксировали сроки снижения общего микробного числа (ОМЧ) раневого биотопа.

Планиметрические методы исследования. При проведении экспериментальных исследований каждый осмотр ран в контрольные сроки наблюдения за животными включал их измерение. Для определения площади раневого дефекта применяли методику компьютерной планиметрии – проводилась фотосъемка раны цифровой камерой Canon PowerShot A460 (China) на фоне линейки. Затем полученное изображение переносили в компьютер и осуществляли обработку графической информации с использованием анализатора изображения Universal Desktop Ruler v3.3.3269. Полученные данные использовали для изучения показателей динамики заживления экспериментальных ран.

1. Показатель изменения площади раневой поверхности в динамике (ΔS , %):

$$\frac{(S_0 - S_n)100\%}{S_0},$$

где S_0 – исходная площадь раны; S_n – площадь раны на n -е сутки.

2. Относительная скорость уменьшения площади раневого дефекта ($\square_{\text{зж}}$, %/сут.):

$$\frac{(S_0 - S_n)100\%}{S_0 n},$$

где S_0 – исходная площадь раны; S_n – площадь раны на n -е сутки; n – порядковый номер суток эксперимента.

3. Показатель скорости эпителизации раны ($\square_{\text{эпит}}$, $\text{см}^2/\text{сут.}$):

$$\frac{S_0 - S_n}{T},$$

где S_0 – исходная площадь раны; S_n – площадь раны на n -е сутки; T – число суток между измерениями.

Гистологическое исследование. Поэтапное выведение лабораторных животных во всех экспериментальных группах (с последующим гистоморфологическим изучением препаратов) проводили на 7, 10, 14, 21, 28 и 35-е сутки. Эвтаназию крыс выполняли путем однократного внутрибрюшного введения летальной дозы 3 %-ного раствора тиопентала натрия с последующим иссечением раневого дефекта в пределах здоровых тканей. После фиксации в течение 2 суток в 10 %-ном нейтральном растворе формалина полученный биоматериал заливали в парафин по стандартной методике. Готовили серийные парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином и MSB. С помощью микроскопа Axio Imager (ZEISS) выполняли изучение микропрепаратов, которое проводилось в 5 полях зрения с последующим переносом изображения в виде микрофотографий на цифровой носитель компьютера.

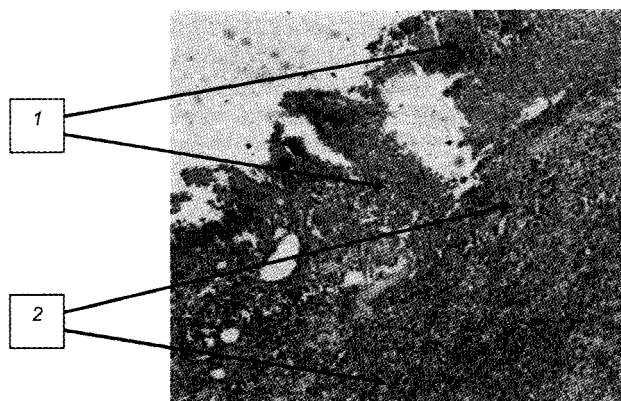
Все исследования выполнялись в строгом соблюдении принципов биоэтики, согласуясь с рекомендациями «Всемирного общества защиты животных» (WSPA) и требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 18.03.1986 г.).

Статистическая обработка результатов исследований проведена с использованием непараметрических методов, данные представлены в виде «медиана и квартили» – $Me(Q_{25}; Q_{75})$. Для сравнения независимых выборок применяли U -критерий Манна–Уитни (Mann–Whitney U -test), связанных – метод Фридмана (Friedman test) и критерий Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test) с поправкой Бонферрони. Различия считали статистически значимыми при вероятности безошибочного прогноза не менее 95 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

После инфицирования раневых дефектов у всех наблюдаемых животных на 3-и сутки эксперимента было отмечено нагноение ран с классическими визуальными признаками воспаления: наличием налетов фибрина и гнойного отделяемого, перифокальной гиперемией кожи и пастозностью окружающих рану тканей. При гистологическом исследовании микропрепаратов в эти сроки была зарегистрирована схожая во всех группах картина активного гнойного процесса: обширная рана характеризовалась налетами фибрина и некрозами поверхностных отделов с обильной инфильтрацией нейтрофилами и лимфоцитами. Инфильтрат распространялся на подлежащую жировую клетчатку и мышечную ткань, где местами выявлялись некротические фокусы. Определялись колонии микробов в большом количестве. В области шовного материала (край раны) отмечалась перифокальная воспалительная инфильтрация, состоящая преимущественно из нейтрофилов с наличием многоядерных гигантских клеток. Грануляционная ткань отсутствовала (рисунок 1).

Сравнительный анализ результатов микробиологического исследования с использованием



1 – гнойно-некротический детрит; 2 – инфильтрат
Рисунок 1 – Гнойная рана на 3-и сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100

Kruskel–Wallis test и Mann–Whitney *U*-test с поправкой Бонферрони выявил существенные различия между группами на контрольных этапах эксперимента (таблица 1).

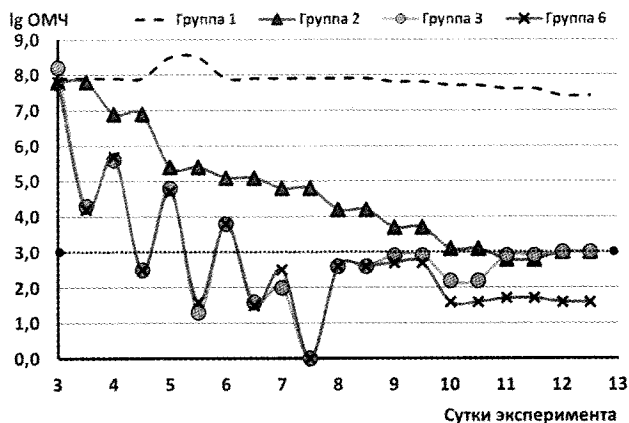
При парном сравнении результатов микробиологического исследования на 3-и сутки эксперимента значимых различий между группами 1, 2 и 6 выявлено не было ($p > 0,05$ во всех случаях), а значения ОМЧ третьей группы были достоверно больше ($p < 0,05$) показателей вышеуказанных групп.

На фоне проведения этиотропной антибиотикотерапии (группа 2) было отмечено снижение величины ОМЧ до этиологически незначимого уровня ($<10^3$ КОЕ/мл) на 10-е сутки эксперимента. В то же время в 1 группе (гнойные раны без лечения) уменьшение показателей ОМЧ ниже 10^3 КОЕ/мл наблю-

Т а б л и ц а 1 – Динамика микробного роста в экспериментальных группах

Сутки	Общее микробное число (ОМЧ, КОЕ/мл) – Me(Q ₂₅ ; Q ₇₅)				Kruskel–Wallis test
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 6	
3	8,0 (5,0; 9,5)10 ⁷	6,0 (5,4; 8,0)10 ⁷	1,6 (1,2; 1,8)10 ⁸ *** $p = 0,00$	6,4 (5,7; 8,5)10 ⁷ *** $p = 0,00$	$H = 21,27$ $p = 0,000$
4	7,3 (6,0; 9,3)10 ⁷	7,1 (4,3; 8,2)10 ⁶ * $p = 0,00$	4,3 (4,0; 7,0)10 ⁵ ** $p = 0,00$	5,3 (4,3; 7,2)10 ⁵ ** $p = 0,00$	$H = 36,44$ $p = 0,000$
5	3,4 (2,6; 4,2)10 ⁸	2,4 (1,7; 2,6)10 ⁵ * $p = 0,00$	6,9 (6,2; 8,1)10 ⁴ ** $p = 0,00$	5,1 (5,0; 7,5)10 ⁴ ** $p = 0,00$	$H = 36,87$ $p = 0,000$
6	8,0 (6,4; 9,2)10 ⁷	1,4 (0,9; 1,5)10 ⁵ * $p = 0,00$	6,9 (6,3; 8,1)10 ³ ** $p = 0,00$	7,0 (5,0; 8,0)10 ³ ** $p = 0,00$	$H = 36,47$ $p = 0,000$
7	8,4 (6,5; 9,1)10 ⁷	7,0 (6,0; 8,5)10 ⁴ * $p = 0,00$	1,0 (0,5; 3,0)10 ² **** $p = 0,00$	3,2 (2,0; 5,0)10 ² ** $p = 0,00$ *** $p = 0,04$	$H = 38,26$ $p = 0,000$
8	8,2 (6,3; 9,0)10 ⁷	1,7 (1,4; 2,6)10 ⁴ * $p = 0,00$	4,4 (2,3; 5,1)10 ² ** $p = 0,00$	4,3 (2,9; 5,0)10 ² ** $p = 0,00$	$H = 36,34$ $p = 0,000$
9	6,3 (4,4; 7,0)10 ⁷	5,1 (4,0; 7,3)10 ³ * $p = 0,00$	7,3 (3,7; 9,2)10 ² ** $p = 0,00$	5,5 (4,6; 8,1)10 ² ** $p = 0,00$	$H = 36,39$ $p = 0,000$
10	5,5 (3,4; 7,1)10 ⁷	1,3 (0,7; 1,4)10 ³ * $p = 0,00$	1,7 (0,8; 2,4)10 ² ** $p = 0,00$	3,8 (2,5; 4,6)10 ¹ ** $p = 0,00$	$H = 39,14$ $p = 0,000$
11	3,6 (2,0; 4,2)10 ⁷	5,7 (3,5; 8,3)10 ² * $p = 0,00$	7,9 (5,0; 9,0)10 ² * $p = 0,00$	5,2 (3,8; 7,3)10 ¹ ** $p = 0,00$	$H = 36,60$ $p = 0,000$
12	2,7 (2,2; 3,3)10 ⁷	1,0 (0,6; 2,1)10 ³ * $p = 0,00$	0,9 (0,7; 1,0)10 ³ * $p = 0,00$	4,0 (2,0; 7,0)10 ¹ ** $p = 0,00$	$H = 36,45$ $p = 0,000$
14	4,2 (3,3; 5,5)10 ⁶	1,1 (0,8; 1,5)10 ³ * $p = 0,00$	1,0 (0,5; 2,0)10 ³ * $p = 0,00$	1,4 (0,5; 1,9)10 ¹ ** $p = 0,00$	$H = 36,38$ $p = 0,000$
21	2,1 (1,6; 2,5)10 ⁴	1,5 (1,2; 3,0)10 ² * $p = 0,00$	2,2 (1,7; 3,1)10 ² * $p = 0,00$	2,3 (1,4; 3,5)10 ¹ ** $p = 0,00$	$H = 36,49$ $p = 0,000$
28	2,6 (1,8; 3,6)10 ³	0,7 (0,5; 1,0)10 ² * $p = 0,00$	2,0 (1,0; 5,0)10 ¹ * $p = 0,00$ ** $p = 0,03$	5,7 (3,0; 7,5)10 ¹ * $p = 0,00$	$H = 29,43$ $p = 0,000$

П р и м е ч а н и е. Mann–Whitney *U*-test с поправкой Бонферрони: * – достоверность различий с группой 1; ** – достоверность различий с группой 2; *** – достоверность различий с группой 3.



1 – гнойные раны без лечения; 2 – гнойные раны + антибиотикотерапия; 3 – антимикробное фотодинамическое и фоторегуляторное воздействие; 6 – антимикробное фотодинамическое воздействие + ММСК ЖТ

Рисунок 2 – Профиль динамики ОМЧ в группах (1, 2, 3, 6) в период 3–12-е сутки. Примечание – пунктиром отмечен уровень ОМЧ 10³ КОЕ/мл

далось лишь к 28-м суткам. Применение локального антимикробного фотодинамического воздействия (группы 3 и 6) приводило к снижению ОМЧ до этиологически незначимого уровня (<10³ КОЕ/мл) уже на 6–7-е сутки эксперимента (рисунок 2).

Таким образом, применение в качестве метода лечения гнойных ран локального антимикробного

фотодинамического воздействия приводило к наиболее значимому снижению общего микробного числа раневых биотопов. После окончания использования АФДВ отмечалось некоторое увеличение количества микроорганизмов в раневых биотопах, однако медианные значения ОМЧ не превышали 10³ КОЕ/мл.

Во всех основных группах визуальные макроскопические характеристики раневых дефектов и околораневых тканей не соответствовали данным гистологических исследований срезов в контрольные сроки наблюдения. Поэтому в оценке продолжительности фаз раневого процесса отдавали предпочтение показателям изменения площади раневой поверхности в динамике (ΔS) и скорости заживления экспериментальных ран ($\square_{\text{заж}}$, $\square_{\text{эпит}}$), а также морфологическим признакам.

Анализ значений исходных площадей раневых дефектов (S , см²) на 3-и сутки эксперимента позволил сделать заключение об отсутствии достоверных различий между группами (Kruskal–Wallis test: $H = 1,07$, $p = 0,96$). Это обстоятельство имело немаловажное значение для последующей объективной оценки полученных данных с помощью планиметрического метода, вычисления основных показателей динамики заживления (ΔS , $\square_{\text{заж}}$, $\square_{\text{эпит}}$) и проведения статистической обработки.

Сравнительный анализ результатов наблюдения за животными экспериментальных групп и данных планиметрии на протяжении 35 суток позво-

Т а б л и ц а 2 – Динамика показателей ΔS в экспериментальных группах

Группа	Показатель изменения площади раневой поверхности в динамике ΔS , % – Me(Q ₂₅ ; Q ₇₅)				
	Сутки эксперимента				
	10	14	21	28	35
Первая (контроль) (n = 11)	5,8 (5,3; 7,0)	14,7 (12,2; 16,0)	20,5 (19,7; 23,6)	34,2 (33,6; 38,5)	55,4 (52,3; 57,9)
Вторая (n = 11)	13,4 (12,7; 14,5) *p = 0,00	22,5 (20,6; 25,2) *p = 0,00	38,6 (35,9; 41,5) *p = 0,00	50,7 (47,9; 54,1) *p = 0,00	68,4 (65,6; 69,2) *p = 0,00
Третья (n = 11)	19,4 (18,8; 23,1) */**p = 0,00	35,7 (31,4; 38,2) */**p = 0,00	63,2 (61,6; 66,4) */**p = 0,00	79,2 (74,8; 82,6) */**p = 0,00	88,3 (86,6; 93,6) */**p = 0,00
Четвертая (n = 11)	19,3 (18,7; 24,1) */**p = 0,00	35,1 (32,7; 39,5) */**p = 0,00	79,0 (74,5; 81,2) */**p = 0,00 ***p = 0,00	89,1 (85,4; 91,7) */**p = 0,00 ***p = 0,00	Рана зажила на 34–35 сутки
Пятая (n = 11)	19,4 (16,7; 23,6) */**p = 0,00	35,7 (33,7; 38,4) */**p = 0,00	84,4 (83,0; 86,3) */**p = 0,00 ***p = 0,00 ****p = 0,00	92,3 (91,7; 96,4) */**p = 0,00 ***p = 0,00	Рана зажила на 31–32 сутки
Шестая (n = 11)	37,4 (33,9; 38,9) *—****p = 0,00	49,3 (47,1; 51,4) *—****p = 0,00	90,4 (88,6; 91,7) *—****p = 0,00	Рана зажила на 25–26 сутки	–
Kruskal–Wallis test	H = 55,00 p = 0,000	H = 55,76 p = 0,000	H = 62,95 p = 0,000	H = 62,22 p = 0,000	–

П р и м е ч а н и е. Mann–Whitney U-test с поправкой Бонферрони: * – достоверность различий с группой 1; ** – достоверность различий с группой 2; *** – достоверность различий с группой 3; **** – достоверность различий с группой 4; ***** – достоверность различий с группой 5.

лил установить существенные межгрупповые различия динамики заживления раневых дефектов по показателю ΔS на контрольных этапах эксперимента (таблица 2).

Анализ полученных данных показал, что значения ΔS первой группы (контроль) были достоверно меньше ($p < 0,05$) соответствующих показателей любой из опытных групп на всех этапах проведения эксперимента (исключение – отсутствие значимых различий с результатом второй группы на 7-е сутки – $U = 44,5$ и $p = 0,3$). При парном сравнении показателей ΔS не было выявлено значимых различий между третьей, четвертой и пятой группами на 7, 10 и 14-е сутки эксперимента ($p > 0,05$ во всех случаях). Максимальные показатели ΔS на этапах эксперимента ($p < 0,05$ во всех случаях) были зарегистрированы в шестой группе (рисунок 3).

Сравнительный анализ скоростей заживления раневых дефектов в динамике позволил выявить значимые внутригрупповые различия показателей $\square_{\text{заж}}$ (таблица 3).

В группе 1 (контроль) было зарегистрировано медленное увеличение скорости заживления с достижением максимальных внутригрупповых значений лишь на 35-е сутки эксперимента. Показатели $\square_{\text{заж}}$ группы 2 (гнойные раны + антибиотикотерапия) характеризовались аналогичным трендом, однако, начиная с 10-х суток, превышали соответствующие значения первой группы ($p < 0,05$) по

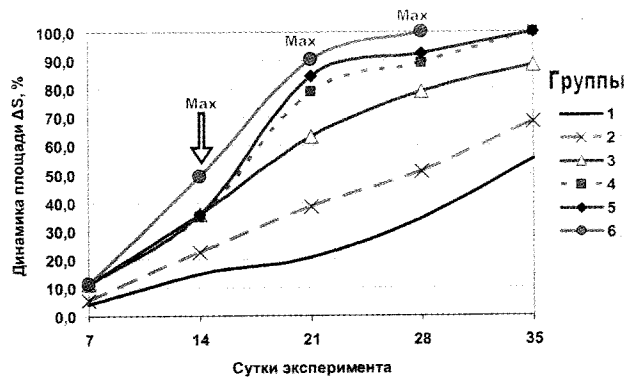


Рисунок 3 – Межгрупповые различия динамики площади ΔS

результатам парного сравнения (Mann–Whitney U-test) на всех этапах эксперимента. Однако в группах 3, 4, 5 и 6 максимальные внутригрупповые значения были достигнуты уже к 21-м суткам эксперимента.

При парном сравнении результатов $\square_{\text{заж}}$ между группами 3, 4 и 5 не было выявлено значимых различий с 7-х по 14-е сутки эксперимента включительно ($p > 0,05$ во всех случаях). Максимальные показатели скорости заживления на 10, 14 и 21-е сутки наблюдения отмечены в группе 6 ($p < 0,05$ при сравнении с соответствующими значениями остальных экспериментальных групп) (рисунок 4).

Т а б л и ц а 3 – Динамика показателей $\square_{\text{заж}}$ в экспериментальных группах

Группа	Относительная скорость заживления раневого дефекта $\square_{\text{заж}}$, %/сутки – Me(Q ₂₅ ; Q ₇₅)					Friedman test
	Сутки эксперимента					
	10	14	21	28	35	
Первая (контроль) (n = 11)	0,6 (0,5; 0,7)	1,0 (0,9; 1,1) *p = 0,03	1,0 (0,9; 1,1) *p = 0,03	1,2 (1,2; 1,4) ***p = 0,03 ***p = 0,04	1,6 (1,5; 1,7) ***p = 0,03 ***p = 0,03 ***p = 0,03	ANOVA Chi Sqr. = 48,8 p = 0,000
Вторая (n = 11)	1,3 (1,3; 1,4)	1,6 (1,5; 1,8)	1,8 (1,7; 2,0) *p = 0,03 **p = 0,04	1,8 (1,7; 1,9) *p = 0,03	2,0 (1,9; 2,0) ***p = 0,03	ANOVA Chi Sqr. = 47,4 p = 0,000
Третья (n = 11)	1,9 (1,9; 2,3)	2,6 (2,2; 2,7)	3,0 (2,9; 3,2) *p = 0,03	2,8 (2,7; 2,9) *p = 0,03	2,6 (2,5; 2,7) ****p = 0,03 ***p = 0,04	ANOVA Chi Sqr. = 44,9 p = 0,000
Четвертая (n = 11)	1,9 (1,9; 2,4)	2,5 (2,3; 2,8)	3,8 (3,5; 3,9) ***p = 0,03	3,2 (3,0; 3,3) ***p = 0,03 ***p = 0,03	2,9 (2,9; 2,9) ****p = 0,03 ***p = 0,03	ANOVA Chi Sqr. = 52,3 p = 0,000
Пятая (n = 11)	1,9 (1,7; 2,4)	2,6 (2,4; 2,7) *p = 0,04	4,0 (4,0; 4,1) ***p = 0,03	3,3 (3,3; 3,4) ***p = 0,03 ***p = 0,03	Рана зажила на 31–32 сутки	ANOVA Chi Sqr. = 42,5 p = 0,000
Шестая (n = 11)	3,7 (3,4; 3,9)	3,5 (3,4; 3,7)	4,3 (4,2; 4,4) ***p = 0,02	Рана зажила на 25–26 сутки	–	ANOVA Chi Sqr. = 29,9 p = 0,000

Примечание. Достоверность различий по Wilcoxon matched pairs test с поправкой Бонферрони при сравнении с результатами на: * – 10, ** – 14, *** – 21 и **** – 28 сутки.

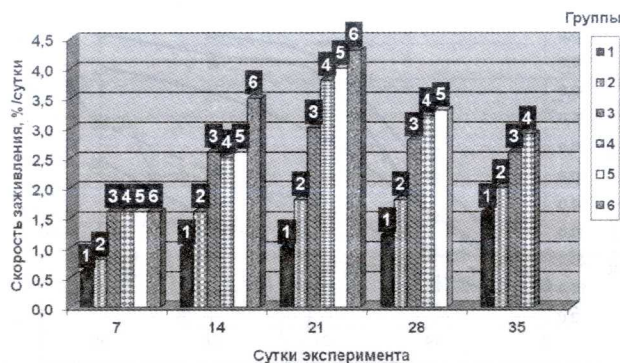


Рисунок 4 – Скорость заживления $\square_{\text{заж}}$ раневых дефектов в группах

В результате проведенного анализа были выявлены существенные изменения, а также меж- и внутригрупповые различия показателей скорости эпителизации раневых дефектов ($\square_{\text{эпит}}$) в процессе проведения эксперимента (таблица 4).

Максимальные значения скорости эпителизации $\square_{\text{эпит}}$ в интервалах «3–10 сутки» и «7–14 сутки» эксперимента были отмечены в шестой группе, а в интервале «14–21 сутки» – в пятой группе ($p < 0,05$ во всех случаях). Результаты 4 группы в интервале «14–21 сутки» эксперимента были больше, чем в группах 1–3 ($p < 0,05$ во всех случаях), и не имели статистически значимых различий

с показателями $\square_{\text{эпит}}$ группы 6 на этом этапе исследования ($U = 57,5; p = 0,8$). Минимальные значения $\square_{\text{эпит}}$ регистрировались в 1 группе с 3-х по 21-е сутки эксперимента ($p < 0,05$ во всех случаях при сравнении с соответствующими данными других групп).

Наиболее заметные различия показателей $\square_{\text{эпит}}$ между группами наблюдались с 7-х по 21-е сутки эксперимента (рисунок 5).

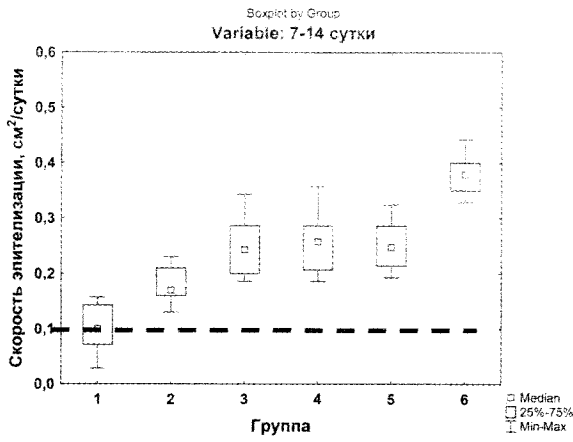
В первой группе (раны без лечения) картина активного гнойного процесса наблюдалась до 21-х суток эксперимента включительно, а фаза воспаления завершалась лишь к 35-м суткам. На фоне применения антибиотикотерапии при лечении ран (вторая основная группа) макроскопические признаки как гнойного, так и затем асептического воспаления раневых дефектов не определялись к 21-м суткам эксперимента. Использование локального АФДВ у экспериментальных животных (3–6 группы) обеспечивало купирование к 7-м суткам опытов визуальных признаков гнойного воспаления, а при дополнительном применении клеточной трансплантации и ФРВ с 8-х суток также и асептического воспаления на 10–14-е сутки соответственно.

В результате динамического гистологического контроля над состоянием ран у лабораторных животных было установлено, что начиная с 10-х суток, определялась разница в течении раневого

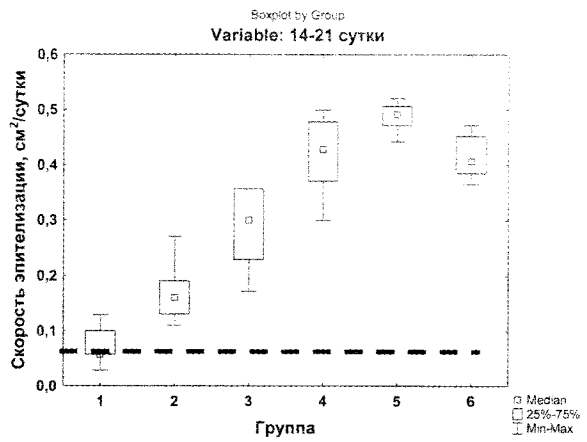
Т а б л и ц а 4 – Динамика показателей $\square_{\text{эпит}}$ в экспериментальных группах

Группа	Скорость эпителизации раны $\square_{\text{эпит}}$, см ² /сутки – Me(Q ₂₅ ; Q ₇₅)					Friedman test
	Временные интервалы эксперимента					
	3–10 сутки	7–14 сутки	14–21 сутки	21–28 сутки	28–35 сутки	
Первая (контроль) (n = 11)	0,06 (0,06; 0,07)	0,10 (0,07; 0,14)	0,06 (0,06; 0,09)	0,14 (0,13; 0,15) *p = 0,03 ***p = 0,04	0,24 (0,18; 0,28) ****p = 0,03 **p = 0,04 ****p = 0,05	ANOVA Chi Sqr. = 30,2 p = 0,000
Вторая (n = 11)	0,13 (0,13; 0,14)	0,17 (0,16; 0,19)	0,16 (0,14; 0,19)	0,13 (0,11; 0,14)	0,21 (0,17; 0,23) *p = 0,04 ****p = 0,04	ANOVA Chi Sqr. = 22,4 p = 0,000
Третья (n = 11)	0,20 (0,19; 0,24)	0,24 (0,21; 0,27)	0,30 (0,24; 0,35)	0,13 (0,11; 0,20) **p = 0,04 ***p = 0,05	0,14 (0,11; 0,17) **p = 0,03 ***p = 0,03	ANOVA Chi Sqr. = 28,1 p = 0,000
Четвертая (n = 11)	0,20 (0,19; 0,24)	0,26 (0,22; 0,28)	0,43 (0,37; 0,48) *p = 0,03 **p = 0,05	0,10 (0,08; 0,13) *p = 0,04 **/**p = 0,03	0,12 (0,08; 0,14) **/**p = 0,03 ***p = 0,03	ANOVA Chi Sqr. = 39,3 p = 0,000
Пятая (n = 11)	0,20 (0,16; 0,24)	0,25 (0,22; 0,28)	0,49 (0,48; 0,51) ***p = 0,03	0,08 (0,07; 0,10) ***p = 0,03 ***p = 0,03	Рана зажила на 31–32 сутки	ANOVA Chi Sqr. = 40,0 p = 0,000
Шестая (n = 11)	0,37 (0,33; 0,40)	0,38 (0,35; 0,40)	0,41 (0,39; 0,44)	Рана зажила на 25–26 сутки	–	ANOVA Chi Sqr. = 37,4 p = 0,000

П р и м е ч а н и е. Достоверность различий по Wilcoxon matched pairs test с поправкой Бонферрони при сравнении с результатами: * – интервала 3–10 сутки, ** – интервала 7–14 сутки, *** – интервала 14–21 сутки, **** – интервала 21–28 сутки.



а



б

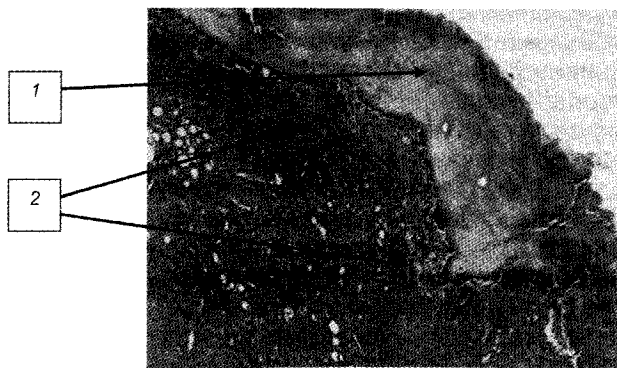
а – интервал 7–14-е сутки; б – интервал 14–21-е сутки

Рисунок 5 – Скорость эпителизации □ЭПИТ раневых дефектов в группах. Примечание – пунктиром отмечен уровень □ЭПИТ в контрольной группе

процесса в исследуемых группах. Особенно отчетливо эти различия наблюдались, начиная с 14-х суток и последующие этапные сроки наблюдения.

В контрольной (первой) группе на 35-е сутки эксперимента эпителизация раны отсутствовала. В микропрепаратах определялся раневой дефект, покрытый белковыми массами, под которыми выявлялись остатки некротизированной ткани, и определялось наличие молодой грануляционной ткани с очагами грубых коллагеновых волокон. В грануляционной и в прослойках межмышечной соединительной ткани определялись мелкие очаги фибриноидных некрозов (рисунок 6).

Во второй группе при гистологическом исследовании в те же сроки наблюдения в области краев раневых дефектов определялась неравномерная эпителизация. Помимо слоя фибрина с нейтрофильными лейкоцитами на поверхности ран выявлялась созревающая соединительная ткань, в которой определялось умеренное количество горизонтально ориентированных коллагеновых волокон, фибробласты и макрофаги (рисунок 7).

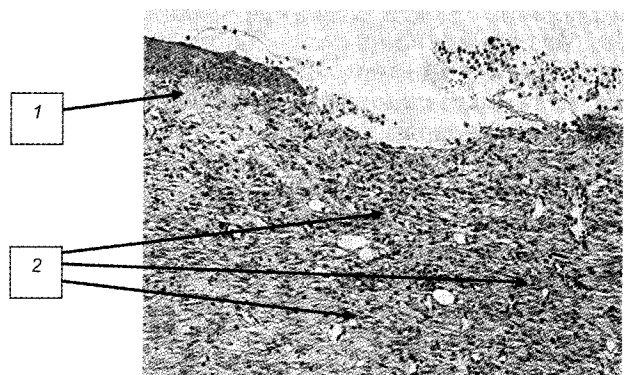


1 – струп, 2 – грануляционная ткань

Рисунок 6 – Рана животного первой (контрольной) группы на 35-е сутки эксперимента. Окраска MSB, ув. ×40

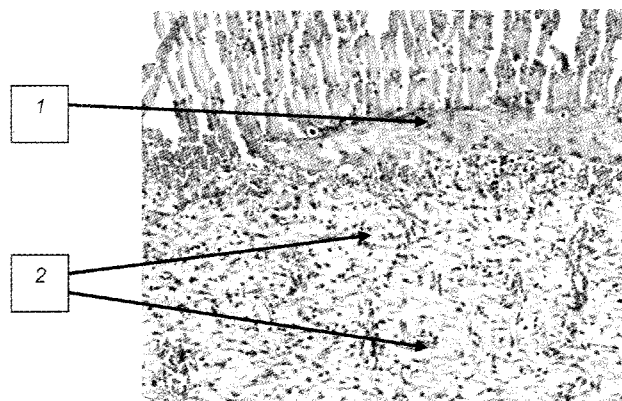
У животных третьей группы к 35-м суткам эксперимента в микропрепаратах определялась небольшая «чистая» рана. В средних и глубоких отделах раны выявлялась почти зрелая соединительная ткань, на отдельных участках сохранялись «клеточность» и отек подлежащих тканей. В поверхностных отделах под многослойным плоским эпителием отмечалось большое количество клеток и горизонтально расположенные коллагеновые волокна (рисунок 8).

К 35-м суткам эксперимента площади раневых дефектов у животных первой (спонтанная регенерация) и второй (антибиотикотерапия) групп уменьшились на 55,9 (53,6; 58,9) % и 68,1 (67,1; 70,1) % по отношению к исходным размерам. Полное заживление было зафиксировано на 51–52 и 44–45-е сутки эксперимента соответственно. В третьей группе, где применяли комбинированное светодиагностическое воздействие (АФДВ и ФРВ) в эти же сроки площади раневых дефектов достоверно



1 – краевая эпителизация, 2 – созревающая грануляционная ткань

Рисунок 7 – Рана животного второй группы на 35-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100



1 – многослойный плоский эпителий, 2 – соединительная ткань

Рисунок 8 – Рана животного третьей группы на 35-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$

были меньше, чем в первой и второй группах (88,9 (85,7; 93,1) %), а полная эпителизация ран наблюдалась на 39–40-е сутки.

В основных группах лабораторных животных, где применялись не только методы АФДВ и ФРВ, но и клеточные биопрепараты, к 35-м суткам эксперимента отмечалась несколько иная картина. В 4 и 5 группах наблюдались сопоставимые сроки заживления раневых поверхностей: 34–35 и 31–32-е сутки соответственно. У животных 6 группы полное заживление раневой поверхности наблюдалось к 25–26-м суткам от начала эксперимента, что достоверно отличалось от аналогичных показателей в сравниваемых группах (во всех случаях $p < 0,05$).

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования показали, что при применении комплексного подхода с использованием комбинированных методов локальной светодиодной терапии (АФДВ и ФРВ) и клеточной трансплантации (МСК и ФКК) в лечении лабораторных животных с моделированными гнойными ранами с замедленной регенерацией отмечается значительное сокращение сроков заживления раневых дефектов. Ускорение процесса полного закрытия ран в этих экспериментальных группах после окончания фазы воспаления (гнойной и асептического периодов) мы связываем как со стимулирующим действием метода ФРВ и применяемых клеточных биопрепаратов на собственные главные клетки раневого процесса, так и с заместительной функциональной активностью локально трансплантируемых культивированных фибробластов и мезенхимальных стволовых клеток.

Выводы

1. Смоделированные по оригинальной методике гнойные раны с замедленной регенерацией без лечения характеризовались длительным существованием микробного загрязнения с высокими показателями ОМЧ раневых биотопов (до 18 суток) и продолжительной фазой воспаления (по

данным гистологических исследований – не менее 32 суток).

2. Этиотропная антибиотикотерапия позволяла в течение 7 суток снизить уровень микробной контаминации длительно незаживающих гнойных ран до этиологически незначимых значений ($\leq 10^3$ КОЕ/мл). При этом макроскопические признаки фазы воспаления исчезали к 10-м суткам, а гистологические – к 18-м суткам от момента начала проводимого лечения. Полное заживление раневых дефектов отмечалось к 44–45-м суткам.

3. Применение локального антимикробного фотодинамического воздействия (в течение 5 суток) с использованием неполяризованного светодиодного излучения ($\lambda_1 = 0,405$ мкм и ПЭО (20 ± 5) Дж/см²) и фотосенсибилизатора «Мазь Фотолон» вызывало более значимое снижение ОМЧ раневых биотопов (на 3–4-е сутки от начала лечения) по сравнению с контрольной и второй группами. Последующее применение локального фоторегуляторного воздействия с использованием поляризованного светодиодного излучения ($\lambda_2 = 0,630$ мкм и ПЭО (10 ± 5) Дж/см² в течение 7 суток) способствовало завершению первой фазы раневого процесса к 14-м суткам от начала эксперимента (по данным макроскопического наблюдения и гистологического исследования).

4. Локальная трансплантация клеточных биопрепаратов после окончания фазы воспаления еще в большей степени оказывала стимулирующее действие на раневые репаративные процессы – контракцию раны за счет активизации роста и созревания грануляционной ткани, а также краевую эпителизацию. Проведенные исследования выявили, что скорость уменьшения площадей раневых дефектов ($\square_{\text{заж}}$) в четвертой и пятой группах (ФКК и ММСК $250 \cdot 10^3$ клеток на 14-е сутки) с 14-х по 21-е сутки колебалась от 2,5 до 3,8 %/сут. после локальной трансплантации ФКК и от 2,6 до 4,0 %/сут. при использовании ММСК ЖТ по сравнению с 3 группой (клеточные биопрепараты не использовали), где этот показатель находился в интервале от 2,6 до 3,0 %/сут.

5. Применение ММСК ЖТ ($250 \cdot 10^3$ клеток) в 6 экспериментальной группе на 8-е сутки от начала лечения (сразу после проведения курса АФДВ) приводило к купированию воспалительных изменений в ране и околораневых тканях в более ранние сроки – к 10-м суткам исследования. Повторная трансплантация ММСК ЖТ ($250 \cdot 10^3$ клеток) на 14-е сутки способствовала росту показателей скорости заживления ($\square_{\text{заж}}$ – от 3,5 (3,4; 3,7) %/сут. до 4,3 (4,2; 4,4) %/сут.) на протяжении всего периода течения раневого процесса и приводила к ускорению смены фаз раневого процесса и полному заживлению экспериментальных ран к 25–26-м суткам

6. В условиях эксперимента *in vivo* было установлено, что использование в качестве лечения комплексной методики с применением локальной светодиодной фототерапии (комбинированное применение АФДВ и ФРВ) с выбранными параметрами и культивированных фибробластов кожи и мульт-

типотентных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани (в количестве $250 \cdot 10^3$ клеток), с учетом фаз раневого процесса приводило к со-

кращению – на 17–20 суток – сроков заживления гнойных ран с замедленной регенерацией (в сравнении с группой контроля).

Литература

1. Абаев, Ю. К. Биология заживления острой и хронической раны / Ю. К. Абаев // Мед. новости. – 2003. – № 6. – С. 3–10.
2. Бабаева, А. Г. Регенерация – факты и перспективы / А. Г. Бабаева. – М.: РАМН, 2009. – 334 с.
3. Биологическая активность и терапевтическая эффективность излучения сверхъярких светодиодов / В. А. Мостовников [и др.] // Лазерно-оптические технологии в биологии и медицине: материалы междунар. конф., Минск, 14–15 окт. 2004 г.: в 2 т. / Ин-т физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси; под ред. А. Н. Рубинова [и др.]. – Минск, 2004. – Т. 1. – С. 28–35.
4. Влияние поляризованного светодиодного излучения на митотическую активность культивированных фибробластов кожи крысы / А. В. Буравский [и др.] // Мед. панорама. – 2014. – № 4 (148). – С. 24–28.
5. Дermalные фибробласты: разнообразие фенотипов, физиологических функций, возможности терапевтического применения для коррекции дефектов кожи / А. И. Зорина [и др.] // Косметика и медицина. – 2011. – № 2. – С. 12–26.
6. Ищук, А. В. Фотодинамическая терапия: история развития метода и его практическое применение в лечении гнойных ран и трофических язв нижних конечностей / А. В. Ищук // Мед. журн. – 2007. – № 4. – С. 120–125.
7. Клеточные технологии для регенеративной медицины / под ред. Г. П. Пинаева, М. С. Богдановой, А. М. Кольцовой. – СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2011. – 332 с.
8. Улащик, В. С. Действие лечебных физических факторов с позиции теории открытых систем / В. С. Улащик // Новости медико-биол. наук. – 2011. – Т. 4, № 3. – С. 104–112.
9. Абаев, Ю. К. Расстройство заживления ран и методы их коррекции / Ю. К. Абаев // Вестн. хирургии. – 2005. – Т. 164, № 1. – С. 111–113.
10. Использование культивируемых клеток кожи человека для лечения трофических язв / М. И. Блинова [и др.] // Клеточные культуры. – 2006. – Вып. 21. – С. 33–44.
11. Длительно незаживающие раны и язвы (патогенез, клиника, лечение) / П. И. Толстых [и др.]. – М.: Дипак, 2009. – 168 с.
12. Клеточные технологии в лечении радиационных ожогов: опыт ФМБЦ им. А. И. Бурназяна / К. В. Котенко [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2012. – Т. VII, № 2. – С. 97–102.
13. Учкин, И. Г. Современные подходы к лечению венозных трофических язв / И. Г. Учкин, А. Г. Багдасарян // Рус. мед. журн. – 2013. – Т. 21, № 15. – С. 810–814.
14. Effects of dermal multipotent cell transplantation on skin wound healing / S. Chunmeng [et al.] // J. Surg. Res. – 2004. – Vol. 121, N 1. – P. 13–19.
15. Использование мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при лечении раневых дефектов кожных покровов в эксперименте / Е. В. Баранов [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2014. – № 1. – С. 60–67.
16. Липницкий, Е. М. Лечение трофических язв нижних конечностей / Е. М. Липницкий. – М., 2001. – 664 с.
17. The effect of polarised light on wound healing / S. Monstrey [et al.] // Eur. J. Plast. Surg. – 2002. – Vol. 24. – P. 377–382.
18. Биология стволовых клеток и клеточные технологии: в 2 т. / под ред. М. А. Пальцева. – М.: Изд-во Медицина, Изд-во «Шико», 2009. – Т. 1. – 272 с.
19. Руководство по частной патологии человека: в 2 ч. / под ред. Н. К. Хитрова, Д. С. Саркисова, М. А. Пальцева. – М.: Медицина, 2005. – Ч. 1. – 480 с.
20. Светодиодное излучение: результаты антимикробного фотодинамического воздействия в эксперименте *in vitro* / А. В. Буравский [и др.] // Военная медицина. – 2014. – № 3 (32). – С. 80–86.
21. Waldman, H. Tolerance: an overview and perspectives / H. Waldman // Nature reviews, nephrology. – 2010. – N 6. – P. 569–576.
22. Методы культивирования клеток / под ред. Г. П. Пинаева, М. С. Богдановой. – СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2008. – 278 с.
23. Zuk, P. A. Multilineage cell from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies / P. A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno // Tissue Eng. – 2001. – Vol. 7. – P. 211–228.
24. Комплекс фототерапевтический «Календула»: рук-во по эксплуатации. ТУ ВУ 10032654.010-20 РЭ. – 21 с.
25. Шляхтин, С. В. Возможности и перспективы использования производных хлорофилла для создания эффективных и безопасных фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии. Обзор литературы / С. В. Шляхтин, Т. В. Трухачева // Вестник фармации. – 2010. – № 2 (48). – С. 1–20.

Abstract. Effective treatment of patients with infected wound defects of the skin and soft tissues of various genesis – especially long-lasting non-healing wounds and trophic ulcers continues to be a problem area of modern medicine. Therefore, the search for new therapies aimed at correcting local “pathological homeostasis”, elimination of wound infection, stimulation of development and maturation of granulation tissue, as well as acceleration of epithelialization of trophic skin defects is a very relevant area of research. The article presents the results of application of local light-emitting diode (LED) phototherapy and cellular biomaterials in the complex treatment of purulent wounds with delayed regeneration in laboratory animals. The original purulent wounds without treatment were characterized by a prolonged existence of microbial contamination and a prolonged phase of inflammation. In the experiment it was shown that the use of a complex technique, including combined LED phototherapy with selected parameters and local cell transplantation (cultured dermal fibroblasts and multipotent mesenchymal stem cells from adipose tissue), taking into account the phases of the wound process, can significantly shorten the healing time of purulent wounds.

Keywords: local LED phototherapy, dermal fibroblasts, mesenchymal stem cells, purulent wound, local cell transplantation.

