

На правах рукописи

Зубкова Наталья Викторовна

**РАЗРАБОТКА СПОСОБА ЛЕЧЕНИЯ ЖИВОТНЫХ С
ТЕРМИЧЕСКИМИ ОЖОГАМИ**

06.02.04 – ветеринарная хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2020

Работа выполнена на кафедре диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина».

Научный руководитель – Чернигова Светлана Владимировна
доктор ветеринарных наук, профессор кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина».

Официальные оппоненты: Безрук Елена Львовна
доктор ветеринарных наук, доцент, заведующая кафедрой ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет имени Н.Ф. Катанова»/

Шнякина Татьяна Николаевна
доктор ветеринарных наук, доцент, профессор кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный аграрный университет»/

Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина».

Защита состоится 22 июня 2020 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.05 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д.5, тел/факс (812)388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО СПбГАВМ по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д.5, и на официальном сайте <http://www.spbgavm.ru>.

Автореферат размещен на сайтах: ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации: <https://vak.minobrnauki.gov.ru> «21» апреля 2020 г. и ФГБОУ ВО СПбГАВМ: <http://spbgavm.ru> «21» апреля 2020 г.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Кузнецова Татьяна Шамильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Ожоговая травма представляет серьезную проблему в ветеринарной медицине. Актуальность темы обусловлена высокой частотой ожоговых повреждений в связи с участвовавшими природными катастрофами и бытовыми чрезвычайными происшествиями (Э.И. Веремей с соавт., 2012, Т.Н. Шнякина с соавт., 2017, А.Н. Квочко с соавт., 2015, Б.А. Параманов с соавт., 2000, В.А. Матчин, 2015, Р.И. Муразян, 2003). Так, в 2018 году зарегистрированы пожары степей и лесов в более 30 регионах Российской Федерации, был введен режим чрезвычайной ситуации на территории Забайкалья, Кургана, Иркутска, Красноярска. В Забайкалье погибло более 13000 голов сельскохозяйственных животных по причине термических травм (Д.М. Гордиенко с соавт., 2019). Ожоги в быту животные получают в результате воздействия кипятка, открытого пламени горелки, электрогрелки, включенной газовой плиты (Б.С. Семенов с соавт., 2013, М.Ш. Шакуров с соавт., 2011). Нередко причиной термического ожога служат ятрогенные факторы, например, при неправильном использовании электрических грелок и недостаточно заземленных пластин электрокаутеров (А.Д. Белов с соавт., 1995, К.А. Петраков с соавт., 2001).

Современной концепцией лечения глубоких ожогов является методика раннего хирургического лечения с последующим использованием перевязочных средств, которая является перспективным методом благодаря доступности, простоте применения и экономической выгоде. Развитие и генерализация инфекции под повязкой остается основной причиной осложнений термических ожоговых ран (Л.В. Медведева, 2016, Е.А. Безрук, 2016, Ю.К. Абаев, 2006, В.В. Алтухов, 2012, А.А. Глухов, 2015). Одним из факторов развития инфекции в ране является влажная среда и низкая газопроницаемость (Д.Ю. Андреев, 2009, О.А. Легонькова с соавт., 2015, С.А. Лукьянов, 2018, Н. Ullah et al., 2016). Вышеуказанные факторы предрасполагают к поиску новых препаратов, улучшающих регенераторные и обменные процессы в ожоговой ране. Актуальность научно-исследовательской работы связана с возможностью расширения ассортимента современных высокоэффективных покрытий для лечения ожоговых ран, обладающих атравматичными свойствами, способных ускорять заживление ожоговых ран, обеспечивать пролонгированную доставку лекарственных средств к очагу поражения.

Во многих лабораториях развитых стран отмечается повышенный интерес к полисахаридам, в частности к целлюлозе как основному биополимеру. Предпочтение в большей степени отдается изучению бактериальной целлюлозы, продуцируемой бактериями. Пленка бактериальной целлюлозы представляет собой пористую структуру, состоящую из кристаллических микрофибрилл (И.В. Выдрина, 2017, Л.А. Алешина с соавт., 2001, E. Trovatti et al., 2011, P. Gatenholm, 2010). В настоящее время изучаются физико-химические свойства наноматериала на основе бактериальной целлюлозы во многих странах мира (В.А. Попов, 2013, Ж.Н. Баймирзаева с

соавт., 2018, К.С. Болотова, 2016, G.F.Picheth et al., 2017, E.E. Brown, 2012). Тем не менее, не проведено сравнения с существующими методами лечения животных с термическими ожогами, а также не установлено, в каких фазах раневого процесса предпочтительно их применение. В связи с вышесказанным изучение биосовместимости раневого покрытия на основе бактериальной целлюлозы, а также анализ эффективности лечения животных с термическими ожогами является весьма актуальным и важным научным направлением в ветеринарной медицине.

Степень разработанности темы. В настоящее время, несмотря на успехи в лечении ожогов, вторичные заболевания у пострадавших животных, приводящие к смерти, встречаются повсеместно. На мировом фармацевтическом рынке имеется многочисленный выбор раневых покрытий, однако наибольший интерес возник к природным полимерам. Бактериальная целлюлоза, как полисахарид, известен исследователям благодаря своим уникальным структурным и физико-химическим свойствам. Многие биомедицинские обзоры бактериальной целлюлозы были сосредоточены на изучении физико-химических свойств, но не рассматривали ее использование в качестве перевязочных материалов при лечении животных с термическими ожогами.

Цель и задачи исследования. *Цель работы* – экспериментально обосновать эффективность применения раневого покрытия из бактериальной целлюлозы для лечения животных с ожоговыми ранами.

Для решения поставленной цели были определены следующие *задачи*.

1. Обосновать применение раневого покрытия из бактериальной целлюлозы для лечения животных с термическими ожогами на основании ее структурных и физико-химических свойств.
2. Изучить биосовместимость наноматериала из бактериальной целлюлозы с тканями животных и оценить возможность его применения в качестве перевязочного материала.
3. Дать сравнительную оценку заживлению термических ожогов с применением раневого покрытия из бактериальной целлюлозы в сравнении с другими противоожоговыми лекарственными средствами.
4. Изучить течение репаративной регенерации кожи и подкожной клетчатки у животных с термическими ожогами в условиях локального применения раневого покрытия из бактериальной целлюлозы.

Научная новизна. В результате научного исследования разработан способ лечения животных с термическими ожогами, определена эффективность применения раневого покрытия из бактериальной целлюлозы при регенерации тканей. Определены особенности изменения клинических показателей крови, а также морфологической картины кожи у лабораторных животных с ожогами III степени, что расширяет современные представления о патогенезе термической травмы. Установлена высокая терапевтическая эффективность использования покрытия из бактериальной целлюлозы при лечении животных с термическими ожогами, которое создает благоприятные условия для репаративной

регенерации кожи, что обеспечивает раннее восстановление функционального состояния пораженного участка.

Теоретическая и практическая значимость работы. Данные исследования могут быть положены в основу совершенствования имеющихся и создания новых принципов и схем диагностики, лечения животных с термическими ожогами, а также профилактики риска вторичных заболеваний у обожженных животных. Разработан и внедрен в клиническую практику способ лечения животных с термическими ожогами с применением раневого покрытия из бактериальной целлюлозы, который обеспечивает ускорение заживления ожоговой раны по сравнению с традиционными лекарственными средствами. Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства Института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Омского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина». Настоящими результатами исследований могут руководствоваться ветеринарные врачи в своей практической деятельности при лечении животных с термическими ожогами.

Методология и методы исследования. Научно-исследовательская работа проведена с 2016 по 2019 годы в рамках выполнения инициативной темы НИР АААА-А16-116040610034-2 «Разработка хирургических средств и методов для повышения качества жизни животных и оценки продуктивных свойств» в условиях лаборатории кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства института ветеринарной медицины и биотехнологии Омского ГАУ, лаборатории биологии с основами молекулярной биотехнологии и геной инженерии, лаборатории биохимического анализа отдела животноводства Омского аграрного научного центра. Объектом исследования являлись крысы и кролики. Предметом изучения служило раневое покрытие из бактериальной целлюлозы, модифицированное частицами серебра, которому дано рабочее название «DermaRM». При разработке способа лечения ожоговой раны у животных использовали исследование с применением клинических, планиметрических, гистологических методов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту.

1. Раневое покрытие из бактериальной целлюлозы биосовместимо с тканями животных, физико-химические и структурные особенности способствуют созданию защитной мембраны, обладающей высокой гигроскопичностью и сорбционной активностью.

2. Применение раневого покрытия из бактериальной целлюлозы у животных с термическими ожогами приводит к уменьшению признаков воспаления, ускорению сроков очищения ран от некротического детрита и ускоряет эпителизацию раны, в сравнении с другими средствами.

Степень достоверности и апробация результатов научных исследований. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на II региональной научно-практической конференции молодых ученых «Биотехнология в сельском хозяйстве, промышленности и медицине»,

г. Омск (2018 г.), международной научно-практической конференции «Современные проблемы радиобиологии, агроэкологии, клинической и экспериментальной ветеринарной хирургии», посвящённой 90-летию со дня рождения академика РАСХН Алексея Дмитриевича БЕЛОВА, первого президента МАО, г. Санкт-Петербург (2018 г.), национальной научно-практической конференции «Приоритетные направления научно-технологического развития агропромышленного комплекса России», международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны», г. Санкт-Петербург (2018 г.), восьмой международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии, Москва (2018 г.), международной конференции «Цифровое сельское хозяйство региона: основные задачи, перспективные направления и системные эффекты», посвящённой 70-летию экономического факультета ФГБОУ ВО Омский ГАУ (2019 г.). Материалы диссертационной работы используются при чтении лекций и на лабораторно-практических занятиях в Институте ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Омского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина».

Публикации результатов исследований. Научные результаты по теме диссертации опубликованы в 9 печатных работах, в том числе 2 издания, индексируемых в международной базе данных Web of Science и Scopus, и 3 издания, рекомендованные ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 144 страницах компьютерного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, основную часть, заключение, практические рекомендации, список литературы, приложения. Диссертация иллюстрирована 43 рисунками и 12 таблицами. Список литературы включает 233 работ, в том числе 143 отечественных источников и 90 зарубежных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили в рамках выполнения научной работы АААА-А16-116040610034-2 «Разработка хирургических средств и методов для повышения качества жизни животных и оценки продуктивных свойств» на базе лаборатории кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства института ветеринарной медицины и биотехнологии Омского ГАУ, лаборатории биологии с основами молекулярной биотехнологии и геномной инженерии, лаборатории биохимического анализа отдела животноводства Омского аграрного научного центра в период с 2016 по 2019 гг. Предметом исследования являлось раневое покрытие из бактериальной целлюлозы, модифицированное частицами серебра, изготовленное на кафедре продуктов питания и пищевой биотехнологии агротехнологического факультета ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина». Опытному образцу дано рабочее название «DermaRM».

На первом этапе исследовали структуру и физико-химические свойства бактериальной целлюлозы с помощью спектрофотометра Perkin Elmer FTIR System Spectrum BX, растрового электронного микроскопа JEOL JCM 5700, сканирующего зондового микроскопа NTEGRA Prima.

На втором этапе исследования проводили доклиническое исследование раневого покрытия «DermaRM», состоящее из 2-х серий эксперимента. *1 серия эксперимента.* На модели термического ожога кожи, созданного в области спины у крыс опытной группы (n=20), изучали и оценивали эффективность местного влияния покрытия из бактериальной целлюлозы на фазы раневого процесса. У животных контрольной группы (n=20) лечение не проводили. Ежедневно наблюдали за поведением и общим состоянием крыс. Измерение площади ожоговой раны проводили в 1-й день и на 5-е сутки после моделирования термической травмы, затем на 3-е, 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки после некрэктомии. Объектом исследования биосовместимости являлись кролики (n=20), которых разделили на 2 группы. В области холки кролика осуществляли послойный линейный разрез кожи и подкожной клетчатки длиной 3–5 см, затем формировали карман и вносили имплантат. После этого отдельными узловатыми швами ушивали рану. Контрольной группе 1 (n=10) имплантировали подкожно лоскут марлевой повязки (9 см²), опытной группе 2 (n=10) – имплантат из бактериальной целлюлозы (9 см²). Сроки послеоперационного контроля (3, 7, 14, 28, 90, 180-е сутки) выбраны с учетом продолжительности воспаления в области имплантации, формирования соединительной ткани, завершения эпителизации и образования рубца.

2 серия эксперимента. Сравнительную оценку ранозаживляющей активности раневых покрытий проводили в эксперименте на кроликах (n=60). Моделирование термического ожога у кроликов осуществляли контактным способом с помощью медной пластины диаметром 9 см под нейролептаналгезией. В области выбритой поверхности кожи спины прикладывали нагретую медную пластину, экспозиция 40 с. На основании клинических и гистологических методов исследования экспериментальным животным поставлен диагноз – термический ожог в области спины III степени. Лабораторным животным на 5-е сутки после моделирования термической травмы проводили хирургическую некрэктомию под общим наркозом по методике тангенциального очищения ожогового струпа. Все животные, участвовавшие в эксперименте, были разделены на 4 группы. У кроликов контрольной группы (n=15) заживление раны проходило без применения лекарственных препаратов. Кроликам опытной группы I (n=15) на раневую поверхность 2 раза в сутки наносили спрей «Пантенол» с последующим наложением марлевой фиксирующей повязки. У животных опытной группы II (n=15) лечение ожоговой раны проводили с применением маевой повязки «Бранолинд Н», которую фиксировали при помощи марлевого бинта, смену повязки осуществляли ежедневно. У кроликов опытной группы III (n=15) раневую поверхность закрывали повязкой «DermaRM», которая выкраивалась в условиях операционной по полиэтиленовому шаблону, повторяя контур раны, оставалась на ране до полного завершения раневого процесса. Эффективность

лечения исследуемых животных оценивали по следующим критериям: 1. Клиническое состояние животных, которое включало наблюдение за общим состоянием, измерение температуры тела, пульса, частоты дыхательных движений. 2. Изучение регенеративных процессов поврежденных тканей у животных при помощи планиметрического и гистологического методов исследования ожоговых ран на 3, 7, 14, 21 и 28-е сутки после некрэктомии. 3. Изучение динамики клинических показателей крови у животных контрольной и опытных групп до постановки опыта, а затем на 3, 7, 14 и 21-е сутки после некрэктомии.

Статистическую обработку проводили медико-биологическим методом с помощью программы STATISTICA 10. Расчеты проводили с использованием параметрического двухвыборочного t-критерия Стьюдента и критерия Фишера-Снедекора для независимых выборок с вычислением среднего арифметического значения (M), стандартного отклонения (m). Различия считали статистически достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфологическая и физико-химическая характеристика раневого покрытия из бактериальной целлюлозы

При изучении физических свойств покрытия из бактериальной целлюлозы использовали метод растровой электронной микроскопии, что предполагает описание таких факторов, как взаимная ориентация макромолекул, наличие пустот и включений. При исследовании раневого покрытия из бактериальной целлюлозы установили, что структура рыхлая сетчатая, состоящая из микрофибрилл и множества пустых промежутков между ними. Фибриллы однородные и ориентированы вдоль поверхности образца, собраны в единичном волокне. Толщина волокна составляет величину порядка 150 нм. Наличие равномерного по плотности распространения волокон обеспечивает высокую прочность покрытию.

Наличие наноразмерных пор между микрофибриллами покрытия «DermaRM» выступало в качестве адсорбционных центров для кристаллизации неорганических соединений коллоидных частиц Ag. Параметром присутствия частиц Ag в покрытии «DermaRM» служила макрокартина обесцвечивания раствора супернатанта и приобретения желтого цвета получаемого образца. Эта миграция объясняется процессом диффузии. Для раневого покрытия из бактериальной целлюлозы характерна волнистая форма упаковки нанофибрилл, их длина в некоторых участках превышает 15 мкм, а толщина варьируется от 60 нм до 150 нм. На поверхности нанофибрилл покрытия обнаруживали отдельные коллоидные частицы Ag со средним размером около 0,8 мкм.

Результаты проведенных исследований ИК-спектроскопии, РЭМ и СЗМ позволили определить наноструктурные особенности покрытия «DermaRM» и изучить характер проникновения наночастиц серебра в архитектуру нанопленки. Подобная структура позволяет при контакте с поверхностью раны

обеспечить газопроницаемость и выведение экссудативной жидкости, а присутствие частиц серебра – снизить микробную нагрузку в зоне термической травмы.

Влияние покрытия «DermaRM» на заживление ожоговых ран у крыс

Площадь ожоговой раны на 7-е сутки у крыс опытной группы составила $30,1 \pm 0,5 \text{ см}^2$, что на 7,6 % меньше исходной площади и на 1,6% меньше, чем в контрольной группе. В первой серии исследований установили, что применение раневого покрытия из бактериальной целлюлозы к 14-м суткам наблюдения обеспечило достоверное ($p \leq 0,05$) уменьшение площади ожоговой раны на 47,5% от исходной, тогда как в контрольной группе – на 15,4%. На 21-е сутки регистрировали снижение площади ожоговой раны на 54,2% по сравнению с исходными данными и на 12,8% меньше по сравнению с 14-ми сутками. В контрольной группе животных на 21-е сутки также отмечали уменьшение площади раны по сравнению с исходной на 22,3% соответственно. Площадь ожоговой раны у крыс опытной группы сократилась за 28 суток наблюдения на 60,4 %, в контрольной группе – на 28,3%.

В ходе проведения исследований установили, что покрытие из бактериальной целлюлозы не обладает раздражающим и алергизирующим действием. Раневое покрытие прозрачно, эластично, способствует выведению экссудата, защищает рану от механического воздействия и остается на ране до полной эпителизации. Анализ планиметрических исследований показал увеличение скорости заживления ожоговых ран у крыс опытной группы, проявляющееся в более быстром уменьшении их площади по отношению к контрольной группе. Интенсивное снижение площади раны отмечали в период 7–14 суток, что соответствует I фазе раневого процесса, стадии экссудации.

Влияние имплантата из бактериальной целлюлозы на органы и ткани животных

В течение 7-ми суток после операции у кроликов контрольной группы 1 отмечали нарушение координации движения, вялость, отсутствие аппетита, полидипсию. В зоне имплантации отмечали расчесы и выраженные признаки воспалительных процессов: гиперемию и отек мягких тканей, сильную болезненность при пальпации, проявляющуюся оборонительными движениями. Имплантация кроликам стерильного марлевого лоскута на 14-е сутки после операции вызывала у всех животных воспалительную реакцию с формированием плотной соединительнотканной капсулы вокруг инородного тела. У животных контрольной группы 1 на 28-е сутки вокруг имплантированной марлевой повязки сформировалась широкая соединительнотканная капсула с размягчением в центре. Кроликов контрольной группы 1 выводили из эксперимента в среднем на $26 \pm 1,4$ сутки, поскольку на данный период времени регистрировали самопроизвольное

вскрытие абсцесса. При удалении изучаемых образцов из подкожных карманов наблюдали местную воспалительную реакцию со стороны окружающих тканей. Так, при вскрытии капсулы вытекал густой гнойный экссудат с хлопьями фибрина, стенки кармана покрыты плотной фибриновой массой.

Общее состояние на 7-е сутки у кроликов опытной группы 1 было в пределах физиологической нормы. Кролики были подвижны, активно передвигались по клетке, от потребления корма не отказывались. При макроскопической клинической картине зон имплантации признаков местной воспалительной реакции не регистрировали. Линия швов была сухая, при пальпации отмечали наличие имплантата, плотного на ощупь, он свободно мигрировал в подкожной зоне на расстоянии 3–5 см. На 14-е сутки после имплантации произошло заметное уменьшение имплантата из бактериальной целлюлозы в размере на 0,2–0,5 см по ширине и длине. Площадь покрытия на 14-е сутки составила в среднем $8,4 \pm 0,5 \text{ см}^2$ (n=10). Данный факт связан с тем, что значительно уменьшился отек окружающих тканей. В последующие 28-е и 90-е сутки отмечали похожую клиническую картину, имплантат оставался инертным. У кроликов не регистрировали симптомов угнетения, отказов от корма и питья. Общая и местная температура соответствовала физиологической норме данного животного.

Имплантат из бактериальной целлюлозы извлекали на 180-е сутки. Площадь фрагментов до имплантации составляла 9 см^2 , а после уменьшилась в среднем до $7,4 \pm 0,4 \text{ см}^2$. Материал свободно извлекался из подкожной зоны, фибриновой пленки и спаек между имплантатом и окружающими тканями не регистрировали. Местных признаков воспаления в окружающей области не наблюдали. В зоне имплантации у животных опытной группы 1 с внутренней стороны отмечали умеренную васкуляризацию ткани. Нижележащие под кожей слои соединительной и мышечной тканей в зоне дефекта были без признаков патологической дегенерации и некроза.

На основании проведенных клинических методов исследования установили, что пленка бактериальной целлюлозы в течение всего периода наблюдения (180 суток) при подкожной имплантации не оказывает на ткани токсического воздействия.

Результаты морфометрических показателей ожоговых ран у животных

У кроликов контрольной группы на 7-е сутки после некрэктомии проведено измерение площади ожоговой раны, что составила 2,4% от поверхности тела кролика. Дальнейшее наблюдение за ходом репарации поврежденного участка показало, что отношение площади раны к поверхности тела составило на 14-е сутки – 1,04%, на 21-е сутки – 0,7%, на 28-е сутки – 0,59%. У всех животных контрольной группы отмечали локальный воспалительный процесс, сопровождающийся скоплением под «вторичным струпом» гнойно-геморрагического экссудата. Показатели скорости

заживления раневого дефекта в контрольной группе неравномерны, наибольшее увеличение отмечали на 7–14-е сутки.

У кроликов опытной группы I на ранних сроках наблюдения отмечали фиксацию повязки к ране, при этом ежедневное удаление сопровождалось капиллярным кровотечением и повторной травматизацией поверхности раны. Общая площадь раны к 28-м суткам снизилась на 2,04% от исходной величины. В опытной группе I площадь раневого дефекта составила на 7-е сутки после некрэктомии – 1,7% от поверхности тела, на 14-е сутки – 1,3%, на 21-е сутки – 0,7%. Первые признаки появления эпителия по периферии раневого участка у кроликов опытной группы I наблюдали в среднем на $9,1 \pm 0,4$ сутки ($p \leq 0,05$), что на 7,6 суток быстрее, чем в контрольной группе (таблица 1). Полное заживление раны наблюдали к $43,4 \pm 1,3$ суткам. Увеличение скорости эпителизации отмечали до 7 суток, затем наблюдали снижение интенсивности заживления раневого процесса.

Таблица 1 – Динамика клинического течения раневого процесса ($M \pm m$)

Группа животных	Очищение раны от «вторичного» струпа, сутки	Появление краевой эпителизации, сутки	Заполнение раны грануляционной тканью, сутки
Контрольная группа, n=15	$21,5 \pm 0,5$	$16,7 \pm 0,5$	$51,7 \pm 0,6$
Опытная группа I, n=15	$13,7 \pm 0,8^*$	$9,1 \pm 0,4^*$	$43,4 \pm 1,3^*$
Опытная группа II, n=15	$21,8 \pm 0,8^{\&}$	$13,2 \pm 0,6^{*\&}$	$54,8 \pm 0,8^{*\&}$
Опытная группа III, n=15	$22,8 \pm 0,7^{\&}$	$5,8 \pm 0,3^{*\&a}$	$36,2 \pm 0,7^{*\&a}$

Примечание:
 $*$ $p \leq 0,05$ – достоверность различий при сравнении с контрольной группой;
 $\&$ $p \leq 0,05$ – достоверность различий при сравнении с опытной группой I;
 a $p \leq 0,05$ – достоверность различий при сравнении с опытной группой II.

Покрытие «Бранолинд Н» у кроликов опытной группы II предотвращает травматизацию новообразованного эпителия за счет мазевой основы, но не защищает от механического и инфекционного воздействия. Несмотря на ежедневные перевязки, у кроликов опытной группы II отмечали гнойный экссудат до 35-ти суток. Несмотря на отдельное содержание каждого животного, большая часть животных уже через несколько часов разгрызало повязки, что приводило к контракции раны, изменению ее формы и доставляло дополнительные трудности при проведении планиметрии. Заживление ожоговой раны у кроликов опытной группы II в целом шло медленно, и в большинстве случаев (53,3%) полного заживления не удалось достичь даже на 35 сутки. Динамику увеличения скорости заживления раны в опытной группе II отмечали на 7–14-е сутки. В среднем на $54,8 \pm 0,8$ сутки отмечали заживление раны в данной группе. Отношение площади раневого участка к поверхности тела при использовании мазевой повязки «Бранолинд Н» в опытной группе II

на 7-е сутки составил 2,59%, на 14-е сутки – 1,2%, на 21-е сутки – 1,1%. Общая площадь раны к 28-м суткам снизилась на 1,92% от исходной величины.

В опытной группе III отмечали благоприятную клиническую картину. При наложении покрытия «DermaRM» на поверхность раны кроликам опытной группы III установлено, что покрытие обладает достаточной эластичностью, адаптируется к неровной поверхности и обеспечивает равномерную компрессию тканей. Отличительной особенностью заживления ожоговой раны у кроликов опытной группы III являлось наличие незначительного отека, отсутствие гиперемии, отсутствие экссудата под некротическим пластом уже на 2-3 сутки наблюдения. Следует отметить, что раневое покрытие накладывали на рану однократно и оставляли на ране вплоть до полной эпителизации.

Регистрировали достоверное, по отношению к группам контроля и сравнения, сокращение площади раны уже на 7-е сутки после некрэктомии (с 3,09% до 1,45%) ($p \leq 0,05$). В последующие сроки также отмечали прогрессирующее заживление участка травмы у кроликов опытной группы III. Морфометрия ожоговой раны кроликов опытной группы III показала начало эпителизации раны уже на $5,8 \pm 0,3$ сутки ($p \leq 0,05$) наблюдения, когда как у животных контрольной группы на $16,7 \pm 0,5$ сутки. Заживление ожоговой раны проходило под струпом, регистрировали краевую эпителизацию шириной $0,42 \pm 0,1$ см уже на 3-е сутки после некрэктомии. Полное завершение регенерации ожоговой раны за счет краевой эпителизации в опытной группе III наступала на $36,2 \pm 0,7$ сутки, что на 15,5 суток ($p \leq 0,05$) раньше по сравнению с контрольной группы, на 7,2 и на 18,6 суток ($p \leq 0,05$) по сравнению с опытными группами I и II соответственно. Процессы заживления ран в опытной группе III протекали быстрее в течение первых семи суток, что по срокам соответствовало первой фазе раневого процесса – фазе воспаления.

Динамика показателей крови кроликов с термическими ожогами

У животных контрольной и опытных групп на 5-е, 7-е, 14-е и 28-е сутки наблюдали различия по содержанию общего количества эритроцитов и лейкоцитов. Интерес вызывает понижение концентрации эритроцитов во всех исследуемых группах на 5-е сутки, что объясняется кровопотерей в связи с оперативными вмешательствами по иссечению некротизированной ткани. У кроликов опытной группы I на 28,8% ниже по сравнению с исходными показателями, у опытной группы II и III – на 25,8% и 23,8% соответственно. Уровень эритроцитов, на 7-е сутки эксперимента в опытной группе III по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, увеличивался на 8,3%, тогда как в контрольной и опытных I и II группах на 6,8%, 11,9%, 6,5% соответственно.

Уровень лейкоцитов крови на 7-е сутки у кроликов опытной группы III, где применяли покрытие «DermaRM», был ниже на 8,1%, 6,6% и 9,6% по сравнению с контрольной и опытными I и II группами соответственно. На 14-е сутки концентрация лейкоцитов в крови у кроликов опытной группы I и II была одинакова, что выше на 5,7% по сравнению с контролем, тогда как в опытной группе III достоверно ниже на 9,92% ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями

контрольной группы. Наблюдали статистически достоверное снижение числа лейкоцитов у экспериментальных животных контрольной и опытной группы I на 28-е сутки на 66,2% и 68,1% в сравнении с 5-ми сутками, что предполагает купирование воспалительных процессов. Также у кроликов опытной группы III к 28-м суткам эксперимента отмечали стабилизацию показателей лейкоцитов до уровня фоновых, что соответствует завершению сроков эпителизации и выздоровлению животных. Однако у кроликов опытной группы II содержание лейкоцитов на 28-е сутки достоверно выше на 17,98%, на 19,3% и на 36,3% ($p \leq 0,05$) в сравнении с контрольной опытной I и III группами соответственно.

Изменение лейкоцитарной формулы происходит в соответствии с процессами регенерации травмированных участков. Так, в фазу экссудации, начиная с 5-х суток по 14-е сутки, отмечали увеличение числа эозинофилов в крови у кроликов контрольной и опытных групп. Наибольшее увеличение процентного содержания эозинофилов отмечали в опытных I и II группах на 5-е сутки на 64,1% и 56,1% по сравнению с фоновыми данными. В опытной группе III содержание эозинофилов на 5-е сутки составила $3,3 \pm 0,1\%$, что на 45,4% выше исходных показаний и на 9,1% ниже по сравнению с контрольной группой. Альтерация тканей, вызванная ожоговой травмой, сопровождалась на 5-е сутки увеличением процента нейтрофилов. Статистически значимые изменения регистрировали на 14-е сутки после моделирования ожоговой раны в опытной группе II, уровень нейтрофилов был выше на 8,7% по сравнению с контрольными животными, в I и III группах ниже на 11,3% и 3,7% соответственно. На 28-е сутки количество нейтрофилов в опытной группе III было ниже на 9,41% по отношению к контрольной группе. В процессе статистического анализа крови регистрировали значительные колебания в содержании моноцитов, на 7-е сутки они были существенно и достоверно выше в крови кроликов опытных групп I, II и III на 14,9%, 29,7%, 19,1% по сравнению с контролем.

Морфологическая характеристика репарации ожоговых ран в эксперименте

При гистологическом исследовании на 3-е сутки после моделирования термического ожога кожи места повреждения у кроликов отмечали выраженный отек всех слоев дермы, деструкцию коллагеновых волокон, полнокровие капилляров. По периферии зоны очага коагуляционного некроза сформирована зона демаркационной линии. У кроликов контрольной группы на 7-е сутки после хирургической некрэктомии отмечали выраженные экссудативно-некротические процессы. Поверхность центральной зоны ожоговой раны была покрыта «вторичными» некротическими массами, в зоне периферии видны микроабсцессы. В дерме сосуды расширены, с выраженным полнокровием, коллагеновые волокна отечны и расположены хаотично, имело место выраженные явления периваскулярного отека. На 14-е сутки регистрировали отторжение утолщенного «вторичного» струпа по периферии (толщина $167,6 \pm 8,1$ мкм) и обильное выделения гнойного экссудата. На фоне

воспалительной инфильтрации в дерме отмечали появление участков грануляционной ткани толщиной $24,7 \pm 2,1$ мкм. На 21-е сутки у кроликов контрольной группы отмечали постепенное отторжение плотного коричневого струпа. Слабое развитие процессов эпителизации у этих животных наблюдали в интервале между 35-ми и 42-ми сутками, что подтверждается наличием неравномерно утолщенного слоя эпителия.

У животных в опытной группе I на 7-е сутки после хирургической некрэктомии воспалительная инфильтрация локализована как на границе струпа и дне раны, так и в тканях дермы, что говорит об увеличении скорости демаркации зоны некроза от здоровых тканей по сравнению с группой контроля. На 14-е сутки наблюдения в опытной группе I отмечали малодифференцированный струп (толщина $275,9 \pm 10,2$ мкм), отграниченный от дермы гистиолейкоцитарным инфильтратом (толщина $57,2 \pm 1,5$ мкм), по краю раны умеренная пролиферация эпидермиса (толщина $46,5 \pm 1,7$ мкм) (таблица 2). На 21-е сутки наблюдали базальную мембрану эпидермиса с участками утолщения и расслоения, в шиповом слое регистрировали очаговый спонгиоз. На 28-е сутки в большинстве наблюдений отмечали, что зона регенерата была полностью покрыта эпителиальным пластом неравномерной толщины. Роговой слой эпидермиса интенсивно слущивался. Соединительнотканый регенерат состоял частично из плотной рубцовой ткани, а частично из волокнистой соединительной ткани. Производные кожи отсутствовали.

Таблица 2 – Морфологические изменения кожи у кроликов с термическими ожогами на 14-е сутки после хирургической некрэктомии ($M \pm m$)

Группы животных	Толщина, мкм		
	«Вторичный» струп, мкм	Лейкоцитарный вал, мкм	Зона эпителия, мкм
Контрольная группа, n=15	$167,6 \pm 8,1$	$62 \pm 2,7$	$24,7 \pm 2,1$
Опытная группа I, n=15	$275,9 \pm 10,2^*$	$57,2 \pm 1,5$	$46,5 \pm 1,7^*$
Опытная группа II, n=15	$255,8 \pm 5,9^*$	$83,2 \pm 1,8^{*\&}$	$21,2 \pm 1,5^{\&}$
Опытная группа III, n=15	$321,9 \pm 8,2^{*\&a}$	$37,5 \pm 1,3^{*\&a}$	$67,5 \pm 3,5^{*\&a}$

Примечание:

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий при сравнении с контрольной группой;

& $p \leq 0,05$ – достоверность различий при сравнении с опытной группой I;

^a $p \leq 0,05$ – достоверность различий при сравнении с опытной группой II.

У кроликов опытной группы II на 7 сутки после некрэктомии на поверхности ожоговых ран наблюдали выраженную серозно-гнойную экссудацию. Отличительной особенностью воспалительных проявлений в данной группе явилось формирование множественных микроабсцессов и некротических изменений в подлежащих тканях кожи. Вместе с тем по сравнению с контрольной и опытной группой I на 14-е сутки эксперимента у животных этой группы в зоне термического ожога эпителиальный слой кожи не восстанавливался. Лишь с периферии под «вторичным» струпом (толщиной

255,8±5,9 мкм) определяли небольшую зону врастающего эпителия (толщина 21,2±1,5 мкм). Здесь же наблюдали скопление гнойного экссудата в центральной зоне ожогового участка с распространением на прилегающую краевую грануляционную зону, которая была представлена тонкими соединительнотканными волокнами. На 28-е сутки эксперимента вследствие продолжающихся воспалительных процессов центральная зона оставалась без эпителия и была покрыта струпом.

В отличие от животных других исследуемых групп у кроликов опытной группы III на 7-е сутки после некрэктомии воспалительные явления слабо выражены. Положительная динамика лечения ожогов проявляется отсутствием отделяемого из раны, незначительной гиперемией в пограничной зоне со здоровыми тканями, отсутствием отека. На 14-е сутки в большинстве препаратов отмечали наличие непрерывного равномерного тонкого струпа (толщина 321,9±8,2 мкм) и пролиферирующего слоя эпидермиса (толщина 67,5±3,5 мкм), который прорастал под струп по всей зоне пораженной поверхности кожи. Нарастание эпителиальных клеток под струпом связано, вероятно, с миграцией пролиферирующего эпидермиса с краев раны. Отделяемое из ран отсутствовало. У большинства животных ожоговая рана была заполнена молодой грануляционной тканью, состоящей из параллельно расположенных многочисленных тяжёлых коллагеновых волокон. На 21-е сутки струп с раневым покрытием «DermaRM» полностью десквамировался. Дно раны выстлано грануляционной тканью и покрыто слоем уплощенных клеток. В подлежащей дерме отмечали легкое полнокровие венозных сосудов, воспалительная инфильтрация отсутствовала. Окончательная эпителизация отмечалась к 28-м суткам, раневая поверхность имела равномерную бледно-розовую окраску, в дерме коллагеновые и эластические волокна ориентированы преимущественно горизонтально параллельно поверхности кожи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные результаты исследований отражены в следующих выводах.

1. Раневое покрытие из бактериальной целлюлозы эффективно в качестве локального средства при лечении животных с термическими ожогами, за счет высокой гигроскопичности на ране создаётся защитная искусственная мембрана, не требующая ежедневной перевязки, тем самым предотвращается травматизация структурных элементов кожи и подкожной клетчатки.

2. Биосовместимость раневого покрытия из бактериальной целлюлозы с тканями животных обусловлена отсутствием местного и общего раздражающего, токсического и аллергического действий, раневое покрытие может быть применено в качестве перевязочного средства в фазу гидратации не позднее 1-5 суток после хирургической некрэктомии.

3. Применение раневого покрытия из бактериальной целлюлозы способствует полному завершению регенерации ожоговой раны за счет краевой эпителизации на 36,2±0,7 сутки, что на 15,5 суток ($p \leq 0,05$) раньше по

сравнению с контрольной группой и на 7,2 и 18,6 суток ($p \leq 0,05$) с опытными группами I и II соответственно.

4. Лечение термических ран в эксперименте достоверно доказало, что к 28-м суткам после хирургической некрэктомии площадь ожога у животных опытной группы III составила $71,7 \pm 7,5 \text{ мм}^2$, что более чем в 1,5 раза меньше, чем у животных других групп: контрольной – $144,5 \pm 6,4 \text{ мм}^2$ и опытных I, II – $118,0 \pm 13,7 \text{ мм}^2$ и $222,2 \pm 13,7 \text{ мм}^2$ соответственно.

5. У экспериментальных животных (кроликов) с термическими ожогами в условиях применения раневого покрытия из бактериальной целлюлозы на 14-е сутки происходит достоверное увеличение количества эритроцитов на 19,5% ($p \leq 0,05$) на фоне снижения числа лейкоцитов на 9,92% ($p \leq 0,05$), эозинофилов на 34,3% ($p \leq 0,05$) и нейтрофилов на 3,7% ($p \leq 0,05$) по сравнению с животными контрольной группой.

6. Лечение экспериментальных животных с ожоговыми ранами с применением покрытия из бактериальной целлюлозы обеспечивает очищение раневой поверхности от некротического детрита, усиление фагоцитоза, усиливает пролиферацию фибробластов и активирует ангиогенез, способствует созреванию грануляционной ткани и создает условия для ускорения процессов эпителизации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Ветеринарным врачам при поступлении в клинику животных с термической травмой рекомендуется использовать предложенный метод лечения и алгоритм (рисунок 1).

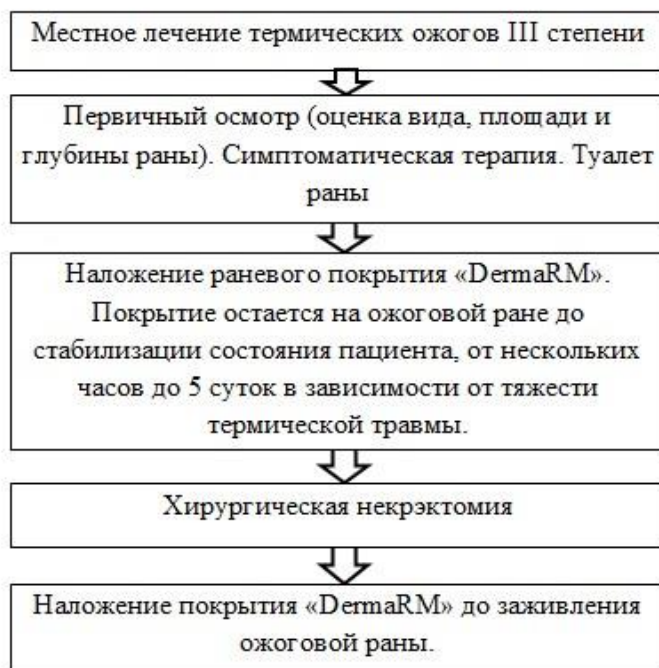


Рисунок 1 – Алгоритм лечения животных с термическими ожогами

2. Для местного лечения термических ожогов III степени у животных рекомендуется после механической обработки ожоговой раны в первую фазу раневого процесса, а также в первые часы после хирургической некрэктомии применять раневое покрытие «DermaRM».

3. Результаты диссертационной работы могут использоваться в учебной работе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по дисциплине «общая и частная хирургия» для студентов факультета ветеринарной медицины и биотехнологий.

РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные в ходе экспериментальных исследований результаты значительно расширяют сведения о патоморфогенезе термических ожогов. Дальнейшие исследования, связанные с темой диссертации, будут направлены на изучение вопросов, связанных с возможностью применения раневого покрытия из бактериальной целлюлозы для лечения септических и асептических ран. Наряду с этим, результаты исследования, свидетельствующие о возможности бактериальной целлюлозы интегрироваться с тканями, открывают перспективу её использования в качестве имплантационного материала при выполнении реконструктивных операций.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в научных изданиях, индексируемых в Web of Science и Scopus

1. Zubkova, N. V. Morphological changes in the tissue structures after thermal burns on the background of using DermaRM wound dressing [Text] / N. V. Zubkova, S. V. Chernigova, Yu. V. Chernigov, N. A. Pogorelova // La Prensa Medica Argentina. – 2019. – Vol. 105, № 9. – P. 521–525.

2. Zubkova, N. V. The of planimetric analysis in studying the healing of burn wounds in animals [Text] / N. V. Zubkova, S. V. Chernigova, Yu. V. Chernigov, N. A. Pogorelova // Amazonia Investiga. – 2019. – Vol. 8, № 23. – P. 63–68.

Публикации в научных изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и образования РФ

3. Зубкова, Н. В. Доклиническое исследование влияния покрытия «DermaRM» на заживление ожоговой раны [Текст] / Н. В. Зубкова, С. В. Чернигова, Ю. В. Чернигов, Н. А. Погорелова // Материалы Международной научно-практической конференции «Современные проблемы радиобиологии, агроэкологии, клинической и экспериментальной ветеринарной хирургии», посвящённой 90-летию со дня рождения академика РАСХН А.Д. Белова, первого президента МААО. – СПб.: «Известия МААО», 2018. – Т. 2, № 42. – С. 204–210.

4. Зубкова, Н. В. Эффективность применения раневого покрытия «DermaRM» у животных с термическими ожогами [Текст] / Н.В. Зубкова, С. В. Чернигова, Ю. В. Чернигов, Н. А. Погорелова // Вестник Омского ГАУ. – 2019. – № 2 (34). – С. 131–139.

5. Зубкова, Н. В. Применение планиметрического анализа при изучении эффективности заживления ожоговых ран у животных с использованием раневого покрытия из бактериальной целлюлозы [Текст] / Н. В. Зубкова, С. В. Чернигова, Ю. В. Чернигов, А. В. Горбатенко // Вестник КраснГАУ. – 2019. – № 7. – С. 123–130.

Публикации в материалах конференций, сборниках научных трудов и других периодических изданиях

6. Зубкова, Н. В. Анализ содержания коллагена кожи у лабораторных животных в зависимости от стадии заживления ожоговой раны / Н. В. Зубкова, С. В. Чернигова [Текст] // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны». – Санкт-Петербург, 2018. – С. 249–250.

7. Зубкова, Н. В. Опыт лечения животных с ожогами кожи с применением пленочного покрытия на основе бактериальной целлюлозы (экспериментальное исследование) [Текст] / Н. В. Зубкова // Приоритетные направления научно-технологического развития агропромышленного комплекса России: Материалы Национальной научно-практической конференции. – Рязань, 2019. – Ч.2. – С. 309–312.

8. Зубкова, Н. В. Изменение показателей перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты в зависимости от стадии заживления ожоговой раны [Текст] / Н. В. Зубкова, С. В. Чернигова, Ю. В. Чернигова // Сборник трудов восьмой международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии. – Москва, 2018. – С. 164–170.

9. Зубкова, Н. В. Планиметрический анализ как метод оценки заживления ожоговой раны у экспериментальных животных / Н. В. Зубкова, С. В. Чернигова, Ю. В. Чернигова // Цифровое сельское хозяйство региона: основные задачи, перспективные направления и системные эффекты: сборник материалов международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию экономического факультета ФГБОУ ВО Омского ГАУ. – Омск, 2019. – С. 245–249.