

Влияние синтетического аналога индолицидина на репаративную регенерацию кожи при ожоговой травме

В.А. ЛАЗАРЕНКО, Ю.Д. ЛЯШЕВ, Н.И. ШЕВЧЕНКО

Курский государственный медицинский университет, К. Маркса ул, д. 3, Курск, 305041, Российская Федерация

***Цель исследования** Изучение влияния синтетического аналога природного антимикробного пептида индолицидина (Ind 21) на развитие репаративных процессов в коже после нанесения ожоговой травмы.*

***Материалы и методы** Работа выполнена на 80 крысах-самцах линии Wistar, которым выполняли ожог кожи спины II-Ia-IIIb степени площадью 18% поверхности тела. Исследуемые животные были разделены на две группы: контрольную и опытную по 40 особей в каждой. Крысам контрольной группы ежедневно в течение 5 суток после ожоговой травмы внутрибрюшинно вводили 0,2 мл физиологического раствора, а животным опытной группы – синтетический аналог природного антимикробного пептида индолицидина в дозе 100 мкг/кг в аналогичном объеме физиологического раствора.*

***Результаты и их обсуждение** Установлено, что под влиянием синтетического аналога индолицидина в клеточном инфильтрате ран с первых суток после ожоговой травмы по сравнению с контролем достоверно увеличивалось количество макрофагов и фибробластов. Тогда как количество нейтрофилов и лимфоцитов было значительно меньше. Эпителизация и созревание грануляционной ткани протекали значительно интенсивнее и заканчивались раньше, чем у контрольных животных.*

***Выводы** Полученные нами данные показывают, что синтетический аналог индолицидина ускоряет заживление ожоговой раны, стимулируя развитие фаз воспалительного процесса.*

***Ключевые слова** Ожог, ожоговая рана, антимикробные пептиды, аналог индолицидина, кожная регенерация*

The Influence of the Synthetic Analogue of Indolicidin on Reparative Regeneration of Skin in Thermal Burns

V.A. LAZARENKO, I.U.D. LIASHEV, N.I. SHEVCHENKO

Kursk State Medical University, 3 K. Marksa Str., Kursk, 305041, Russian Federation

***The purpose of the study** Was the analysis of the influence of the indolicidin (Ind. 21) on reparative regeneration of skin after burn trauma.*

***Materials and methods** The investigation was carried out on 80 male Wistar rats, which were undergone the burn trauma of the skin of back of the IIIa-IIIb degree and the square of the burn was 18% of body surface. The investigated animals were divided on two groups of 40 rats in each one.*

0,2 ml of physiological solution were injected to the control rats daily within 5 days after burn trauma, and synthetic analogue of natural antimicrobial peptide indolicidin in dose 100 mkg/kg was injected to experimental animals in the same manner.

***Results and their discussion** It has been established, that significant increase of macrophages and fibroblasts amount and also the neutrophils and lymphocytes decrease were observed in cell infiltrate from the beginning of burn trauma in animal after Ind 21 injections as compared with rats of control group.*

Epithelialization and maturation of granulation tissue developed significantly rapider and were ended earlier than in control animals.

***Conclusion** The results of investigation indicate that the using of indolicidin analogue stimulates the healing of burn wound and accelerates the development of inflammation phases.*

***Key words** Burn wound, antimicrobial peptides, indolicidin analogue, skin regeneration*

В последние годы отмечается рост внимания исследователей к изучению новой группы биологически активных веществ - антимикробных пептидов (АМП), которые синтезируются преимущественно нейтрофилами и макрофагами [3]. Показано, что применение подобных пептидов оказывает положительные эффекты при инфицировании, стрессорном воздействии [12, 8], паразитарной инвазии [13], опухолевом росте [10]. На сегодняшний день наиболее изученной является их непосредственная антимикробная биологическая активность, отражающая наиболее значимую роль этих пептидов в защитных функциях организма [11]. Они обладают селективностью действия по отношению к

бактериям, выработка резистентности к АМП микроорганизмами затруднена в связи с особенностями механизма бактерицидного действия данных пептидов [14]. АМП не накапливаются в организме и обладают различными иммуномодулирующими эффектами, например, свойством стимулировать активность естественных киллерных (ЕК) клеток [9].

Вышеизложенное позволяет предположить, что использование аналогов природных АМП может оказаться перспективным при их применении при различных формах воспаления.

Целью данного исследования явилось изучение влияния синтетического аналога природного антими-

кробного пептида индолицидина (Инд 21) на развитие репаративных процессов в коже после нанесения ожоговой травмы.

Материалы и методы

Данная работа выполнена на базе кафедр хирургической болезней ФПО (зав. кафедрой – д.м.н., профессор В.А. Лазаренко) и патофизиологии (зав. кафедрой – д.м.н., профессор Л.А. Северьянова) ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Работа выполнена на 80 крысах-самцах линии Wistar массой 180-200 г. Животным под эфирным наркозом выполняли ожог кожи спины IIIa-IIIb степени площадью 18% поверхности тела [5]. Исследуемые животные были разделены на две группы: контрольную и опытную, по 40 особей в каждой. Крысам контрольной группы ежедневно в течение 5 суток после ожого-

вой травмы внутрибрюшинно вводили 0,2 мл физиологического раствора, а животным опытной группы – синтетический аналог природного антимикробного пептида индолицидина (ООО «НПФ Верта», г. Санкт-Петербург) в дозе 100 мкг/кг в аналогичном объеме физиологического раствора. Анализ данных литературы указывает на высокую эффективность препарата при применении в указанной дозе [7]. Выбор Инд 21 объясняется его высокой антимикробной активностью, а также отсутствием побочных эффектов, присущих природному индолицидину.

Гистологическое изучение области раны производили на 1, 4, 7, 10 и 14 сутки после моделирования ожоговой травмы и начала лечения. Забор материала осуществляли путем иссечения участка экспериментальных ожоговых ран и прилежащих интактных тканей. Взятый материал сразу фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина с последующей

Таблица 1

Соотношение структур в инфильтрате поврежденной кожи животных контрольной и опытных групп в различные сроки после ожоговой травмы, % (M±m)

Показатели		Сутки	1 сутки после моделирования ожога	4 сутки после моделирования ожога	7 сутки после моделирования ожога	10 сутки после моделирования ожога	14 сутки после моделирования ожога
Некротизированная ткань	Контрольная группа (ожог)		19,00±4,43	33,21±1,56	24,30±5,26	20,46±3,47	13,97±4,36
	Группа, получавшая пептид в дозе 100 мкг/кг, после ожога		26,14±1,23	28,63±4,91	3,63±1,96**	-	-
Отек сетчатого слоя дермы	Контрольная группа (ожог)		38,06±2,11	33,21±1,56	29,73±3,37	28,58±2,14	25,71±1,21
	Группа, получавшая пептид в дозе 100 мкг/кг, после ожога		33,49±2,06	25,30±2,50*	22,95±1,96	19,45±2,06*	18,62±0,62**
Баллонная дистрофия	Контрольная группа (ожог)		8,41±0,92	5,64±1,54	-	-	-
	Группа, получавшая пептид в дозе 100 мкг/кг, после ожога		4,85±0,78	0,42±0,19**	-	-	-
Новообразованный эпителий	Контрольная группа (ожог)		-	3,81±0,84	4,13±1,12	4,35±1,34	4,56±1,36
	Группа, получавшая пептид в дозе 100 мкг/кг, после ожога		-	7,47±1,11*	12,46±0,99**	13,35±1,22**	14,53±1,56**
Рыхлая соединительная ткань	Контрольная группа (ожог)		-	1,66±0,57	1,97±0,81	2,36±0,56	4,04±1,61
	Группа, получавшая пептид в дозе 100 мкг/кг, после ожога		-	2,46±0,60	4,87±0,59*	8,83±0,73**	12,88±2,75*

Примечание: * - p < 0,05; ** - p < 0,01, *** - p < 0,001 в сравнении с контрольной группой.

проводкой по восходящим спиртам и заливкой в парафин по стандартной методике. Приготовленные парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по Маллори.

При оценке гистологических срезов обращали внимание на выраженность воспалительных реакций, сроки появления грануляционной ткани, возникновение краевой эпителизации, а также структурную полноценность вновь образованного эпителия.

При морфометрическом исследовании использовали окулярную стереометрическую сетку Автандилова, содержащую 100 тест-точек [1, 2]. Проводили подсчет точек при увеличении $\times 400$, совпадающих с изучаемыми гистологическими структурами на срезе ткани, и по 10–15 полям зрения микроскопа определяли долю некротизированной ткани, баллонной дистрофии, а также долю поверхностного новообразованного эпителия и подлежащей рыхлой соединительной ткани, объем распространения отека (в процентах).

Нами было выполнено также морфометрическое исследование, заключающееся в следующем: на срезах

гистологических препаратов при увеличении $\times 400$, на выбранном участке в пределах раневого дефекта под лейкоцитарно-фибринозным струпом производили подсчет фибробластов, гранулоцитов, лимфоцитов и макрофагов до 100 клеток. Полученные результаты выражали в процентах.

Полученные результаты обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента после проверки нормальности распределения значений показателей.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что во всех группах к концу первых суток после нанесения ожога на поверхности раны отсутствует струп, края раны отечны, поврежденная кожа бледная. Отмечается гибель эпидермиса непосредственно в месте воздействия термического агента (табл. 2), а также истончение эпидермиса, прилежащего к зоне деструкции, за счет отсутствия в нем рогового и истончения шиповатого слоев, в блестящем слое отмечается формирование пузырей, заполнен-

Table 1

Ratio of structures in the infiltrate damaged skin animals in the control and experimental groups at different times after burn injury, % (M ± m)

Rates		Days	1st day after burn simulation	4th day after burn simulation	7th day after burn simulation	10th day after burn simulation	14th day after burn simulation
Necrotic tissue	Control group (burn)		19,00±4,43	33,21±1,56	24,30±5,26	20,46±3,47	13,97±4,36
	Group received peptide in a dose 100 mg/ kg, after burn		26,14±1,23	28,63±4,91	3,63±1,96**	-	-
Dermal edema	Control group (burn)		38,06±2,11	33,21±1,56	29,73±3,37	28,58±2,14	25,71±1,21
	Group received peptide in a dose 100 mg/kg, after burn		33,49±2,06	25,30±2,50*	22,95±1,96	19,45±2,06*	18,62±0,62**
Balloon dystrophy	Control group (burn)		8,41±0,92	5,64±1,54	-	-	-
	Group received peptide in a dose 100 mg/kg, after burn		4,85±0,78	0,42±0,19**	-	-	-
Newly formed epithelium	Control group (burn)		-	3,81±0,84	4,13±1,12	4,35±1,34	4,56±1,36
	Group received peptide in a dose 100 mg/kg, after burn		-	7,47±1,11*	12,46±0,99**	13,35±1,22**	14,53±1,56**
Areolar tissue	Control group (burn)		-	1,66±0,57	1,97±0,81	2,36±0,56	4,04±1,61
	Group received peptide in a dose 100 mg/kg, after burn		-	2,46±0,60	4,87±0,59*	8,83±0,73**	12,88±2,75*

Comment: * - p < 0,05; ** - P < 0,01, *** - p < 0,001 compared with control group.

ных коллоидом, не склонных к слиянию. Сосочковый слой не дифференцировался. Подлежащие ткани были резко отечны, выражена инфильтрация полиморфно-ядерными лейкоцитами (ПЯЛ), а так же единичными макрофагами на разных стадиях дифференцировки. Пучки коллагеновых волокон сетчатого слоя дермы отечны и плотно прилегают друг к другу. Отек распространяется к гиподерме и за пределы зоны деструкции эпидермиса. В сетчатом слое дермы отмечаются признаки баллонной дистрофии. Гиподерма также инфильтрирована многочисленными ПЯЛ. Дифференцируемые фибробласты имели базофильную цитоплазму и набухшие, разрыхленные ядра. Кровеносные и лимфатические сосуды расширены, отмечается стаз. Дифференцируются разрушенные волосные фолликулы, протоки потовых желез не дифференцируются.

В гистологических препаратах животных контрольной группы на первые сутки эксперимента доля некротизированной ткани составляла $19,00 \pm 4,43\%$, доля отечных волокон сетчатого слоя составила $38,06 \pm 2,11\%$, объем зон баллонной дистрофии - $8,41 \pm 0,92\%$. Клеточный инфильтрат представлен в большинстве гранулоцитами $62,88 \pm 2,06\%$, доля фибробластов, лимфоцитов и макрофагов составили соответственно: $8,63 \pm 0,60\%$, $12,00 \pm 1,15\%$, $17,75 \pm 0,86\%$.

В опытной группе, получавшей аналог индолицидина в дозе 100 мкг/кг, на следующие сутки после нанесения ожоговой травмы по сравнению с контрольной группой доля отечных волокон была ниже (на $12,02\%$), что, по-видимому, способствовало интенсивной инфильтрации дермы нейтрофилами и макрофагами. В клеточном инфильтрате преобладали гранулоциты и макрофаги. Менее выражены признаки дистрофии дермы по сравнению с контрольной группой. Гиподерма также была интенсивно инфильтрирована. Отмечали расширение кровеносных и лимфатических сосудов и стаз в них. В данной группе отмечается увеличение доли некротизированной ткани по сравнению с контрольной группой на $37,56\%$ и уменьшение объема зон баллонной дистрофии на $46,36\%$. В клеточном составе инфильтрата преобладали гранулоциты, количество которых было меньше по сравнению с контрольной группой на $28,83\%$, уменьшалось так же количество лимфоцитов (на $28,13\%$). Количество фибробластов и макрофагов по сравнению с показателями контрольной группы было выше на $49,28\%$ и $90,85\%$, соответственно.

На 4-е сутки после моделирования ожоговой раны у животных контрольной серии морфологическая картина регенерирующих тканей в зоне термической травмы выглядела следующим образом: от-

Таблица 2

Клеточный состав инфильтрата поврежденной кожи животных контрольной и опытных групп в различные сроки после ожоговой травмы, % ($M \pm m$)

Показатели \ Сутки		1 сутки после моделирования ожога	4 сутки после моделирования ожога	7 сутки после моделирования ожога	10 сутки после моделирования ожога	14 сутки после моделирования ожога
Фибробласты	Контрольная группа (ожог)	$8,63 \pm 0,60$	$12,00 \pm 0,82$	$22,09 \pm 1,50$	$23,38 \pm 1,38$	$21,50 \pm 1,93$
	Группа, получавшая пептид в дозе 100 мкг/кг, после ожога	$12,88 \pm 0,77^{**}$	$42,00 \pm 1,20^{**}$	$44,88 \pm 1,41^{**}$	$48,50 \pm 1,22^{**}$	$52,75 \pm 1,19^{**}$
Гранулоциты	Контрольная группа (ожог)	$62,88 \pm 2,06$	$46,00 \pm 2,69$	$28,75 \pm 2,64$	$27,63 \pm 0,98$	$33,38 \pm 1,05$
	Группа, получавшая пептид в дозе 100 мкг/кг, после ожога	$44,75 \pm 1,37^{**}$	$34,63 \pm 2,04^{**}$	$29,88 \pm 0,58$	$28,25 \pm 0,90$	$27,25 \pm 0,75^{**}$
Лимфоциты	Контрольная группа (ожог)	$12,00 \pm 1,15$	$10,63 \pm 0,78$	$19,5 \pm 1,94$	$18,13 \pm 0,79$	$17,63 \pm 0,73$
	Группа, получавшая пептид в дозе 100 мкг/кг, после ожога	$8,63 \pm 0,65^*$	$10,13 \pm 0,77$	$7,25 \pm 1,28^{**}$	$7,63 \pm 0,75^{**}$	$7,38 \pm 0,56^{**}$
Макрофаги	Контрольная группа (ожог)	$17,75 \pm 0,86$	$28,88 \pm 0,69$	$28,00 \pm 1,30$	$27,88 \pm 0,93$	$27,50 \pm 1,81$
	Группа, получавшая пептид в дозе 100 мкг/кг, после ожога	$33,88 \pm 0,67^{**}$	$13,25 \pm 1,00^{**}$	$19,88 \pm 0,91^*$	$13,25 \pm 1,32^{**}$	$8,13 \pm 0,58^{**}$

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой.

мечается формирование лейкоцитарно-фибринозного струпа над зоной деструкции. По сравнению с предыдущим сроком эксперимента отмечается уменьшение доли отечных волокон дермы до $33,21 \pm 1,56\%$, более выраженная инфильтрация ПЯЛ и макрофагами гиподермы и прилежащего к ней сетчатого слоя дермы. Инфильтрат и отек распространяются на интактную ткань. В дерме отмечается уменьшение признаков дистрофии по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Ближайший край интактной кожи под струпом, истончен, в некоторых срезах в толще интактного эпидермиса определяются пузыри. Отмечается стаз в сосудах. Признаки эпителизации отсутствуют или выражены минимально.

На четвертые сутки у крыс контрольной группы по сравнению с предыдущим сроком наблюдения доля некротизированной ткани возросла на $74,78\%$, отмечали уменьшение отека тканей и объема зон развития баллонной дистрофии. Доля новообразованного эпителия и подлежащей рыхлой соединительной ткани были минимальными за период наблюдения для данной группы (см. табл. 1). Доля нейтрофилов и лимфоцитов снизилась на $26,84\%$ и $11,46\%$, соответственно. Отмечено увеличение доли фибробластов (на $39,13\%$) и макрофагов (на $62,68\%$) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения.

В опытной группе, получавшей аналог индолицидина в дозе 100 мкг/кг , на четвертые сутки эксперимента ожоговая рана в большинстве случаев покрыта оформленным фибринозно-лейкоцитарным струпом, который в некоторых срезах располагается на участках эпителизации. Интенсивность отека уменьшается и имеет тенденцию к распространению к гиподерме. В сетчатом слое дермы полнокровные капилляры. Клеточная инфильтрация выражена значительно и представлена в большинстве фибробластами, нейтрофилами, а так же макрофагами. Инфильтрат распространяется за пределы интактной дермы. Доля некротизированных тканей увеличивалась по сравнению с предыдущим сроком эксперимента. Снижалась доля зон баллонной дистрофии (на $91,28\%$). Отмечали появление новообразованного эпителия, доля которого была достоверно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$), и рыхлой грануляционной ткани. Клеточный состав инфильтрата представлен фибробластами, нейтрофильными гранулоцитами и макрофагами. По сравнению с предыдущим сроком наблюдения снижался уровень гранулоцитов (на $22,63\%$) и макрофагов (на $60,89\%$), тогда как количество фибробластов и лимфоцитов возросло (на $226,21\%$ и $17,39\%$ соответственно).

В препаратах контрольной серии на седьмые сутки после ожоговой травмы четко визуализировал

Table 2

The cellular composition of infiltrate damaged skin animals in the control and experimental groups at different times after burn injury, % (M±m)

Rates		Days	1st day after burn simulation	4th day after burn simulation	7th day after burn simulation	10th day after burn simulation	14th day after burn simulation
Fibroblasts	Control group (burn)		$8,63 \pm 0,60$	$12,00 \pm 0,82$	$22,09 \pm 1,50$	$23,38 \pm 1,38$	$21,50 \pm 1,93$
	Group received peptide in a dose 100 mg/kg , after burn		$12,88 \pm 0,77^{**}$	$42,00 \pm 1,20^{**}$	$44,88 \pm 1,41^{**}$	$48,50 \pm 1,22^{**}$	$52,75 \pm 1,19^{**}$
Granulocytes	Control group (burn)		$62,88 \pm 2,06$	$46,00 \pm 2,69$	$28,75 \pm 2,64$	$27,63 \pm 0,98$	$33,38 \pm 1,05$
	Group received peptide in a dose 100 mg/kg , after burn		$44,75 \pm 1,37^{**}$	$34,63 \pm 2,04^{**}$	$29,88 \pm 0,58$	$28,25 \pm 0,90$	$27,25 \pm 0,75^{**}$
Lymphocytes	Control group (burn)		$12,00 \pm 1,15$	$10,63 \pm 0,78$	$19,5 \pm 1,94$	$18,13 \pm 0,79$	$17,63 \pm 0,73$
	Group received peptide in a dose 100 mg/kg , after burn		$8,63 \pm 0,65^*$	$10,13 \pm 0,77$	$7,25 \pm 1,28^{**}$	$7,63 \pm 0,75^{**}$	$7,38 \pm 0,56^{**}$
Macrophages	Control group (burn)		$17,75 \pm 0,86$	$28,88 \pm 0,69$	$28,00 \pm 1,30$	$27,88 \pm 0,93$	$27,50 \pm 1,81$
	Group received peptide in a dose 100 mg/kg , after burn		$33,88 \pm 0,67^{**}$	$13,25 \pm 1,00^{**}$	$19,88 \pm 0,91^*$	$13,25 \pm 1,32^{**}$	$8,13 \pm 0,58^{**}$

Comment: * - $p < 0,05$; ** - $P < 0,01$, *** - $p < 0,001$ compared with control group

ся выраженный лейкоцитарно-фибринозный струп, располагающийся на дерме, отторгающийся в некоторых местах. Дерма и гиподерма оставались отечны и инфильтрированы, но, по сравнению с 4-ми сутками эксперимента, менее выражено. В дерме обнаруживали признаки формирования демаркационного вала, образованного лейкоцитами. Отмечается начало краевой и островковой эпителизации под струпом. Также на седьмые сутки после нанесения ожога отмечали уменьшение доли некротизированных тканей (на 26,82%) и снижение доли отечных волокон (на 10,47%). Увеличивалась доля новообразованного эпителия и рыхлой соединительной ткани. В клеточном составе инфильтрата преобладали гранулоциты и макрофаги, число которых снижалось на 37,50% и 3,03% по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Доля фибробластов и лимфоцитов увеличивалась на 83,33% и 83,53%, соответственно.

В опытной группе, получавшей аналог индолицидина в дозе 100 мкг/кг, на 7-ые сутки обнаруживаются участки эпителизации, отечность эластических волокон сетчатого слоя дермы и клеточная инфильтрация. Регенерировавший эпидермис располагался на рыхлой грануляционной ткани, содержащей большое количество фибробластов. Участки раны, лишенные эпидермиса были покрыты фибрином или струпом. Дерма была инфильтрирована в большинстве фибробластами, гранулоцитами и макрофагами.

Через семь суток после нанесения ожога у животных, получавших Инд 21 в дозе 100 мкг/кг, отмечается увеличение доли новообразованного эпителия и подлежащей рыхлой соединительной ткани на 66,79% и 97,70% по сравнению с предыдущим сроком эксперимента, что было достоверно выше по сравнению с контрольной группой. Продолжали снижаться распространенность отека и объем некротизированной ткани. Проявлений баллонной дистрофии клеток не отмечено. В клеточном составе преобладали фибробласты, количество которых увеличивалось по сравнению с 4-ми сутками наблюдения и оставалось достоверно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,01$). Увеличивалось так же количество макрофагов (на 50,00%), тогда как количество нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов снижалось на 13,72% и 28,40%, соответственно.

Гистологическая картина ран животных контрольной группы на 10-е сутки: под выраженным лейкоцитарно-фибринозным струпом продолжается формирование эпителия (краевое наплывание и островковая эпителизация). Отмечается снижение отека дермы и гиподермы, сохраняется клеточная инфильтрация дермы. Количество фибробластов увеличивалось, число гранулоцитов, напротив, снижалось. Количество лимфоцитов и макрофагов снижалось до окончания эксперимента.

На десятые сутки эксперимента в опытной группе, получавшей аналог индолицидина в дозе 100 мкг/

кг, доля эпителизированной поверхности ран и рыхлой соединительной ткани увеличивались на 7,21% и 81,40% по сравнению с предыдущим сроком наблюдения и были достоверно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,01$). Некротизированные ткани отсутствовали, доля отечных эластических волокон дермы снижалась по сравнению с 7-ми сутками наблюдения и была достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Увеличивалось количество фибробластов и лимфоцитов, тогда как число гранулоцитов и макрофагов снижалось соответственно по сравнению с предыдущим сроком наблюдения.

В гистологической картине инфильтратов ран контрольной группы (рис. 1) на 14-е сутки визуализируется четко выраженный лейкоцитарно-фибринозный струп с участками отторжения. На небольшом протяжении струп располагается на вновь образованном эпидермисе. Доля рыхлой грануляционной ткани увеличивается до $44,04 \pm 1,61\%$. Отмечали наличие неэпителизированных участков. Сохраняется выраженный отек дермы, ее выраженная инфильтрация. Обнаружено увеличение в клеточном инфильтрате фибробластов. Отек и инфильтрация распространяются на гиподерму – инфильтрация подкожной жировой клетчатки и мышц выражена в большей степени, чем сетчатого слоя дермы. В некоторых препаратах отмечено формирование вторичного демаркационного вала. Отмечается уменьшение сосудистых реакций и снижение посттравматического отека.

По сравнению с предыдущим сроком наблюдения доля некротизированных тканей и отечных волокон сетчатого слоя также снижались, а новообразованного эпителия и подлежащей соединительной ткани увеличивалась. Количество фибробластов снижалось, число гранулоцитов увеличивалось.

На 14 сутки в опытной группе, получавшей аналог в дозе 100 мкг/кг (рис. 2), отмечали наличие редких неэпителизированных участков. Регенерировавший эпителий покрывал большую площадь ожоговой раны, располагаясь на рыхлой грануляционной ткани, содержащей большое количество фибробластов и макрофагов. Отек дермы незначительный. Клеточная инфильтрация слабо выражена.

Уменьшалась доля отечных волокон. Продолжало увеличиваться количество фибробластов. Число гранулоцитов, лимфоцитов и макрофагов снижалось по сравнению с предыдущим сроком наблюдения на 3,54%, 3,28% и 36,68%, соответственно.

Выводы

1. Результаты проведенных экспериментов показывают, что под влиянием синтетического аналога индолицидина в клеточном инфильтрате ран с первых суток после ожоговой травмы по сравнению с контролем достоверно увеличивалось количество макрофагов и фибробластов, когда количество нейтрофилов и лимфоцитов было значительно меньше.

2. Отек и баллонная дистрофия в опытных группах, получавших Инд 21, выражены менее значительно. Количество некротизированных тканей было максимальным в начале эксперимента и отсутствовало через 14 суток (рис. 2). Под влиянием исследуемого пептида эпителизация и созревание грануляционной ткани протекали значительно интенсивнее и заканчивались раньше, чем у контрольных животных.

3. Ранее показано, что индолицидин и его аналоги обладают иммуномодулирующим действием [2]. Общеизвестно наличие межклеточного взаимодействия, включающего нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты и фибробласты при воспалении. В частности показано, что нейтрофилы фагоцитируют омертвевшие ткани и микроорганизмы, а также поддерживают каскад воспалительно-репаративного процесса [4]. Макрофаги играют важную роль в сопряжении экссудативной и пролиферативной фаз воспаления, регенерации и фиброза. Они (совместно с нейтрофилами) ограничивают пораженный участок тканей, формируя нейтрофильно-макрофагальный барьер фибробластов [11]. Макрофаги стимулируют пролиферацию фибробластов, формирование внеклеточного матрикса и неоангиогенез в ожоговой ране за счет секреции ряда биологически активных веществ (цитокинов и ростовых факторов) [6].

4. Полученные нами данные показывают, что синтетический аналог индолицидина ускоряет заживление ожоговой раны, стимулируя развитие фаз воспалительного процесса. Реализация такого действия пептида объясняется, по нашему мнению, влиянием на клетки-участники воспалительного процесса, прежде всего, нейтрофилы и макрофаги. Стимуляция продукции биологических активных веществ фагоцитами при введении исследуемого препарата, способствует не только более быстрому очищению раны от некротизированных тканей и микроорганизмов, но и ускоряет развитие репаративных процессов, что проявляется преобладанием в инфильтрате фибробластов, активной эпителизацией и формированием соединительной ткани.

5. Полученные результаты позволяют сделать вывод о перспективности применения синтетических аналогов индолицидина, обладающих большей устойчивостью к действию пептидаз, выраженной специфичностью и отсутствием ряда побочных эффектов по сравнению с природным пептидом, для лечения ожоговых ран и профилактики осложнений.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии: Учеб. пособие. М.: Медицина, 2002; 238.
2. Автандилов Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии. М.: Медицина, 1984; 286.
3. Артамонов А.Ю., Шанин С.Н., Орлов Д.С., Шамова О.В., Колодкин Н.И., Рыбакина Е.Г. Иммуномодулирующая активность антимикробных пептидов индолицидина и его структурных аналогов. Мед. иммунология, 2009; 11: 1: 101-104.
4. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция. М.: Медицина, 1990.
5. Лазаренко В.А., Моновоцов И.А., Квачахия Л.Л. Регенерация кожи и костной ткани у мышей с экспериментальными травмами при иммунокоррекции риботаном. Курский научно-практич. вест. «Человек и его здоровье», 2004; 2-3: 50-55.
6. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги: руководство для врачей. СПб.: Спецлит, 2000; 480.
7. Смирнова М.П., Афонин В.Г., Шпень В.М., Тяготин Ю.В., Колодкин Н.И. Взаимосвязь структура-активность в ряду аналогов антибактериального пептида индолицидина. I. Синтез и биологическая активность аналогов с увеличением амфипатичностью и повышенным общим положительным зарядом молекулы. Биоорганич. химия, 2004; 30: 5: 458-465.
8. Aberg K.M., Radek K.A., Choi E-H, Kim D-K., Demerjian M., Hupe M., Kerbleski J., Gallo R.L., Ganz T., Mauro T., Feingold K.R., Elias P.M. Psychological stress downregulates epidermal antimicrobial peptide expression and increases severity of cutaneous infections in mice. J. Clin. Invest., 2007; 117: 11: 3339-3349.

References

1. Avtandilov G.G. *Osnovy kolichestvennoi patologicheskoi anatomii* [Fundamentals of quantitative pathological anatomy: Textbook]. Moscow: Medicine, 2002; 238. - (In Russ.).
2. Avtandilov G.G. *Problemy patogeneza i patologoanatomicheskoi diagnostiki boleznei v aspektakh morfometrii* [Problems of the pathogenesis and pathology diagnosis of diseases in the aspects of morphometry]. Moscow: Medicine, 1984; 286. - (In Russ.).
3. Artamonov A.Iu., Shanin S.N., Orlov D.S., Shamova O.V., Kolodkin N.I., Rybakina E.G. Immunomodulatory activity of antimicrobial peptides of indolitsidin and its structural analogs. *Meditinskaja immunologija*, 2009; 11: 1: 101-104. - (In Russ.).
4. Kuzin M.I., Kostuchenok B.M. *Rany i ranevaia infektsiia* [Wounds and wound infection]. Moscow: Medicine, 1990. - (In Russ.).
5. Lazarenko V.A., Monovtsov I.A., Kvachakhia L.L. Regeneration of skin and bone tissue in mice with experimental immune injury may ribotanom. *Kurskii nauchno-prakticheskii vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*, 2004; 2-3: 50-55. - (In Russ.).
6. Paramonov B.A., Porembskii Ia.O., Iablonskii V.G. *Ozhogi* [Burns: a guide for physicians]. Saint-Petersburg: SpetsLit, 2000; 480. - (In Russ.).
7. Smirnova M.P., Afonin V.G., Shpen' V.M., Tiagotin Iu.V., Kolodkin N.I. Structure-activity relationship in a series of analogues of the antibacterial peptide indolitsidin. I. Synthesis and biological activity of analogues with increasing amphipathic and increased the overall positive charge of the molecule. *Bioorganicheskaja khimiia*, 2004; 30: 5: 458-465. - (In Russ.).

9. Chernysh S., Irina K., Irina A. Anti-tumor activity of immunomodulatory peptide alloferon-1 in mouse tumor transplantation model. *Int. Immunopharmacol.*, 2012; 12: 1: 312-314;
10. Jin G., Kawsar H. I., Hirsch S. A., Zeng C., Jia X., Feng Z., Ghosh S. K., Zheng Q. Y., Zhou A., McIntyre T. M., Weinberg A. An Antimicrobial Peptide Regulates Tumor-Associated Macrophage Trafficking via the Chemokine Receptor CCR2, a Model for Tumorigenesis. *PLoS One*, 2010; 5: 6: 10993.
11. Korneva E.A., Kokryakov V.N. Defensins: antimicrobial peptides with a broad spectrum of biological activity. *Neuroimmune Biology*, 2003; 3: 451-462.
12. Korneva E.A., Rybakina E.G., Kokryakov V.N., Orlov D.S., Shamova O.V., Shanin S.N. Interleukin-1 and defensins in thermoregulation, stress and immunity. *Annals of NY Acad. Sci.*, 1997; 812: 465-474.
13. McGwire B.S., Kulkarni M.M. Interactions of antimicrobial peptides with *Leishmania* and trypanosomes and their functional role in host parasitism. *Exp. Parasitol.*, 2010; 126: 3: 397-405.
14. Orlov D.S., Nguyen T., Lehrer R.I. Potassium release, a useful tool for studying antimicrobial peptides. *J. Microbiol. Methods*, 2002; 49: 3: 325-328.
8. Aberg K.M., Radek K.A., Choi E-H, Kim D-K., Demerjian M., Hupe M., Kerbleski J., Gallo R. L., Ganz T., Mauro T., Feingold K. R., Elias P. M. Psychological stress downregulates epidermal antimicrobial peptide expression and increases severity of cutaneous infections in mice. *J. Clin. Invest.*, 2007; 117: 11: 3339-3349.
9. Chernysh S., Irina K., Irina A. Anti-tumor activity of immunomodulatory peptide alloferon-1 in mouse tumor transplantation model. *Int. Immunopharmacol.*, 2012; 12: 1: 312-314;
10. Jin G., Kawsar H. I., Hirsch S. A., Zeng C., Jia X., Feng Z., Ghosh S. K., Zheng Q. Y., Zhou A., McIntyre T. M., Weinberg A. An Antimicrobial Peptide Regulates Tumor-Associated Macrophage Trafficking via the Chemokine Receptor CCR2, a Model for Tumorigenesis. *PLoS One*, 2010; 5: 6: 10993.
11. Korneva E.A., Kokryakov V.N. Defensins: antimicrobial peptides with a broad spectrum of biological activity. *Neuroimmune Biology*, 2003; 3: 451-462.
12. Korneva E.A., Rybakina E.G., Kokryakov V.N., Orlov D.S., Shamova O.V., Shanin S.N. Interleukin-1 and defensins in thermoregulation, stress and immunity. *Annals of NY Acad. Sci.*, 1997; 812: 465-474.
13. McGwire B.S., Kulkarni M.M. Interactions of antimicrobial peptides with *Leishmania* and trypanosomes and their functional role in host parasitism. *Exp. Parasitol.*, 2010; 126: 3: 397-405.
14. Orlov D.S., Nguyen T., Lehrer R.I. Potassium release, a useful tool for studying antimicrobial peptides. *J. Microbiol. Methods*, 2002; 49: 3: 325-328.

Поступила 15.01.2014

Received 15.01.2014

Информация об авторах

1. Лазаренко В.А. - д.м.н., проф., ректор Курского государственного медицинского университета, зав. кафедрой хирургических болезней факультета последипломного образования;
2. Ляшев Ю.Д. - д.м.н., проф. кафедры патофизиологии Курского государственного медицинского университета;
3. Шевченко Н.И. - врач БМУ КОКБ. E-mail: nickolya@yandex.ru.

Information about the Authors

1. Lazarenko V. - MD, Prof., KSMU Rector, Head of the Department of Surgical Diseases Faculty of Postgraduate Education;
2. Lyashev Iu. - MD, Prof. of Pathophysiology department KSMU;
3. Shevchenko N. - doctor of BMI KSCH. E-mail: nickolya@yandex.ru.