

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи



Агеева Анна Алексеевна

**Патогенетическое обоснование применения мелатонина
при термической травме
(экспериментальное исследование)**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Осиков Михаил Владимирович

Челябинск – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЛАТОНИНА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	14
1.1 Современные аспекты патогенеза термической травмы	14
1.1.1 Патофизиология термической травмы	14
1.1.2 Изменения иммунного статуса при термической травме	19
1.1.3 Изменения редокс-статуса при термической травме	23
1.2 Перспективные направления терапии термической травмы	25
1.2.1 Инновационные и экспериментальные терапевтические подходы при термической травме	25
1.2.2 Общая характеристика и возможности применения мелатонина	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	34
2.1 Материалы исследования	34
2.2 Методы исследования	38
2.2.1 Гематологические методы исследования	38
2.2.2 Иммунологические методы исследования	38
2.2.3 Биохимические методы	41
2.2.4 Морфологические и иммуногистохимические методы исследования	44
2.2.5 Фармацевтические методы	47
2.2.6 Методы статистической обработки результатов	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	54
3.1 Изменения гомеостаза в динамике экспериментальной термической травме	54

3.1.1 Показатели репарации, морфологии, активности тучных клеток, экспрессии MMP-9 и VEGF в очаге повреждения.....	54
3.1.2 Динамика изменений показателей свободно-радикального окисления в ожоговой ране	64
3.1.3 Динамика изменений показателей иммунного статуса при экспериментальной термической травме.....	70
3.2 Экспериментально-теоретическое обоснование состава и стандартизация дермальной пленки с мелатонином	77
3.2.1 Фармацевтико-технологическое исследование составов дермальных пленок	77
3.2.2 Биофармацевтические исследования составов пленок с мелатонином	79
3.2.3 Фармацевтические исследования дермальной пленки с мелатонином.....	82
3.2.4 Определение стабильности и микробиологической чистоты дермальной пленки с мелатонином	84
3.3 Динамика изменений гомеостаза при экспериментальной термической травме в условиях применения дермальной пленки с мелатонином.....	85
3.3.1 Показатели репарации, морфологии, активности тучных клеток, экспрессии MMP-9 и VEGF в очаге повреждения.....	85
3.3.2 Динамика изменений показателей свободно-радикального окисления в ожоговой ране при экспериментальной термической травме в условиях применения дермальной пленки с мелатонином	97
3.3.3 Динамика изменений показателей иммунного статуса при экспериментальной термической травме в условиях применения дермальной пленки с мелатонином	107
3.4 Динамика изменений гомеостаза при экспериментальной термической травме в условиях системного применения мелатонина	117

3.4.1 Показатели репарации, морфологии и активности тучных клеток в очаге повреждения	117
3.4.2 Динамика изменений показателей свободно-радикального окисления в ожоговой ране при экспериментальной термической травме в условиях системного применения мелатонина.....	127
3.4.3 Динамика изменений показателей иммунного статуса при экспериментальной термической травме в условиях системного применения мелатонина	135
3.5 Сравнительный анализ эффектов мелатонина в составе дермальной пленки и системного применения мелатонина в динамике экспериментальной термической травмы.....	143
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	153
ВЫВОДЫ	168
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	170
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	173

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

По данным ВОЗ, ежегодно в мире около 11 млн человек нуждаются в медицинской помощи после ожогов, от последствий ожогов умерли в 2019 г. около 200 тыс. человек [78]. На долю термической травмы (ТТ) приходится около 80% от всех ожогов. Согласно данным ООН, в низко развитых странах по сравнению с высокоразвитыми ТТ встречается чаще, а средняя смертность в 3 раза выше. В РФ в 2018 г зарегистрировано 251480 случаев ожогов, показатель остается стабильно высоким на протяжении последних лет [13]. Наиболее частыми причинами ТТ являются горячая жидкость и пламя, у 2/3 больных площадь ожога составляет менее 10% поверхности тела, а преимущественный контингент больных – молодые мужчины [254].

Ключевой проблемой в патогенезе ТТ является расширение зоны вторичной альтерации и прогрессирование ТТ в фазу воспаления, когда избыточное накопление аутокоидов, активных форм кислорода (АФК), ферментов, гиперкоагуляция и нарушение реологии, вазоспазм, отек и эндотелиальная дисфункция вызывают изменения в прилегающих тканях, приводят к увеличению площади и глубины ожога, а также к эскалации системных изменений гомеостаза, включая острофазовый ответ, иммуносупрессию, синдром системного воспалительного ответа (SIRS), гиперметаболизм, поражение внутренних органов [67, 348]. Комбустиологами согласованы приоритетные исследования в области заживления ран, в том числе изучение и понимание патофизиологии ожоговой раны для ограничения ее прогрессирования и разработки патогенетически обоснованных методов диагностики, сохранной некрэктомии и закрытия раны [283].

Несмотря на значительные достижения в лечении ожогов, применение пересадки кожи, стволовых клеток и др. методов медленное заживление, присоединение инфекции и образование патологических рубцов приводят к удлинению сроков госпитализации, физическим дефектам, снижению качества

жизни [117, 324]. До 70% всех осложнений после ТТ связаны с инфекцией [99]. В связи с данными о ключевых механизмах прогрессирования ожогов разрабатываются экспериментальные терапевтические подходы: применение куркумина, экстракта алоэ и др. растительных компонентов, антицитокиновые препараты, ингибиторы комплемента, эритропоэтин, факторы роста, антиоксиданты и др. [21, 22, 25, 34, 184]. Потенциальными терапевтическими агентами при ТТ являются регуляторы гомеостаза эндогенного происхождения комплексного действия с минимальным набором побочных эффектов.

Мелатонин (МТ) – мультитропный, полифункциональный эндогенный регулятор гомеостаза на всех этапах онтогенеза, участвующий в формировании аллостаза при патологии, проявляющий антиоксидантные, противовоспалительные, иммуномодулирующие, антиапоптогенные, регулирующие пролиферацию и дифференцировку клеток, ангиогенез и др. свойства, определяющие его широкий терапевтический потенциал [20, 89, 317]. Предпосылками применения МТ при ТТ явились данные о собственной мелатонинергической системе кожи: продуцирующими МТ и имеющими рецепторы для него кератиноцитами, меланоцитами, дермальными фибробластами, тучными, дендритными и др. клетками, сведения об изменении ритма секреции МТ при ТТ, способности накапливаться в эпидермисе при повреждении кожи, влиянии МТ на пролиферацию, дифференцировку эпидермоцитов после повреждения ультрафиолетом, ионизирующим излучением [89, 101, 163, 277, 286].

Среди раневых покрытий неподдельный интерес представляют дермальные пленки (ДП): они просты в использовании, повышают комплаентность пациентов с ожогами небольшой площади, относительно дешевы, обеспечивают эффективный способ поступления активного компонента в рану, позволяют избежать необходимости или снизить системное применение лекарственных средств и как следствие их побочные эффекты, обеспечивают защиту раны от инфекций и механических повреждений. В настоящее время в РФ отсутствуют зарегистрированные лекарственные формы МТ для применения при ТТ кожи.

Цель исследования

С патогенетических позиций обосновать эффективность локального в составе оригинальной дермальной пленки и системного применения мелатонина при экспериментальной термической травме.

Задачи исследования:

1. Исследовать показатели репарации, морфологии, количество и активность тучных клеток, экспрессию матриксной металлопротеиназы (ММР)-9 и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), параметры свободнорадикальной деструкции липидов и белков в очаге повреждения в динамике экспериментальной термической травмы.
2. Изучить количественный состав лейкоцитов и субпопуляций лимфоцитов, лимфоцитов с маркерами апоптоза и некроза, функциональную активность нейтрофилов в крови, концентрацию в сыворотке МТ, С-реактивного белка (С-РБ), фактора некроза опухоли (TNF)- α , интерферона (IFN)- γ , интерлейкина (IL)-4, иммуноглобулина (Ig) М, Ig G в динамике экспериментальной термической травмы.
3. Оценить влияние мелатонина в составе оригинальной дермальной пленки на показатели репарации, морфологии, количество и активность тучных клеток, экспрессию ММР-9 и VEGF в очаге повреждения в динамике экспериментальной термической травмы.
4. Исследовать влияние мелатонина в составе оригинальной дермальной пленки на параметры свободнорадикальной деструкции липидов и белков в очаге повреждения, показатели иммунного статуса в крови в динамике экспериментальной термической травмы.
5. Оценить влияние внутрибрюшинного применения мелатонина на морфологические, иммуногистохимические показатели, параметры свободнорадикальной деструкции липидов и белков в очаге повреждения, иммунного статуса в крови и провести сравнительный анализ эффектов мелатонина в составе оригинальной дермальной пленки и системного применения мелатонина в динамике экспериментальной термической травмы.

Научная новизна исследования

Впервые проведен комплексный анализ изменений морфологии, содержания и активности тучных клеток, экспрессии MMP-9 и VEGF, содержания продуктов окислительной деструкции белков и липидов в очаге повреждения, показателей иммунного статуса в крови в динамике экспериментальной ТТ. Установлено, что от 5 к 20 суткам ТТ в очаге повреждения уменьшается количество нейтрофилов, увеличивается – лимфоцитов, гистиоцитов, фибробластов, общее количество и дегрануляция тучных клеток, экспрессия MMP-9 и VEGF, уменьшение площади раны происходит по мере увеличения в ней экспрессии MMP-9, VEGF, дегрануляции тучных клеток. Особенности окислительного стресса в ожоговой ране выступает накопление преимущественно вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гептановой и в изопропанольной фазах, ранних и поздних продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) нейтрального характера в спонтанном режиме, ранних и поздних производных основного и нейтрального характера в индуцированном режиме. Установлено, что изменения показателей иммунного статуса при ТТ включают увеличение количества в крови нейтрофилов, моноцитов, поглотительной и нитросинового тетразолия (НСТ)-редуцирующей способности нейтрофилов, концентрация в сыворотке С-РБ, TNF- α и IL-4, количества лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза, снижение количества в крови CD3⁺, CD45RA⁺, концентрации в сыворотке Ig G. Впервые установлено протекторное действие при экспериментальной ТТ мелатонина в составе оригинальной ДП (Патент РФ № 2751048 от 07.07.2021 г), которое проявляется сокращением площади и ускорением эпителизации ожоговой раны, снижением содержания в ней нейтрофилов, гистиоцитов, увеличением – лимфоцитов, фибробластов. Внутривентриальное применение МТ при ТТ оказывает менее выраженный протекторный эффект по сокращению площади ожоговой раны, содержанию в ней нейтрофилов, гистиоцитов, лимфоцитов. Впервые продемонстрировано, что механизм протекторного действия МТ при ТТ включает изменение в ожоговой ране в зависимости от срока наблюдения количества и дегрануляции тучных клеток, экспрессии MMP-9 и VEGF, снижение содержания

преимущественно вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и в изопропанольной фазах, содержания ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального характера, что подтверждается наличием ассоциации между площадью ожога и экспрессией в ране VEGF, MMP-9, содержанием дегранулированных тучных клеток, продуктов ПОЛ, продуктов ОМБ. Установлено, что применение МТ внутрибрюшинно и особенно в составе оригинальной дермальной пленки при ТТ приводит к снижению выраженности ответа острой фазы количества в крови моноцитов, количества и НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов, концентрации в сыворотке TNF- α , С-РБ. Показано, что применение МТ внутрибрюшинно и особенно в составе оригинальной дермальной пленки при ТТ полностью или частично восстанавливает показатели иммунного статуса на основании повышению количества лимфоцитов, в том числе CD3⁺ и CD45RA⁺, снижению количества лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза, снижения концентрации в сыворотке IL-4, повышения – Ig G.

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе проведенного исследования в экспериментальных условиях получены новые фундаментальные знания о закономерностях изменений иммунологических параметров в крови, редокс-статуса и морфологии очага повреждения, включая содержание и активность тучных клеток, экспрессию VEGF, MMP-9, при экспериментальной термической травме, что расширяет современное представление о механизме развития ожогов. Показано, что площадь ожога при экспериментальной термической травме, в том числе, связана с экспрессией MMP-9, VEGF, дегрануляцией тучных клеток в очаге повреждения кожи. Полученные результаты комплексной оценки изменений гомеостаза при экспериментальной термической травме могут быть использованы для обоснования разработки новых терапевтических подходов и диагностических маркеров.

Разработан состав и с патогенетических позиций обосновано применение при экспериментальной ТТ нового лекарственного средства – МТ в составе ДП, которое позволяет ускорить заживление, снизить площадь ожоговой раны в динамике ТТ,

что более выражено по сравнению с эффектом МТ при внутрибрюшинном применении. Показано, что протекторное действие МТ реализуется за счет локального антиоксидантного эффекта в очаге повреждения, изменения в зависимости от срока наблюдения количества и дегрануляции тучных клеток, экспрессии MMP-9 и VEGF, коррекции врожденного и адаптивного иммунитета. Представленные в работе экспериментальные результаты являются предпосылкой для проведения дальнейших исследований по эффективности применения МТ при ТТ ограниченной площади с последующим внедрением нового лекарственного препарата в клиническую практику.

Методология и методы исследования

Методология диссертационной работы была спланирована в соответствии с целью и задачами исследования. Организация исследования одобрена этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 10 от 15.11.2019, № 13 от 28.12.2020).

Экспериментальные исследования выполнены на 301 крысе линии Wistar массой 240 ± 20 г в экспериментально-биологической клинике (виварий) ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. Эксперимент проводился при строгом соблюдении требований по уходу и содержанию животных, а также выводу их из эксперимента с последующей утилизацией в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123 от 18.03.1986, Страсбург), Рекомендациями Европейской Комиссии 2007/526/ЕС от 18 июня 2007 года, Директивой 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

Методы исследования включали: экспериментальное моделирование, гематологические, биохимические, иммунологические с использованием специфических тест-систем для крыс, иммуноферментного анализа,

морфологические и иммуногистохимические, фармацевтические, статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. При экспериментальной термической травме площадь ожоговой раны уменьшается по мере увеличения экспрессии в очаге MMP-9, VEGF, дегрануляции тучных клеток; в ожоговой ране увеличивается содержание продуктов окислительной деструкции белков и липидов; в крови признаки ответа острой фазы сочетаются со снижением количества CD3⁺, CD45RA⁺, снижением концентрация IL-4, Ig G в сыворотке.
2. Применение при термической травме мелатонина в составе дермальной пленки ускоряет эпителизацию и сокращает площадь ожоговой раны, уменьшает содержание в ней нейтрофилов, гистиоцитов, увеличивает содержание лимфоцитов, что более выражено по сравнению с эффектом от внутрибрюшинного применения мелатонина.
3. Механизм ускоряющего репарацию эффекта мелатонина при термической травме включает изменение экспрессии MMP-9, VEGF, количества и активности тучных клеток, ограничение окислительной деструкции липидов и белков в очаге, полное или частичное восстановление.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов работы, правомочность основных положений и выводов основаны на достаточном числе наблюдении экспериментального фрагмента работы, полноте и широте литературно-библиографической справки, использовании современных методов статистической обработки материалов исследования с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 19.

Основные положения диссертации представлены на Всероссийской научно-практической конференции «Современная патология: опыт, проблемы, перспективы» (Самара, 2020); XXVII всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины» (Санкт-

Петербург, 2021), научно-практической сессии «Дни науки в Челябинской области» (Челябинск, 2021).

Личный вклад автора в проведенное исследование

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Основная идея, планирование научной работы, формулировка рабочей гипотезы, постановка целей и задач, разработка дизайна исследования проводилось совместно с научным руководителем. Выбор и обоснование методов и экспериментальной модели, набор, анализ и интерпретация материала, поиск, анализ и обобщение данных отечественной и зарубежной научной литературы, статистическая обработка данных, представление результатов работы в научных публикациях и в виде докладов на конференциях, написание и оформление рукописи выполнены лично автором. Биохимические, иммунологические, морфологические, иммуногистохимические и фармацевтические исследования выполнены автором лично и при участии сотрудников кафедры Патологической физиологии, кафедры Фармации и химии фармацевтического факультета, сотрудников НИИ Иммунологии, Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава России и ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины» Минздрава Челябинской области.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры Патологической физиологии, кафедры Фармации и химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, научную работу научно-образовательного центра «Проблемы фундаментальной медицины» ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Конкурсная поддержка исследования

Работа проводилась при финансовой поддержке РФФИ и Челябинской области в рамках научного проекта № 20-415-740016 и ФГБУ «Фонд содействия

развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» в рамках программы У.М.Н.И.К. (договор № 15583ГУ/2020 от 05.07.2020 г).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Основные научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 12 работ в рецензируемых научных изданиях, в изданиях из Перечня ВАК при Минобрнауки России (из них 2 – в электронных изданиях), в том числе 5 – в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования (Web of Science, Scopus), 2 – в материалах конференций, получен 1 патент РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 217 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей материалы и методы исследования, изложения результатов собственного исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Библиографический указатель включает 44 отечественный и 315 зарубежных источника литературы. Работа содержит 55 таблиц и 30 рисунков (включая 3 схемы).

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЛАТОНИНА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Современные аспекты патогенеза термической травмы

1.1.1 Патопфизиология термической травмы

При моделировании ТТ чаще всего используют крыс, мышей, кроликов или свиней. Выбор мышей обусловлен экономичным содержанием, эффективным воспроизводством, коротким временем заживления, наличием генетически модифицированных линий [46, 221, 351]. Использование мышей не позволяет получать достаточный объем крови, имеются различия с человеком в структуре цитокинов и их рецепторов, в нейтрофилах отсутствуют дефенсины, тонкая кожа заживает за счет сокращения, а не реэпителизации и грануляции как у людей, обилие волосяных фолликулов с стволовыми клетками ускоряет заживление и исключает формирование патологических рубцов [161, 190, 199, 208]. В коже мышей и свиней при ТТ не формируются пузыри [233].

Кожа крыс имеет меньшую эластичность и низкую адгезию с подкожными структурами, заживление раны идет путем сокращения, крысы меньше подвержены послеожоговой иммуносупрессии и инфекционным осложнениям [327]. Заживление кожи у крыс не зависит от поступления витамина С, необходимого для синтеза коллагена [251, 327]. Крыса как объект при моделировании ТТ вполне приемлема и во многом превосходит мышь [96, 251, 290, 309]. Кролик довольно редко применяется для моделирования ТТ, однако это подходящий объект для изучения при ТТ изменений энергетического и липидного обмена [46]. ТТ уха кролика позволяет исследовать особенности прогрессии в ране и гипертрофического рубцевания [119]. Параметры кожи свиньи очень похожи на человеческие: толщина эпидермиса, связь с подкожными элементами, волосы, размер, ориентация и распределение сосудов, эпидермальные ферменты, липидная пленка и др. Все это делает свинью идеальным объектом для изучения ожогов,

однако подверженность инфекционным осложнениям, стоимость и условия их содержания и воспроизводства являются ограничивающими факторами [49, 244, 326].

В настоящее время широко применяются методы моделирования *in silico* изменений гомеостаза при ТТ с использованием соответствующего программного обеспечения, в том числе про- и противовоспалительные реакции, гиперметаболизм, перекрестных реакций цитокинов, межклеточной коммуникации и др., моделирование *in silico* позволяет оценивать терапевтические вмешательства [77, 104, 223].

Наиболее частыми причинами ТТ являются горячая жидкость и пламя, у 2/3 больных площадь ожога составляет менее 10% поверхности тела [65, 196]. При моделировании ТТ используют нагретую от 50 °С и выше воду, горячий воздух, пламя, нагретый металл, электричество и др. факторы [81, 180, 221, 251]. Недостаток применения металлического стержня – неоднородность его температуры во время контакта с кожей. Модель с использованием горячей воды является наиболее частой и рассматривается как стандарт ТТ, ожоги от горячих жидкостей – это основная причина ТТ у детей и пожилых [46, 53, 55]. Подходы в отношении времени контакта воды различной температуры с кожей переменны: от 10 до 25 с [96]. Контрольные точки исследования определяются поставленной задачей: для изучения воспаления и пролиферации до 14-20 суток, ремоделирования – до 10 недель и дольше [190].

В патогенезе ожогов традиционно выделяют три фазы: воспаления, пролиферации и ремоделирования [37, 139, 233, 265]. Медиаторы и АФК и азота расширяют зону повреждения, приводят к вазодилатации и отеку, затем в очаг мигрируют нейтрофилы и моноциты, их эффект – фагоцитоз некротических тканей и патогенов, синтез факторов роста. В ходе вторичной альтерации первичный очаг расширяется [185, 283]. Формирование струпа ограничивает кровоток и расширяет зону повреждения. Отек формируется в первые 8 ч после ТТ и сохраняется в течение не менее 18 ч [140].

В пролиферативную фазу увеличивается количество кератиноцитов, фибробластов, эндотелиоцитов, формируется грануляционная ткань [83, 264]. Миофибробласты участвуют в сокращении кожи при закрытии дефекта, синтезе коллагена, выделяют 12 подгрупп фибробластов [135, 350]. В фазу ремоделирования, которая длится не менее одного года, восстанавливается архитектура поврежденной ткани [105, 172, 242]. Многие клетки погибают путем апоптоза, а ММР, продуцируемые макрофагами, удаляют избыток коллагена, коллаген III типа заменяется на I тип, его волокна перекрестно связываются для повышения прочности и стабильности.

Морфологически ожоговая рана делится на три зоны в зависимости от разрушения тканей и изменения кровотока (рисунок 1): 1) коагуляции (область первичной альтерации, некроза, денатурация и коагуляция белков); 2) ишемии (снижение перфузии, окислительный стресс, обратимые до 24-48 ч изменения, аутофагия в течение первых часов, позднее – апоптоз и некроз); 3) гиперемии (усиленный кровоток обеспечивает восстановление клеток за исключением случаев присоединения инфекции или дополнительных повреждений) [153, 281].

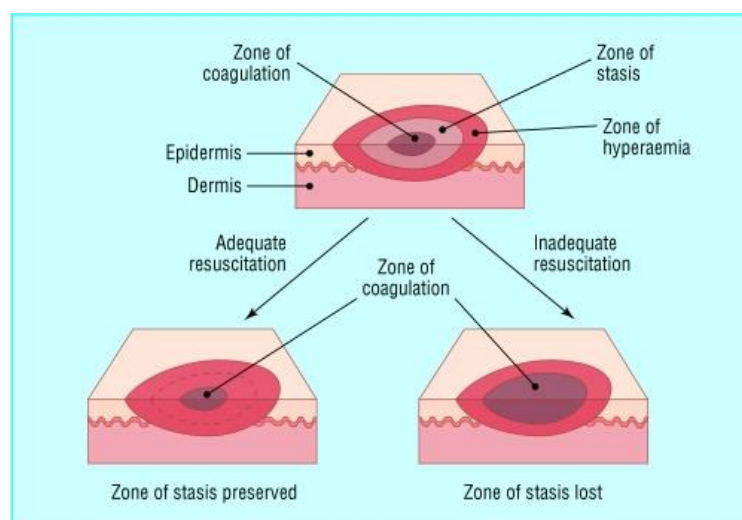


Рисунок 1 – Области повреждения в ожоговой ране. По (153)

Тучные клетки, в большом количестве присутствующие в коже, одними из первых реагируют на ТТ и рассматриваются как резидентные воспалительные

клетки, содержащие в гранулах широкий спектр преформированных и синтезируемых *de novo* медиаторов, которые регулируют сосудисто-экссудативные реакции, болевые ощущения, активируют пролиферацию фибробластов, синтез коллагена, участвуют в ремоделировании рубца (рисунок 2). Ингибирование функции мастоцитов при ТТ – перспективное направление ограничения избыточного рубцевания [189, 330].

Внимание при репарации уделяется микроРНК (miR) [280]. MiR-21, miR-29, miR-210, miR-155, miR-31 в кератиноцитах и фибробластах участвуют в регуляции заживления раны [87, 122, 211, 289, 322]. miR-155 регулирует IL-17/IL-9 – зависимые воспалительные реакции, миграцию кератиноцитов в очаге. Показана роль митохондриальной ДНК как разновидности молекулярных структур, ассоциированных с повреждением (DAMP) в прогрессировании ТТ [204].

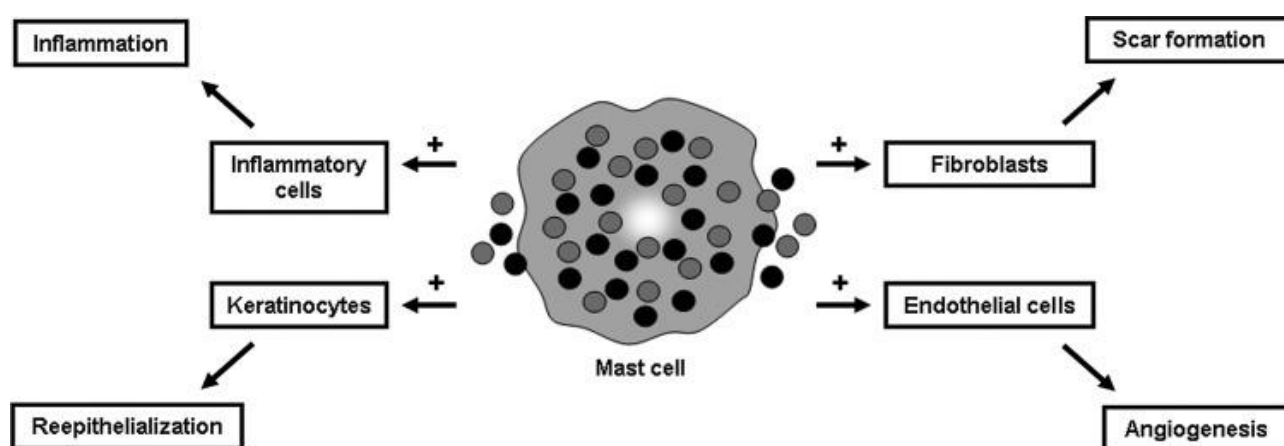


Рисунок 2 – Функции тучных клеток при заживлении раны (по 330)

В заживлении ожоговой раны имеет значение фактор, индуцируемый гипоксией (HIF)-1 α , он активирует ангиогенез и пролиферацию клеток, в том числе через повышение синтеза эритропоэтина, а снижение его уровня в очаге ухудшает репарацию [213, 261, 279]. У женщин при ТТ вероятность развития инфекционных осложнений, показатели летальности ниже, чем у мужчин [57]. Это обусловлено наличием рецепторов для тестостерона и эстрогена на миелоидных и лимфоидных клетках, мастоцитах и их эффектами [120, 304].

Скорость заживления ожоговой раны зависит от площади и глубины повреждения, инфильтрации очага нейтрофилами (при тяжелых ожогах начинается позднее и сохраняется дольше), уровня провоспалительных цитокинов (при тяжелых ожогах выше и устойчивее), активации клеток Лангерганса, дендритных и др. клеток [159]. Интенсивность и длительность воспалительной фазы – фактор инфицирования, системного воспаления и сепсиса, гипертрофических и келлоидных рубцов [115].

Неблагоприятный исход и формирование осложнений при ТТ определяются выраженностью острофазового ответа и иммунных реакций, активации метаболизма, в качестве предикторов летальности ИЛ-6, ИЛ-8, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), С-РБ [47, 148]. Скорость метаболизма при ТТ возрастает в три раза, а сердечный выброс – в 1,5 раза по сравнению с здоровыми людьми [234]. Синдром гиперметаболизма приводит к потере мышечной массы и плотности костей [298, 343]. Формируется резистентность к инсулину и гипергликемия, усиление липолиза [164, 218]. Гиперметаболизм – фактор ухудшения репарации при ТТ, инфекционных осложнений, а достижения метабономики должны использоваться при разработке терапевтических стратегий [100, 151, 224].

Механизмом поражения сердца при ТТ выступает дисфункция митохондрий, их деструкция в результате окислительного стресса [234]. Ингибитор миграции макрофагов (MIF) при ТТ оказывает кардиодеструктивное действие, анти-MIF в эксперименте восстанавливает сердечную функцию [179, 307]. Острое поражение почек при ТТ связано с ранней полиорганной дисфункцией, сепсисом и сопряжено с высоким риском смерти [91, 117, 334]. К органам желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) после ТТ приток крови редуцируется на 60% как минимум на 4 часа, что формирует синдром интраабдоминальной гипертензии и абдоминального компартмента [299].

Инфекционные осложнения после ТТ связаны с колонизацией раневой поверхности микроорганизмами, в том числе лекарственно-устойчивыми и формирующими биопленки [59, 63, 145, 214]. Основными маркерами

инфекционных осложнений являются лейкоцитоз и концентрация С-РБ, ценность уровня прокальцитонина в крови неоднозначна [80, 338]. Инфекционные осложнения после ТТ связаны с избыточными иммуносупрессивными реакциями как компенсацию на длительный, устойчивый провоспалительный ответ, гиперпродукцией и эффектами IL-10, IL-4, TGF- β и PDGF [190]. Имеет значение функциональная гетерогенность нейтрофилов крови и очага ТТ [133, 152].

Динамика изменений количества и функции клеток и гуморальных факторов в очаге ТТ определяет уже через 4 ч формирование провоспалительных реакций при максимальной их выраженности – SIRS и компенсаторного противовоспалительного ответа (CARS), которые сохраняются до 90 суток и отражают дисрегуляцию иммунного ответа (рисунок 3).

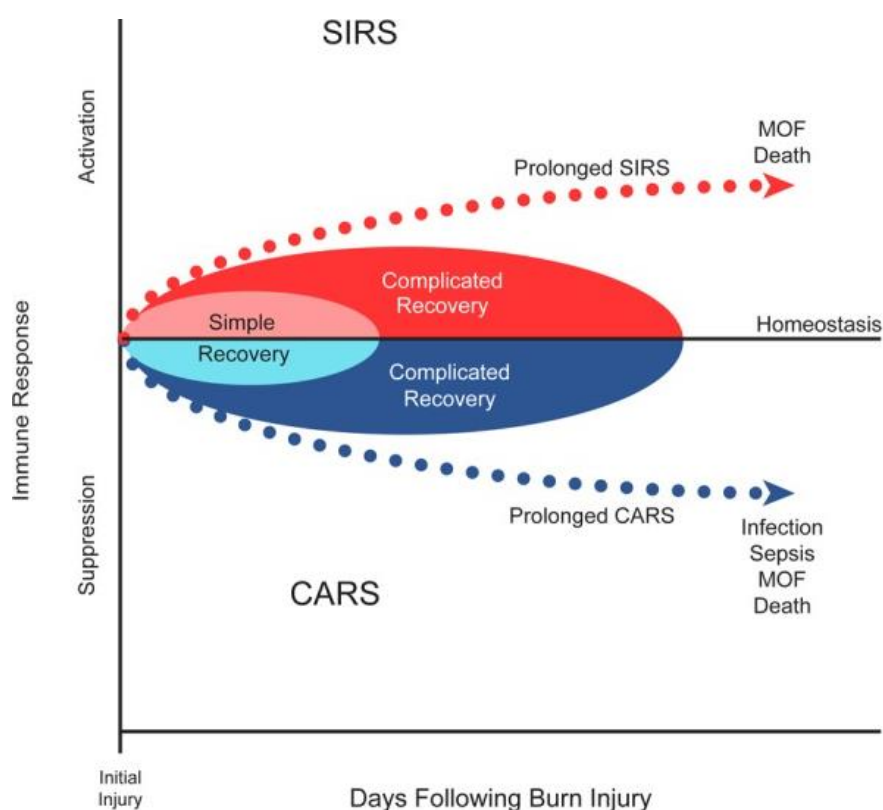


Рисунок 3 – SIRS и CARS как отражение изменений иммунного ответа после ТТ и их клинические последствия. По (99)

1.1.2 Изменения иммунного статуса при термической травме

Нейтрофилы (НФ) – клетки раннего защитного механизма при ТТ, ауто- и паракринно индуцируют нетоз, участвуют в репарации за счет выделения ламинина

5 β -3, отвечают проангиогенным потенциалом на VEGF-A [219, 291]. Показана роль нетоза в предотвращении микробной колонизации раны [76]. Нейтрофилы с противовоспалительным фенотипом секретируют IL-10, в том числе под влиянием G-CSF и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) из макрофагов и участвуют в формировании иммунного паралича при ТТ [195, 340]. Наблюдается нарушение функции нейтрофилов в очаге ТТ: миграционной способности, фагоцитоза и нетоза, генерации АФК, особенно после присоединения вторичной инфекции [141, 173].

Смена фенотипа макрофагов определяет динамику событий в очаге ТТ [278]. Провоспалительные M1 секретируют кальпротектин, NO, TNF- α , IL-1 β , IL-6 и др.; противовоспалительные и участвующие в репарации M2 макрофаги – IL-10, PDGF, TGF- β 1, VEGF-A и др. Максимальная инфильтрация очага ТТ M2 наблюдается в интервале 14-28 суток [87]. M2 регулируют пролиферативную фазу за счет синтеза факторов роста, взаимодействия с фибробластами [313]. Дисфункция M1 на раннем этапе ТТ ограничивает заживление и рубцевание, а дисфункция M2 позднее вызывает отек и альтерацию, задержку закрытия раны; избыточная активность M2 сопровождается чрезмерным рубцеванием [236, 278]. При ожогах площадью менее 5% в очаге преобладают M1, а более 15% – M2.

События в очаге ТТ определяются количеством и активностью клеток Лангерганса (КЛ), NK-клеток, дендритных клеток [98, 142, 197]. Источником КЛ является местный пул и циркулирующие в крови моноциты. После ТТ подавляется активность КЛ и дермальных дендритных клеток, повышается вероятность развития инфекционных осложнений [358]. Это связано с TLR9-опосредованным повышением продукции IL-10, снижением – IL-6, TNF- α , IL-12p70. После ТТ снижается количество и функция NK-клеток, особенно в первые 3-6 дней, из-за снижения уровня IL-2 и чувствительности к нему [99]. При ТТ снижается продукция дефенсина-бета дендритными клетками селезенки, повышается восприимчивость к *Pseudomonas aeruginosa* [323]. При ТТ изменяется содержание MDSC в коже: увеличивается количество MDSC гранулоцитарного происхождения, снижается – моноцитарного, в обоих фенотипах снижена

экспрессия TLR, повышена активность iNOS, секреция про- и противовоспалительных цитокинов [275].

При ТТ лимфоцитопения, в том числе CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺, регистрируемая через 48 ч и сохраняющаяся до 4 недель, сопряжена с риском инфекционных осложнений и летальностью [178, 240, 256]. При ТТ повышается количество и функциональная активность регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) в крови, очаге повреждения и лимфатических узлах. Гиперактивность Treg опосредована белками HMGB1 и RAGE, их блокада снижает экспрессию гликопротеина цитотоксических Т-лимфоцитов 4 (CTLA-4), Foxp3 на Treg, продукцию IL-10 [93]. Через 3 ч после ТТ активность Th17 и уровень IL-17 и IL-22 в сыворотке и очаге повреждения, в удаленных тканях повышается, затем наблюдается депрессия Th17-зависимых реакций. Для ТТ характерно повышение отношения Treg/Th17. Активированные после ТТ $\gamma\delta$ Т-клетки демонстрируют фенотип Th17 и Th2, участвуют в хемотаксисе в очаг нейтрофилов, макрофагов, MDSC, $\alpha\beta$ Т-клеток, в праймировании макрофагов, экспрессии iNOS, распознавании антигенов через TLR2, TLR4 и TLR9 [248, 256]. Различные популяции лимфоцитов участвуют в репарации при ТТ: $\gamma\delta$ Т-клетки благодаря секреции инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1), CD4⁺ и CD8⁺ – через регуляцию экспрессии различных факторов роста, Treg ограничивают сосудисто-экссудативные реакции, активируют ангиогенез [138, 323]. При дефиците инвариантных естественных киллерных Т-клеток (iNKT) в ране увеличивается нейтрофильная инфильтрация и площадь альтерации, задерживается заживление [306].

Ожоговая поверхность – источник мощной импульсации от ноцицепторов, приводящей к изменению нейрогенной, эндокринной, генетической регуляции активности иммунокомпетентных клеток, динамики раневого процесса, вероятности развития осложнений ТТ [247, 314]. Применение анальгетиков при болевом синдроме может изменять выраженность и направление иммунного ответа при ТТ, обсуждается концепция опиоидной иммуносупрессии [318, 292].

Изменения микробиома кожи на геномном и функциональном уровнях после ТТ приводят к порочному кругу в патогенезе изменений иммунного ответа при ТТ

[68, 206, 273]. Необходимо учитывать долгосрочные последствия иммунной дисфункции после ТТ: первоначальная активация Th1-зависимого ответа с высвобождением провоспалительных цитокинов сменяется Th2-зависимыми реакциями с устойчивым повышением IL-10 в течение 3 и более лет, подавлением Th1-зависимого ответа, активности макрофагов и пролиферации Т-клеток, снижением ответа на инфекционные патогены – иммуносупрессивный постожоговый фенотип [67, 336].

При ТТ в очаге повреждения повышается экспрессия генов IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ , TNF- α , G-CSF, GM-CSF, воспалительных белков макрофагов (MIP)-2 α , MCP-1 и др. с пиком на 3 сутки и снижением к 10 суткам, повышение на 1 сутки и снижение к 7 суткам IL-10, повышение VEGF на 3-7 сутки, а PDGF- β 1 на 1-7 сутки, PDGF- β 3 на 7-14 сутки [190, 335]. Это согласуется с изменением экспрессии цитокинов в очаге ТТ или в сыворотке у людей с ожогами и зависит от глубины и площади ТТ, возраста, сопутствующей патологии [159].

$\gamma\delta$ Т-клетки повышают в очаге ТТ экспрессию IFN- γ , IL-17, IL-10, а также IL-22 и связанные с ним Th1-, Th17-зависимый ответ и активность Treg [178, 256]. IL-22 рекрутирует нейтрофилы в очаг ТТ, модулирует иммунитет слизистых и кожи, защищает от проникновения кишечной микрофлоры в кровь [178]. Маркер постожоговой иммуносупрессии – повышение концентрации IL-10 в сыворотке и очаге [210].

Длительное повышение уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке после ТТ сопряжено с неблагоприятным исходом в результате SIRS, шока. Повышенный уровень IL-6, IL-8, G-CSF, MCP-1 – предиктор летального исхода при ТТ [159]. С увеличением концентрации в сыворотке TNF- α связывают гиперфункцию сердца и легких [52]. Дефицит IFN- γ неблагоприятно сказывается на заживлении раны [171].

Наиболее активно в заживлении очага ТТ участвуют эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста фибробластов (FGF), TGF- β , тромбоцитарный фактор роста (PDGF), VEGF. PDGF- β 1 связывают с активацией миофибробластов, сокращением поврежденной кожи и уменьшением площади ожога, PDGF- β 3 – с

дальнейшими репаративными процессами [279, 316]. Семейство PDGF участвует в активации пролиферации, дифференцировки фибробластов, продукции коллагеновых волокон. Важную роль в репарации кожи после повреждения демонстрирует фактор роста нервов (NGF), его дефицит замедляет заживление [263].

1.1.3 Изменения редокс-статуса при термической травме

Окислительный стресс представляет относительную избыточную активность систем генерации свободных радикалов и высокореактогенных форм кислорода и азота над системами их утилизации [347]. Неоспорима роль окислительного стресса при старении организма, в патогенезе многих заболеваний за счет повреждения липидов, белков, нуклеиновых кислот, изменения внутриклеточной сигнализации, индукции гибели и др. механизмов [62, 125, 129, 198, 228, 245].

Основными мишенями свободных радикалов в клетке являются липиды и белки, продуктами такого взаимодействия выступают продукты ПОЛ и ОМБ соответственно. Показана роль продуктов ПОЛ в очаге воспаления в повреждении ДНК клеток, мутагенных и канцерогенных эффектах, модификации мембранных и сигнальных белков, ферментов [125, 315]. Продукты ПОЛ активируют транскрипцию генов ферментов антиоксидантной защиты: гемоксигеназы-1, глутамат-цистеин-лигазы, регулируют пролиферацию, дифференцировку, активность клеток [90, 95]. Взаимодействие электрофильных продуктов ПОЛ с белковыми молекулами (липоксидирование) приводит к модификации последних, и они участвуют в клеточной сигнализации, регуляции воспаления и репарации в ране [217, 344].

Показатели редокс-статуса отражают гомеостаз и концепцию его редокс-регулируемого [127]. Последствия применения антиоксидантов могут быть неблагоприятными: ограничивать внутри- и межклеточную сигнализацию: ядерный фактор (NF-κB)-зависимые и активирующий белок-1 (AP-1)-зависимые пути синтеза цитокинов, пролиферацию и дифференцировку клеток, эффективный

фагоцитоз [201, 272]. АФК участвуют в регуляции адаптивного иммунитета, активации Treg, а применение антиоксидантов уменьшает баланс Treg/Th17, повышает активность MDSC [267]. Привлекательной является теория эу- и дизокислительного стресса: развитие окислительного дистресса зависит от количества свободных радикалов, их разновидности, типа атакуемых клеток [235].

Кожа – самый большой орган с интенсивно протекающими процессами ПОЛ, продукты ПОЛ оказывают локальное и дистантное цитотоксическое действие [126, 230]. Окислительный стресс при ожогах фиксируется не только в очаге повреждения, но и в отдаленных органах и тканях [102, 175, 328]. Прооксидантный потенциал сыворотки ожоговых больных повышает способность *Staphylococcus aureus* к образованию биопленок [342]. АФК в ожоговой ране ассоциированы с деструкцией тканей и негативными последствиями, участвуют в активации проММП при репарации кожи [200]. АФК играют роль в модификации гликозаминогликанов, коллагенов и неколлагеновых гликопротеинов, активации сигнальных путей в стволовых клетках [192]. АФК, генерируемые в ходе воспаления при ТТ, индуцируют локальный синтез про- и противовоспалительных цитокинов.

Снижение активности глутатион-S-трансферазы в мышечной и жировой ткани в течение 1-й недели после ТТ сопряжено с высокой восприимчивостью к *Pseudomonas aeruginosa*, возникновению инфекционных осложнений [295]. Исследование тиол-дисульфидного гомеостаза имеет диагностическое, прогностическое и терапевтическое значение при патологии кожи [51, 169]. Тиол-дисульфидный профиль изменяется при ожогах, ассоциирован с тяжестью ТТ, имеет значение в прогнозировании выживаемости [106]. У больных с ТТ в сыворотке снижается содержание восстановленного глутатиона [69].

1.2 Перспективные направления терапии термической травмы

1.2.1 Инновационные и экспериментальные терапевтические подходы при термической травме

Со времени первого международного конгресса по изучению ожогов в 1950-х гг. достигнуты значительные успехи в лечении ТТ, коэффициент выживаемости больных составляет в настоящее время около 97% [266, 293]. Терапевтические подходы при ТТ могут быть разделены в зависимости от фазы раневого процесса, в которую они применяются, клеток или гуморальных факторов-мишеней в организме, на которые они воздействуют в очаге повреждения или системно, способа применения и др. подходов.

Для локальной активации гемостаза применяются повязки с адреналином, тромбином, фибрином, абсорбирующая желатиновая губка из очищенной свиной кожи, липидные микровезикулы с рекомбинантным тканевым фактором и др. [79, 181]. Ультраранняя хирургическая некрэктомия – эффективное терапевтическое мероприятие, сдерживающее избыточное воспаление и инфицирование ожоговой раны [176]. Современные перевязочные средства разрабатываются для активации заживления раны, а не только для ее покрытия, направлены на предотвращение обезвоживания раны. В государственном реестре медицинских изделий и организаций, осуществляющих производство и изготовление медицинских изделий зарегистрировано более 200 наименований, в описании которых указано на использование их при ожогах [8]. Анализ данных в реестре позволяет выделить раневые покрытия, салфетки и повязки.

Раневые покрытия включают гидрогелевые покрытия, покрытия на основе белково-полисахаридных комплексов, покрытия на основе липосомальных гелей. Салфетки медицинские и перевязочные материалы представляют традиционные тканые или нетканые материалы, импрегнированные растворами лекарственных средств: антисептиков и местных анестетиков, ранозаживляющих, антиоксидантов, регенератов различной природы, противовоспалительными и

кровоостанавливающими средствами. Повязки медицинские представлены гидрогелевыми, гелевыми на текстильной основе, гидроколлоидными, из полиуретановой губки, альгинатно-кальциевыми.

На смену повязкам из хлопковой марли пришли перевязочные материалы из полимеров (поликапролактон) и др. материалов, их недостаток – необходимость удаления из раны при перевязках в отличие от натуральных компонентов [231, 311]. Применение получили гидрогели на основе поливинилового спирта, хитозана, альгината или полиэтиленгликоля, образующие барьер и гидратированную среду для заживления, особенно при конъюгации с оксидом цинка, флоротанинами, гиалуронатом, полимиксин В, VEGF и др. [150, 170, 177, 203, 357]. Фибриновый гель применяется у больных с ТТ в качестве гемостатика и фиксатора трансплантата и заменителя кожи [82]. Гидрогели на основе гиалуроновой кислоты улучшают регенерацию кожи, сокращают площадь рубцовой ткани при заживлении ран за счет увеличения секреции VEGF, снижения экспрессии TGF- β 1 [154]. Поскольку цитокины, в т.ч. VEGF, TGF- β , в ране связаны с гепарином/гепарансульфатом, то вполне обосновано их включение в состав лекарственных средств [110].

Несмотря на исследования по разработке пленок лекарственных, на российском фармацевтическом рынке эта форма выпуска представлена относительно ограничено. В государственном реестре лекарственных средств содержится только пять зарегистрированных лекарственных препаратов, выпускаемых в данной форме. Два варианта наклеиваемых на десну пленок с нитроглицерином «Тринитролонг[®]». Две оральнодисперсные пленки с силденафилом «Инвида ОДП[®]» и «ДИНАМИКО ФОРВАРД[®]», предназначенные для коррекции эректильной дисфункции. Пятый – глазные пленки «Таурин[®]» [14].

Несмотря на разнообразие перевязочных средств, остается актуальным вопрос разработки лекарственных средств для локальной терапии ТТ. Ранее не выпускались лекарственные средства в виде ДП для лечения ТТ.

В качестве распространенных методов доставки факторов роста используют растворы, кремы, гели. Одним из наиболее изученных является EGF, который

ограничивает площадь вторичной альтерации, дозо-зависимо увеличивает эпителизацию ожоговой раны [22, 34, 276, 337]. При ТТ локально применяются TGF- α в низких дозах, фактор роста кератиноцитов-2 (KGF-2), FGF-b, TGF- β 2, GM-CSF [350]. Применение FGF-1 в комплексе с фибриновым клеем в экспериментальных и клинических условиях при ТТ сокращает срок заживления [111]. Использование обогащенной тромбоцитами плазмы позволяет применять при ТТ комбинацию эндогенных факторов роста [284].

Эритропоэтин – один из белков, синтез которых регулируется HIF-1 α , оказывает антиоксидантный, иммуномодулирующий и активирующий репарацию эффекты при ТТ как при системном применении, так и в составе оригинальной пленки [25, 26, 27, 35].

Применение противовоспалительных средств при ТТ должно быть крайне осторожным в виду направленности воспалительных реакций на удаление некротических тканей, инфекционных агентов, активации кератиноцитов и фибробластов в ходе последующей репарации и др. [280]. Профилактика и лечение инфекционных осложнений является первоочередной задачей при ТТ, решаемой системным и локальным применением различных антимикробных препаратов [118, 237]. Антимикробные пептиды из фагоцитов, например, эпинецидин-1 в эксперименте на свиньях предотвращал инфицирование ожоговой раны, ускорял заживление [157]. Антагонистические отношения между бактериями позволяют локально использовать пробиотики с *Lactobacillus* для предотвращения инфицирования раны патогенной флорой [114]. Новый класс средств, препятствующих инфицированию раны – агенты, разрушающие биопленки, например, арилалкил-лизины, средства на основе компонентов чеснока и др. [128, 174].

Системная и локальная иммуномодуляция при ТТ включает широкий спектр средств. Троламинсодержащая эмульсия ускоряет заживление за счет снижения миграции НФ в рану, увеличения представительства макрофагов и пролиферации фибробластов [186]. Применение резолвина D2 восстанавливает активность нейтрофилов и ограничивает вторичный некроз в очаге ТТ [160]. Применение GM-

CSF, IFN- γ , карбахола восстанавливает экспрессию на моноцитах HLA-DR [99]. Перспективными терапевтическими средствами при ТТ могут быть ретиноиды [266]. При ТТ наблюдается дефицит витамина D, ассоциированный с худшими исходами и риском осложнений, что является предпосылкой для его применения [345].

Антиоксиданты при ТТ показали эффективность в плане ограничения зоны коагуляции (некроза), гибели клеток в зоне ишемии [140]. Экстракт *Myrtus communis L.* приводит к повышению активности каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) в ожоговой ране [241]. Антиоксидантный, противовоспалительный, прорегенераторный потенциал комплекса биофлавоноидов из *Curcuma longa L.* продемонстрирован в эксперименте при ожогах [320].

Особое внимание при поиске новых терапевтических подходов при ТТ уделяется регуляторам гомеостаза эндогенного происхождения. Потенциальный, но вполне обоснованный с теоретических позиций интерес при обсуждении перспективных терапевтических агентов при ТТ связан с мелатонином.

1.2.2 Общая характеристика и возможности применения мелатонина

Мелатонин – одна из наиболее древних в эволюционном отношении молекул, присутствует в живых организмах около 2-3 млрд лет, где первоначально выполнял функцию антиоксиданта [121, 260, 352]. Проникновение протеобактерий и трансформация их в митохондрии в эукариотических клетках привели к синтезу МТ во всех животных организмах, что подтверждается экспрессией идентичных ферментов синтеза МТ [258, 302]. Впервые МТ выделен из эпифиза быка А. Лернером в 1958 г. [310].

Биосинтез МТ происходит из триптофана, включает четыре ферментативных стадии [352]. Основным источником МТ у человека является эпифиз, синтез регулируется активностью супрахиазматического ядра, сменой циклов свет-темнота через ретиногипоталамический тракт. МТ также синтезируется независимо от циркадного ритма клетками сетчатки, независимо от циркадного ритма –

энтерохромафинными клетками ЖКТ [221]. Активированные моноциты, лимфоциты, дендритные и тучные клетки продуцируют МТ [216, 250]. Адреналин увеличивает пинеальный синтез МТ [325]. Самая высокая концентрация МТ в клетке обнаружена внутри митохондрий. Период полураспада эндогенного МТ составляет 20-30 мин, метаболизируется МТ P₄₅₀CYP1A2 печени и выводится с мочой.

Сывороточный уровень МТ варьируется от времени суток, возраста, сопутствующей патологии; референсные значения днем составляют около 5 пг/мл, ночью – до 100-150 пг/мл [355, 359]. В этом диапазоне концентраций доказанными мишенями МТ являются рецепторы МТ1 (Mel1a), МТ2 (Mel1b), GPR50 (Mel1c), подтверждены взаимодействия с кальмодулином и кальретикулином. Взаимодействие с рецептором витамина D (VDR), МТ3 нельзя исключить в области высокой концентрации МТ: в митохондриях и ядре.

На уровень сывороточного МТ влияет прием экзогенного МТ [61, 359]. Биодоступность МТ при пероральном применении (10 мг) составляет около 3% [61]. На фармакокинетику МТ влияют курение, прием оральных контрацептивов, флувоксамина, нутритивный статус.

Первоначальная функция МТ как антиоксиданта требовала его локализации в местах генерации АФК – митохондриях [296]. МТ благодаря своим липофильным свойствам быстро распределяется внутри клетки посредством пассивной диффузии, с использованием транспортеров глюкозы (GLUT1) и олигопептидов (PEPT1/2) [220]. Расширение функционального репертуара МТ привело к появлению в клетках специфических белков, связывающихся с МТ, в настоящее время их 18. Это мембранные рецепторы, ассоциированные с G-белками, – МТ1 (Mel1a), МТ2 (Mel1b), GPR50 (Mel1c), цитозольный МТ3 (хинонредуктаза-2), MMP-9, протеинфосфатаза-2, локусы для связывания МТ в ядре – ROR α , VDR [71, 75, 108, 202, 238, 354]. В цитозоле МТ связывается с кальмодулином и кальретикулином, ингибирует активность фосфодиэстеразы и синтазы оксида азота (NOS) [203, 226].

Наиболее известна роль МТ в регуляции ритмов сон-бодрствование, синхронизации суточных ритмов и функций внутренних органов [310, 317]. В настоящее время МТ – это эндогенный фактор с мультитропными эффектами в различных клетках, включая антиоксидантное действие, про- и противовоспалительное, иммуномодулирующее, антиапоптогенное, регулирующее пролиферацию и дифференцировку клеток и др., которые привлекают внимание с позиций регуляции гомеостаза, участия в патогенезе заболеваний и возможностью применения для профилактики и терапии заболеваний.

Антигипертензивный эффект МТ реализуется за счет участия в локальных и системных механизмах регуляции АД, кардиопротекции [66]. При ишемии-реперфузии миокарда действие МТ связано с влиянием на деление митохондрий, митофагию через ядерный фактор, связанный с эритроидом 2 (Nrf2)- и 5'АМФ-активируемая протеинкиназа/оптической атрофии 1 (АМПК-ОРА1)-зависимые пути, сиртуины [103].

Антиканцерогенный эффект МТ показан при раке полости рта, опухолях головы и шеи, репродуктивной системы и др. локализации [329, 347]. Механизм противоопухолевого действия МТ включает: (1) ограничение нестабильности генома за счет предотвращения повреждения и стимуляции репарации ДНК; (2) блокаду сигналов пролиферации в опухолевых клетках, в т.ч. HIF-1 α , NF- κ B и др.; (3) индукцию апоптоза за счет модуляции экспрессии Bcl-2/Bax; (4) изменения метаболизма в опухоли, ингибирование ЛДГ; (5) ингибирование ангиогенеза за счет снижения экспрессии VEGF; (6) ограничение инвазивного роста и метастазирования за счет повышения экспрессии E-кадгерина, окклюдина, интегрина; (7) изменение противоопухолевого иммунитета за счет активации Th1, моноцитов/макрофагов, NK-клеток, усиления эффектов IL-2 [31, 73, 259].

Плейотропные эффекты МТ могут быть опосредованы повышением или снижением синтеза микроРНК, участвующих в регуляции апоптоза, воспаления, редокс-статуса, пролиферации клеток, в т.ч. злокачественных, за счет изменения экспрессии сиртуин (SIRT) 1, Nrf2 и NF- κ B [144].

Кожа млекопитающих обладает собственной мелатонинергической системой, участвующей в поддержании гомеостаза и целостности в связи с синтезом МТ и наличием специфических рецепторов [286]. Клетки кожи синтезируют МТ, его метаболиты обнаружены в кератиноцитах, меланоцитах, дермальных фибробластах [287]. При повреждении кожи МТ накапливается в эпидермисе, защищая митохондрии и обеспечивая синтез АТФ [163]. МТ регулирует пролиферацию, дифференцировку эпидермоцитов, экспрессию кератина в эпидермисе. Рецептор МТ1 обнаружен в кератиноцитах и фибробластах, рецептор МТ2 – в эккринных железах и кровеносных сосудах кожи, меланоцитах [163, 268]. Количество рецепторов МТ1 в фибробластах уменьшается с возрастом [101]. Рецептор ROR α идентифицирован в кератиноцитах эпидермиса, фибробластах, меланоцитах [94].

МТ и его метаболиты оказывают защитное действие на культивируемые меланоциты, кератиноциты, фибробласты кожи за счет регуляции редокс-статуса и биоэнергетического гомеостаза, ограничения окислительного стресса, активации репарации ДНК [163, 243]. МТ, синтезируемый в коже и поступающий из кровеносных сосудов, рассматривается как ключевой антиоксидант [287].

Большое количество публикаций посвящено протекторному действию МТ после повреждения кожи ультрафиолетом типа В; антиоксидантный, антиапоптогенный, ограничивающий альтерацию, стимулирующий репарацию эффект МТ реализуется в кератиноцитах, меланоцитах, фибробластах, макрофагах [243]. Получены сведения о радиопротекторном действии МТ после воздействия рентгеновского и гамма-излучения на кожу *in vivo* и в культуре клеток [277]. У пациентов после лучевой терапии при злокачественных новообразованиях лучевой дерматит развивался реже на фоне приема МТ [113]. Получены положительные сведения по применению МТ при атопическом дерматите [297].

При ТТ повышается концентрация и изменяется ритм секреции МТ, больший уровень фиксируется днем [249]. Ключевым механизмом избыточной продукции МТ при ТТ является стресс и активация симпатoadреналовой системы [282]. Изменение ритма секреции МТ при хроническом воспалении рассматривается как

фактор нарушений сна. Представлены немногочисленные сведения о применении МТ при ожогах, основная их часть посвящена эффектам при системном применении в эксперименте. В частности, гастропротекторный эффект МТ: площадь повреждения слизистой желудка уменьшалась и ассоциирована со снижением уровня МДА и активацией антиоксидантной защиты, NRF2-зависимых путей, изменением экспрессии Vcl-2 и Вах [70, 155]. Защитный эффект МТ обнаружен при химическом ожоге пищевода [188]. При ТТ у крыс применение МТ ограничивает коагуляционный каскад в крови, накопление продуктов ПОЛ в коже [312].

Таким образом, ТТ представляет актуальную медико-социальную проблему в связи со стабильно высокими показателями встречаемости, дорогостоящими методами лечения, вероятностью инфекционных и мультиорганных осложнений, посттравматических пожизненных физических дефектов, долгосрочного снижения качества жизни. Изучение патогенеза ТТ включает использование экспериментального и математического моделирования для детального изучения событий в фазы воспаления, пролиферации и ремоделирования, в том числе роли отдельных аутокоидов, медиаторов, мастоцитов и др. клеточных элементов в ожоговой ране, морфологии области первичной альтерации, ишемии и гиперемии. Продемонстрирована роль иннервации, микроРНК, половых и др. гормонов, индивидуальных особенностей активации метаболизма, изменения редокс-статуса с эскалацией окислительного стресса и генерацией продуктов окислительной модификации липидов, белков, нуклеиновых кислот, иммунных реакций с участием цитокинов, факторов роста, гетерогенного пула нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, дендритных и др. клеток на течение и исход ТТ, поражение внутренних органов, фибропролиферативные нарушения в коже, инфекционные осложнения, SIRS и CARS. В современной комбустиологии востребованы патогенетически обоснованные методов локальной и системной терапии, сохранной некрэктомии и закрытия раны. Среди последних интерес представляют ауто- и ксенотрансплантаты, стволовые клетки, различные клеточные, неклеточные и искусственные заменители, в частности разработка ДП

с МТ для лечения ТТ, не имеющей отечественных и зарубежных аналогов. В качестве терапевтических агентов в составе раневых покрытий используются различные цитокины, факторы роста, гормоны, витамины, противовоспалительные и антимикробные средства, антиоксиданты. Предпосылками для изучения эффектов МТ при ТТ являются изменение суточного ритма секреции и концентрации МТ в сыворотке после ожогов, его синтез и наличие рецепторов МТ в коже, а также плеойтропные эффекты при различных заболеваниях, включая антиоксидантное действие, про- и противовоспалительное, иммуномодулирующее, антиапоптогенное, регулирующее пролиферацию и дифференцировку клеток.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

Для комплексного изучения иммунного статуса, морфологии очага повреждения, свободно-радикального окисления в очаге повреждения при ТТ, а также эффектов локального применения МТ в составе ДП (патент № 2 751 048 от 07.07.2021), внутрибрюшинного применения МТ при ТТ проведены экспериментальные исследования *in vivo* на 301 половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 240 ± 20 г, полученных из питомника «КролИнфо» (г. Орехово-Зуево) [3]. Все животные находились на стандартном, типовом рационе и содержались в условиях экспериментально-биологической клиники (вивария) ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава России при строгом соблюдении требований по уходу и содержанию, а также выводу из эксперимента с последующей утилизацией в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123 от 18.03.1986 г, Страсбург), Рекомендациями Европейской комиссии 2007/526/ЕС от 18 июня 2007 г по содержанию и уходу за животными, используемыми в экспериментальных и других научных целях, а также Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 г [10, 12]. На проведение исследования получено заключение этического комитета ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава России (протоколы № 10 от 15.11.2019, № 13 от 28.12.2020). Для соблюдения асептики и антисептики, обеспечения полноценного ухода после моделирования ТТ, исключения инфицирования ожоговой раны, дополнительной травматизации ран другими особями, сразу после моделирования ТТ крысы были расселены в индивидуальные боксы.

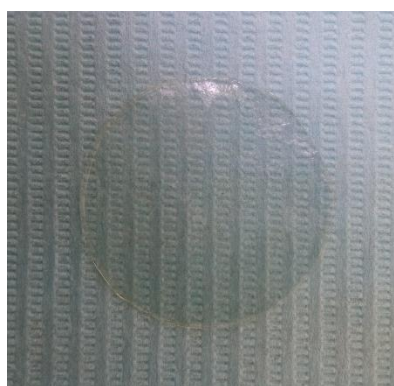
Животные были случайным образом разделены на 5 групп (таблица 1):
Группа 1 (n=48) – интактный контроль.

Группа 2 (n=63) – животные с ТТ с ежедневным в течение 20 суток наложением асептической повязки на ожоговую поверхность.

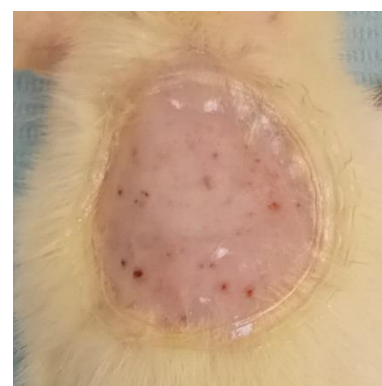
Группа 3 (n=65) – животные с ТТ с ежедневным в течение 5 суток наложением на рану ДП (ДП-матрица) площадью около 12 см² (рисунок 4) и последующим наложением поверх пленки и фиксацией асептической повязки, асептическую повязку продолжали накладывать до 20 суток после ТТ. Технология изготовления ДП описана ниже в разделе 2.2.5.

Группа 4 (n=61) – животные с ТТ с ежедневным в течение 5 суток наложением ДП с МТ (рисунок 4) (содержит МТ в концентрации 5 мг/г) площадью около 12 см² и последующим наложением поверх ДП и фиксацией асептической повязки, асептическую повязку продолжали накладывать до 20 суток после ТТ. Технология изготовления ДП с МТ описана ниже в разделе 2.2.5.

Группа 5 (n=64) – животные с ТТ с наложением асептической повязки в течение 20 суток и внутривнутрибрюшинным введением МТ («ФЛАММА С.П.А.», Италия) в ежедневной разовой дозе 10 мг/кг в течение 5 суток.



А



Б

Рисунок 4 – Дermalная пленка. А – внешний вид ДП, Б – Наложение ДП в область ТТ

Исследования при экспериментальной ТТ выполнялись в четыре этапа:

1. Изучение изменений гомеостаза, включая морфологию, экспрессию VEGF, MMP-9, содержание продуктов ПОЛ и ОМБ в очаге ТТ, показатели иммунного статуса и концентрацию МТ в крови (сравнение показателей в группах 1 и 2).

2. Создание с помощью фармацевтических методов ДП без активного вещества (ДП-матрица) и ДП с МТ.
3. Изучение при ТТ эффектов МТ в составе ДП на показатели в очаге ожоговой раны и в крови (сравнение показателей в группах 3 и 4).
4. Изучение при ТТ эффектов МТ при системном применении (внутрибрюшинное введение) на показатели в очаге ожоговой раны и в крови (сравнение показателей в группах 2 и 5).

Таблица 1 – Характеристика экспериментальных групп

Группы	Местное лечение	Системное лечение	Сокращенное название	Сроки исследований	Кол-во крыс
1. Интактные	-	-	-	-	48
2. ТТ	Асептическая повязка, ежедневная смена до 20 суток	-	ТТ+АсП	5, 10, 20 Сутки	63
3. ТТ	ДП (ДП-матрица) + асептическая повязка, ежедневная смена до 20 суток	-	ТТ+ДП	5, 10, 20 Сутки	65
4. ТТ	МТ (5 мг/г) в составе ДП 5 суток + асептическая повязка, ежедневная смена до 20 суток	-	ТТ+МТ ДП	5, 10, 20 Сутки	61
5. ТТ	Асептическая повязка, ежедневная смена до 20 суток	МТ внутрибрюшинно 10 мг/кг 5 суток	ТТ+МТ	5, 10, 20 Сутки	64

Использована модифицированная **модель термической травмы** Уокера-Мейсона [225, 321]. Общую анестезию создавали внутримышечным введением препарата «Золетил-100» (МНН: тилетамина и золазепам гидрохлорид, «Virbac Sante Animale», Франция) в дозе 20 мг/кг. Предварительно проводили подготовку участка кожи (межлопаточная область), предназначенного для ожога: удаляли шерсть безопасным лезвием, омывали и высушивали. Моделирование ТТ проводили с использованием устройства, изготовленного из термостойкого пластика, позволяющего зафиксировать животное и имеющее отверстие диаметром 38 мм (рисунок 5) [36]. Животное фиксировали таким образом, чтобы подготовленный участок кожи сопадал с отверстием устройства. Ограниченный

кожный участок погружался в очищенную воду с температурой 98-100 °С на 12 с. Спустя 24 часа от момента ожога проводили иссечение некротизированных участков. Морфологическими критериями ТТ II степени по МКБ-10 являлось развитие коагуляционного некроза до сосочкового слоя дермы.



Рисунок 5 – Приспособление для моделирования ТТ

Площадь ожога вычисляли по формуле площади круга

$$S=\pi r^2, \quad (1)$$

где π – постоянная, равная 3,14, r – радиус круга в сантиметрах. В нашем эксперименте она составила $3,14 \cdot 1,9^2 = 11,34 \text{ см}^2$.

Для расчета поверхности тела у крыс использовали формулу Мее-Рубнера в модификации Lee:

$$S=K \cdot W^{0,60}, \quad (2)$$

где S - поверхность тела в квадратных сантиметрах, K - коэффициент, равный 12,54, W - вес животного в граммах. Площадь поверхности тела используемых животных составила $332,77 \pm 12,67 \text{ см}^2$. Абсолютная площадь ожога одинакова во всех случаях ($11,34 \text{ см}^2$), относительная площадь составила $3,36 \pm 0,12 \%$ [16, 36].

На 5, 10 и 20 сутки в группах 2, 3, 4 и 5 забирали кровь под наркозом после торакотомии пункцией сердца в области левого желудочка в пробирки «Vacuette» («GreinerBio-One», Австрия) с антикоагулянтом (калиевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) или гепарином натрия) для гематологических, биохимических и иммунологических исследований. Для проведения морфологических, иммуногистохимических и биохимических исследований

иссечение фрагмента кожного лоскута проводили с захватом интактной кожи по границе ожоговой раны.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Гематологические методы исследования

На автоматическом гематологическом анализаторе для ветеринарии, откалиброванном для крыс, «BC-2800Vet» («Mindray», Китай) оценивали абсолютное количество лейкоцитов, $\cdot 10^9/\text{л}$. Лейкоцитарную формулу подсчитывали в мазках крови, фиксированных метиловым спиртом и окрашенных азур II-эозином («Гемстандарт-Р», Россия) по Романовскому-Гимзе. Подсчитывали 200 лейкоцитов с дифференциацией базофилов, эозинофилов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов. Их количество выражали в абсолютных ($\cdot 10^9/\text{л}$) величинах [4, 6, 18].

2.2.2 Иммунологические методы исследования

Для выделения чистой фракции нейтрофилов и лимфоцитов 2 мл крови смешивали с 3 мл стерильного физиологического раствора (0,9 % раствор натрия хлористого), смесь наслаивали на двойной градиент плотности стерильных растворов фикола («Pharmacia», Швеция) и верографина («Srofa», Чехия), плотность верхнего слоя $1,075\text{-}1,077 \text{ г/см}^3$, нижнего – $1,093\text{-}1,095 \text{ г/см}^3$ и центрифугировали 40 мин при 1500 оборотах в минуту [11, 18]. После центрифугирования аккуратно снимали верхний слой плазмы, забирали слой лимфоцитов и трехкратно отмывали их в среде 199 центрифугированием при 1000 об/мин в течение 10 мин. Концентрацию лимфоцитов в суспензии доводили до $3 \cdot 10^6/\text{л}$. Кольцо нейтрофилов собирали, переносили в стерильные центрифужные пробирки, отмывали стерильным раствором Хенкса путём центрифугирования при 1500 об/мин дважды по 7 минут, после чего доводили до концентрации $5 \cdot 10^6$ клеток/мл. Для определения жизнеспособности нейтрофилов и лимфоцитов,

выделенных из крови, к 0,2 мл суспензии клеток добавляли 0,02 мл 1% раствора трипанового синего и ресуспензировали. Материал помещали в камеру Горяева и исследовали в световом микроскопе. Живые клетки оставались прозрачными (трипанонегативные клетки), мертвыми считались клетки, окрашенные в фиолетовый цвет (трипанопозитивные клетки). Подсчет производили на 100 клеток, результат выражали в процентах и абсолютных значениях. Жизнеспособность клеток, рассчитанная в тесте с 1% раствором трипанового синего, составила 98% [4].

Исследование поглотительной способности нейтрофилов крови проводили на модели поглощения частиц латекса. Для оценки фагоцитоза 200 мкл нейтрофилов смешивали с 20 мкл взвеси частиц монодисперсного (диаметр 1,7 мкм) полистирольного латекса. После 60 минут инкубации при температуре 37 °С из суспензии готовили препараты, которые высушивали, фиксировали метанолом и окрашивали азур II – эозином по Романовскому-Гимзе. С помощью иммерсионной микроскопии учитывали активность фагоцитоза – % клеток, захвативших хотя бы одну частицу латекса, интенсивность фагоцитоза – число поглощенных микросфер латекса (у.е.) в 100 подсчитанных клетках и фагоцитарное число – число поглощенных микросфер латекса (у.е.) на один фагоцит [1, 11, 18, 41].

Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов крови оценивали в НСТ-тесте, учитывая интенсивность восстановления нейтрофилами НСТ в его нерастворимую форму - диформаза [39]. Проводили спонтанный и индуцированный НСТ-тест. В пробирки с 0,2 мл взвеси нейтрофилов добавляли 0,1 мл 0,2% раствора стандартно разведенного НСТ в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4). Для оценки индуцированного НСТ-теста в каждую лунку добавляли 20 мкл суспензии частиц монодисперсного (диаметр 1,7 мкм) полистирольного латекса (индуцированная серия) или 20 мкл 0,9% натрия хлорида (спонтанная серия). После 30-минутной инкубации при температуре 37 °С к реакционной смеси добавляли 3 мл 0,1 % соляной кислоты для остановки реакции. Пробирки центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость сливали, из осадка

готовили мазки. После сушки препараты фиксировали метанолом и 5 минут окрашивали 0,1% водным раствором сафранина. С помощью микроскопии при увеличении 90x10x1,5 определяли активность НСТ-теста – % клеток и интенсивность НСТ-теста (у.е.) для чего НСТ-позитивные клетки делили на 3 группы: 1 – клетки с гранулами диформаза в цитоплазме общей площадью менее 1/3 площади ядра; 2 – клетки с гранулами диформаза в цитоплазме более 1/3 площади ядра; 3 – клетки с гранулами диформаза, превышающими размеры ядра. Для получения коэффициента интенсивности реакции количество клеток в группе 1 умножали на 1, в группе 2 – на 2, в группе 3 – на 3, результаты суммировали и делили на 100. Функциональный резерв нейтрофилов оценивали по отношению активности и интенсивности индуцированного НСТ к спонтанному НСТ-тесту.

Определение субпопуляционного спектра лимфоцитов крови проводили с помощью проточного цитофлуориметра «Navios» («Beckman Coulter», США) с использованием специфических крысиных моноклональных антител производителя «Beckman Coulter» (США) с фенотипом CD3⁺ и CD45RA⁺, которые являются маркерами преимущественно Т- и В- лимфоцитов соответственно [262]. Их количество выражали в абсолютных ($\cdot 10^9/\text{л}$) величинах.

Показатели гибели лимфоцитов оценивали при окрашивании клеток конъюгированным с флуоресцеина изотиоцианатом аннексином 5 (Annexin-5-FITC) и 7-аминоактиномицином D (7-AAD) из набора «Annexin 5 - FITC/7-AADkit» («Beckman Coulter», США) на проточном цитофлуориметре «Navios» («Beckman Coulter», США). Лимфоциты из крови выделяли, как указано выше. Перед окрашиванием клетки ресуспензировали в 1 мл охлажденном на льду фосфатно-солевом буфере, затем центрифугировали в течение 7 мин при 1500 об/мин, после чего сливали надосадочную жидкость. К суспензии клеток добавляли охлажденный на льду 1% раствор фиксирующего буфера (1X Binding Buffer) из расчета $5 \cdot 10^5 - 5 \cdot 10^6$ клеток/мкл. Затем к 100 мкл клеточной суспензии добавляли 5 мкл AnnexinV-FITC и 5 мкл ДНК – тропного красителя 7-AAD, клетки вортиксовали и инкубировали в темноте 15 мин при 4°C. После инкубации к клеткам добавляли 400 мкл 1% фиксирующего буфера, после 30 мин инкубации в

термостате при 37°C проводили анализ на проточном цитофлуорометре. Дифференцировали интактные клетки (Annexin-5-FITC-/7-AAD-), клетки с ранними признаками апоптоза (Annexin-5-FITC+/7-AAD-), клетки с поздними признаками апоптоза и частично некротические клетки (Annexin-5-FITC+/7-AAD+). Результат выражали в абсолютных ($\bullet 10^9/\text{л}$) величинах.

Концентрацию в плазме Ig M, Ig G, IL-4, TNF- α , IFN- γ , С-РБ определяли на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Personal LAB» (Италия) с применением специфических для крыс тест-систем «Cloud-Clone Corp.» (Китай). Результат выражали в нг/мл для Ig M, Ig G; в пг/мл для IL-4, TNF- α , IFN- γ , С-РБ.

2.2.3 Биохимические методы

Концентрацию МТ в плазме определяли с помощью капиллярного электрофореза на аппарате «Капель-105М» («Люмэкс», СПб) [182]. Кровь забирали в защищенные от света пробирки с антикоагулянтом (ЭДТА), плазму получали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 20 мин при 4 °С и хранили при -20 °С. Образцы экстрагировали дихлорэтаном, отбрасывали водную фазу, органическую фазу выпаривали до сухости, остаток растворяли в деионизированной воде и фильтровали микрофильтром (0,22 мкм). Разделения были проведены с использованием системы капиллярного электрофореза, оснащенной капилляром плавленого кремнезема (80 см, эффективная длина 52 см, внутренний диаметр 75 мкм) и ультрафиолетово-видимым детектором (200 нм) и запрограммированной на получение 25 мм 2-(N-морфолино) этансульфоновой кислоты (рН 5,7). Инъекцию проводили гидростатическим методом, поднимая образец на 10 см с катодной стороны капилляра. Для приготовления стандартов использован МТ («Sigma», США). Результаты выражали в пг/мл.

Для приготовления 10% гомогената кожи ожоговую рану иссекали, помещали в охлажденный раствор натрия хлорида 0,9%, фрагмент кожи отмывали, 40 мг измельчали и гомогенизировали в стеклянном механическом гомогенизаторе

в 0,4 мл (1:10) охлажденного 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,4) в течение 3 мин при температуре 2-4°C, с последующим получением 1 мл гомогената.

Для определения содержания продуктов ПОЛ в гомогенате кожи использовали экстрационно-спектрофотометрический метод определения продуктов ПОЛ по методике Волчегорского И.А. и соавторов [1, 4, 7, 17, 44]. К 0,5 мл гомогената добавляли 5 мл смеси гептан – изопропанол (1:1), встряхивали в закрытых пробирках 15 мин и производили экстракцию в течение 20 мин, затем центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин, липидные экстракты сливали и разбавляли 5 мл смеси гептан – изопропанол (3:7 по объему). Последнюю процедуру выполняли с целью достижения оптимальных значений оптической плотности в обеих фазах экстракта. К разбавленным липидным экстрактам добавляли водный раствор соляной кислоты (рН 2,0) в объеме 2 мл для разделения фаз и отмывки от нелипидных примесей. После разделения смеси на фазы гептановую фазу отбирали в отдельную сухую пробирку, а к водно-спиртовой фазе добавляли 1 г сухого NaCl для обезвоживания изопропанольного экстракта. После отделения водной фазы изопропанол переносили в отдельную пробирку. Оптические контроли готовили путем экстракции по аналогичной схеме, заменив исследуемый образец эквивалентным количеством 0,1% раствора ЭДТА на 0,9% NaCl. Измеряли оптическую плотность каждой фазы против соответствующего контроля при 220 нм (поглощение монохроматического света экстрактом в диапазоне 186 – 225 нм отражает содержание изолированных двойных связей), 232 нм (поглощение в диапазоне 225 – 230 отражает содержание диеновых конъюгатов), 278 нм (поглощение напрямую зависит от содержания кетодиенов и сопряженных триенов). Конечные продукты ПОЛ (основания Шиффа) определяли путем дополнительного замера оптической плотности экстракта при 400 нм. Расчет содержания продуктов ПОЛ проводили, соотнося величины соответствующих оптических плотностей к величине оптической плотности, характеризующей изолированные двойные связи. Все измерения производились с использованием спектрофотометра «СФ-56» («ЛОМО – Спектр», СПб). Результаты выражали в единицах индексов окисления (е.и.о.): E_{232}/E_{220} (относительное содержание

диеновых конъюгатов (ДК)), E_{278}/E_{220} (уровень кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ)) и E_{400}/E_{220} (уровень оснований Шиффа (ШО)).

Определение содержания продуктов ОМБ в гомогенате кожи проводили по их реакции с 2,4-динитрофенилгидразином с последующей спектрофотометрической регистрацией продуктов взаимодействия – динитрофенилгидразонов (ДНФГ) [1, 4, 40]. Для определения использовали 0,1 мл 10% гомогената кожи. После обработки 20% трихлоруксусной кислотой в первую порцию (опыт) добавляли 0,1 мл 0,1 М раствора 2,4-ДНФГ, а во вторую порцию (контроль) – 0,1 мл 2 М раствора HCl. Далее пробы инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре и для получения белкового осадка центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Осадок промывали 2 раза в 5 мл смеси этанол-этилацетат для экстракции липидов и 2,4-ДНФГ, который не прореагировал с карбонильными группами модифицированных белков. Полученный очищенный осадок высушивали для удаления растворителей и растворяли в 2,5 мл 8 М раствора мочевины. Для лучшего растворения белкового осадка в каждую пробу предварительно добавляли 15 мкл 2 М раствора HCl.

Параллельно по аналогичной схеме производилась оценка металл-зависимой ОМБ. С этой целью в изучаемых образцах перед этапом осаждения белка трихлоруксусной кислотой предварительно *in vitro* производили индукцию окисления белков компонентами реакционной смеси, содержащей приготовленные *ex tempore* растворы FeSO₄ (10 мМ), перекиси водорода (0,3 мМ) и ЭДТА (10 мМ). Взаимодействие двухвалентного железа с перекисью водорода способствует образованию радикала OH· по реакции Фентона: $Fe^{2+} + H_2O_2 = Fe^{3+} + OH^- + OH\cdot$.

Производили анализ площади под кривой спектра поглощения ДНФГ дериватов карбонильных производных белков. Карбонильные производные окисленных белков регистрировали на спектрофотометре в ультрафиолетовой части спектра на длинах волн 230 нм, 254 нм, 270 нм, 280 нм, 356 нм (альдегид-динитрофенилгидразоны (АДНФГ)), 363 нм и 370 нм (кетон-динитрофенилгидразоны (КДНФГ)), а в области видимого света - 428 и 430 нм (АДНФГ) и 434 нм, 524 нм, 530 нм, 535 нм (КДНФГ). Перечисленные длины волн

были выбраны в соответствии с диапазонами, в которых регистрируются динитрофенилгидразоны. Оценивали общее количество ОМБ, количество АДНФГ и КДНФГ основного (ультрафиолетовая область спектра) и нейтрального (видимая область спектра) характера. Все измерения производились с использованием спектрофотометра «СФ-56» («ЛОМО – Спектр», СПб). Оценка уровня ОМБ осуществлялась путем подсчета площади под кривой спектра поглощения ДНФГ дериватов карбонильных производных белков. Полученное значение выражали в единицах оптической плотности на мг белка (ед./мг). Производили подсчет отношения результатов измерения продуктов спонтанного окисления к индуцированному по реакции Фентона, принимая результаты измерения индуцированного за 100%, получая таким образом значение резервно-адаптационного потенциала, интегрально характеризующего активность антиоксидантных систем изучаемой ткани.

2.2.4 Морфологические и иммуногистохимические методы исследования

Для макроскопической оценки состояния дефекта кожи после ТТ исследовали внешний вид раны, наличие налетов и их характер (фибринозные, гнойные); наличие отделяемого; отёк; состояние окружающей кожи.

Для оценки показателей репарации ожоговой раны измеряли площадь раневого дефекта методом цифровой планиметрии с использованием цифровой фотокамеры «Nikon Coolpix S2800» (Китай). С помощью стандартного пакета программы «Microsoft Office Visio» (США) совмещали стандартную линейку с линейкой на снимке, отмечали область повреждения и автоматически рассчитывали ее площадь [36, 168]. Планиметрическое исследование выполнялось через 24 часа, на 5, 10 и 20 сутки после термической травмы. Скорость эпителизации (VS) рассчитывалась по формуле:

$$VS = S - S_n / t, \quad (3)$$

где S - начальная площадь раны (в дальнейшем площадь при предыдущем измерении); S_n - площадь при последующем измерении; t - число дней между

измерениями [5]. Площадь ожоговой раны в последующих измерениях определяли в %, принимая за 100% площадь раны при предыдущем измерении, результат выражали в % за сутки.

Для гистологических и морфометрических исследований материал забирали так, чтобы в поле зрения попадал участок поврежденной кожи и соседний неповрежденный участок, маркировали и фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина, обезвоживали, обезжировали и заливали в парафин. С парафиновых блоков готовились гистологические срезы толщиной 5-7 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином («Biovitrum», Россия). Микроскопические исследования проводили на микроскопе «DMRXA» («Leika», Германия). Анализ препаратов производится с помощью компьютерной программы «ImageScore M» (Германия), совмещенной с микроскопом, при увеличении $\times 100$ и $\times 400$. Оценивали глубину повреждения кожи, реакцию сосудистого русла, наличие и состав клеточного инфильтрата, сроки появления в ране грануляционной ткани, сроки эпителизации раны. Определяли следующие морфометрические показатели в расчете на мм^2 : количество фибробластов, нейтрофилов, гистиоцитов, лимфоцитов.

Оценка тучных клеток. Проводилось окрашивание срезов толуидиновым синим ($\text{pH} = 2,0$) («Biovitrum», Россия) и подсчет общего количества тучных клеток (ед./мм^2), количества клеток в разной степени дегрануляции: I степень (1-2 гранулы за пределами клетки), II степень (3-10 гранул за пределами клетки), III степень (больше 10 гранул за пределами клетки); средней яркости тучных клеток, вычисление коэффициента дегрануляции тучных клеток, представляющего отношение количества дегранулированных тучных клеток к общему количеству мастоцитов, подсчитанных в 10 случайных полях зрения препарата [38].

Оценка содержания MMP-9 и VEGF в ожоговой ране проводилась иммуногистохимическим методом с использованием специфических первичных антител – поликлональные антитела к MMP-9 крысы (host – rabbit, каталожный номер PAA553Ra01 «Cloud-Clone Corp.», Китай) и поликлональные антитела к VEGF крысы (host – rabbit, каталожный номер PAA143Ra01 «Cloud-Clone Corp.», Китай) и полимерная система детекции «Rabbit HRP/DAB Detection IHC Detection

Kit» («Abcam», Латвия). В качестве субстрата/хромогена для визуализации полимерного комплекса в системе использован диаминобензидин.

Гистологические срезы толщиной 5 мкм наклеивались на высокоадгезивные стекла с положительно заряженной поверхностью SuperFrostPlus («Appexlab», Китай). Срезы депарафинировались, доводились до дистиллированной воды, демаскировались в цитратном буфере 0,01 М рН 6,0 на водяной бане при слабом кипении 93°C в течение 30 минут, промывались в дистилляте 5 минут. Обработку ингибитором эндогенной пероксидазы проводили, инкубируя при комнатной температуре в течение 10 минут в PeroxidBlock. Затем промывали трис-буфером 2 раза по 3 минуты. Наносился ProteinBlock для блокировки неспецифических сайтов связывания с последующей инкубацией при комнатной температуре 10 минут, промывали трис-буфером 3 раза по 3 минуты. Затем на срезы наносили первичные поливалентные антитела с последующей инкубацией при температуре 37°C в течение 30 минут, промывали трис-буфером 3 раза по 3 минуты. Наносили HRP-полимерный конъюгат вторичных антител с последующей инкубацией при комнатной температуре в течение 15 минут, промывали трис-буфером 3 раза по 3 минуты. Наносили на срезы раствор 0,03 мл DAB-хромогена с 1,5 мл DAB-субстрата, с последующей инкубацией при комнатной температуре в течение 5 минут, промывали дистиллированной водой. Докрашивание ядер проводили гематоксилином («Biovitrum», Россия). После проведения окраски срезы подвергали дегидратации и помещали под покровное стекло.

Для проведения анализа препаратов использовалась компьютерная программа «ImageScore M», 2008 г. (Германия), совмещенная с микроскопом при увеличении x400 в 10 случайно отобранных полях зрения в каждом препарате. Определялась относительная площадь MMP-9 и VEGF – положительно окрашенных структур и оценивалась интенсивность окраски. Все препараты были разделены на группы:

- 1 группа – максимальная интенсивность окраски – 3 балла;
- 2 группа – средняя интенсивность окраски – 2 балла;
- 3 группа – слабая интенсивность окраски – 1 балл.

Интегральный показатель содержания MMP-9 и VEGF определялся как произведение относительной площади окрашенных структур на интенсивность окраски в баллах. Результат выражался в условных единицах (у.е.) [1, 38].

2.2.5 Фармацевтические методы

Для создания ДП экспериментально подобраны вспомогательные вещества и их концентрация с учетом влияния на свойства лекарственной формы и фармацевтико-технологические показатели качества (таблица 2). Для обоснования состава проводился отбор пленкообразователей и пластификаторов, способных сформировать ДП-матрицу без МТ и ДП с МТ. В таблице 3 представлены модельные смеси формообразователей и вспомогательных веществ. При получении ДП-матрицы без МТ и ДП с МТ использовали метод полива пленочной массы в форму. Гомогенизацию пленочной массы проводили механически, сушку пленок – при комнатной температуре в течение 48 ч в асептических условиях. При выборе пленочной композиции приоритетными являлись простота состава, соответствие фармацевтико-технологическим параметрам, прочность на разрыв, адгезия, стабильность и микробиологическая чистота при хранении. Оценивались однородность, отсутствие механических включений, легкость снятия. В соответствии с нормативными документами проводили фармацевтико-технологические, биофармацевтические и фармацевтические исследования.

Фармацевтико-технологические испытания проводили в соответствии с общей фармакопейной статьёй (ОФС).1.4.1.0035.18 «Пленки» по показателям: описание, размеры пленки, однородность массы (в соответствии с ОФС «Однородность дозированных лекарственных форм»), распадаемость, растворение (в соответствии с ОФС «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм»), потеря в массе при высушивании, рН, однородность дозирования, микробиологическая чистота.

Осмотическую активность пленки определяли методом диализа через полупроницаемую мембрану, в качестве которой использовали целлофан

толщиной 45 мкм. Методика испытания: 1 единицу лекарственной формы помещали в диализную трубку диаметром 20 мм, дном которого служила целлофановая пленка (марка и толщина мембраны во всех опытах была одинаковой). Предварительно целлофановую пленку замачивали в воде очищенной в течение 24 часов. Цилиндр опускали в сосуд с 50 мл воды очищенной на 2-3 мм. Полученную систему помещали в термостат при 36-37 °С. Цилиндр с образцом и мембраной взвешивали до начала опыта, а затем через каждый час. Количество абсорбированной воды выражали в процентах относительно первоначальной массы [9].

Таблица 2 - Активные и вспомогательные вещества ДП

Наименование	Нормативный документ
Активные вещества	
Мелатонин	№ серии 0019001512, ФЛАММА С.П.А., Италия
Мелатонин (стандартный образец)	BRP, European Pharmacopoeia
Вспомогательные вещества	
Полиэтиленгликоль 400 (ПЭГ-400)	Clariant (Германия), Deg 4246150
Поливинилпирролидон (ПВП)	BioChemica (Германия), 9003-39-8
Поливиниловый спирт (ПВС)	ГОСТ 10779-78
Натрий-карбоксиметилцеллюлоза (NaКМЦ)	ТУ 2231-034-79249837-2006
Гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ)	Sigma-aldrich (США), 9004-65-3
Желатин	ГОСТ 11293-2017
Глицерин	ФС.2.2.0006.15
Вода очищенная	ФС.2.2.0020.18
Полисорбат 80	ФС 42-3072-00
Спирт этиловый 95%	ФС.2.1.0036.15

Определение адсорбционной активности пленки. Одну единицу лекарственной формы помещали в колбу с притертой пробкой вместимостью 200-250 мл. Прибавляли цилиндром 100 мл раствора метиленового синего с концентрацией 0,01% и перемешивали на шейкере с орбитальным типом вращения при числе колебаний не менее 120 в минуту в течение часа. Содержимое колбы фильтровали через беззольный фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата. 5 мл полученных испытуемого и контрольного растворов метиленового синего помещали в мерные колбы вместимостью 100 мл, доводили объем до метки водой

очищенной и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 667 ± 2 нм в кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную [36, 42].

Таблица 3 – Модельные смеси формообразователей и вспомогательных веществ на 100 мл поливочной массы

Состав	NaКМЦ	ГПМЦ	ПВС	Желатин	Глицерин	ПЭГ-400	ПВП	Полисорбат-80	Воды до
1	3,0								100
2		3,0							100
3			3,0						100
4				5,0					100
5	4,0				5,0				100
6		3,0			5,0				100
7			4,0		5,0				100
8				5,0	5,0				100
9	4,0					5,0			100
10		3,0				3,0			100
11			3,0			3,0			100
12				5,0		3,0			100
13	3,0				1,0		1,0		100
14		3,0			1,0		1,0		100
15			3,0		1,0		1,0		100
16				5,0	1,0		1,0		100
17	3,0							1,0	100
18		3,0						1,0	100
19			3,0					1,0	100
20				3,0				1,0	100

Определение толщины пленки. Толщину ДП измеряли с помощью микрометра (МК 50, ГОСТ 6507) в центре и по краям в трех точках.

Определение адгезивной способности пленки. Для оценки адгезивной способности ДП помещали на обезжиренную горизонтальную поверхность и накрывали стеклом заданной площади, чтобы между ДП и стеклом не было воздуха. Для придавливания к стеклу ДП воздействовали грузом массой 50 г в течение 30 мин. Стекло с помощью рычажного механизма соединено с чашей весов, на которую последовательно помещали грузы различной массы.

Фиксировали массу, при которой происходил отрыв стекла от ДП. Адгезию выражали в Па. Расчеты проводили по формуле:

$$P = mg/S, \quad (3)$$

где m – масса груза, кг; g – ускорение свободного падения, м/с²; S – площадь ДП, м²[36].

Определение механической прочности пленки на разрыв. Прочность на разрыв определяли путем растяжения ДП размером 1,0 x 5,0 см, закрепленной между двумя зажимами, с помощью груза, прикрепленного к краю зажима на чаше весов. Фиксировали массу груза в момент разрыва ДП. Прочность на разрыв оценивали в кПа. Расчеты проводили по формуле:

$$P = mg/S, \quad (4)$$

где m – масса груза, кг; g – ускорение свободного падения, м/с²; S – площадь ДП, м²[36].

Биофармацевтические исследования оценивали в тесте «Растворение для твердых лекарственных форм». Оценку высвобождения МТ проводили спектрофотометрически. ДП массой около 2 г (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 30 мл воды и доводили буферным раствором с рН 4,5 (рН 6,8) до метки. Оставляли в термостате на 15 (30, 45, 60) минут при постоянном перемешивании (50 об/мин). По 8 мл полученных растворов количественно переносили в мерные колбы вместимостью 25 мл. Перемешивали, доводили до метки спиртом этиловым 95% и через 30 минут измеряли оптическую плотность при длине волны 278±2 нм в кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм. Расчеты содержания МТ проводили по формуле, результаты выражали в г:

$$g = \frac{A_x \times a_{ст} \times W_1 \times W_2 \times V_{ст} \times V_{ст1}}{A_{ст} \times a_x \times V_x \times W_3 \times W_4 \times W_5}, \quad (5)$$

где A_x и $A_{ст}$ – оптическая плотность исследуемого раствора и раствора сравнения, соответственно; a_x и $a_{ст}$ – навеска ДП с МТ и стандартного образца, соответственно; W_1, W_2, W_3, W_4, W_5 – мерные колбы; $V_x, V_{ст}, V_{ст1}$ – объем аликвоты [36].

Идентификацию МТ в пленке проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе растворителей этилацетат-гексан 1:3. Для этого

1 пленку растворяли в смеси 5 мл воды очищенной и 20 мл спирта в течение 15 минут, затем фильтровали. Полученный раствор (0,5 мкл) наносили на линию старта хроматографической пластинки «Сорбфил», снабженной УФ – детектором. После высушивания пластинку помещали в камеру, предварительно насыщенную системой растворителей этилацетат-гексан 1:3. После того как растворитель достигал линии финиша, пластинку вынимали, высушивали и просматривали в УФ-свете. На хроматограмме должна обнаруживаться одна зона адсорбции, которая по величине R_f соответствует стандартному образцу МТ.

Количественное определение МТ в пленке проводили методом УФ-спектрофотометрии. Около 2 г ДП (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 5 мл воды очищенной, выдерживали 10 минут, а затем взбалтывали с 10 мл спирта этилового 95% в течение 15 минут. Доводили спиртом этиловым 95% до метки, перемешивали и фильтровали, отбрасывая первые порции фильтрата. 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили спиртом этиловым 95% до метки, перемешивали и измеряли оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм при длине волны 278 ± 2 нм. Параллельно проводили такое же определение с раствором стандартного образца МТ. Для этого около 0,01 г (точная навеска МТ) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в смеси 5 мл воды и 10 мл спирта этилового 95% и доводили спиртом до метки. Перемешивали. 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу, доводили спиртом этиловым 95% до метки и перемешивали.

Предложена методика получения ДП с МТ (рисунок 6). Готовят 4% водный раствор формообразователя. В химическом стакане предварительно замачивают NaКМЦ во всем объеме воды, оставляют на 3 часа для набухания. Полученный раствор гомогенизируют до исчезновения комочков при нагревании. После набухания полимера и получения однородной массы для пластификации пленочной основы вводят 5,0 г глицерина, 0,5 г МТ растворяют в 10 мл спирта этилового 95% и полученный раствор вливают тонкой струйкой в горячий раствор формообразователя и тщательно перемешивают 5 минут. Массу оставляют на 30

минут при комнатной температуре для удаления воздуха. Поливочный раствор разливают на сухие, обезжиренные спиртом этиловым и предварительно взвешенные стерильные подложки. Подложки заполняют поливочным раствором. Высота поливочного слоя 5 мм. Полученная ДП легко снимается, не имеет трещин, пузырьков, эластична. Размер ДП зависит от области поражения, нами использованы ДП площадью 12 см². Концентрация МТ в ДП составляет 5 мг/г. Масса одной ДП составляет 6,0 г, содержание МТ 0,03 г. Методика получения ДП-матрицы без МТ аналогична, но исключается введение МТ.

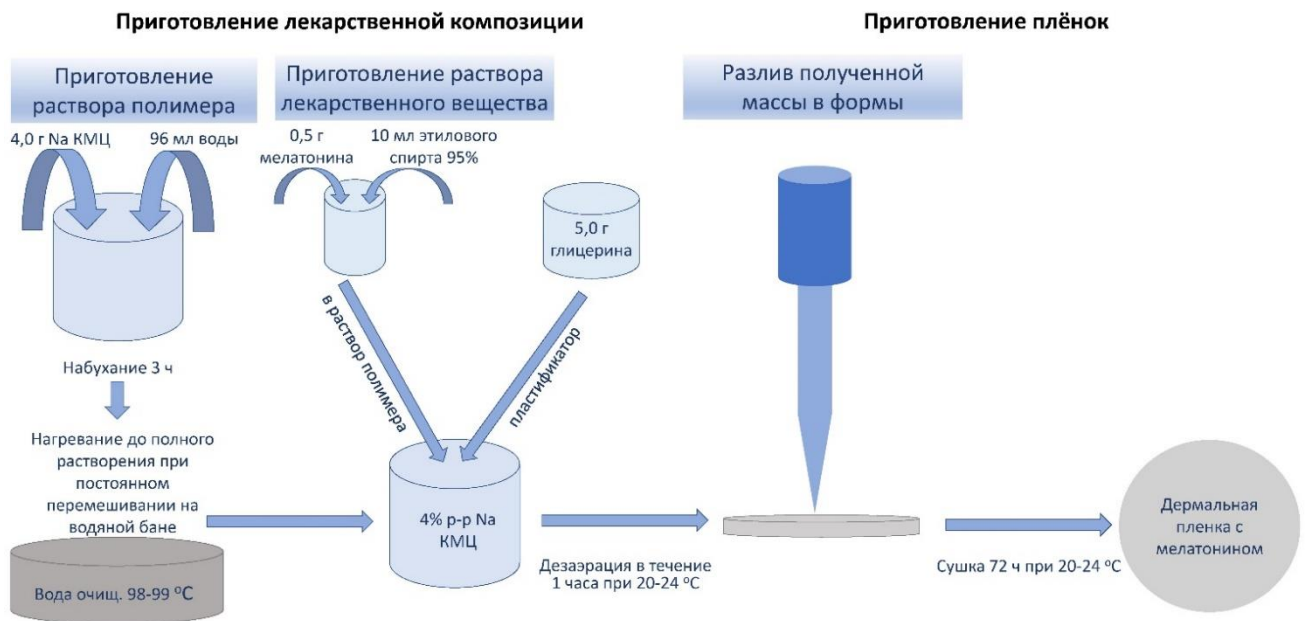


Рисунок 6 – Методика получения ДП с МТ

2.2.6 Методы статистической обработки результатов

Полученные результаты обрабатывали на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 19. Характеристика выборок представлена в формате «Me (Q₂₅ – Q₇₅)», где Me - медиана, Q₂₅, Q₇₅ – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно, при фармацевтических исследованиях в формате M±m, где M – среднее арифметическое, m – ошибка средней. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев (Манна-Уитни, Вальда-Вольфовитца, Краскела-Уоллиса). С целью выявления взаимосвязей между исследуемыми параметрами использовали

коэффициент корреляции Спирмена (R). Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ с учётом поправки Бонферрони.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Изменения гомеостаза в динамике экспериментальной термической травме

3.1.1 Показатели репарации, морфологии, активности тучных клеток, экспрессии MMP-9 и VEGF в очаге повреждения

В динамике ТТ на 10 сутки наблюдения по сравнению с 5 сутками уменьшаются абсолютная площадь и относительная площадь раневого дефекта, что приводит к увеличению расчетных показателей скорости эпителизации раны и доли уменьшения ее площади (таблица 4). На 20 сутки эксперимента абсолютная площадь ожога уменьшается по сравнению с 5 и 10 сутками, относительная площадь ожога уменьшается по сравнению с 5 сутками наблюдения, что сопровождается увеличением скорости эпителизации раны и доли уменьшения ее площади по сравнению с 5 и 10 сутками. Отметим, что площадь раневого дефекта к 20 суткам экспериментальной ТТ уменьшилась по медиане на 37% [19].

При макроскопическом анализе ожог сразу после нанесения имел равномерную округлую форму красного цвета по всей площади.

Таблица 4 – Показатели репарации ожоговой раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 2 ТТ + АсП		
	5 сутки (n=16)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=16)
Площадь ожога, см ²	11,66 (11,50; 11,94)	9,48 (9,28; 9,93) *	7,59 (7,23; 7,84) * **
Относительная площадь, %	3,34 (3,25; 3,39)	3,17 (3,10; 3,29)	2,99 (2,94; 3,12) *
Скорость эпителизации, % / сутки	0,89 (0,86; 0,89)	1,90 (1,88; 1,95) *	2,26 (2,14; 2,55) * **
Уменьшение площади раны, %	2,61 (2,59; 2,64)	3,68 (3,53; 4,23) *	11,49 (11,43; 11,64) * **
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 2 на 5 сутки, ** – с группой 2 на 10 сутки.			

На 5 сутки ТТ при гистологическом исследовании определяется некроз эпидермиса и слоев дермы до сосочкового слоя (рисунок 7, А). Сосочки дермы сглажены, эпидермис истончен с вытянутыми гиперхромными ядрами клеток базального слоя в виде «метелок» и «щеток» (рисунок 7, Б). В соединительной ткани дермы волокна уплотнены, гомогенизированы, базофильны, ядра клеток уменьшены в объеме, штрихообразные, гиперхромные, аналогично переориентированы ядра клеток волосяных фолликулов и адвентиции сосудов (рисунок 7, В). В перифокальных зонах во всех слоях кожи паретическое венозное и капиллярное полнокровие, мелкие диапедезные кровоизлияния, эритро- и лейкостаз, сладж эритроцитов. Отек межучной ткани с перифокальным клеточным валом, отграничивающим зону некроза от неповрежденной кожи (рисунок 7, Г). Клеточный инфильтрат распространяется в гиподерму, преобладают нейтрофилы, лимфоциты, меньше макрофагов и плазмоцитов (рисунок 7, Е). В средних слоях дермы видны участки пролиферации фибробластов, складывающихся в пучки и тяжи (рисунок 7, Д). Эпителизация слабая с гиперплазией клеток базального слоя сохранившегося эпидермиса с пролиферацией под струп (рисунок 7, Д).

На 10 сутки ТТ определяется некроз эпидермиса и слоев дермы до сосочкового слоя (рисунок 8, А). Эпидермис истончен, ядра его вытянуты, переориентированы в виде «метелок» и «щеток» (рисунок 8, Б). Соединительно-тканые волокна дермы уплотнены, гомогенизированы, участки метахромазии от бледно-розовых до насыщенно фиолетовых. В гиподерме отек межучной ткани, скопления экссудата (рисунок 8, В). В просветах сосудов тромбы из компактных эритроцитов. В гиподерме прослеживается вал из нейтрофилов и лимфоцитов, отграничивающих зону некроза, множественные диффузно-рассеянные очаги макрофагальной инфильтрации (рисунок 8, Г). В собственно дерме участки пролиферации фибробластов, складывающихся в пучки и тяжи параллельно поверхности кожи (рисунок 8, Д). Пролиферирующие клетки базального слоя прорастают под ожоговый струп (рисунок 8, Е).

На 20 сутки струп неплотно связан с подлежащими тканями с бесструктурными мелкозернистыми массами, скоплением лейкоцитов и очертаниями придатков кожи (рисунок 9, А). Под струпом определяется незрелый рубец в виде компактно упакованных плотных, малоизвитых волокон (рисунок 9, Б) с множественными очагами нейтрофильно-лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации. Пролиферирующие фибробласты формируют тяжи и пучки параллельно поверхности кожи. Новообразованные сосуды немногочисленны с эндотелиальной выстилкой и дифференцированными стенками. В гиподерме умеренный отек и разволокнение межучочной ткани с полями макрофагальной и лимфоцитарной инфильтрации (рисунок 9, В). Пролиферация клеток базального слоя эпидермиса с распространением под ожоговый струп (рисунок 9, Д).

Проведена морфометрическая оценка клеточного состава инфильтрата в очаге ТТ (таблица 5). В динамике ТТ количество нейтрофилов на 10 сутки не отличалось от значений на 5 сутки, на 20 сутки было значимо ниже, чем на 5 и 10 сутки. Количество лимфоцитов в очаге на 10 сутки было значимо ниже, чем на 5 сутки ТТ, а на 20 сутки – значимо выше, чем на 5 и 10 сутки наблюдения. Количество гистиоцитов на 10 сутки было значимо выше, чем на 5 сутки ТТ, а на 20 сутки значимо выше, чем на 5 и 10 сутки наблюдения. Количество фибробластов на 10 сутки было значимо выше, чем на 5 сутки ТТ, а на 20 сутки было значимо выше, чем на 5 и 10 сутки наблюдения.

Таблица 5 – Морфометрические показатели в очаге повреждения кожи при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 2 ТТ+АсП		
	5 сутки (n=16)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=16)
Нейтрофилы, ед./мм ²	1184,7 (1080,0; 1320,0)	1117,7 (1020,0; 1240,0)	120,0 (100,0; 60,0) * **
Лимфоциты, ед./мм ²	282,3 (220,0; 340,0)	131,5 (100,0; 160,0) *	326,9 (260,0; 380,0) * **
Фибробласты, ед./мм ²	140,9 (100,0; 160,0)	113,1 (80,0; 140,0)	840,8 (700,0; 940,0) * **
Гистиоциты, ед./мм ²	366,9 (320,0; 420,0)	569,2 (440,0; 640,0) *	667,7 (600,0; 740,0) * **
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 2 на 5 сутки, ** – с группой 2 на 10 сутки.			

Итак, при ТТ зафиксированы известные морфологические закономерности и динамика смены клеточного состава при воспалительном процессе: нейтрофильная инфильтрация максимально выражена на 5-10 сутки, снижается к 20 суткам [96, 190]. Максимальное представительство лимфоцитов и гистиоцитов, создающих необходимые условия для переключения сосудисто-экссудативных реакций на пролиферативные, наблюдается на 20 сутки ТТ. В это же время фиксируется максимальное представительство фибробластов, участвующих в синтезе межклеточного матрикса соединительной ткани. Необходимо отметить однородность глубины повреждения кожи при использовании данной модели с горячей водой.

Для изучения роли тучных клеток в патофизиологии раневого процесса при ТТ проведена оценка их представительства и активности по интенсивности дегрануляции в ожоговой ране (таблица 6). На 5 сутки в ожоговой ране общее количество тучных клеток увеличивается на 43% по медиане, что может быть связано с активной миграцией базофилов из кровотока в очаг повреждения. Возрастает количество дегранулированных клеток: с I степенью – в 3 раза, со II степенью – в 4 раза, с III степенью – в 10 раз, коэффициент дегрануляции возрастает в 3,5 раза по медиане относительно группы интактных животных. Многие тучные клетки (преимущественно с III степенью дегрануляции) имели вид «теней» за счет утраченной зернистости, что нашло отражение в уменьшении яркости клеток.

На 10 сутки ТТ общее количество тучных клеток возросло еще значительно, чем на 5 сутки и было на 72 % больше по медиане, чем в группе интактных. Количество тучных клеток с I и II степенью дегрануляции возросло примерно в 3 раза, с III степенью – примерно в 10 раз, коэффициент дегрануляции возрос в 2,5 раза по медиане относительно группы интактных. Средняя яркость клеток уменьшалась примерно в 2 раза. К 20 суткам ТТ общее количество тучных клеток было максимальным за все время наблюдения: в 1,7 раза больше, чем у интактных, количество дегранулированных клеток и клеток с I и III степенью дегрануляции, коэффициент дегрануляции значительно возросли, а средняя яркость клеток уменьшалась относительно значений у интактных животных.

В динамике ТТ максимальное общее количество тучных клеток, количество дегранулированных тучных клеток и количество клеток с I степенью дегрануляции было максимальным на 20 сутки, количество клеток со II степенью дегрануляции – на 5 сутки, с III степенью дегрануляции – на 5 и 10 сутки, максимальное значение коэффициента дегрануляции – на 5 сутки, а минимальная яркость – на 10 и 20 сутки. Итак, максимальное количество тучных клеток зарегистрировано на 20 сутки ТТ, максимальная дегрануляция – на 5 и 10 сутки ТТ.

Таблица 6 – Количественный состав и функциональная характеристика тучных клеток в очаге повреждения при ТТ (Me (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=8)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=9)	10 сутки (n=9)	20 сутки (n=9)
Общее количество клеток, ед./мм ²	166,87 (160,91; 172,82)	238,38 (226,46; 238,38) *	286,05 (274,14; 286,05) * #	441,00 (441,00; 452,92) * # ##
Количество дегр. клеток, ед./мм ²	35,76 (35,76; 41,72)	178,78 (166,87; 178,78) *	166,87 (154,95; 178,78) *	214,54 (202,62; 214,54) * # ##
Количество дегр. клеток I ст., ед./мм ²	23,84 (11,92; 29,79)	83,43 (71,51; 83,43) *	59,59 (47,68; 71,51) * #	178,78 (178,78; 178,78) * # ##
Количество дегр. клеток II ст., ед./мм ²	11,92 (0; 17,88)	47,68 (35,76; 47,68) *	35,76 (35,76; 47,68) * #	11,92 (11,92; 11,92) # ##
Количество дегр. клеток III ст., ед./мм ²	5,96 (0; 11,92)	59,59 (47,68; 59,59) *	59,59 (59,59; 83,43) *	11,92 (11,92; 11,92) # ##
Коэффициент дегрануляции клеток, у.е.	0,22 (0,21; 0,26)	0,75 (0,73; 0,76) *	0,59 (0,56; 0,63) * #	0,49 (0,49; 0,49) * # ##
Яркость клеток средняя, у.е.	79,51 (73,14; 83,76)	57,14 (51,36; 64,76) *	33,83 (33,67; 39,22) * #	37,69 (37,69; 39,33) * #
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки, ## – с группой 2 на 10 сутки.				

Далее проведена оценка экспрессии MMP-9 и VEGF в ожоговой ране в динамике ТТ (таблица 7). На 5, 10 и 20 сутки ТТ значительно повышается экспрессия VEGF, на 10 и 20 сутки ТТ – экспрессия MMP-9. В динамике ТТ экспрессия VEGF на 10 сутки больше, чем на 5 сутки, а на 20 сутки больше, чем на 5 и 10 сутки;

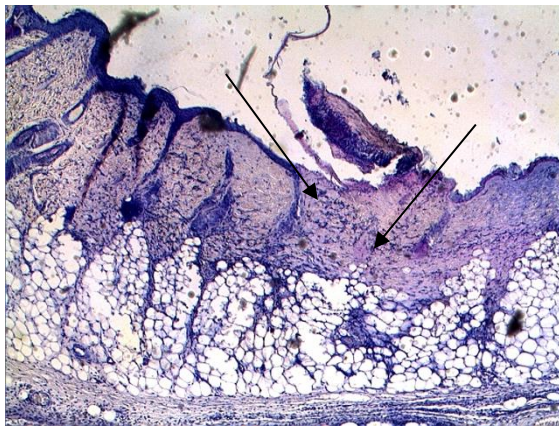
экспрессия MMP-9 на 10 и 20 сутки больше, чем на 5 сутки. Тучные клетки могут быть источником MMP-9 и VEGF – факторов, обеспечивающих эффективную репарацию в очаге ТТ. Нами проведена корреляция между коэффициентом дегрануляции и экспрессией MMP-9 и VEGF в ране (таблица 8). Выявлена на 10 сутки ТТ прямая средней силы значимая связь, на 20 сутки ТТ – прямая значимая слабая связь коэффициента дегрануляции с экспрессией MMP-9, на 10 сутки – прямая значимая слабая связь с экспрессией VEGF.

Таблица 7 – Иммуногистохимические показатели в ожоговой ране при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

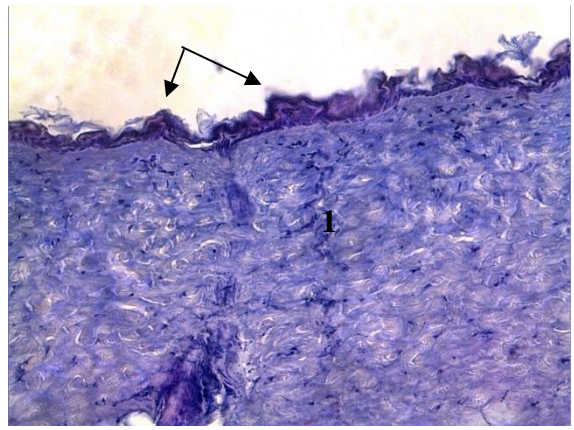
Показатели	Группа 1 Интактные (n=7)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)
VEGF, ед./мм ²	3,30 (2,90; 3,50)	25,05 (23,35; 28,30) *	35,50 (33,40; 38,10) * #	25,80 (22,30; 27,90) * ##
MMP-9, ед./мм ²	2,50 (2,10; 2,90)	2,85 (2,45; 3,05)	11,90 (10,80; 14,10) * #	12,40 (12,20; 12,90) * #
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки, ## – с группой 2 на 10 сутки.				

Таблица 8 – Корреляция между коэффициентом дегрануляции тучных клеток и иммуногистохимическими показателями в ожоговой ране при ТТ

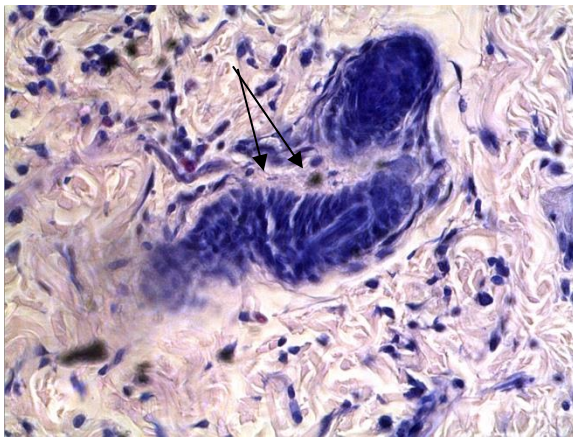
Показатели	5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)
VEGF, ед./мм ²	0,26	0,37	0,31
MMP-9, ед./мм ²	0,23	0,64	0,37
Примечание. Приведены значения коэффициента корреляции Спирмена. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые (p<0,05) связи.			



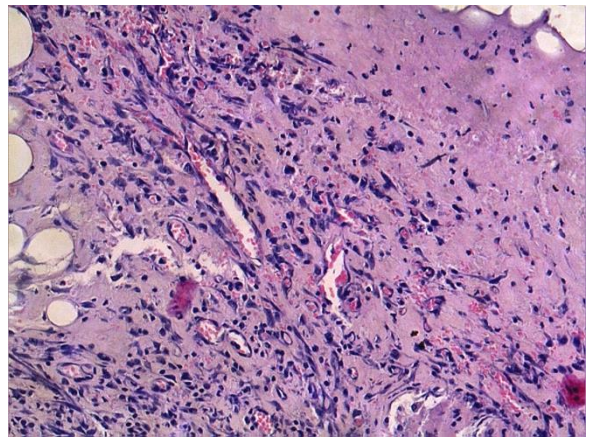
А



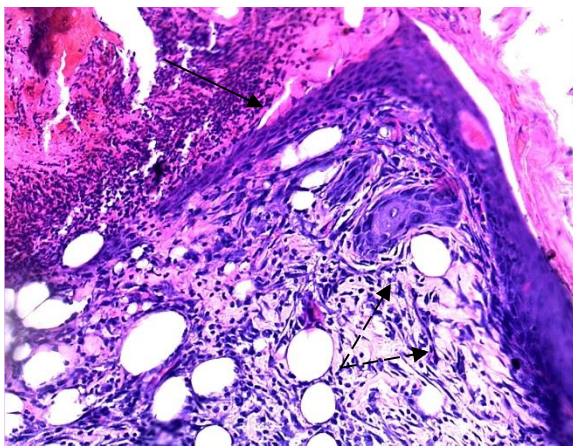
Б



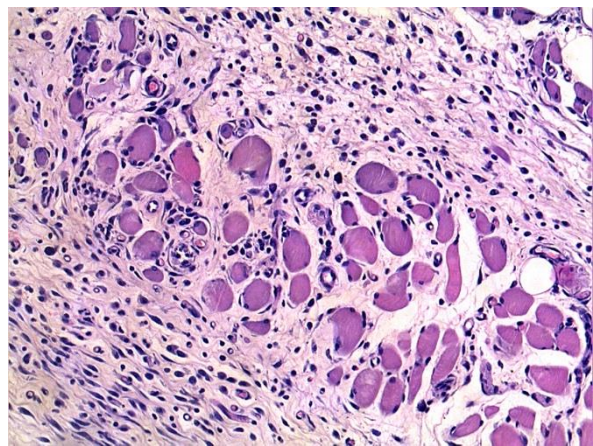
В



Г



Д



Е

Рисунок 7 – Морфологические изменения в коже на 5 сутки ТТ. Окраска гематоксилин-эозин. А – некроз эпидермиса и дермы (стрелки), отек жировой ткани в гиподерме, ув. х 50; Б – утрата извитости, гомогенизация, уплотнение и базофилия соединительно-тканых волокон дермы (1), вытяжение и переориентировка ядер клеток базального слоя эпидермиса в виде фигур «метелок» и «щеток» (стрелки), ув. х 200; В – вытяжение и переориентировка ядер клеток волосяных фолликулов (стрелки), ув. х 400; Г – perifokальная зона: эпидермис отсутствует, в поверхностных слоях дермы паретическое венозное и капиллярное полнокровие с картиной периваскулярных диапедезных кровоизлияний, ув. х 200; Д – начальные явления пролиферации эпидермиса (сплошная стрелка), распространяющегося под ожоговый струп; пролиферация фибробластов в виде пучков (пунктирные стрелки), ув. х 200; Е – perifokальная зона: в гиподерме – отек межклеточной ткани и диффузная нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация, ув. х 200

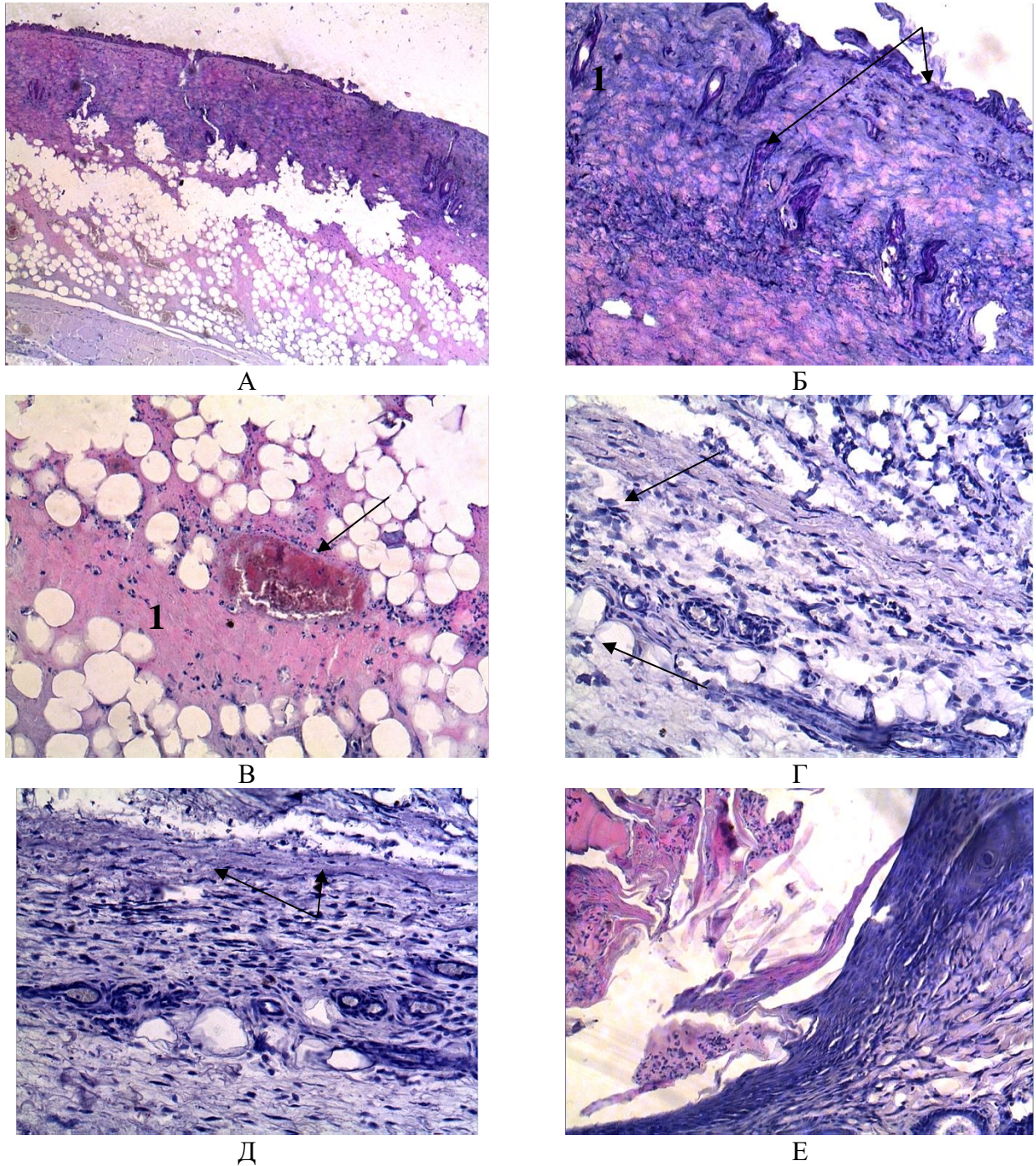


Рисунок 8 – Морфологические изменения в коже на 10 сутки ТТ. Окраска гематоксилин-эозин. А – очаг некроза, выраженный отек гиподермы, ув. х 50; Б – гомогенизация, уплотнение и метахромазия соединительно-тканых волокон дермы (1), вытяжение и переориентировка ядер клеток базального слоя эпидермиса и адвентиции сосудов в виде фигур «метелок» и «щеток» (стрелки), ув. х 200; В – экссудат в гиподерме (1), эритроцитарный тромб (стрелка) в сосуде среднего калибра, ув. х200; Г – perifокальная зона в глубоких слоях кожи: очаговая нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация и скопления макрофагов (стрелки), ув. х 200; Д – perifокальная зона в дерме: тяжи пролиферирующих юных фибробластов (стрелки), ув. х200; Е – perifокальная зона: начальные явления пролиферации эпидермиса под ожоговый струп, ув. х 200

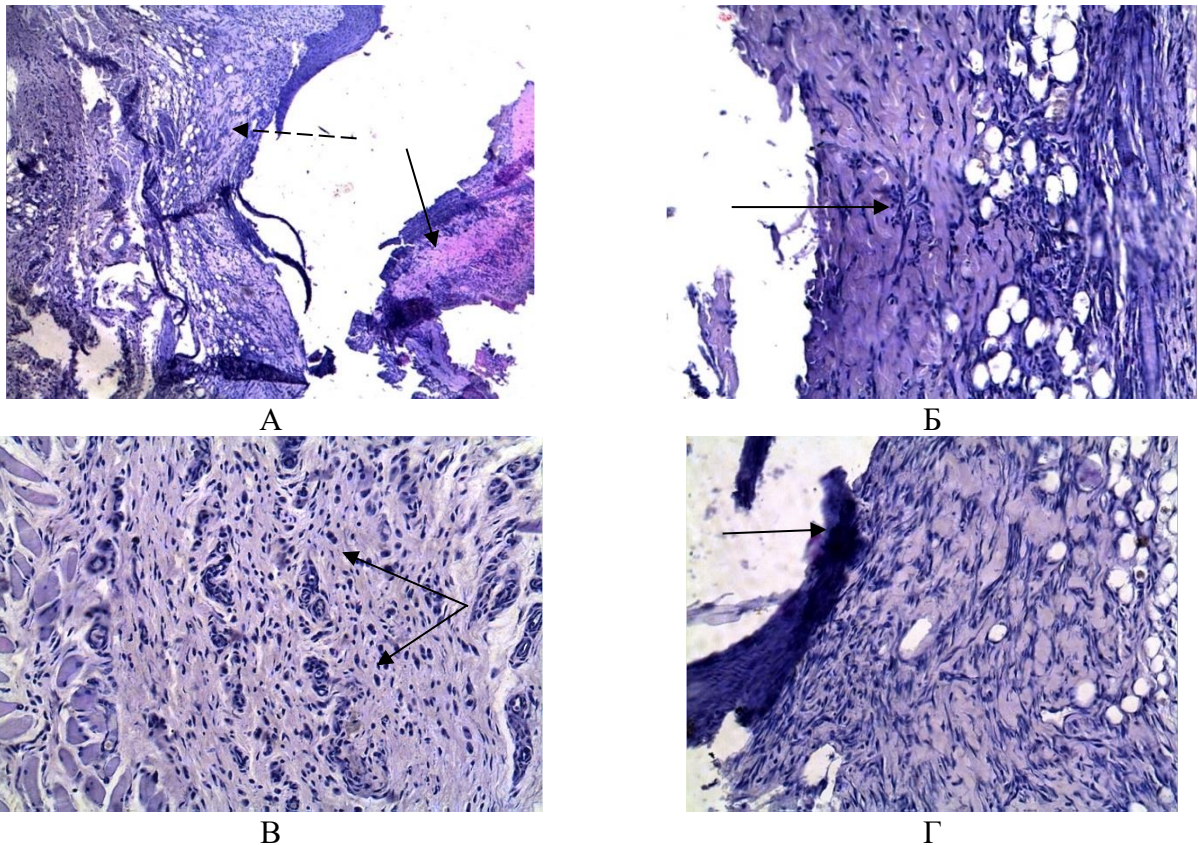


Рисунок 9 – Морфологические изменения в коже на 20 сутки ТТ. Окраска гематоксилин-эозин. А – ожоговый струп (сплошная стрелка) отслаивается от формирующейся рубцовой ткани (пунктирная стрелка), ув. х 50; Б – плотно упакованные соединительно-тканые волокна (стрелка) незрелой рубцовой ткани, ув. х 200; В – в гиподерме разрыхление и отек межучточной ткани, очаговая макрофагальная и лимфоцитарная инфильтрация (стрелки), ув. х 200; Г – пролиферация эпидермиса (стрелка) под ожоговый струп, ув. х 200

Активность тучных клеток, экспрессия в очаге ТТ MMP-9 и VEGF имеют значение в заживлении ожоговой раны, а также системных проявлениях после ТТ. Нами с использованием корреляционного анализа между абсолютной площадью раневого дефекта кожи и коэффициентом дегрануляции тучных клеток установлена обратная слабая связь на 5 сутки, средней силы обратная связь – на 10 и 20 сутки, с экспрессией MMP-9 обратная слабая связь на 10 сутки и средней силы обратная связь на 20 сутки (таблица 9). На 10 сутки выявлена обратная значимая слабая связь абсолютной площади раневого дефекта кожи с экспрессией VEGF, не обнаружено значимой корреляции между абсолютной площадью раневого дефекта и экспрессией VEGF на 5 и 20 сутки, экспрессией MMP-9 на 5 сутки.

Таблица 9 – Корреляция между абсолютной площадью ожоговой раны и экспрессией VEGF и MMP-9, коэффициентом дегрануляции тучных клеток в очаге повреждения при экспериментальной ТТ

Показатели	5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)
VEGF, ед./мм ²	- 0,13	- 0,37	0,17
MMP-9, ед./мм ²	- 0,31	- 0,47	- 0,54
Коэффициент дегрануляции тучных клеток, у.е.	- 0,37	- 0,51	- 0,64
Примечание. Приведены значения коэффициента корреляции Спирмена. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые (p<0,05) связи.			

Источником MMP-9 являются активированные нейтрофилы, тучные и др. клетки. MMP-9 участвует в деструкции внеклеточного матрикса, особенно коллагенов IV и V типов, повышении сосудистой проницаемости, хемотаксисе нейтрофилов, активации и инактивации аутокоидов и готовит плацдарм для репаративных реакций, успешной эпителизации, ингибируется тканевым ингибитором протеиназ-1 (TIMP-1), альфа-1-антихимотрипсином [187]. Избыточная экспрессия MMP-9 при хроническом раневом процессе разрушает внеклеточный матрикс, ингибирует активность факторов роста и ограничивает репарацию [166]. MMP-9 отражает количественное представительство и активность преимущественно нейтрофилов и макрофагов в очаге. Приводят данные о том, что нокаутирование гена или инактивация MMP-9 ускоряет заживление ран [330]. Невысокая активность MMP-9 при остром раневом процессе обусловлена ее блокадой альфа-1-антихимотрипсином.

VEGF (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D), прежде всего VEGF-A, в очаге ТТ продуцируется кератиноцитами, тучными клетками, моноцитами/макрофагами, активированными фибробластами; рецепторы для VEGF-A обнаружены на эндотелиоцитах, фибробластах и др. клетках [167]. VEGF регулирует ангиогенез, синтез коллагена, формирование рубца после ТТ. Механизм данного эффекта VEGF может быть связан с прямой активацией миграции, пролиферации и синтеза коллагена фибробластами и/или косвенной активацией эндотелиоцитов,

нейтрофилов, макрофагов, тучных клеток с продукцией профиброгенных медиаторов [332, 333].

По мнению ряда исследователей, на репарацию в очаге ТТ оказывает влияние редокс-статус ожоговой раны. Так, в эксперименте у мышей заживление ТТ кожи зависело от экспрессии iNOS, миелопероксидазы, содержания глутатиона [97]. В связи с этим, на следующем этапе проведена оценка редокс-статуса ожоговой раны.

3.1.2 Динамика изменений показателей свободно-радикального окисления в ожоговой ране

Выраженность окислительного стресса по содержанию продуктов ПОЛ и ключевых антиоксидантов позволяет оценивать тяжесть ТТ и эффективность проводимой терапии, является прогностическим маркером [15]. Несомненный интерес представляет обнаружение альдегид- или кетонсодержащих карбонильных производных белков (продуктов ОМБ) как маркеров окислительного стресса и эффективности применения антиоксидантов [147]. Следует отметить определенные технические сложности получения однородной суспензии ожоговой раны, в связи с чем применяли этапную гомогенизацию тщательно отмытых от крови, фибрина, клеточного детрита в охлажденном буферном растворе и измельченных фрагментов кожи. Результаты исследования содержания продуктов ПОЛ в гомогенате ожоговой раны при экспериментальной ТТ представлены в таблице 10.

На 5 сутки ТТ в гептановой фазе липидного экстракта увеличивается содержание кетодиенов и сопряженных триенов, оснований Шиффа. В изопропанольной фазе также увеличивается представительство кетодиенов и сопряженных триенов, оснований Шиффа. На 10 и 20 сутки в гептановой фазе ожоговой раны возрастает содержание кетодиенов и сопряженных триенов и оснований Шиффа, в изопропанольной фазе – только оснований Шиффа. Содержание диеновых конъюгатов в гептановой и изопропанольной фазах на 5, 10 и 20 сутки, а также кетодиенов и сопряженных триенов в изопропанольной фазе на

10 и 20 сутки ТТ значимо не изменяется. В динамике ТТ содержание оснований Шиффа в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта на 10 сутки ТТ меньше, чем на 5 сутки, а на 20 сутки больше, чем на 10 сутки.

Таблица 10 – Содержание продуктов ПОЛ в гомогенате ожоговой раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели, е.и.о.	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=30)	20 сутки (n=21)
ДК (г)	0,920 (0,863; 0,975)	0,889 (0,834; 0,966)	0,891 (0,836; 0,944)	0,927 (0,873; 0,951)
КД и СТ (г)	0,049 (0,013; 0,088)	0,123 (0,112; 0,141) *	0,115 (0,101; 0,141) *	0,126 (0,092; 0,155) *
ШО (г)	0 (0; 0,011)	0,018 (0,013; 0,031) *	0,009 (0,003; 0,018) * #	0,025 (0,015; 0,056) * ##
ДК (и)	0,601 (0,596; 0,622)	0,594 (0,570; 0,732)	0,580 (0,568; 0,614)	0,613 (0,590; 0,647)
КД и СТ (и)	0,217 (0,209; 0,228)	0,259 (0,200; 0,313) *	0,210 (0,169; 0,264)	0,224 (0,211; 0,263)
ШО (и)	0 (0; 0,011)	0,030 (0,015; 0,04) *	0,007 (0,004; 0,026) * #	0,034 (0,016; 0,039) * ##

Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки, ## – с группой 2 на 10 сутки. Показатели отражают содержание продуктов ПОЛ в гептановой (г) и изопропанольной (и) фазах экстракта гомогената ожоговой раны. ДК – диеновые конъюгаты, КД и СТ – кетодиены и сопряженные триены, ШО – основания Шиффа.

Далее в динамике ТТ проведена оценка содержания продуктов ОМБ в ожоговой ране в спонтанном режиме (таблица 11). Суммарное количество продуктов ОМБ увеличивается на 5, 10 и 20 сутки, что связано с увеличением на 5, 10 и 20 сутки суммарного содержания АДНФГ, на 10 и 20 сутки – КДНФГ, а также суммарного количества продуктов ОМБ в ультрафиолетовой области спектра на 5, 10 и 20 сутки, в видимой части – на 20 сутки ТТ. Суммарное количество продуктов ОМБ, регистрируемых в видимой области спектра на 10 сутки ТТ, снижается.

Анализ содержания продуктов ОМБ в ожоговой ране выявил на 5 сутки увеличение АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра, на 10 сутки – увеличение

АДНФГ и КДНФГ в ультрафиолетовой части спектра, снижение АДНФГ и КДНФГ в видимой части спектра, на 20 сутки – увеличение АДНФГ и КДНФГ в ультрафиолетовой и видимой частях спектра. В динамике ТТ суммарное количество продуктов ОМБ, суммарное количество КДНФГ, количество КДНФГ в ультрафиолетовой части спектра на 10 и 20 сутки больше, чем на 5 сутки; суммарное количество продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра и количество АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра, количество КДНФГ в видимой части спектра на 10 сутки больше, чем на 5 и 20 сутки; суммарное количество продуктов ОМБ в видимой части спектра, количество АДНФГ и КДНФГ в видимой части спектра на 10 сутки меньше, чем на 5 и 20 сутки.

Содержания в ожоговой ране продуктов ОМБ в металл-индуцированном режиме позволяет оценить резервные возможности ткани при оксидативном стрессе (таблица 12). Все исследуемые показатели, в том числе суммарный уровень продуктов ОМБ, уровень АДНФГ, КДНФГ, продуктов ОМБ в ультрафиолетовой и видимой частях спектра, значимо увеличивались на 5, 10 и 20 сутки ТТ. В динамике ТТ прослеживалось одинаковое для всех показателей изменение: снижение на 10 сутки по сравнению с 5 сутками и увеличение на 20 сутки по сравнению с 10 сутками ТТ. Значения показателей на 20 сутки были ниже по сравнению с 5 сутками ТТ. Резервно-адаптационный потенциал повышался на 5 и 20 сутки ТТ.

Итак, в ожоговой ране при ТТ происходит накопление вторичных (КД и СТ) и конечных (ШО) продуктов ПОЛ, экстрагируемых в гептановую фазу, концентрирующую в большей части триацилглицериды (неполярные липиды), и преимущественно конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе липидного экстракта, содержащей по большей части мембранные фосфолипиды. Отсутствие изменений содержания первичных продуктов ПОЛ (ДК) может быть следствием их избыточного образования в первые сутки и потребления на образование вторичных и конечных продуктов. На этом фоне увеличивается суммарное содержание продуктов ОМБ в ожоговой ране за счет ранних (АДНФГ) и поздних (КДНФГ) продуктов, отражающих соответственно фрагментацию и агрегацию белковых молекул преимущественно нейтрального характера, основного характера только на

20 сутки. Снижается содержание ранних и поздних продуктов ОМБ основного характера на 10 сутки, по всей видимости, за счет истощения резервов данных белковых продуктов и потребления. В индуцированном режиме детекции продуктов ОМБ в ожоговой ране увеличивается содержание ранних и поздних производных основного и нейтрального характера.

Увеличение в ожоговой ране оснований Шиффа может отражать особенности их формирования как продуктов неферментативного взаимодействия с продуктами свободнорадикальной деструкции белков при выраженном карбонильном стрессе (наиболее тяжелого проявления оксидативного стресса). Специфических механизмов элиминации оснований Шиффа нет, они склонны к накоплению, что увеличивает их повреждающие и токсические эффекты.

По другим данным, после ТТ содержание в плазме тиобарбитуратовой кислоты (ТБК)-позитивных продуктов повышается и сохраняется до 30 суток, ДК повышаются незначительно в первые сутки, уменьшается уровень витаминов А и Е, глутатиона, активность СОД и каталазы [48, 136].

Увеличение содержания продуктов ПОЛ и ОМБ в очаге ТТ является отражением активации процессов СРО при избыточной генерации свободных радикалов и/или снижения активности антиокислительной защиты. Индукторы окислительного стресса в очаге ТТ – это НАДФН-оксидаза и МПО активированных нейтрофилов, моноцитов/макрофагов, ксантинооксидаза эндотелиоцитов, NO-синтаза моноцитов/макрофагов, комплекс I митохондрий [162, 232, 353]. При ТТ повышается продукция эндогенных глюкокортикоидов, которые вызывают окислительный стресс за счет активации транскрипционного фактора FOXO, ингибирующим сигнальный путь Wnt/ β -Catenin [183].

Вклад в патогенез окислительного стресса при ТТ вносит снижение уровня в организме цинка и меди, входящих в состав СОД, за счет их потери с мочой и экссудатом в ожоговой ране, а также дефицит селена (компонент ГПО) при низком поступлении через ЖКТ после ожогов [72, 194].

Таблица 11 – Содержание продуктов ОМБ в спонтанном режиме в гомогенате ожоговой раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=30)	20 сутки (n=21)
S АДНФГ uv, ед./мг белка	29,85 (24,69; 32,84)	51,49 (48,03; 55,81) *	60,50 (52,95; 93,13) * #	52,08 (35,14; 82,61) * ##
S АДНФГ vs, ед./мг белка	6,93 (5,32; 8,71)	6,91 (5,72; 9,75)	3,53 (2,09; 5,07) * #	8,36 (7,06; 15,36) * ##
S КДНФГ uv, ед./мг белка	8,19 (7,37; 10,59)	7,79 (7,34; 9,43)	15,19 (9,05; 25,63) * #	15,27 (11,44; 31,38) * #
S КДНФГ vs, ед./мг белка	0,89 (0,69; 1,14)	0,91 (0,69; 1,41)	0,50 (0,35; 0,66) * #	1,09 (0,72; 1,67) * ##
S ОМБ спонт., ед./мг белка	47,83 (41,94; 55,40)	66,87 (60,56; 76,11) *	79,30 (62,59; 122,34) * #	82,04 (55,79; 135,89) * #
S АДНФГ, ед./мг белка	38,54 (30,64; 41,39)	59,19 (52,29; 62,31) *	65,04 (54,51; 96,45) *	65,04 (42,19; 97,89) *
S КДНФГ, ед./мг белка	10,12 (8,23; 11,31)	8,81 (8,09; 10,67)	15,49 (9,56; 26,11) * #	16,99 (12,18; 33,88) * #
% АДНФГ	79,31 (74,03; 80,65)	85,46 (82,78; 88,51) *	81,31 (78,29; 84,64)	77,27 (75,63; 81,18) #
% КДНФГ	20,69 (19,35; 25,97)	14,54 (11,49; 17,22) *	18,69 (15,36; 21,70) #	22,73 (18,82; 24,37) #
S uv, ед./мг белка	38,47 (34,05; 45,31)	59,10 (53,57; 68,66) *	74,97 (60,81; 118,45) * #	65,17 (48,02; 114,01) * ##
S vs, ед./мг белка	7,87 (6,02; 9,73)	7,81 (6,41; 11,16)	4,05 (2,35; 5,85) * #	9,22 (7,77; 17,56) * ##
% uv	82,25 (79,79; 86,43)	88,44 (84,24; 90,21) *	96,01 (93,83; 97,16) * #	87,78 (84,49; 88,76) * ##
% vs	17,75 (13,57; 20,20)	11,56 (9,79; 15,76) *	3,99 (2,84; 6,17) * #	12,22 (11,24; 15,50) * ##

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки, ## – с группой 2 на 10 сутки. S – суммарное содержание; АДНФГ – альдегид-динитрофенилгидразоны; uv – ультрафиолетовая область спектра; vs – видимая область спектра; КДНФГ – кетон-динитрофенилгидразоны.

Таблица 12 – Содержание продуктов ОМБ в металл-зависимом режиме в гомогенате ожоговой раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=30)	20 сутки (n=21)
S АДНФГ uv, ед./мг белка	90,68 (70,81; 94,67)	386,82 (279,79; 542,03) *	178,71 (128,45; 239,17) * #	248,92 (198,71; 324,91) * # ##
S АДНФГ vs, ед./мг белка	18,81 (16,01; 21,09)	156,21 (90,34; 244,15) *	37,79 (29,25; 60,75) * #	85,85 (60,89; 102,21) * # ##
S КДНФГ uv, ед./мг белка	28,73 (24,72; 37,55)	208,12 (128,85; 320,23) *	76,51 (45,82; 94,77) * #	110,31 (79,15; 158,62) * # ##
S КДНФГ vs, ед./мг белка	2,07 (1,62; 2,32)	14,53 (8,45; 22,58) *	3,84 (2,93; 6,02) * #	8,20 (5,83; 9,09) * # ##
S ОМБ индуц., ед./мг белка	140,38 (113,93; 155,46)	771,61 (507,38; 1128,99) *	312,84 (207,79; 393,90) * #	461,89 (342,04; 624,81) * # ##
S АДНФГ, ед./мг белка	109,49 (87,20; 115,77)	548,02 (370,12; 786,18) *	230,51 (157,87; 301,83) * #	341,83 (256,85; 453,78) * # ##
S КДНФГ, ед./мг белка	30,82 (26,73; 39,69)	223,59 (137,26; 342,81) *	80,12 (48,56; 101,26) * #	118,51 (85,19; 171,03) * # ##
% АДНФГ	76,89 (74,92; 78,23)	71,02 (69,99; 72,33) *	74,56 (73,12; 76,10)	74,09 (73,45; 74,21)
% КДНФГ	23,10 (21,77; 25,08)	28,98 (27,67; 30,01) *	25,44 (23,89; 26,88)	25,91 (25,79; 26,55)
S uv, ед./мг белка	119,47 (95,53; 132,23)	594,94 (408,64; 862,26) *	252,79 (175,39; 344,84) * #	356,64 (273,27; 483,53) * # ##
S vs, ед./мг белка	20,91 (17,63; 23,23)	170,73 (98,74; 266,73) *	41,63 (32,13; 66,99) * #	94,05 (66,72; 111,22) * # ##
% uv	85,19 (84,89; 86,16)	77,31 (76,37; 78,73)	83,11 (80,46; 88,00) #	79,79 (78,82; 84,55) *
% vs	14,81 (13,84; 15,11)	22,69 (21,27; 23,63)	16,89 (11,99; 19,54) #	20,21 (15,45; 21,18) *
РАП, %	61,81 (53,98; 72,55)	91,66 (86,44; 94,78) *	69,22 (62,76; 74,76) #	82,24 (72,65; 88,89) * # ##

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки, ## – с группой 2 на 10 сутки. S – суммарное содержание; АДНФГ – альдегид-динитрофенилгидразоны; uv – ультрафиолетовая область спектра; vs – видимая область спектра; КДНФГ – кетон-динитрофенилгидразоны; РАП – резервно-адаптационный потенциал.

Окислительный стресс и образующиеся в коже при ТТ продукты ПОЛ и ОМБ связаны с цитотоксическим действием *in situ* и поражением внутренних органов, мышц, костной ткани и др. [130, 230, 271]. Проксидантный потенциал ожоговой раны отвечает не только за негативные последствия, но и участвует в репарации кожи за счет активации матриксных металлопротеиназ, модификации компонентов экстрацеллюлярного матрикса, активации стволовых клеток, синтезе цитокинов [192]. Интерес при обсуждении патогенеза ТТ приобретает проблема взаимосвязи редокс-статуса и воспаления в контексте концепции «OxInflammation», которая описывает проокислительный потенциал очага повреждения с положительной обратной связью с событиями воспалительного процесса, перекрестные взаимодействия медиаторов воспаления и редокс-статуса с возможным исходом в SIRS. Биомаркерами «OxInflammation» выступают сывороточные уровни С-РБ, IL-6, IL-8, TNF- α , а также гидроперекиси липидов, 4-гидрокси-2-ноненаль (4-HNE) и МДА (ТБК-позитивные вещества), карбонильные производные белков, 3-нитротирозин, гидроксигуанозин и др.

3.1.3 Динамика изменений показателей иммунного статуса при экспериментальной термической травме

Первичная и вторичная альтерация кожи в очаге повреждения при ТТ приводят к системным изменениям гомеостаза, среди которых ключевую позицию занимают реакции системы иммунобиологического надзора, направленные на обеспечение воспалительного процесса в очаге, поддержание его стерильности, репарации, но могут при гиперергии приводить к избыточному повреждению тканей *in situ* и на удалении. Клетками первой линии реактивности в ответ на повреждение являются нейтрофилы, их количество в крови и функция определяют миграцию клеток в очаг, выраженность системных и локальных изменений.

На 5 сутки ТТ в крови увеличивается общее количество лейкоцитов за счет палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, абсолютное количество лимфоцитов снижается (таблица 13).

Таблица 13 – Количественный состав лейкоцитов в крови при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели, $\bullet 10^9/\text{л}$	Группа 1 Интактные (n=33)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=26)	20 сутки (n=19)
Лейкоциты	5,70 (4,00; 6,70)	6,30 (5,10; 8,50) *	5,50 (4,30; 7,20)	4,60 (4,30; 6,20) #
Базофилы	0	0 (0; 0,31)	0 (0; 0,10)	0
Эозинофилы	0,22 (0,04; 0,39)	0,15 (0,05; 0,25)	0,22 (0,09; 0,30)	0,16 (0,06; 0,17)
Палочкоядерные нейтрофилы	0 (0; 0,04)	0,207 (0; 0,58) *	0,04 (0; 0,29) * #	0
Сегментоядерные нейтрофилы	1,65 (1,09; 1,88)	2,78 (2,05; 4,55) *	2,48 (1,31; 3,65) * #	2,05 (1,27; 2,94) #
Нейтрофилы	1,70 (1,09; 1,88)	2,98 (2,43; 5,39) *	2,58 (1,31; 3,88) * #	2,05 (1,27; 2,94) #
Лимфоциты	3,40 (2,32; 3,77)	2,49 (2,00; 2,86) *	2,27 (2,00; 3,69) *	2,79 (2,05; 3,92)
Моноциты	0,28 (0,21; 0,41)	0,71 (0,29; 0,83) *	0,33 (0,22; 0,60) #	0,22 (0,17; 0,29) # ##
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки, ## – с группой 2 на 10 сутки.				

На 10 сутки ТТ в крови не изменяется общее количество лейкоцитов, увеличивается абсолютное количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, снижается абсолютное количество лимфоцитов. На 20 сутки ТТ не обнаружено значимых изменений количества лейкоцитов. В динамике наблюдения на 10 сутки количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, общее количество нейтрофилов, количество моноцитов было меньше, чем на 5 сутки ТТ. На 20 сутки в крови общее количество лейкоцитов, нейтрофилов, палочкоядерных нейтрофилов было меньше, чем на 5 сутки ТТ, количество моноцитов – меньше, чем на 5 и 10 сутки ТТ [19].

При исследовании функциональной активности нейтрофилов крови выявлено на 5 сутки ТТ увеличение активности и интенсивности фагоцитоза, фагоцитарного числа, при оценке кислородзависимого метаболизма нейтрофилов крови – увеличение активности и интенсивности НСТ-теста в спонтанном и индуцированном режимах (таблица 14). На 10 сутки ТТ увеличивается активность

и интенсивность фагоцитоза, фагоцитарное число, активность и интенсивность НСТ-теста в спонтанном режиме. Активность и интенсивность индуцированного НСТ-теста значимо не отличалась от значений в группе интактных. На 20 сутки ТТ не обнаружено изменений функциональной активности нейтрофилов крови. Функциональный резерв нейтрофилов крови значимо не изменялся на 5, 10 и 20 сутки ТТ.

В динамике ТТ активность фагоцитоза на 10 сутки ТТ значимо ниже, чем на 5 сутки, активность фагоцитоза, интенсивность фагоцитоза и фагоцитарное число на 20 сутки эксперимента ниже, чем на 5 и 10 сутки. Активность спонтанного НСТ-теста нейтрофилов крови на 10 сутки ТТ ниже, чем на 5 сутки, активность и интенсивность спонтанного НСТ-теста нейтрофилов крови на 20 сутки ТТ ниже, чем на 5 и 10 сутки, активность и интенсивность индуцированного НСТ-теста нейтрофилов крови на 10 сутки значимо ниже, чем на 5 сутки, на 20 сутки – ниже, чем на 5 и 10 сутки. Функциональный резерв нейтрофилов, оцениваемый по активности НСТ-теста, на 20 сутки был значимо ниже, чем на 5 и 10 сутки ТТ, а оцениваемый по интенсивности НСТ-теста был на 10 сутки ниже, чем на 5 сутки, а на 20 сутки выше, чем на 10 сутки.

Итак, при экспериментальной ТТ в крови на 5 и 10 сутки наблюдения увеличивается количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, снижается количество лимфоцитов, повышается поглотительная и НСТ-редуцирующая способность нейтрофилов [36]. Изменения количественного состава и функциональной активности нейтрофилов крови на 5 и 10 сутки при ТТ отражают известные механизмы и закономерности их участия в реализации воспалительного процесса в ответ на повреждение кожи. Увеличение количества нейтрофилов в крови обусловлено как демаргинацией пристеночного пула нейтрофилов в сосудистом русле на ранних этапах ТТ, так и активацией пролиферации и дифференцировки клеток миелоидного ростка костного мозга в ответ на стимуляцию провоспалительными аутокоидами.

Таблица 14 – Показатели функциональной активности нейтрофилов крови при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=26)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=8)	10 сутки (n=19)	20 сутки (n=14)
АФ, %	19,50 (17,0; 23,0)	38,50 (32,5; 43,0) *	33,00 (24,0; 36,0) * #	21,00 (17,0; 23,0) # ##
ИФ, у.е.	0,54 (0,41; 0,62)	1,47 (1,07; 1,92) *	1,14 (0,99; 1,77) *	0,60 (0,47; 0,86) # ##
ФЧ, у.е.	2,45 (2,20; 3,10)	3,90 (3,30; 4,50) *	3,84 (3,05; 4,90) *	3,18 (2,35; 3,75) # ##
НСТ-тест спонт., акт-ть, %	5,00 (3,0; 7,0)	10,50 (8,0; 14,5) *	8,00 (6,0; 10,0) * #	4,50 (4,0; 6,0) # ##
НСТ-тест спонт., инт-ть, у.е.	0,07 (0,05; 0,09)	0,14 (0,11; 0,16) *	0,11 (0,08; 0,14) *	0,06 (0,05; 0,09) # ##
НСТ-тест инд., акт- ть, %	9,0 (7,0; 13,0)	16,5 (12,5; 18,5) *	11,0 (8,0; 15,0) #	8,5 (6,0; 11,0) # ##
НСТ-тест инд., инт- ть, у.е.	0,12 (0,08; 0,17)	0,23 (0,19; 0,26) *	0,15 (0,12; 0,18) #	0,11 (0,09; 0,12) # ##
ФР (акт-ть НСТ-теста)	1,55 (1,33; 2,00)	1,50 (1,44; 1,65)	1,33 (1,20; 1,67)	2,00 (1,50; 2,67) # ##
ФР (инт-ть НСТ-теста)	1,80 (1,17; 2,00)	1,54 (1,33; 2,41)	1,27 (0,67; 1,75) #	1,75 (1,20; 2,00) ##
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки, ## – с группой 2 на 10 сутки. АФ – активность фагоцитоза, ИФ – интенсивность фагоцитоза, ФЧ – фагоцитарное число, ФР – функциональный резерв.				

Увеличение активности и интенсивности фагоцитоза, НСТ-редуцирующей способности обусловлено активацией нейтрофилов в ответ на воздействие провоспалительных медиаторов, синтезируемых в очаге повреждения. Данный факт подтверждается увеличением синтеза реактантов острой фазы при ТТ, в частности С-РБ, концентрация которого в сыворотке на 5 сутки ТТ возрастает примерно в 10 раз по медиане относительно значений в группе интактных животных, а на 10 сутки – примерно в 2 раза (таблица 15). На 20 сутки не отмечено значимых изменений концентрации С-РБ в сыворотке, поскольку он относится к реактантам острой фазы первого эшелона, концентрация которых достигает максимума в первые сутки после повреждения тканей. В динамике ТТ концентрация С-РБ в сыворотке на 10 сутки значимо ниже, чем на 5 сутки, на 20 сутки – ниже, чем на 5 и 10 сутки. Отметим, что при исследовании концентрации

сывороточного МТ нами не обнаружено значимых изменений на 5, 10 и 20 сутки экспериментальной ТТ (таблица 15).

Таблица 15 – Концентрация в сыворотке С-РБ и МТ при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=14)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=10)	10 сутки (n=12)	20 сутки (n=10)
С-РБ, пг/мл	1,29 (0,89; 1,66)	12,14 (11,67; 15,32) *	2,37 (1,42; 5,32) * #	1,46 (1,38; 1,73) # ##
МТ, пг/мл	24,08 (11,56; 28,00)	26,32 (13,36; 33,88)	22,35 (13,70; 28,81)	21,57 (15,27; 28,15)
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки, ## – с группой 2 на 10 сутки.				

Далее нами проведена оценка показателей адаптивного иммунитета при ТТ. Количество в крови крыс CD3⁺ лимфоцитов (то есть преимущественно Т-лимфоцитов) снижается на 5 и 10 сутки ТТ, количество CD45RA⁺ лимфоцитов (преимущественно В-лимфоцитов) снижается на 5, 10 и 20 сутки ТТ относительно группы интактных животных (таблица 16). В динамике ТТ количество CD3⁺ на 20 сутки больше по сравнению с 10 сутками.

Снижение количества лимфоцитов в крови и очаге ТТ ограничивает их участие в репарации раны: секреции факторов роста, ограничению сосудисто-экссудативных реакций, активации ангиогенеза и др. При ТТ снижение количества лимфоцитов в крови, в том числе, связано с активацией их гибели в условиях увеличения продукции TNF- α , изменения кислотно-основного состояния и др. факторов [156].

При ТТ на 5, 10 и 20 сутки в крови значимо увеличивается количество лимфоцитов с ранними признаками апоптоза по сравнению с группой интактных животных, на 5 и 20 сутки – увеличивается количество лимфоцитов в крови с поздними признаками апоптоза, признаками некроза (таблица 17). Как следствие количество интактных клеток снижается на 10 сутки ТТ. В динамике ТТ увеличивается на 10 и 20 сутки относительно 5 суток количество клеток с ранними

признаками апоптоза, с поздними признаками апоптоза, признаками некроза. Минимальное количество лимфоцитов в крови наблюдается на 10 сутки, а максимальное содержание лимфоцитов с маркерами апоптоза и некроза на 5 сутки.

Аналогичные по направленности данные были получены ранее на кафедре Патологической физиологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России под руководством д.м.н., профессора Осикова М.В. его диссертантом Саедганиной О.Т. [36].

Таблица 16 – Субпопуляционный состав лимфоцитов крови при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=12)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=8)	10 сутки (n=15)	20 сутки (n=11)
CD3 ⁺ , • 10 ⁹ /л	1,72 (1,22; 2,17)	1,22 (0,79; 1,40) *	1,06 (0,73; 1,58) *	1,44 (0,89; 1,94) ##
CD45RA ⁺ , • 10 ⁹ /л	0,36 (0,30; 0,46)	0,17 (0,09; 0,27) *	0,17 (0,14; 0,33) *	0,16 (0,12; 0,21) *
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, ## – с группой 2 на 10 сутки.				

При ТТ наряду с изменениями клеточного звена адаптивного иммунитета нами зафиксированы изменения концентрации в сыворотке иммуноглобулинов (таблица 18). Содержание в сыворотке Ig G снижается на 5 и 10 сутки наблюдения, на 20 сутки ТТ этот показатель был выше, чем на 5 и 10 сутки и не отличался от значений в группе интактных животных. Концентрация в сыворотке Ig M значимо не изменялась на всех сроках наблюдения. Полагаем, что снижение концентрации в сыворотке Ig G обусловлено ограничением его продукции в условиях уменьшения представительства CD45RA⁺ лимфоцитов – предшественников плазмочитов, а также выходом Ig G в очаг повреждения, раневую поверхность кожи в ходе экссудации после ТТ.

Концентрация некоторых цитокинов в сыворотке в динамике экспериментальной ТТ отражена в таблице 19. На 5, 10 и 20 сутки ТТ установлено увеличение концентрации TNF-α, IL-4 при отсутствии значимых изменений IFN-γ. В динамике ТТ концентрация TNF-α и IL-4 на 10 сутки ТТ была выше, чем на 5

сутки и не отличается от значений на 20 сутки, что позволяет говорить о максимальном уровне TNF- α и IL-4 на 10 сутки.

Изменение экспрессии генов, синтеза и секреции цитокинов в очаге ТТ зафиксированы многими исследователями в отношении провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в зависимости от глубины, площади и локализации ожогов, возраста, сопутствующей патологии и др. факторов [190, 335]. Источником цитокинов выступают активированные нейтрофилы, макрофаги, дендритные клетки, лимфоциты, эндотелиоциты и др. Поступление цитокинов из очага ТТ в системный кровоток приводит к активации циркулирующих лейкоцитов, тромбоцитов, эндотелиоцитов – дополнительных источников цитокинов. Дисфункции указанных клеток, нарушение смены их фенотипа приводит к противоречивым результатам у разных исследователей по концентрации цитокинов в сыворотке и в очаге повреждения при ТТ.

Таблица 17 – Показатели гибели лимфоцитов крови при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=8)	10 сутки (n=15)	20 сутки (n=11)
Annexin-5- FITC-/7-AAD-, $\bullet 10^9/\text{л}$	2,71 (2,16; 2,71)	1,57 (0,97; 3,08)	1,41 (1,28; 1,73) *	1,68 (1,08; 2,96)
Annexin-5- FITC+/7-AAD-, $\bullet 10^9/\text{л}$	0,42 (0,31; 0,53)	1,52 (0,93; 2,84) *	0,79 (0,58; 1,17) * #	0,65 (0,27; 1,08) * #
Annexin-5- FITC+/7-AAD+, $\bullet 10^9/\text{л}$	0,002 (0,001; 0,012)	0,064 (0,035; 0,119) *	0,006 (0,002; 0,016) #	0,007 (0,003; 0,033) * #
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки.				

Таблица 18 – Концентрация в сыворотке иммуноглобулинов при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=15)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=16)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=12)
Ig M, нг/мл	0,29 (0,27; 0,86)	0,32 (0,24; 0,53)	0,33 (0,22; 0,48)	0,38 (0,19; 0,52)
Ig G, нг/мл	53,43 (44,21; 53,58)	30,43 (25,42; 38,68) *	30,53 (23,49; 36,54) *	43,80 (32,95; 65,45) # ##
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки, ## – с группой 2 на 10 сутки.				

Таблица 19 – Концентрация цитокинов в сыворотке при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=12)	Группа 2 ТТ+АсП		
		5 сутки (n=12)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=16)
TNF- α , пг/мл	1,18 (0,84; 1,96)	2,25 (2,02; 2,92) *	3,42 (2,72; 6,14) * #	3,48 (1,77; 5,05) *
IFN- γ , пг/мл	0,83 (0,29; 1,24)	0,73 (0,12; 1,15)	0,98 (0,59; 1,35)	1,06 (0,65; 1,74) #
IL-4, пг/мл	0,79 (0,50; 1,75)	1,93 (1,36; 2,51) *	3,26 (2,58; 5,65) * #	2,97 (1,57; 4,97) * #
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 2 на 5 сутки.				

3.2 Экспериментально-теоретическое обоснование состава и стандартизация дермальной пленки с мелатонином

3.2.1 Фармацевтико-технологическое исследование составов дермальных пленок

На первом этапе были проведены исследования таких органолептических показателей, как оценка липкости, прозрачности, эластичности, отставания от подложки, механических включений. Далее были продолжены исследования составов №№ 5, 6, 7, 9, 13, отвечающих по четырем из приведенных показателям (таблица 20).

Таблица 20 – Органолептические показатели ДП

Состав	Органолептические показатели				
	Эластичность	Липкость	Прозрачность	Механические включения и микротрещины	Отставание от подложки
1	-	-	-	+	-
2	-	-	+	+	-
3	-	-	+	+	-
4	-	-	+	-	-
5	+	+	+	+	+
6	-	+	+	+	+
7	+	-	+	+	+
8	-	-	+	+	+
9	+	-	+	+	+
10	-	-	+	+	-
11	-	-	+	+	-
12	-	-	+	+	-
13	-	+	+	+	+
14	-	-	-	-	+
15	+	-	-	+	+
16	+	-	-	-	+
17	-	-	+	+	+
18	-	-	+	+	-
19	-	-	+	+	+
20	+	-	-	-	+

Примечание: «+» - соответствие, «-» - несоответствие органолептическим показателям.

В нормативных документах не представлено строгих указаний оценки прочности на разрыв для ДП и адгезивной способности, ключевыми показателями для выбора состава модельных смесей были толщина и содержание влаги. Выбранные образцы оценивали по содержанию влаги, толщине, адгезивной способности, прочности на разрыв в соответствии с методиками, указанными в разделе 2.2.5 (таблица 21). Согласно требованиям к современным раневым покрытиям (способность абсорбировать экссудат, быть прочными, моделироваться и держаться на ране) был осуществлен выбор показателей.

Согласно литературным данным содержание толщина пленки должна быть не более 0,5 мм, содержание влаги в диапазоне от 10 до 13%, отмечается соответствие отобранных образцов данным показателям.

Таблица 21 – Фармако-технологические показатели дермальных пленок, (M±m)

Состав	Фармако-технологические параметры			
	Содержание влаги, %	Толщина, мм	Адгезивная способность, Па	Прочность на разрыв, кПа
5	11,03±0,91	0,34±0,02	155,23±32,89	380,64±7,49
6	12,03±0,90	0,39±0,05	175,23±33,90	350,61±7,19
7	12,48±1,78	0,49±0,04	54,88±22,07	139,04±7,13
9	10,35±0,72	0,33±0,02	50,91±15,80	137,71±9,28
13	12,88±0,36	0,26±0,06	52,53±19,27	190,63±14,05

3.2.2 Биофармацевтические исследования составов пленок с мелатонином

Для оценки качества лекарственной формы определяли следующие биофармацевтические показатели: процент высвобождения МТ из ДП, адсорбционная активность. Адсорбционная активность является индикатором способности к адсорбции на поверхности органических агентов раны. Результаты представлены на рисунке 10. В ходе исследования установлено, что состав № 5 отличается более высокой адсорбционной способностью. Данная ДП соответствует по всем фармако-технологическим и органолептическим показателям. Оценка профиля высвобождения МТ из выбранного состава № 5 проводилась с использованием теста растворения в буферные растворы с рН 4,5 и 6,8 (применялась стандартная процедура теста сравнительной кинетики растворения) [43]. Для определения концентрации МТ применяли спектрофотометрию. Высвобождение МТ в слабокислой среде является полиномиальным, максимальная концентрация МТ наблюдается через 30 минут. В нейтральной среде максимальная концентрация фиксируется через 60 минут и высвобождение характеризуется линейной зависимостью, (рисунки 11, 12). Вероятно, это может быть характерно для высвобождения МТ из ДП в очаг повреждения.

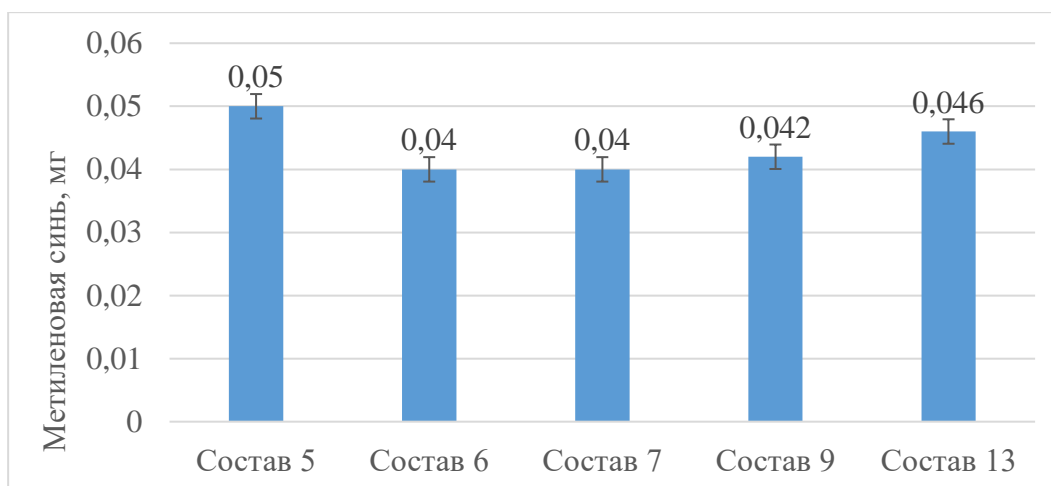


Рисунок 10 – Адсорбционная способность составов ДП с МТ ($M \pm m$). Доверительные интервалы отражают ошибку средней

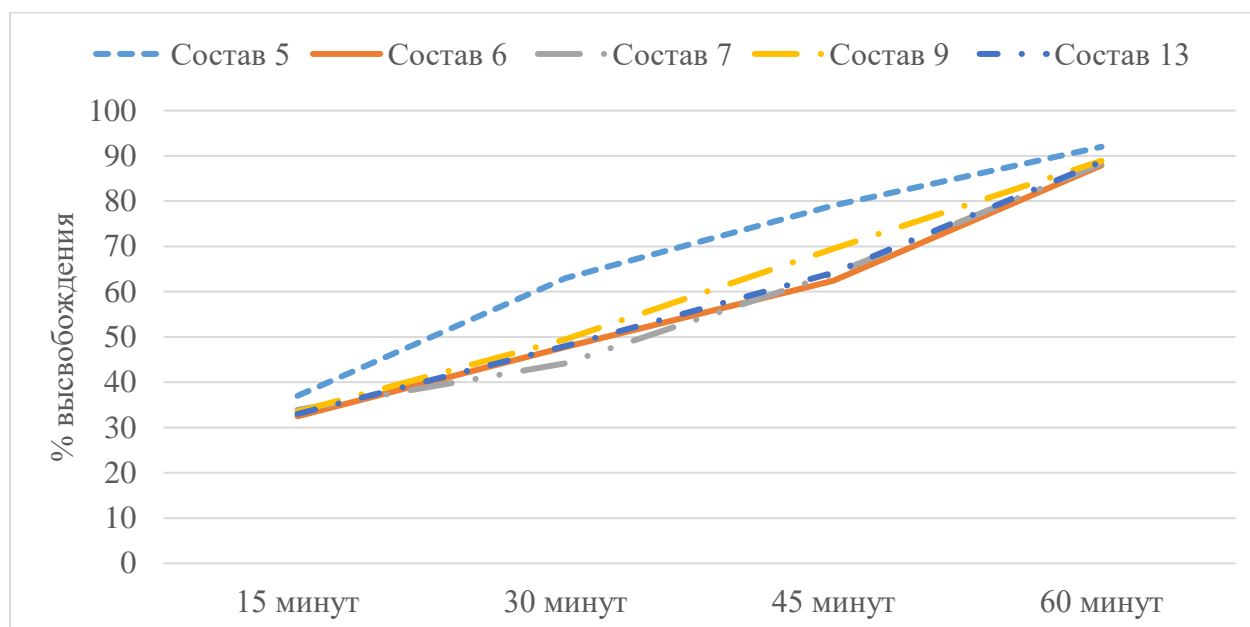


Рисунок 11 – Динамика высвобождения МТ из ДП

Для изучения степени высвобождения МТ из ДП был выбран метод расчета по стандартному образцу. Для определения линейности методики готовили растворы РСО МТ с концентрацией 1 – 20 мг/мл. Было установлено, что линейная зависимость методики прослеживается в интервале 4 - 10 мг/мл МТ. Коэффициент корреляции в этом случае составляет 0,997 (рисунок 13). Так как содержание МТ в навеске ДП теоретически соответствует найденному линейному диапазону, было принято решение о продолжении исследований по обнаружению МТ в ДП. В предварительных исследованиях МТ в ДП были определены спектры поглощения

ДП-матрицы и ДП с МТ. МТ в составе ДП не способствует смещению максимума светопоглощения. В таблице 22 представлены результаты количественного определения МТ в составе ДП методом УФ-спектрофотометрии. Относительная ошибка отдельного определения составила 2,61%. Спектрофотометрическая методика пригодна для оценки степени высвобождения МТ из ДП.

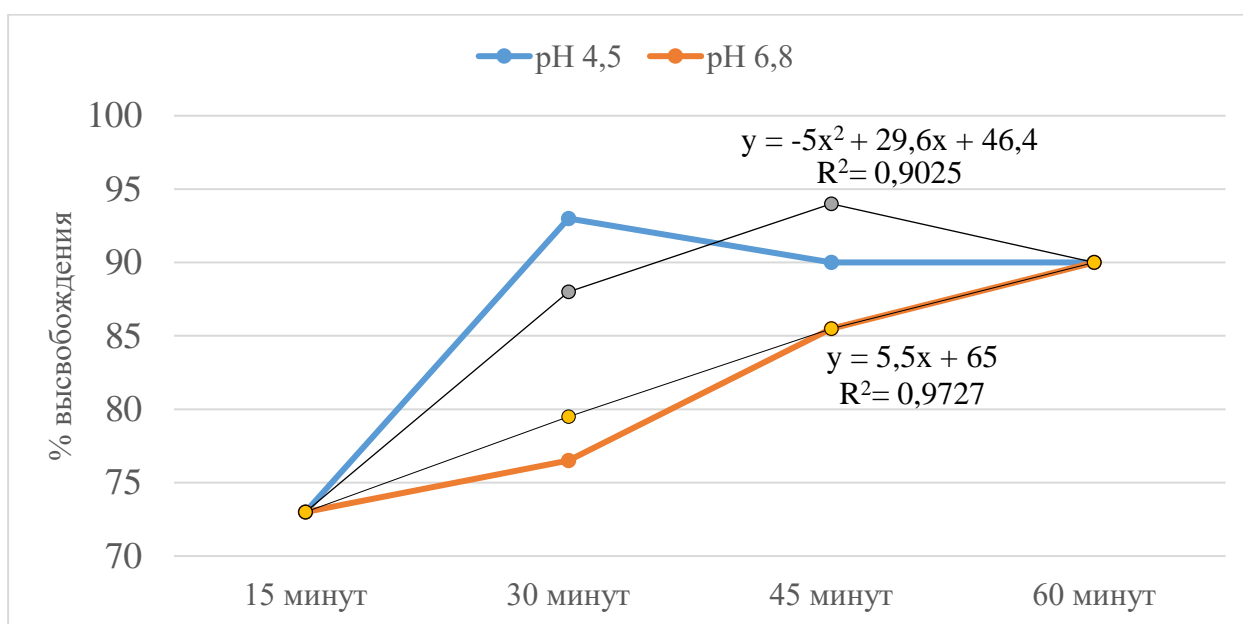


Рисунок 12 – Профиль высвобождения МТ из ДП состава № 5 в буферные растворы с pH 4,5 и pH 6,8

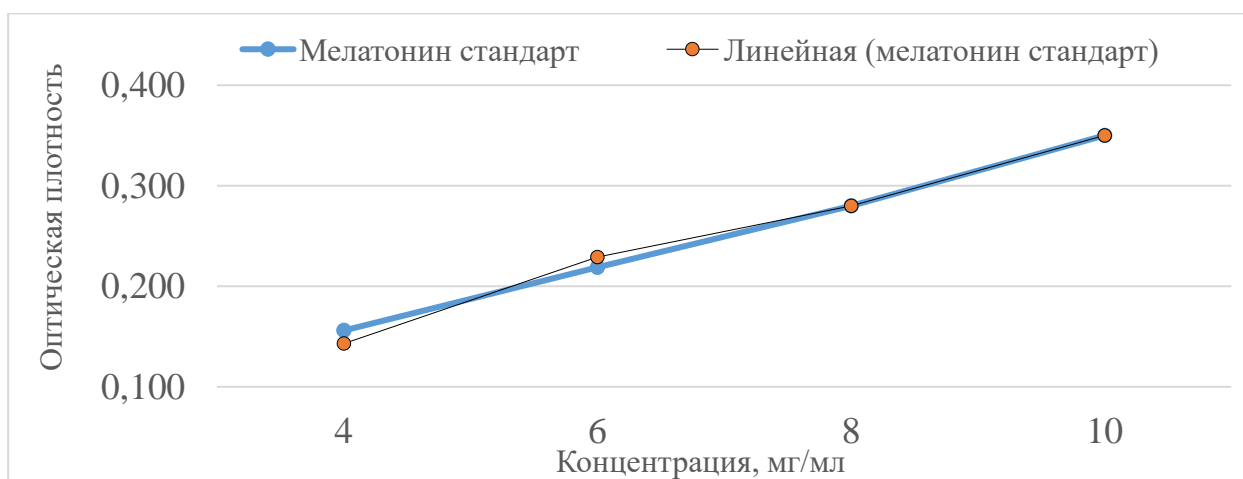


Рисунок 13 – Оценка линейности спектрофотометрической методики

Таблица 22 – Количественное определение МТ в составе ДП

№	A_x	A_{PCO}	Содержание МТ, г	d_i	d^2	Валидационные характеристики
1	0,4980	0,3551	0,03027	$3,00 \cdot 10^{-4}$	$9,00 \cdot 10^{-8}$	$S^2=7,87 \cdot 10^{-8}$ $S=2,81 \cdot 10^{-4}$ $\Delta X=7,81 \cdot 10^{-4}$ $\varepsilon=2,61\%$
2	0,4790	0,3458	0,03001	$0,40 \cdot 10^{-4}$	$0,16 \cdot 10^{-8}$	
3	0,4891	0,3578	0,03015	$1,80 \cdot 10^{-4}$	$3,24 \cdot 10^{-8}$	
4	0,4804	0,3298	0,02985	$1,20 \cdot 10^{-4}$	$1,44 \cdot 10^{-8}$	
5	0,4818	0,3367	0,02955	$4,20 \cdot 10^{-4}$	$17,64 \cdot 10^{-8}$	
			$X_{cp}=0,02997$		$\Sigma=31,48 \cdot 10^{-8}$	

3.2.3 Фармацевтические исследования дермальной пленки с мелатонином

Были проведены фармацевтические исследования ДП с МТ: исследовали показатели подлинности и количественного определения МТ в ДП. Для определения пригодности разработанных методик основывались на соответствие ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». Определение подлинности МТ в составе ДП проводили методом ТСХ. Для разработки методики оценивали ее по показателям: специфичность, внутрилабораторная прецизионность, предел обнаружения, повторяемость [36].

Обнаружение вещества независимо от совместно присутствующих близких по строению соединений определяет специфичность методики. При просмотре в УФ-свете наблюдается одна зона адсорбции, соответствующая адсорбции рабочего стандартного образца (PCO) МТ. Внутрилабораторная прецизионность и повторяемость методики для стандартного раствора МТ и МТ в составе ДП оценивались в пяти сериях. Результаты представлены в таблице 23.

Таким образом, величина R_f для PCO МТ – $0,42 \pm 0,023$. При оценке предела обнаружения МТ с помощью метода ТСХ было установлено, что минимальная открываемая концентрация МТ составляет $2,1 \cdot 10^{-9}$ г/мл. При увеличении наносимой на хроматографическую пластину концентрации МТ наблюдается линейное увеличение значения фактора удерживания. Это свидетельствует о необходимости использования стандартного раствора МТ в сопоставимой концентрации с исследуемым раствором.

Для количественной оценки МТ в ДП был выбран спектрофотометрический метод, результаты представлены в таблице 24. Установлено, что содержание МТ в ДП составляет $0,03001 \pm 0,0006\%$, что соответствует номинальному содержанию. Относительная погрешность определения не превышает 2%.

Таблица 23 – Повторяемость методики ТСХ для стандартного раствора МТ и МТ в составе ДП

Р-р	L, см	l, см	R _f	X _i -X _{ср}	(X _i -X _{ср}) ²	Валидационные характеристики
МТ-стандарт	8,7	3,7	0,43	0,006	0,000036	S ² =8•10 ⁻⁵ S=8,94•10 ⁻³ ΔX=0,022976 ε%=5,41
	8,7	3,7	0,43	0,006	0,000036	
	8,7	3,7	0,43	0,006	0,000036	
	8,6	3,5	0,41	0,014	0,000196	
	8,6	3,6	0,42	0,004	0,000016	
			X _{ср} = 0,424		Σ=3,2•10 ⁻⁴	
МТ в ДП	8,6	3,7	0,43	0,006	0,000036	S ² =8•10 ⁻⁵ S=8,94•10 ⁻³ ΔX=0,022976 ε%=5,41
	8,6	3,7	0,43	0,006	0,000036	
	8,7	3,7	0,43	0,006	0,000036	
	8,8	3,7	0,42	0,004	0,000016	
	8,6	3,5	0,41	0,014	0,000196	
			X _{ср} = 0,424		Σ=3,2•10 ⁻⁴	
Примечание: L – расстояние, пройденное растворителем от линии старта, см; l – расстояние от линии старта до середины пятна зоны адсорбции, см; R _f – фактор удерживания						

Таблица 24 – Результаты количественного определения МТ в ДП

№ п/п	Содержание МТ, г	d _i	d ²	Валидационные характеристики
1	0,03025	2,40•10 ⁻⁴	5,76•10 ⁻⁸	S ² =4,71•10 ⁻⁸ S=2,17•10 ⁻⁴ ΔX=6,03•10 ⁻⁴ ε=2,01%
2	0,03012	1,10•10 ⁻⁴	1,21•10 ⁻⁸	
3	0,02997	0,40•10 ⁻⁴	0,16•10 ⁻⁸	
4	0,02967	3,40•10 ⁻⁴	11,56•10 ⁻⁸	
5	0,03005	0,40•10 ⁻⁴	0,16•10 ⁻⁸	
	X _{ср} = 0,03001		Σ=11,85•10 ⁻⁸	

3.2.4 Определение стабильности и микробиологической чистоты дермальной пленки с мелатонином

Оценка микробиологической чистоты проводилась с учетом оценки общего числа аэробных бактерий, плесневых и дрожжевых грибов, отсутствия *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* методом прямого посева на питательную среду. В таблице 25 представлены данные полного удовлетворения ДП с МТ требований по стабильности и микробиологической чистоте в течение 24 месяцев при температуре хранения 8-12 °С.

Таблица 25 – Оценка стабильности и микробиологической чистоты ДП с МТ

Ме- сяц	Определение подлинности методом ТСХ, R _f	Количественное определение методом УФ-спектрофотометрии, %	Микробиологическая чистота (ОФС 1.2.4.0002.15)
1	0,42±0,01	99,0± 0,010	соответствует
3	0,42±0,01	99,0± 0,020	соответствует
6	0,42±0,01	99,0± 0,024	соответствует
9	0,42±0,01	99,0± 0,031	соответствует
12	0,42±0,01	99,0± 0,023	соответствует
15	0,42±0,01	99,0± 0,030	соответствует
16	0,42±0,01	99,0± 0,020	соответствует
17	0,42±0,01	99,0± 0,019	соответствует
18	0,42±0,01	99,0± 0,027	соответствует
19	0,42±0,01	99,0± 0,023	соответствует
20	0,42±0,01	99,0± 0,037	соответствует
21	0,41±0,02	99,0± 0,050	соответствует
22	0,41±0,02	99,0± 0,030	соответствует
23	0,41±0,03	99,0± 0,033	соответствует
24	0,41±0,03	99,0± 0,040	соответствует

3.3 Динамика изменений гомеостаза при экспериментальной термической травме в условиях применения дермальной пленки с мелатонином

3.3.1 Показатели репарации, морфологии, активности тучных клеток, экспрессии MMP-9 и VEGF в очаге повреждения

Применение ДП с МТ при ТТ уменьшает площадь раны в абсолютных величинах на 5, 10, 20 сутки, в относительных – на 10 и 20 сутки (таблица 26). На 5, 10, 20 сутки увеличилась скорость эпителизации раны и относительное уменьшение площади раны. На 5 сутки площадь ожоговой поверхности уменьшилась на 12,2% по медиане, максимальные изменения зафиксированы на 20 сутки, когда площадь раневого дефекта уменьшилась на 31,6%, а скорость эпителизации возросла в 4,7 раза по медиане относительно группы с ТТ и применением ДП-матрицы. В динамике на 10 и 20 сутки по сравнению с 5 сутками и на 20 сутки по сравнению с 5 и 10 сутками уменьшилась абсолютная площадь ожога, увеличилась скорость эпителизации раны и относительное уменьшение площади раны. К 20 суткам ТТ площадь ожоговой раны уменьшилась по медиане на 54% против 39% в группе с ТТ и применением ДП-матрицы.

На 5 сутки ТТ при гистологическом исследовании определяется очаг некроза эпидермиса и дермы до сосочкового слоя, сосочки сглажены (рисунок 14, А). Ядра эпидермиса интенсивно гиперхромные, вытянутые, в виде «метелок» и «щеток» (рисунок 14, Б). Соединительно-тканые волокна плотно упакованы, гомогенизированы. В перифокальных зонах полнокровие сосудов, умеренный отек ткани, клеточный вал, отграничивающий зону некроза с преобладанием нейтрофилов и лимфоцитов, очаги макрофагальной инфильтрации, пролиферации фибробластов (рисунок 14, В). Большое количество незрелых новообразованных сосудов в виде бесклеточных щелей или «сосудистых почек» (рисунок 14, Е). В эпидермальном пласте на границе некроза пролиферирующие клетки базального слоя эпидермиса врастают под ожоговый струп, отслаивая его от

некротизированных тканей (рисунок 14, Г). В эпителизации участвуют клетки сохранившихся волосяных фолликулов и сальных желез (рисунок 14, Д, Е).

На 10 сутки определяется ожоговый струп, рыхло спаянный с подлежащими тканями, по краю пласт пролиферирующего эпидермиса, врастающий под струп и отслаивающий его (рисунок 15, А). В перифокальных зонах полнокровие сосудов, умеренный отек. В гиподерме незрелая грануляционная ткань с нейтрофилами, макрофагами, плазмócитами, фибробластами, формирующими пучки и тяжи (рисунок 15, Б). Новообразованные сосуды с дифференцированными стенками и эндотелиальной выстилкой, заполнены кровью. В собственно дерме клеточный пласт из веретеновидных фибробластов, компактно упакованных параллельно поверхности (рисунок 15, В). Новообразованные волокна соединительной ткани тонкие, извитые, параллельно поверхности. В эпидермисе на границе очага некроза и неповрежденной кожи пролиферация клеток базального слоя (рисунок 15, Г).

На 20 сутки определяется полностью эпителизированный молодой соединительно-тканый рубец с фибробластами, параллельными поверхности кожи тяжами (рисунок 16, А, Б). Новообразованные соединительно-тканые волокна в компактных пучках с умеренной извитостью, новообразованные сосуды с дифференцированными стенками и эндотелиальной выстилкой, просветы заполнены кровью.

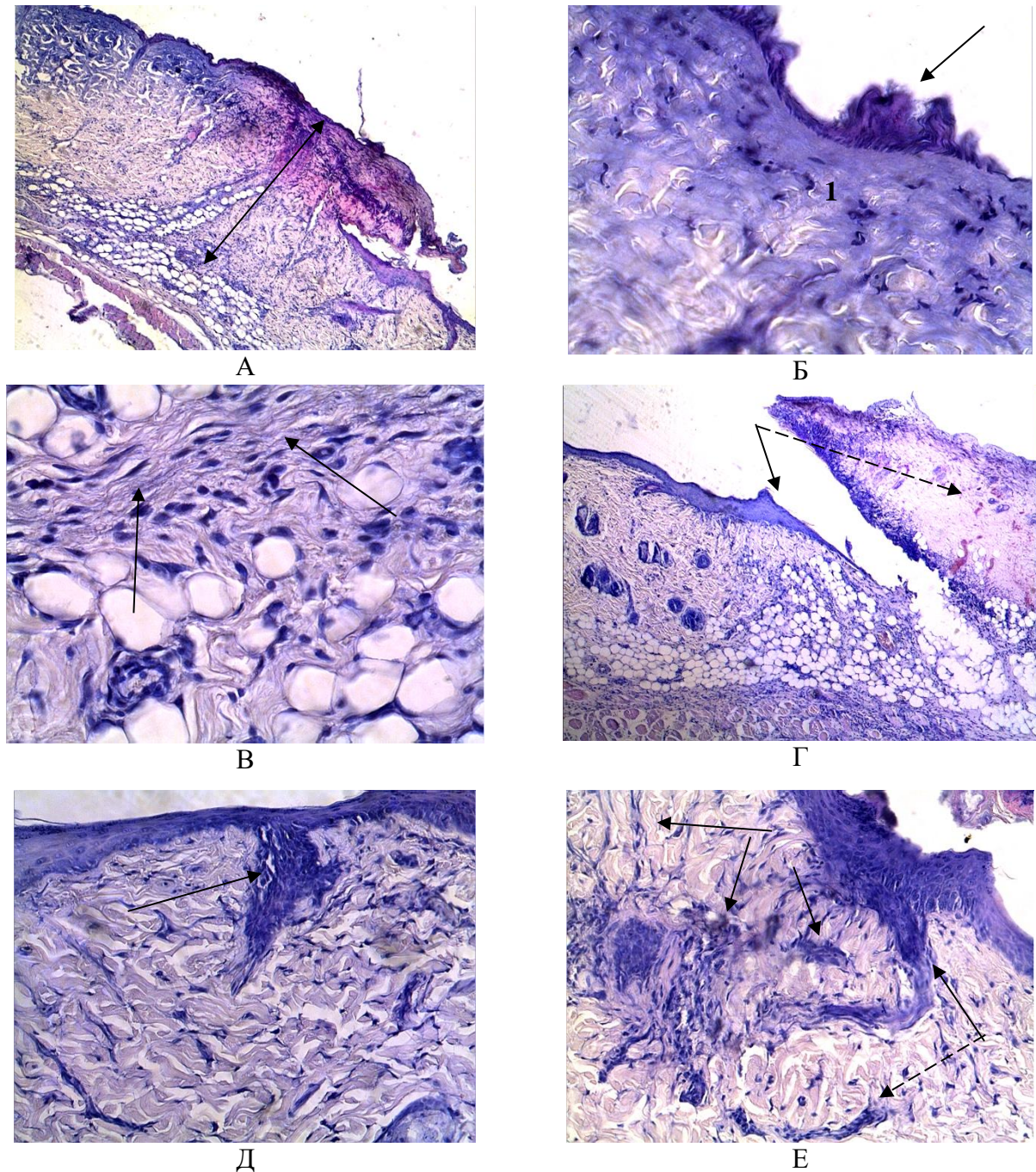


Рисунок 14 – Морфологические изменения в коже на 5 сутки ТТ в условиях применения ДП с МТ. Окраска гематоксилин-эозин. А – некроз эпидермиса и дермы (стрелка), ув. х 50; Б – гомогенизация и метахромазия соединительнотканых волокон в дерме (1), сглаженность сосочков; вытяжение и переориентация ядер клеток эпидермиса (стрелка), ув. х 400; В – перифокальный клеточный вал с участками пролиферации молодых фибробластов (стрелки) ув. х 400; Г – врастание пласта эпидермиса (стрелка) под ожоговый струп (пунктирная стрелка), ув. х 50; Д – пролиферирующие клетки волосяного фолликула (стрелка) принимают участие в эпителизации ожоговой раны, ув. х 400; Е – пролиферация клеток сальных желез и волосяных фолликулов (сплошные стрелки) в дерме перифокальной зоны, начальные явления неоваскуляризации (пунктирные стрелки), ув. х 400

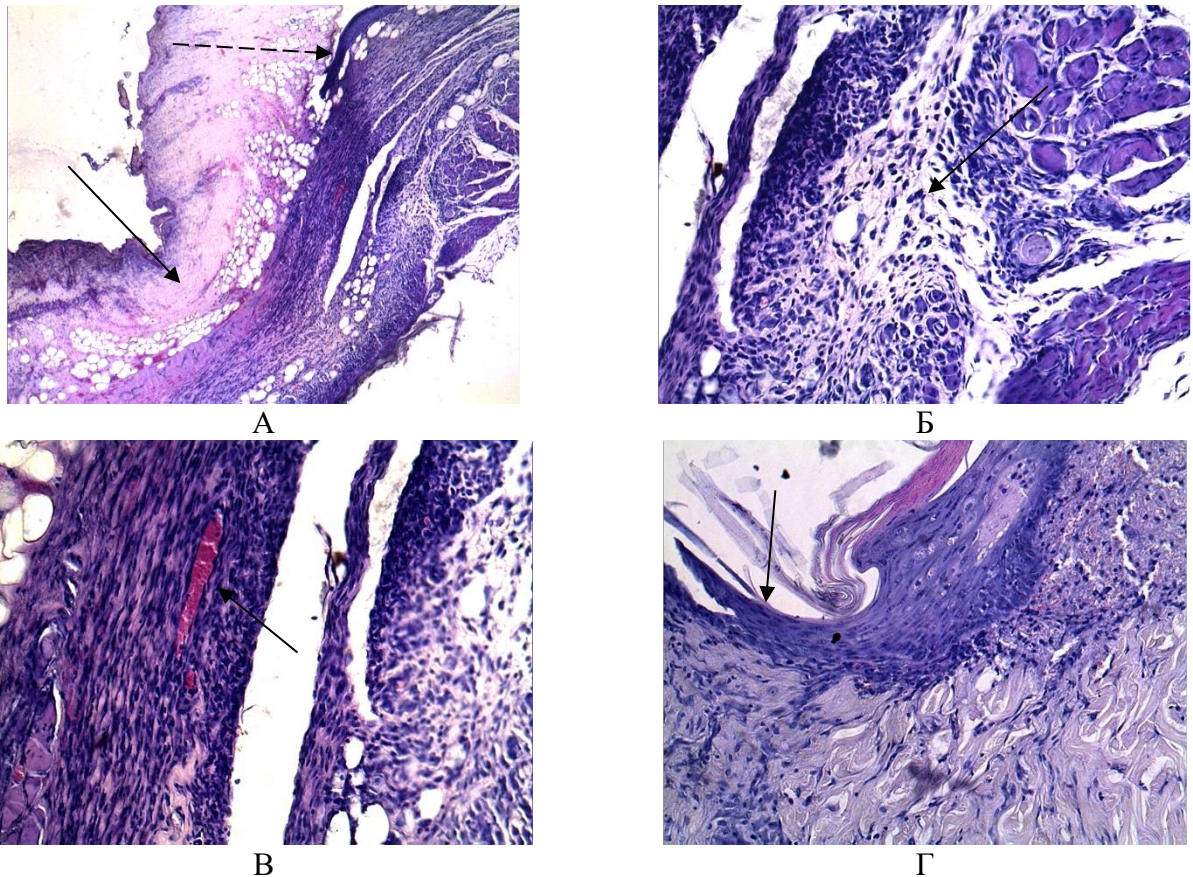


Рисунок 15 – Морфологические изменения в коже на 10 сутки ТТ в условиях применения ДП с МТ. Окраска: гематоксилин-эозин. А – ожоговый струп (стрелка) рыхло спаян с глубокими слоями кожи, пролиферирующий пласт эпидермиса (пунктирная стрелка) врастает под него ув. х 50; Б – perifокальная зона: в гиподерме пролиферация незрелой грануляционной ткани (стрелка) с большим количеством клеточных элементов и начальными явлениями фибриллогенеза, ув. х 200; В – perifокальная зона: в собственно дерме пласт пролиферирующих фибробластов и полнокровные новообразованные сосуды (стрелка) ув. х 200; Г – врастание пласта эпидермиса (стрелка) под ожоговый струп, ув. х 200

В рубце выявляются небольшие очаги макрофагальной и круглоклеточной инфильтрации (рисунок 16, Б). В гиподерме под участком рубцовой ткани венозное и капиллярное полнокровие, фрагменты жировой и рыхлой неоформленной соединительной ткани, клеточный состав представлен фибробластами, макрофагами и тучными клетками (рисунок 16, В). Молодая рубцовая ткань полностью эпителизирована с отчетливой стратификацией, пролиферирующими клетками сальных желез, волосяных фолликулов (рисунок 16, Г).

Таблица 26 – Влияние МТ в составе ДП на показатели репарации раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
	5 сутки (n=10)	10 сутки (n=10)	20 сутки (n=10)	5 сутки (n=12)	10 сутки (n=12)	20 сутки (n=12)
Площадь ожога, см ²	11,59 (11,00; 11,99)	9,40 (9,22; 9,81)	7,29 (7,01; 7,52)	10,33 (10,17; 10,56) #	8,34 (8,19; 8,51) # &	5,54 (5,24; 5,88) # & &
Относительная площадь, %	3,31 (3,22; 3,42)	3,16 (3,10; 3,28)	2,81 (2,74-3,09)	3,36 (3,23; 3,42)	3,02 (2,91; 3,13) #	1,98 (1,87; 2,23) # & &
Скорость эпителизации, % / сутки	0,91 (0,85; 0,92)	2,01 (1,93; 2,05)	3,06 (2,73; 3,15)	1,33 (1,29; 1,35) #	6,57 (5,92; 6,93) # &	14,30 (13,38; 15,17) # & &
Уменьшение площади раны, %	2,60 (2,58; 2,64)	3,71 (3,63; 4,31)	13,58 (12,93; 14,01)	9,80 (9,64; 10,08) #	16,10 (14,62; 17,73) # &	19,98 (19,30; 20,38) # & &
Примечание. # – значимые (p<0,01) различия с группой 3, & - с группой 4 на 5 сутки, && - с группой 4 на 10 сутки.						

Проведена морфометрическая оценка клеточного состава очага повреждения при ТТ в условиях применения ДП с МТ (таблица 27). Установлено, что по сравнению с группой животных с ТТ и применением ДП-матрицы в очаге ожоговой раны на 5 сутки эксперимента снижается представительство нейтрофилов, гистиоцитов, увеличивается – лимфоцитов и фибробластов, на 10 сутки – снижается представительство нейтрофилов, гистиоцитов, увеличивается – лимфоцитов и фибробластов, на 20 сутки наблюдений снижается содержание в очаге повреждения гистиоцитов, увеличивается – фибробластов. Итак, локальное применение МТ в составе ДП приводит к снижению инфильтрации очага повреждения нейтрофилами на 5 и 10 сутки, гистиоцитами на 5, 10 и 20 сутки, увеличению содержания лимфоцитов на 5 и 10 сутки, увеличению содержания фибробластов на 5, 10 и 20 сутки экспериментальной ТТ. Полагаем, что отмеченные морфологические изменения способствуют снижению выраженности альтеративных и сосудисто-экссудативных реакций в очаге ТТ с участием нейтрофилов и гистиоцитов, а также более раннему началу репарации с участием фибробластов, что и было зафиксировано нами при оценке морфологической картины и количественных показателей репарации.

МТ в составе ДП изменяет представительство и функцию тучных клеток в очаге при ТТ (таблица 28). На 5 сутки ТТ в ране увеличивается общее содержание тучных клеток относительно животных с ТТ и применением ДП-матрицы. На 5 сутки ТТ возрастает общее количество дегранулированных тучных клеток, количество дегранулированных тучных клеток I степени, коэффициент дегрануляции, снижается число дегранулированных тучных клеток II и III степеней, средняя яркость клеток значимо не изменяется. На 10 сутки ТТ значимо увеличивается в ожоговой ране общее число тучных клеток, дегранулированных тучных клеток, дегранулированных тучных клеток I степени, но снижается дегранулированных тучных клеток II и III степеней, коэффициент дегрануляции. На 20 сутки снижается общее количество тучных клеток, дегранулированных тучных клеток, дегранулированных клеток I и III степеней.

Итак, в условиях локального применения МТ при ТТ увеличение числа и активация дегрануляции тучных клеток на 5 и 10 сутки сменяется снижением их представительства и активности на 20 сутки. Интегральные показатели активности тучных клеток — коэффициент дегрануляции и средняя яркость клеток — были значимо соответственно выше и ниже по сравнению с интактными животными во все сроки наблюдения [32, 239].

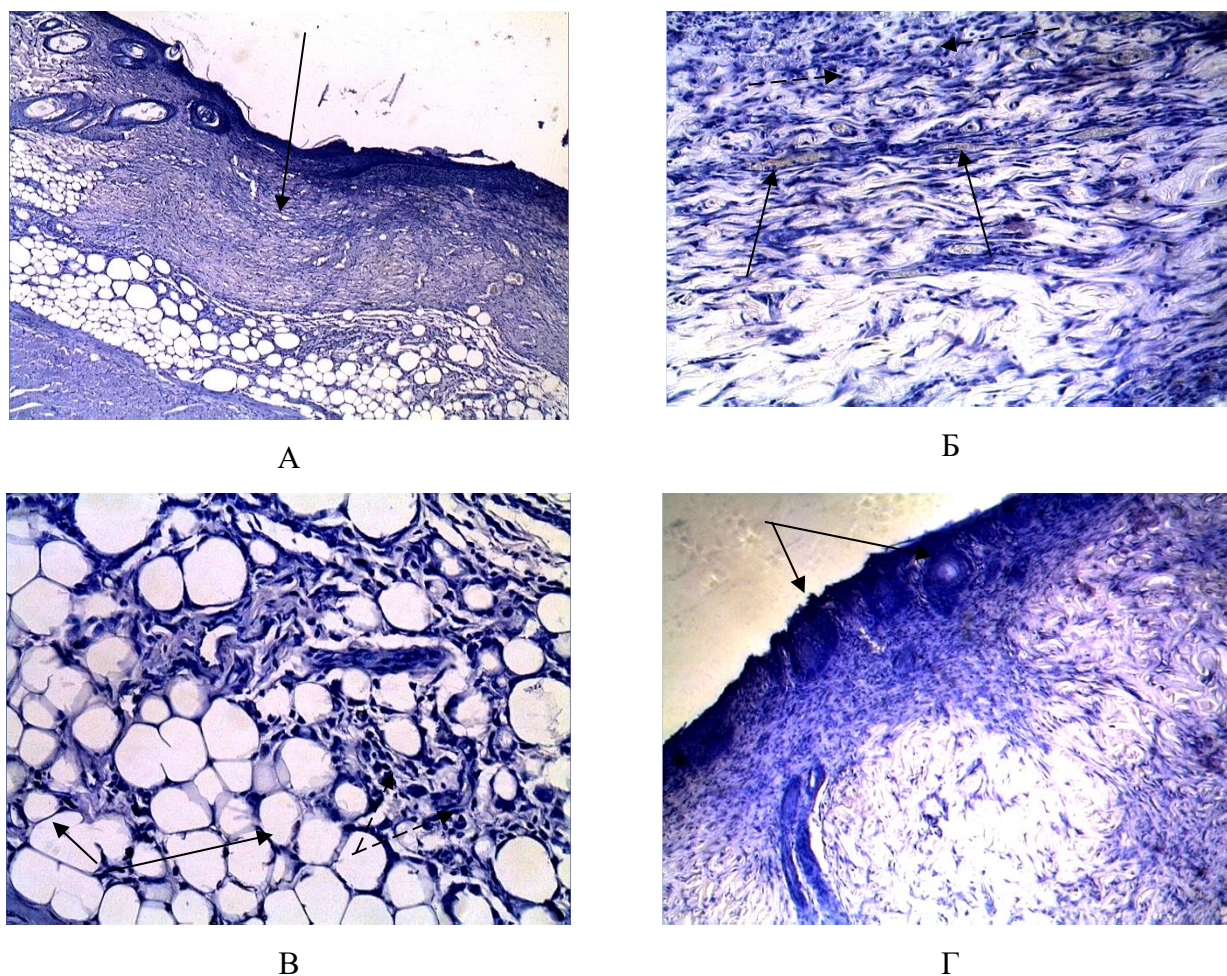


Рисунок 16 – Морфологические изменения в коже на 20 сутки ТТ в условиях применения ДП с МТ. Окраска: гематоксилин-эозин. А – эпителизированный молодой соединительно-тканый рубец (стрелка) в коже с тонким роговым слоем, ув. х 50; Б – в рубцовой ткани полнокровные новообразованные сосуды (сплошные стрелки) и небольшие очаги макрофагальной и круглоклеточной инфильтрации (пунктирные стрелки), ув. х 200; В – гиподерма под участком соединительно-тканного рубца с фрагментами жировой (сплошные стрелки) и рыхлой соединительной ткани (пунктирные стрелки), ув. х 200; Г – пролиферирующие сальные железы и волосяные фолликулы (стрелки) в молодой рубцовой ткани, ув. х 200

Ускоряющий репарацию кожи эффект МТ в составе ДП может быть обусловлен прямым влиянием МТ на продукцию и активность факторов, участвующих в репарации. МТ в культуре эндотелиоцитов снижает проницаемость активированных IL-1 β клеток путем ингибирования MMP-9 [56]. МТ напрямую связывает MMP-9 при COVID-19-опосредованных иммунных реакциях, плоскоклеточном раке полости рта [149]. МТ снижает избыточную экспрессию и активность MMP-9 путем регуляции сигнальных путей NOTCH3/NF- κ B, TLR4/NF- κ B [253]. Эффект МТ на тучные клетки различается в зависимости от типа рецептора, с которым он взаимодействует (M1 или M2). Неоднозначный эффект локального применения МТ при ТТ на содержание MMP-9 в ожоговой ране связан на 5 сутки с протекцией тучных клеток от действия повреждающих факторов в очаге ТТ, увеличение секреции тучными клетками MMP-9, в свою очередь, обеспечивает эффективное и быстрое очищение раны от клеточного детрита, раннюю подготовку для репарации. Позднее, на 10 и 20 сутки ТТ снижение экспрессии MMP-9 в очаге может быть обусловлено прямым или опосредованным ингибированием и снижением синтеза данной протеиназы под влиянием МТ, что прекращает деструктивные реакции в ране и ускоряет восстановление поврежденных тканей. Целесообразность увеличения экспрессии VEGF в ране на 5 и 10 сутки ТТ в условиях применения МТ вполне обоснована.

Сведения о влиянии МТ на синтез и экспрессию VEGF неоднозначны. МТ ингибирует синтез VEGF в клетках нейробластомы человека, рака простаты, оказывая антиангиогенное действие и препятствуя росту опухоли за счет блокады стабилизации комплекса STAT3 и HIF-1 α и подконтрольных им генов: VEGF, рецептора VEGFR2 [73, 255]. Последние данные свидетельствуют о регуляторном влиянии МТ на ангиогенез в зависимости от концентрации в тканях и исходного состояния ткани. При репарации костной ткани, заживлении кожи, язвенных дефектах слизистой желудка, ишемии миокарда применение МТ усиливает ангиогенез прямо или опосредованно [255]. МТ повышает ангиогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток в очаге повреждения за счет синтеза VEGF по пути Erk1/2 [193].

Несмотря на некоторые разногласия в механизме действия МТ на репарацию и ангиогенез в очаге повреждения различных тканей большинство исследователей сходятся во мнении, что ключевой мишенью МТ в регуляции гомеостаза раны является редокс-статус. Известно, что концентрация АФК определяет стабильность HIF-1 α и активность генов эритропоэтина, NOS и VEGF, свободно-радикальный некробиоз и апоптоз клеток, репаративный потенциал тканей [88].

Таблица 27 – Влияние МТ в составе ДП на морфометрические показатели в очаге повреждения кожи при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
	5 сутки (n=10)	10 сутки (n=10)	20 сутки (n=10)	5 сутки (n=12)	10 сутки (n=12)	20 сутки (n=12)
Нейтрофилы, ед./мм ²	1132,6 (1055,0; 1302,0)	1069,7 (1001,0; 1126,0)	117,0 (104,0; 128,0)	384,0 (340,0; 420,0) #	373,9 (220,0; 420,0) #	110,5 (60,0; 160,0)
Лимфоциты, ед./мм ²	277,3 (226,0; 324,0)	135,1 (103,0; 157,0)	321,4 (257,0; 371,0)	1187,8 (1040,0; 1360,0) #	312,8 (240,0; 360,0) #	336,8 (240,0; 380,0)
Фибробласты, ед./мм ²	144,2 (109,0; 162,0)	119,4 (85,0; 146,0)	849,7 (752,0; 931,0)	175,2 (140,0; 220,0) #	335,2 (300,0; 380,0) #	973,6 (840,0; 1140,0) #
Гистиоциты, ед./мм ²	341,8 (310,0; 405,0)	572,9 (467,0; 630,0)	612,7 (545,0; 668,0)	164,8 (120,0; 200,0) #	290,4 (220,0; 360,0) #	420,8 (340,0; 480,0) #
Примечание. # – значимые (p<0,01) различия с группой 3 на соответствующие сутки, & - с группой 4 на 5 сутки, && - с группой 4 на 10 сутки.						

Таблица 28 – Влияние МТ в составе ДП на количественный состав и функциональную характеристику тучных клеток в очаге повреждения при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=8)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)	5 сутки (n=9)	10 сутки (n=9)	20 сутки (n=9)
Общее количество клеток, ед./мм ²	166,87 (160,91; 172,82)	226,46 (202,62; 262,22) *	286,06 (274,14; 297,97) *	464,84 (452,92; 476,76) *	250,30 (250,30; 250,30) * #	369,49 (357,57; 381,41) * # &	166,87 (154,95; 178,78) # & &
Количество дегр. клеток, ед./мм ²	35,76 (35,76; 41,72)	178,78 (154,95; 190,70) *	166,87 (166,87; 178,78) *	226,46 (226,46; 250,30) *	202,62 (190,70; 214,54) * #	190,70 (178,78; 202,62) * #	83,43 (83,43; 83,43) * # & &
Количество дегр. клеток I ст., ед./мм ²	23,84 (11,92; 29,79)	83,43 (71,51; 95,35) *	59,60 (59,60; 71,51) *	178,78 (178,78; 202,62) *	143,03 (143,03; 154,95) * #	154,95 (131,11; 154,95) * #	59,60 (59,60; 59,60) * # & &
Количество дегр. клеток II ст., ед./мм ²	11,92 (0; 17,88)	47,68 (35,76; 47,68) *	47,68 (23,84; 59,60) *	13,84 (13,84; 13,84)	35,76 (35,76; 59,60) *	23,84 (23,84; 39,20) * # &	13,84 (11,92; 15,76) & &
Количество дегр. клеток III ст., ед./мм ²	5,96 (0; 11,92)	59,60 (35,76; 59,60) *	59,60 (47,68; 71,51) *	23,84 (11,92; 23,84) *	11,92 (11,92; 23,84) * #	11,92 (0,00; 11,92) * #	11,92 (0,00; 11,92) * #
Коэффициент дегрануляции клеток, у.е.	0,22 (0,21; 0,26)	0,76 (0,71; 0,77) *	0,60 (0,56; 0,61) *	0,50 (0,48; 0,53) *	0,81 (0,81; 0,86) * #	0,50 (0,48; 0,53) * # &	0,50 (0,47; 0,54) * &
Яркость клеток средняя, у.е.	79,51 (73,14; 83,76)	57,38 (50,0; 58,42) *	38,00 (33,26; 39,57) *	36,38 (34,36; 37,9599) *	51,36 (48,50; 59; 32) *	38,13 (33,83; 40,78) * &	37,87 (32,50; 39,33) * &
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – значимые (p<0,01) различия с группой 3, & - с группой 4 на 5 сутки, && - с группой 4 на 10 сутки.							

Таблица 29 – Влияние МТ в составе ДП на иммуногистохимические показатели в ожоговой ране при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=7)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)	5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)
VEGF, ед./мм ²	3,30 (2,90; 3,50)	25,40 (22,20; 29,30) *	32,50 (31,50; 34,20) *	26,90 (25,80; 28,30) *	33,00 (30,20; 34,90) * #	45,60 (41,70; 49,20) * # &	27,10 (22,50; 29,10) * & &&
MMP-9, ед./мм ²	2,50 (2,10; 2,90)	3,30 (2,20; 4,40)	12,10 (10,30; 12,90) *	12,90 (12,70; 13,50) *	14,20 (11,30; 18,10) * #	3,40 (1,10; 4,20) # &	3,30 (1,40; 4,80) # &
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – значимые (p<0,01) различия с группой 3, & – с группой 4 на 5 сутки, && – с группой 4 на 10 сутки.							

Таблица 30 – Корреляция между абсолютной площадью ожоговой раны и экспрессией VEGF и MMP-9 в очаге ТТ в условиях применения ДП с МТ

Показатели	5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)
VEGF, ед./мм ²	- 0,47	- 0,44	0,17
MMP-9, ед./мм ²	- 0,26	0,51	0,57
Коэффициент дегрануляции ТК	- 0,44	0,26	0,21

3.3.2 Динамика изменений показателей свободно-радикального окисления в ожоговой ране при экспериментальной термической травме в условиях применения дермальной пленки с мелатонином

На первом этапе проведена оценка содержания продуктов ПОЛ в липидном экстракте гомогената кожи ожоговой раны в условиях применения МТ в составе ДП (таблица 31). На 5 сутки уменьшается содержание вторичных, конечных продуктов в изопропанольной фазе. Уровень первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, а также первичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе не имеет значимых отличий от группы животных с применением ДП-матрицы. На 10 сутки выявлено снижение уровня вторичных продуктов в гептановой фазе, конечных продуктов в изопропанольной фазе гомогената ожоговой раны. Максимальные изменения зафиксированы на 20 сутки ТТ, когда в условиях применения ДП с МТ снижается содержание кетодиенов и сопряженных триенов, а также Шиффовых оснований в изопропанольной фазе, в гептановой фазе липидного экстракта гомогената ожоговой раны.

Максимальный эффект МТ в составе ДП зафиксирован в изопропанольной фазе. Содержание в гептановой и изопропанольной фазе конечных продуктов ПОЛ на 10 сутки ТТ было меньше, чем на 5 сутки ТТ, что соответствует изменению содержания продуктов ПОЛ в динамике ТТ без применения ДП с МТ. Кроме этого, содержание в гептановой фазе вторичных и конечных продуктов, в изопропанольной – конечных продуктов было значимо выше, чем в группе интактных животных во все сроки. Содержание первичных продуктов в гептановой и изопропанольной фазе, вторичных продуктов в изопропанольной фазе липидного экстракта гомогената ожоговой раны не отличалось от значений в контрольной группе. В целом, это позволяет говорить о снижении и частичном восстановлении количества вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазе экстракта гомогената ожоговой раны [29].

Далее исследовано содержание продуктов ОМБ в гомогенате ожоговой раны в спонтанном и индуцированном режимах в динамике ТТ в условиях применения

ДП с МТ (таблицы 32, 33). На 5 сутки в спонтанном режиме детекции снижается суммарный уровень продуктов ОМБ, суммарное содержание АДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра, АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра. На 10 сутки снижается суммарное содержание продуктов ОМБ, суммарное содержание АДНФГ, суммарное содержание КДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра, но возрастает суммарный уровень продуктов ОМБ в видимой части спектра. Снижение суммарного уровня продуктов ОМБ происходит за счет снижения уровня АДНФГ и КДНФГ в ультрафиолетовой части спектра, одновременно возрастает уровень АДНФГ в видимой части спектра. На 20 сутки снижается суммарное содержание продуктов ОМБ, суммарное содержание АДНФГ, суммарное содержание КДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра. Снижение суммарного уровня продуктов ОМБ происходит преимущественно за счет снижения уровня АДНФГ и КДНФГ в ультрафиолетовой части спектра.

В динамике ТТ на 10 сутки суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра, уровень АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра выше, а суммарное содержание продуктов ОМБ в видимой части спектра, суммарное содержание КДНФГ, содержание АДНФГ и КДНФГ в видимой части спектра ниже, чем на 5 сутки. На 20 сутки суммарное содержание продуктов ОМБ, суммарное содержание АДНФГ и КДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра, уровень АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра выше, чем на 5 сутки, а суммарное содержание продуктов ОМБ в видимой части спектра, суммарное содержание КДНФГ, содержание КДНФГ в ультрафиолетовой и видимой части спектра выше, чем на 10 сутки.

Все исследуемые показатели ОМБ на 5 сутки эксперимента, а также суммарное содержание продуктов ОМБ в видимой части спектра, уровень КДНФГ в видимой и ультрафиолетовой части спектра на 10 сутки, суммарное содержание продуктов ОМБ в видимой части спектра на 20 сутки не имели значимых различий с группой интактных животных. Таким образом, полностью восстанавливаются на

5 сутки эксперимента суммарное содержание продуктов ОМБ, суммарное содержание АДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра, уровень АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра, на 10 сутки – суммарное содержание КДНФГ, уровень ОМБ в видимой части спектра, уровень КДНФГ в ультрафиолетовой и видимой части спектра.

При ТТ в условиях применения ДП с МТ и оценке уровня продуктов ОМБ в гомогенате ожоговой раны в индуцированном режиме выявлено, что на 5 сутки значительно снижается суммарный уровень продуктов ОМБ, суммарное содержание АДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой и видимой части спектра. Указанные изменения нашли отражение в снижении уровня АДНФГ в ультрафиолетовой и в видимой части спектра. На 10 сутки увеличивается суммарное содержание продуктов ОМБ, суммарное содержание КДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой и видимой части спектра, АДНФГ в видимой части спектра и КДНФГ в ультрафиолетовой и видимой части спектра. На 10 сутки увеличивается резервно-адаптационный потенциал ожоговой раны, оцениваемый по продуктам ОМБ. На 20 сутки снижается суммарное содержание продуктов ОМБ, суммарное содержание АДНФГ, суммарное содержание КДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой и видимой части спектра. Резервно-адаптационный потенциал ожоговой раны, оцениваемый по продуктам ОМБ.

В динамике ТТ в индуцированном режиме суммарное содержание продуктов ОМБ, АДНФГ, КДНФГ, продуктов ОМБ в ультрафиолетовой и видимой части спектра, АДНФГ и КДНФГ в ультрафиолетовой и видимой части на 10 сутки ниже, чем на 5 сутки, суммарное содержание продуктов ОМБ, АДНФГ и КДНФГ, продуктов ОМБ в ультрафиолетовой и видимой части спектра, АДНФГ в видимой части спектра, КДНФГ в ультрафиолетовой и видимой части спектра на 20 сутки ниже, чем на 5 и 10 сутки, а АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра ниже, чем на 5 сутки ТТ.

Итак, локальное применение при ТТ МТ в составе ДП приводит к ограничению образования в ожоговой ране вторичных и конечных продуктов ПОЛ

в гептановой и изопропанольной фазах экстракта, снижению уровня продуктов ОМБ в спонтанном режиме преимущественно за счет ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального характера. Особенностью содержания продуктов ОМБ в ожоговой ране в индуцированном режиме является снижение их количества на 5 и 20 сутки и увеличение на 10 сутки. Полагаем, что данный факт связан с тем, что ДП с МТ применялась в течение первых 5 суток, что привело, с одной стороны, к ограничению окислительной деструкции белков на 5 сутки и накоплению последних в очаге, а позднее, к 10 суткам они выступили в качестве субстрата в условиях ограниченного, но не до исходного уровня окислительного стресса [28, 239].

ПОЛ- и ОМБ-ограничивающий эффект МТ в составе ДП при ТТ обусловлен его накоплением в коже благодаря своим липофильным свойствам, распределению в межклеточном пространстве и внутри клеток посредством пассивной диффузии, а также с использованием транспортеров. Механизмы антиоксидантного действия МТ в коже включают: (1) прямое поглощение АФК (OH^\bullet , H_2O_2); (2) опосредованно через активацию компонентов антиокислительной защиты в клетках; (3) протекцию мембран митохондрий и поддержание баланса СРО, направленного на синтез АТФ, а не АФК. Одна молекула МТ способна связывать до четырех и более АФК, а антиоксидантный эффект МТ более выражен, чем у витаминов С и Е, глутатиона и маннитола в эквивалентной дозе [300]. Описано, что МТ активирует гены и повышает синтез/активность глутатиона, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы, СОД-1, СОД-2, каталазы, гемоксидазы-1, снижает активность хинонредуктазы-2, NOS-1, липоксигеназы [92, 163]. Поступление МТ внутрь митохондрий через транспортер PEPТ1/2 МТ поддерживает потенциал митохондриальной мембраны ($\Delta\psi_m$) и увеличивает окислительное фосфорилирование, продукцию АТФ, а не АФК [258]. МТ рассматривается как регулятор митохондриального гомеостаза за счет влияния на митохондриогенез, деление, слияние митохондрий, митофагию митохондриально-направленного антиоксидантного действия [301].

Таблица 31 – Влияние МТ в составе ДП на содержание продуктов ПОЛ в гомогенате ожоговой раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=32)	20 сутки (n=25)	5 сутки (n=15)	10 сутки (n=23)	20 сутки (n=7)
ДК (г), е.и.о.	0,920 (0,863; 0,975)	0,914 (0,844; 0,969)	0,911 (0,852; 0,947)	0,921 (0,869; 0,948)	0,866 (0,808; 0,908)	0,889 (0,834; 0,942)	0,909 (0,861; 0,921)
КД и СТ (г), е.и.о.	0,049 (0,013; 0,088)	0,119 (0,110; 0,138) *	0,117 (0,098; 0,142) *	0,116 (0,093; 0,145) *	0,109 (0,103; 0,161) *	0,095 (0,058; 0,131) * # &	0,086 (0,085; 0,094) * # &
ШО (г), е.и.о.	0 (0; 0,011)	0,016 (0,011; 0,029) *	0,008 (0,003; 0,016) *	0,022 (0,012; 0,041) *	0,019 (0,012; 0,028) *	0,004 (0,003; 0,017) * &	0,005 (0,004; 0,006) * # &
ДК (и), е.и.о.	0,601 (0,596; 0,622)	0,589 (0,562; 0,729)	0,582 (0,564; 0,620)	0,608 (0,585; 0,631)	0,587 (0,579; 0,613)	0,600 (0,584; 0,625)	0,609 (0,556; 0,617)
КД и СТ (и), е.и.о.	0,217 (0,209; 0,228)	0,248 (0,200; 0,311) *	0,208 (0,175; 0,244)	0,218 (0,207; 0,244)	0,214 (0,183; 0,219) #	0,195 (0,165; 0,239)	0,185 (0,171; 0,191) #
ШО (и), е.и.о.	0 (0; 0,011)	0,028 (0,012; 0,041) *	0,008 (0,004; 0,021) *	0,031 (0,024; 0,032) *	0,019 (0,016; 0,025) * #	0,004 (0,002; 0,009) * # &	0,006 (0,005; 0,008) * # &

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – значимые (p<0,01) различия с группой 3, & - с группой 4 на 5 сутки. Показатели отражают содержание продуктов ПОЛ в гептановой (г) и изопропанольной (и) фазах липидного экстракта гомогената ожоговой раны. ДК – диеновые конъюгаты, КД и СТ – кетодиены и сопряженные триены, ШО – Шиффовы основания.

Таблица 32 – Влияние МТ в составе ДП на содержание продуктов ОМБ в спонтанном режиме в гомогенате ожоговой раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=30)	20 сутки (n=21)	5 сутки (n=15)	10 сутки (n=23)	20 сутки (n=7)
S аднФГ uv, ед./мг белка	29,85 (24,69; 32,84)	50,26 (47,09; 53,74) *	59,21 (55,15; 68,18) *	54,57 (42,72; 67,27) *	32,87 (31,04; 48,35) #	53,71 (45,11; 59,16) * # &	48,33 (45,92; 61,88) * # &
S аднФГ vs, ед./мг белка	6,93 (5,32; 8,71)	6,22 (5,52; 8,97)	3,23 (2,00; 4,91) *	9,01 (7,57; 12,96) *	7,09 (5,17; 12,27)	5,24 (3,10; 7,17) * # &	8,19 (7,41; 8,52)
S кднФГ uv, ед./мг белка	8,19 (7,37; 10,59)	7,82 (7,24; 9,64)	13,21 (9,22; 16,41) *	14,84 (12,37; 19,75) *	9,29 (7,56; 16,39)	8,22 (6,48; 12,61) #	13,03 (10,85; 14,12) * # &&
S кднФГ vs, ед./мг белка	0,89 (0,69; 1,14)	0,98 (0,74; 1,35)	0,75 (0,41; 0,81) *	0,99 (0,81; 1,24) *	0,79 (0,66; 1,42)	0,45 (0,27; 0,77) &	0,77 (0,62; 0,84) &&
S ОМБ спонт., ед./мг белка	47,83 (41,94; 55,40)	64,70 (59,12; 71,45) *	75,61 (65,12; 82,77) *	79,15 (55,79; 135,89) *	49,97 (41,94; 79,07) #	64,65 (56,91; 76,64) * #	69,87 (66,17; 83,94) * # &
S аднФГ, ед./мг белка	38,54 (30,64; 41,39)	56,18 (51,75; 63,16) *	62,07 (55,45; 76,82) *	63,25 (52,79; 74,46) *	40,77 (35,11; 64,89) #	57,90 (48,93; 64,39) * #	56,15 (54,15; 70,39) * # &
S кднФГ, ед./мг белка	10,12 (8,23; 11,31)	9,12 (7,85; 18,25)	13,57 (10,82; 16,52) *	15,87 (13,17; 24,92) *	10,28 (8,23; 18,01)	8,97 (6,76; 13,15) # &	13,73 (11,63; 15,34) * # & &&
% АДНФГ	79,31 (74,03; 80,65)	86,46 (84,26; 88,11) *	82,01 (79,12; 83,87)	78,97 (77,25; 82,41)	81,59 (75,98; 84,52)	85,15 (81,39; 86,79) *	82,43 (80,15; 83,86) #

Продолжение таблицы 32

% КДФГ	20,69 (19,35; 25,97)	13,25 (11,33; 15,47) *	17,89 (14,54; 22,42)	20,94 (18,21; 22,67)	18,41 (15,48; 24,02)	14,85 (13,20; 18,60) * &	17,57 (16,14; 19,85) #
S uv, ед./мг белка	38,47 (34,05; 45,31)	57,28 (52,11; 65,85) *	70,92 (60,81; 82,78) *	66,24 (57,58; 74,45) *	40,94 (36,99; 64,74) #	61,28 (52,69; 70,97) * # &	61,35 (57,99; 74,55) * # &
S vs, ед./мг белка	7,87 (6,02; 9,73)	6,94 (5,81; 8,92)	4,25 (2,82; 6,12) *	11,42 (9,05; 13,57) *	7,88 (5,84; 13,69)	5,67 (3,37; 7,89) # &	8,82 (8,18; 9,36) &&
% uv	82,25 (79,79; 86,43)	88,57 (85,28; 91,161) *	93,75 (91,85; 95,74) *	83,71 (82,14; 85,97) *	84,13 (81,91; 89,06)	92,59 (88,49; 93,83) * # &	87,80 (86,69; 98,85) * # &
% vs	17,75 (13,57; 20,20)	10,96 (8,84; 12,64) *	5,99 (3,51; 6,84) *	15,94 (12,84; 17,95) *	15,87 (10,94; 18,09)	7,41 (6,17; 11,51) * &	12,19 (11,15; 13,30) * &&
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 3, & – с группой 4 на 5 сутки, && – с группой 4 на 10 сутки. S – суммарное содержание; АДНФГ – альдегид-динитрофенилгидразоны; uv – ультрафиолетовая область спектра; vs – видимая область спектра; КДФГ – кетон-динитрофенилгидразоны.							

Таблица 33 – Влияние МТ в составе ДП на содержание продуктов ОМБ в металл-зависимом режиме в гомогенате ожоговой раны при экспериментальной ТТ (Me (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=30)	20 сутки (n=21)	5 сутки (n=15)	10 сутки (n=23)	20 сутки (n=7)
S АДНФГ uv, ед./мг белка	90,68 (70,81; 94,67)	364,45 (309,58; 424,38) *	185,12 (134,51; 251,78) *	245,42 (201,14; 304,77) *	260,81 (94,29; 550,90) * #	211,60 (140,76; 235,78) * &	193,78 (126,31; 232,83) * # &
S АДНФГ vs, ед./мг белка	18,81 (16,01; 21,09)	142,24 (95,25; 184,25) *	39,79 (31,44; 71,84) *	86,17 (64,99; 108,25) *	91,49 (19,62; 264,02) * #	68,35 (45,15; 100,18) * # &	31,09 (21,86; 32,97) * # & &
S кДНФГ uv, ед./мг белка	28,73 (24,72; 37,55)	198,25 (134,87; 280,57) *	74,14 (49,24; 91,27) *	108,16 (82,63; 141,68) *	125,89 (29,35; 333,99) *	93,56 (60,57; 127,56) * # &	56,04 (38,33; 62,38) * # & &
S кДНФГ vs, ед./мг белка	2,07 (1,62; 2,32)	16,25 (11,57; 20,58) *	3,22 (2,71; 5,26) *	7,01 (5,52; 8,89) *	8,84 (2,32; 26,09) *	6,61 (4,68; 9,76) * # &	3,12 (2,46; 3,21) * # & &
S ОМБ индуц., ед./мг белка	140,38 (113,93; 155,46)	726,34 (507,38; 1128,99) *	301,46 (224,94; 369,97) *	449,34 (342,04; 624,81) *	487,04 (145,58; 1175,01) * #	378,89 (262,70; 476,87) * # &	274,73 (208,44; 331,39) * # & &
S АДНФГ, ед./мг белка	109,49 (87,20; 115,77)	511,02 (467,74; 614,35) *	224,49 (161,24; 299,15) *	332,34 (284,54; 373,26) *	352,30 (113,91; 814,93) * #	277,53 (197,90; 338,84) * &	225,06 (155,74; 265,89) * # & &
S кДНФГ, ед./мг белка	30,82 (26,73; 39,69)	211,59 (156,74; 289,87) *	77,02 (51,67; 97,35) *	115,11 (91,22; 143,62) *	134,74 (31,67; 360,08) *	99,88 (64,40; 138,03) * # &	59,25 (40,79; 65,59) * # & &
% АДНФГ	76,89 (74,92; 78,23)	70,34 (68,25; 74,37) *	74,64 (73,25; 77,88)	73,99 (72,84; 74,41)	72,33 (69,19; 76,65) *	72,62 (71,72; 73,91) *	80,21 (76,38; 83,89) # & &

Продолжение таблицы 33

% КДФГ	23,10 (21,77; 25,08)	29,16 (27,87; 30,75) *	24,99 (23,77; 26,41)	26,03 (25,84; 27,15)	27,67 (23,35; 30,81) *	27,38 (26,09; 28,28) *	19,79 (16,11; 23,62) # & &
S uv, ед./мг белка	119,47 (95,53; 132,23)	564,45 (504,25; 602,75) *	248,94 (195,27; 304,72) *	351,12 (282,57; 425,82) *	386,71 (123,64; 884,89) * #	304,79 (218,89; 363,53) * # &	250,41 (175,88; 295,21) * # & &
S vs, ед./мг белка	20,91 (17,63; 23,23)	150,73 (101,47; 196,25) *	38,66 (31,45; 46,35) *	96,21 (74,62; 118,27)	100,33 (21,94; 290,12) * #	74,96 (49,83; 109,94) * # &	34,30 (24,32; 36,18) * # & &
% uv	85,19 (84,89; 86,16)	78,02 (77,27; 79,65)	82,81 (78,64; 86,12)	78,49 (77,64; 82,06) *	79,19 (75,26; 86,16) *	78,47 (76,27; 80,44) *	88,61 (86,33; 91,15) # & &
% vs	14,81 (13,84; 15,11)	21,84 (20,35; 24,44)	17,01 (12,26; 20,17)	21,84 (17,28; 22,88) *	20,80 (13,84; 24,74) *	21,53 (19,56; 23,73) *	11,39 (8,85; 13,67) # & &
РАП, %	61,81 (53,98; 72,55)	89,44 (87,27; 92,16) *	68,84 (63,11; 72,74)	81,15 (74,26; 86,14) *	83,77 (71,19; 96,33) *	81,15 (74,35; 86,09) * #	70,78 (62,97; 78,92) # & &
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 3, & – с группой 4 на 5 сутки, && – с группой 4 на 10 сутки. S – суммарное содержание; АДНФГ – альдегид-динитрофенилгидразоны; uv – ультрафиолетовая область спектра; vs – видимая область спектра; КДФГ – кетон-динитрофенилгидразоны; РАП – резервно-адаптационный потенциал.							

Антиоксидантный эффект МТ в очаге ТТ, уменьшение повреждения белков и липидов, входящих в состав цитоплазматических мембран и органелл ограничивают вторичную альтерацию, сокращают сроки сосудистых и экссудативных реакций, способствуют более раннему включению репаративных реакций и сокращению сроков заживления ожоговой раны.

Корреляционный анализ площади ожоговой поверхности и содержания продуктов ПОЛ и ОМБ в очаге при ТТ в условиях применения ДП с МТ показал, что на 5 сутки между площадью ожога наличие прямой средней силы связи с содержанием вторичных и конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе, слабой связи с содержанием вторичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, прямой средней силы связи с суммарным содержанием продуктов ОМБ в спонтанном и индуцированном режимах, суммарным содержанием ранних продуктов ОМБ и суммарным содержанием продуктов ОМБ нейтрального характера (таблица 34).

На 10 сутки выявлена прямая связь средней силы с содержанием вторичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе и конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе липидного экстракта, суммарным содержанием продуктов ОМБ в спонтанном режиме, прямая связь слабой силы с суммарным содержанием продуктов ОМБ основного характера, ранних и поздних продуктов ОМБ. На 20 сутки прямая средней силы связь установлена с вторичными и конечными продуктами ПОЛ в гептановой фазе, суммарным содержанием продуктов ОМБ в спонтанном режиме, прямая слабая связь с вторичными и конечными продуктами ПОЛ в изопропанольной фазе, суммарным содержанием продуктов ОМБ в индуцированном режиме, суммарным содержанием ранних и нейтральных продуктов ОМБ.

Таблица 34 – Корреляция между площадью ожога (см²) и показателями СРО в гомогенате ожоговой раны при экспериментальной ТТ в условиях применения ДП с МТ

Показатели	5 сутки (n=15)	10 сутки (n=23)	20 сутки (n=7)
ДК (гептановая фаза), е.и.о.	R=0,21	R=0,18	0,19
КД и СТ (гептановая фаза), е.и.о.	R=0,34	R=0,52	0,51
ШО (гептановая фаза), е.и.о.	R=0,17	R=0,27	0,68
ДК (изопропанольная фаза), е.и.о.	R=0,17	R=0,15	0,24
КД и СТ (изопропанольная фаза), е.и.о.	R=0,68	R=0,21	0,44
ШО (изопропанольная фаза), е.и.о.	R=0,53	R=0,51	0,46
S ОМБ (спонт. режим), ед./мг	R=0,74	R= 0,67	R=0,51
S ОМБ (инд.режим), ед./мг	R=0,53	R= - 0,25	R=0,44
S аднфг (спонт. режим), ед./мг белка	R=0,51	R= 0,39	R=0,41
S кднфг (спонт. режим), ед./мг белка	R=0,07	R= 0,47	R=0,27
S uv (спонт. режим), ед./мг белка	R=0,57	R= 0,37	R=0,39
S vs (спонт. режим), ед./мг белка	R=0,18	R= 0,11	R=0,07
Примечание. Полужирным шрифтом выделены значимые (p<0,05) связи.			

3.3.3 Динамика изменений показателей иммунного статуса при экспериментальной термической травме в условиях применения дермальной пленки с мелатонином

При оценке показателей врожденного иммунитета обнаружены изменения количественного состава лейкоцитов, функциональной активности нейтрофилов (таблица 35, 36). В крови на 5 сутки снижается количество эозинофилов, моноцитов, сегментоядерных нейтрофилов, общее количество нейтрофилов, увеличивается количество лимфоцитов, на 10 сутки снижается количество эозинофилов и повышается количество лимфоцитов, на 20 сутки наблюдения не отмечено значимых изменений количественного состава лейкоцитов. Количество в крови эозинофилов на 5 и 10 сутки, сегментоядерных нейтрофилов, общего количества нейтрофилов на 5 сутки отличалось от значений в группе интактных животных, что говорит о частичном восстановлении указанных показателей.

В динамике ТТ количество палочкоядерных нейтрофилов на 10 сутки было ниже, чем на 5 сутки, а количество лимфоцитов и моноцитов – выше, чем на 5 сутки. Общее количество лейкоцитов, количество моноцитов, сегментоядерных

нейтрофилов, общее количество нейтрофилов на 20 сутки было ниже, чем на 10 сутки, количество сегментоядерных нейтрофилов, общего количества нейтрофилов на 20 сутки ниже, чем на 5 сутки ТТ.

Исследование функциональной активности нейтрофилов крови позволило установить на 5 сутки снижение активности фагоцитоза, интенсивность фагоцитоза и фагоцитарное число значимо не изменялись (таблица 36). Выявлено снижение активности и интенсивности спонтанного НСТ-теста, активности и интенсивности индуцированного НСТ-теста. На 10 и 20 сутки не обнаружено значимых изменений функции нейтрофилов относительно крыс с применением ДП-матрицы. Показатели НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов в группе 4 на 5 сутки наблюдения не имели отличий с группой интактных животных, а активность и интенсивность фагоцитоза, фагоцитарное число отличалась от последних. На 10 сутки в группе 4 активность, интенсивность фагоцитоза и фагоцитарное число, активность и интенсивность спонтанного НСТ-теста, функциональный резерв нейтрофилов, оцениваемый по активности и интенсивности НСТ-теста значимо отличались от соответствующих показателей в группе интактных животных. Активность, интенсивность фагоцитоза, фагоцитарное число, интенсивность спонтанного НСТ-теста нейтрофилов крови на 20 сутки значимо отличались от соответствующих показателей на 5 и 10 сутки; активность спонтанного НСТ-теста на 20 сутки значимо отличалась от значений на 10 сутки.

Таким образом, при экспериментальной ТТ в условиях применения ДП с МТ на 5 сутки зафиксированы снижение количества нейтрофилов крови и их функциональной активности преимущественно по отношению к НСТ-редуцирующей способности. На 10 сутки ТТ сохранялась повышенная поглотительная и НСТ-редуцирующая способности нейтрофилов крови.

Концентрация в сыворотке С-РБ, отражающая выраженность ответа острой фазы, снижается на 5 и 10 сутки и значимо не изменяется на 20 сутки наблюдения (таблица 37). Концентрация в сыворотке С-РБ на 5 и 10 сутки значимо отличалась от значений в группе интактных животных, то есть восстанавливалась частично.

Концентрация в сыворотке МТ не имела значимых различий с группой сравнения на 5, 10 и 20 сутки.

Изменение количественного состава лейкоцитов, ограничение функциональной активности нейтрофилов в крови, снижение концентрации в сыворотке С-РБ при ТТ в условиях применения МТ в составе ДП находят отражение в изменении цитокинового профиля в крови (таблица 38). На 5 и 20 сутки в сыворотке снижается концентрация TNF- α , на 10 сутки - снижается концентрация TNF- α и IL-4. Наиболее выраженный эффект отмечен при оценке концентрации TNF- α , которая снижалась во все сроки наблюдения и на 10 и 20 сутки значимо отличалась от значений в группе интактных животных, то есть восстанавливалась частично. Концентрация в сыворотке IL-4 на 5, 10 и 20 сутки ТТ была значимо выше, чем в группе интактных животных [33].

При оценке показателей адаптивного иммунитета выявлены изменения количественного состава субпопуляций лимфоцитов в крови, а также количества лимфоцитов в крови с признаками апоптоза и некроза, концентрации иммуноглобулинов в сыворотке (таблица 39, 40, 41). На 5 сутки в крови увеличивается количество CD3⁺ и CD45RA⁺ лимфоцитов, то есть соответственно Т- и В-лимфоцитов. На 10 сутки ТТ в крови увеличивается количество CD3⁺ лимфоцитов. Отметим, что уровень CD3⁺ и CD45RA⁺ лимфоцитов на 5 сутки, а также CD45RA⁺ лимфоцитов на 10 и 20 сутки значимо отличался от соответствующих показателей в группе интактных животных [23].

Увеличение количества лимфоцитов в крови, в том числе, обусловлено изменением их гибели. Так, на 5 сутки в крови значимо снижается количество лимфоцитов с признаками раннего апоптоза, лимфоцитов с признаками позднего апоптоза, признаками некроза. На 10 сутки в крови значимо снижается количество лимфоцитов с признаками раннего апоптоза, лимфоцитов с признаками позднего апоптоза, признаками некроза и как следствие возрастает количество лимфоцитов без маркеров апоптоза и некроза. На 20 сутки в крови снижается количество лимфоцитов с признаками раннего апоптоза. За исключением количества лимфоцитов с признаками позднего апоптоза, признаками некроза на 5 сутки

показатели на 5, 10 и 20 сутки не отличались от таковых в группе интактных животных. В динамике количество лимфоцитов с признаками позднего апоптоза, признаками некроза на 10 и 20 сутки значимо ниже, чем на 5 сутки [28].

Частичное восстановление представительства в крови CD45RA⁺ лимфоцитов как источников плазматических клеток, продуцирующих антитела, сопровождалось увеличением концентрации в сыворотке Ig G на 5 и 10 сутки. На 5 сутки концентрация в сыворотке Ig G значимо отличалась от значений в группе интактных животных, а на 10 сутки ТТ не имела отличий. Концентрация Ig M в сыворотке на 5, 10 и 20 сутки наблюдений значимо не изменялась.

Итак, локальное применение МТ в составе ДП при ТТ приводит к следующим изменениям иммунного статуса: на 5 сутки к снижению и частичному восстановлению количества в крови нейтрофилов, снижению и полному восстановлению их НСТ-редуцирующей способности, снижению и полному восстановлению количества моноцитов в крови; на 10 сутки – к снижению и частичному восстановлению концентрации в сыворотке IL-4; на 5 и 10 сутки – к повышению и частичному восстановлению количества в крови лимфоцитов, в том числе CD3⁺ и CD45RA⁺ лимфоцитов, снижению количества в крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза, с признаками позднего апоптоза, признаками некроза, повышению концентрации в сыворотке Ig G, снижению концентрации С-РБ; на 5, 10 и 20 сутки – к снижению концентрации в сыворотке TNF- α .

Изменения иммунного статуса при ТТ в условиях применения МТ в составе ДП обусловлены несколькими механизмами. Во-первых, продемонстрированный ранее ПОЛ- и ОМБ-ограничивающий эффекты в ране, а также данные других исследователей об антиоксидантном эффекте МТ снижает выраженность вторичной альтерации в очаге повреждения кожи, активацию и продукцию ю медиаторов, прежде всего провоспалительных цитокинов. С одной стороны, это приводит к снижению инфильтрации ожоговой раны нейтрофилами и гистиоцитами, снижению активации нейтрофилов, моноцитов/макрофагов, эндотелиоцитов, уменьшает повреждение тканей. Антиоксидантный эффект МТ и защита клеток от окислительного повреждения повышает целостность

микросомальной мембраны и уменьшает утечку гидролаз в цитозоль и межклеточное пространство [54]. Уменьшается стимуляция миелоидного ростка костного мозга, продукции нейтрофилов и моноцитов, ограничивается демаргинация нейтрофилов в сосудистом русле и как следствие снижается их количество в крови. Уменьшается активация циркулирующих в крови фагоцитов, в том числе поглотительная и НСТ-редуцирующая активности нейтрофилов; снижается гибель лимфоцитов при TNF- α -опосредованном апоптозе. Падение концентрации в крови TNF- α , и др. цитокинов ограничивают синтез в гепатоцитах реактантов острой фазы, в том числе С-РБ.

Во-вторых, противовоспалительное действие МТ связывают с ограничением NF- κ B-зависимых путей сигнализации. МТ ингибирует экспрессию iNOS, циклооксигеназы (ЦОГ)-2, TNF- α , NLRP3-зависимый путь сигнализации, активируемый при окислительном повреждении митохондрий и связанный с экспрессией IL-1 β и IL-18, проапоптогенных факторов [124]. Посредником противовоспалительного действия МТ выступает сиртуин SIRT1, подавляющий активацию NF- κ B-, NLRP3-зависимых путей. МТ изменяет фенотип макрофагов в сторону преобладания M2 субпопуляции с противовоспалительным потенциалом [337].

В-третьих, протекторное действие МТ в очаге ТТ обусловлено его антиапоптогенным эффектом: опосредованно через снижение активации клеток-продуцентов TNF- α , снижение экспрессии проапоптотических белков в кератиноцитах за счет уменьшения выхода цитохрома С из митохондрий, подавления активации каспаз 9, 3 и 7 [209]. Это продемонстрировано в кератиноцитах линии HaCaT с помощью TUNEL теста. МТ подавляет апоптоз и аутофагию в кардиомиоцитах при ишемическом повреждении через активацию NAD-зависимого гистона SIRT1 [349].

Таблица 35 – Влияние МТ в составе ДП на количественный состав лейкоцитов в крови при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=33)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=22)	10 сутки (n=26)	20 сутки (n=19)	5 сутки (n=12)	10 сутки (n=14)	20 сутки (n=17)
Лейкоциты, • 10 ⁹ /л	5,70 (4,00; 6,70)	6,50 (5,10; 8,50) *	5,64 (4,21; 6,80)	5,22 (4,20; 5,90)	5,60 (4,60; 6,20)	6,15 (5,10; 6,60)	5,10 (4,60; 5,20) &&
Базофилы, • 10 ⁹ /л	0	0 (0; 0,22) *	0	0	0,02 (0; 0,05) *	0	0
Эозинофилы, • 10 ⁹ /л	0,22 (0,04; 0,39)	0,20 (0,06; 0,28)	0,24 (0,07; 0,32)	0,18 (0,05; 0,24)	0 (0; 0,05) * #	0,07 (0; 0,12) * #	0,13 (0,05; 0,19) &
Палочкоядерные нейтрофилы, • 10 ⁹ /л	0 (0; 0,04)	0,27 (0,11; 0,62) *	0,08 (0,02; 0,26) *	0	0,07 (0; 0,15) *	0,02 (0; 0,07) &	0
Сегментоядерные нейтрофилы, • 10 ⁹ /л	1,65 (1,09; 1,88)	2,81 (2,14; 3,74) *	2,51 (1,44; 3,54) *	1,96 (1,17; 2,47)	2,08 (1,80; 2,55) * #	2,15 (1,65; 2,88)	1,58 (1,35; 1,88) & &&
Нейтрофилы, • 10 ⁹ /л	1,70 (1,09; 1,88)	3,06 (2,32; 4,27) *	2,68 (1,46; 3,74) *	1,96 (1,17; 2,47)	2,13 (1,84; 2,70) * #	2,21 (1,75; 2,40)	1,58 (1,35; 1,88) & &&
Лимфоциты, • 10 ⁹ /л	3,40 (2,32; 3,77)	2,54 (2,08; 2,97) *	2,39 (1,96; 3,12) *	2,82 (2,11; 3,75)	2,87 (2,53; 3,10) #	3,44 (2,97; 3,81) # &	2,96 (2,72; 3,22)
Моноциты, • 10 ⁹ /л	0,28 (0,21; 0,41)	0,62 (0,33; 0,74) *	0,35 (0,23; 0,57)	0,25 (0,15; 0,34)	0,28 (0,14; 0,31) #	0,39 (0,31; 0,53) * &	0,26 (0,19; 0,32) &&
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – значимые (p<0,01) различия с группой 3, & - с группой 4 на 5 сутки, && - с группой 4 на 10 сутки.							

Таблица 36 – Влияние МТ в составе ДП на показатели функциональной активности нейтрофилов крови при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=26)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=8)	10 сутки (n=19)	20 сутки (n=14)	5 сутки (n=10)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=16)
АФ, %	19,50 (17,00; 23,00)	36,20 (33,40; 40,50) *	31,00 (27,00; 34,00) *	21,50 (17,50; 24,00)	29,00 (28,00; 32,00) *#	30,00 (25,00; 32,50) *	20,50 (19,00; 21,00) & &&
ИФ, у.е.	0,54 (0,41; 0,62)	1,29 (1,11; 1,48) *	1,02 (0,96; 1,07) *	0,58 (0,51; 0,72)	1,35 (0,75; 1,39) *	1,20 (1,06; 1,26) *	0,52 (0,44; 0,57) & &&
ФЧ, у.е.	2,45 (2,20; 3,10)	3,60 (3,20; 4,10) *	3,44 (3,21; 4,00) *	2,88 (2,41; 3,44)	3,75 (3,26; 4,96) *	3,98 (3,57; 4,29) *	2,48 (2,07; 3,07) & &&
НСТ-тест сп., акт-ть, %	5,00 (3,00; 7,00)	10,00 (8,50; 12,00) *	8,50 (7,00; 10,50) *	5,50 (4,50; 7,00)	7,00 (5,00; 8,00) #	8,00 (7,50; 10,00) *	5,00 (3,50; 6,00) &&
НСТ-тест сп., инт-ть, у.е.	0,07 (0,05; 0,09)	0,16 (0,10; 0,19) *	0,12 (0,08; 0,14) *	0,07 (0,05; 0,09)	0,11 (0,05; 0,11) #	0,11 (0,09; 0,12) *	0,06 (0,05; 0,06) & &&
НСТ-тест инд., акт-ть, %	9,00 (7,00; 13,00)	17,00 (14,00; 20,00) *	11,00 (9,00; 12,00)	9,50 (7,00; 12,00)	12,00 (10,00; 12,00) #	10,00 (9,00; 10,00)	9,00 (7,50; 10,00)
НСТ-тест инд., инт-ть, у.е.	0,12 (0,08; 0,17)	0,24 (0,20; 0,27) *	0,14 (0,11; 0,17)	0,12 (0,09; 0,15)	0,13 (0,08; 0,17) #	0,14 (0,12; 0,15)	0,09 (0,05; 0,12) &
ФР (акт-ть НСТ-теста)	1,55 (1,33; 2,00)	1,66 (1,41; 1,79)	1,34 (1,10; 1,74)	1,75 (1,40; 2,17)	1,71 (1,50; 2,00)	1,19 (1,00; 1,33) *	1,83 (1,32; 2,43)
ФР (инт-ть НСТ-теста)	1,80 (1,17; 2,00)	1,51 (1,28; 2,23)	1,20 (0,90; 1,64) *	1,72 (1,24; 1,90)	1,54 (1,50; 1,60)	1,43 (0,96; 1,58) *	1,71 (1,48; 2,00)

Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 3, & - с группой 4 на 5 сутки, && - с группой 4 на 10 сутки. АФ – активность фагоцитоза, ИФ – интенсивность фагоцитоза, ФЧ – фагоцитарное число, ФР – функциональный резерв.

Таблица 37 – Влияние МТ в составе ДП на концентрацию в сыворотке МТ и С-РБ при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=14)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=10)	10 сутки (n=12)	20 сутки (n=10)	5 сутки (n=10)	10 сутки (n=8)	20 сутки (n=8)
МТ, пг/мл	24,08 (11,56; 28,00)	26,32 (13,36; 33,88)	22,35 (13,70; 28,81)	21,57 (15,27; 28,15)	27,11 (10,84; 31,35)	23,16 (12,54; 26,72)	24,79 (12,86; 29,61)
С-РБ, пг/мл	1,29 (0,89; 1,66)	10,88 (9,12; 13,27) *	2,16 (1,55; 3,18) *	1,34 (1,01; 1,56)	5,39 (4,53; 6,49) * #	1,21 (0,98; 1,38) #	1,25 (0,84; 1,43)
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – с группой 3.							

Таблица 38 – Влияние МТ в составе ДП на концентрацию цитокинов в сыворотке при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=12)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=12)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=16)	5 сутки (n=14)	10 сутки (n=20)	20 сутки (n=17)
TNF- α , пг/мл	1,18 (0,84; 1,96)	2,32 (2,22; 2,74) *	3,51 (2,62; 5,04) *	3,22 (2,25; 4,16) *	1,77 (1,07; 2,30) #	1,96 (1,35; 4,32) * # &	1,57 (1,35; 2,69) * #
IFN- γ , пг/мл	0,83 (0,29; 1,24)	0,87 (0,26; 1,25)	1,06 (0,44; 1,54)	0,98 (0,48; 1,51)	0,94 (0,54; 1,24)	0,78 (0,44; 1,34)	1,19 (0,37; 1,44)
IL-4, пг/мл	0,79 (0,50; 1,75)	2,08 (1,41; 2,64) *	3,44 (2,82; 4,77) *	2,65 (1,60; 3,52) *	1,72 (1,36; 1,86) *	2,36 (1,29; 4,22) * # &	2,08 (1,29; 2,65) *
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – с группой 3, & - с группой 4 на 5 сутки.							

Таблица 39 – Влияние МТ в составе ДП на субпопуляционный состав лимфоцитов крови при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=12)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=8)	10 сутки (n=15)	20 сутки (n=11)	5 сутки (n=9)	10 сутки (n=10)	20 сутки (n=16)
CD3 ⁺ , •10 ⁹ /л	1,72 (1,22; 2,17)	1,18 (0,94; 1,32) *	1,12 (0,83; 1,34) *	1,50 (1,02; 2,04)	1,46 (1,25; 1,57) * #	1,69 (0,85; 2,87) #	1,62 (1,38; 2,05)
CD45RA ⁺ , •10 ⁹ /л	0,36 (0,30; 0,46)	0,21 (0,12; 0,31) *	0,19 (0,14; 0,29) *	0,20 (0,13; 0,28) *	0,26 (0,26; 0,29) * #	0,29 (0,23; 0,34) *	0,21 (0,18; 0,24) *

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – значимые (p<0,01) различия с группой 3.

Таблица 40 – Влияние МТ в составе ДП на показатели гибели лимфоцитов крови при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		Группа 2 ТТ 5 сутки (n=8)	Группа 2 ТТ 10 сутки (n=15)	Группа 2 ТТ 20 сутки (n=11)	ТТ+МТ ДП 5 сутки (n=10)	ТТ+МТ ДП 10 сутки (n=8)	ТТ+МТ ДП 20 сутки (n=15)
Annexin-5-FITC-/ 7-AAD-, •10 ⁹ /л	2,71 (2,16; 2,71)	1,61 (1,07; 2,58)	1,45 (1,21; 1,84) *	1,85 (1,44; 2,38)	2,53 (1,59; 2,83)	2,82 (2,45; 3,39) #	2,15 (1,25; 2,58)
Annexin-5-FITC+/ 7-AAD-, •10 ⁹ /л	0,42 (0,31; 0,53)	1,48 (1,03; 2,04) *	0,83 (0,55; 1,27) *	0,68 (0,34; 0,88) *	0,38 (0,30; 0,70) #	0,46 (0,29; 0,61) #	0,39 (0,32; 0,56) #
Annexin-5-FITC+/ 7-AAD+, •10 ⁹ /л	0,002 (0,001; 0,012)	0,067 (0,041; 0,121) *	0,005 (0,003; 0,011)	0,006 (0,002; 0,013) *	0,007 (0,006; 0,146) * #	0,004 (0,002; 0,009) &	0,005 (0,003; 0,010) &

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – значимые (p<0,01) различия с группой 3, & - с группой 4 на 5 сутки.

Таблица 41 – Влияние МТ в составе ДП на концентрацию иммуноглобулинов в крови при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=15)	Группа 3 ТТ+ДП			Группа 4 ТТ+МТ ДП		
		5 сутки (n=16)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=12)	5 сутки (n=16)	10 сутки (n=18)	20 сутки (n=17)
Ig M, нг/мл	0,29 (0,27; 0,86)	0,34 (0,26; 0,64)	0,29 (0,23; 0,36)	0,33 (0,25; 0,37)	0,34 (0,22; 0,57)	0,34 (0,19; 0,66)	0,27 (0,23; 0,49)
Ig G, нг/мл	53,43 (44,21; 53,58)	36,12 (28,04; 45,92) *	30,53 (23,49; 36,54) *	46,20 (35,28; 63,12)	42,65 (28,81; 44,74) * #	44,69 (30,86; 58,51) #	43,98 (31,70; 53,72)
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, # – с группой 3.							

3.4 Динамика изменений гомеостаза при экспериментальной термической травме в условиях системного применения мелатонина

3.4.1 Показатели репарации, морфологии и активности тучных клеток в очаге повреждения

Применение МТ при ТТ сокращает площадь раны в абсолютных и относительных величинах только на 20 сутки (таблица 42). На 10 и 20 сутки увеличиваются скорость эпителизации раны и относительное уменьшение площади раны. В динамике абсолютная площадь ожога на 10 и 20 сутки значительно меньше, чем на 5 сутки, на 20 сутки меньше, чем на 5 и 10 сутки; относительная площадь ожога на 20 сутки меньше, чем на 5 и 10 сутки; скорость эпителизации на 10 и 20 сутки больше, чем на 5 сутки, на 20 сутки больше, чем на 5 и 10 сутки. К 20 суткам применение МТ уменьшает абсолютную площадь ожога на 48% по медиане против 37% в группе сравнения [24].

При гистологическом исследовании препаратов кожи на 5 сутки поверхность кожи покрыта струпом с базофильными плотными массами, глубже определяется некроз до сосочкового слоя. (рисунок 17, А). Соединительно-тканые волокна дермы уплотнены, гомогенизированы (рисунок 17, Б). В перифокальных зонах полнокровие сосудов всех калибров, отек межуточной ткани, перифокальный клеточный вал с преобладанием нейтрофилов, лимфоцитов, очагами макрофагальной инфильтрации и пролиферации фибробластов (рисунок 17, В). Эпидермис на границе очага некроза представлен утолщенным пластом из крупных клеток с просветленными ядрами и гиперхромными ядрышками (рисунок 17, Д). Базальный слой эпидермиса многорядный с вытянутыми пролиферирующими клетками, врастающими под ожоговый струп, отслаивая его от некротизированных тканей (рисунок 17, Г). В средних слоях дермы в перифокальных зонах пролиферация клеток волосяных фолликулов, сальных желез (рисунок 17, Г и Е).

На 10 сутки поверхность кожи покрыта ожоговым струпом бледно-розовой окраски, плотно связанным с подлежащими тканями (рисунок 18, А). Другие

морфологические признаки незначительно отличаются от таковых на 5 сутки наблюдения. Некроз эпидермиса и всех слоев дермы, сосочки сглажены, эпидермис не визуализируется, волокна дермы сложены в единый плотный конгломерат (рисунок 18, Б). Полнокровие сосудов, умеренный отек межуточной ткани, перифокальный клеточный вал нейтрофилов, лимфоцитов, очагами макрофагов и пролиферирующих фибробластов (рисунок 18, В). Утолщенный пласт эпидермиса на границе очага некроза из крупных эпителиальных клеток, базальный слой выполнен вытянутыми пролиферирующими клетками (рисунок 18, Д и Г). В поверхностных и средних слоях дермы наблюдается пролиферация клеток волосяных фолликулов и сальных желез (рисунок 18, Е).

К 20 суткам поверхность кожи покрыта струпом сиренево-розового окрашивания с сохранившимися очертаниями структурных элементов кожи и скоплениями распадающихся нейтрофилов. Струп неплотно прилежит к глубжележащим тканям, представленным незрелым соединительно-тканым рубцом (рисунок 19, А). В рубцовой ткани преобладают пролиферирующие фибробласты, формирующие тяжи параллельно поверхности кожи (рисунок 19, Б). Новообразованные соединительно-тканые волокна умеренно извитые, тонкие, складываются в пучки, под эпидермисом видны полнокровные незрелые капилляры, а в поверхностных и средних слоях дермы отчетливо выражены явления неоангиогенеза и формирование «сосудистых пучков» (рисунок 19, В). В гиподерме паретическое полнокровие сосудов всех калибров, очаговая круглоклеточная и макрофагальная инфильтрация (рисунок 19, Г), умеренный отек межуточной ткани (рисунок 19, Д). Эпидермис на границе очага некроза представлен утолщенным пластом из крупных эпителиальных клеток, базальный слой многорядный с вытянутыми пролиферирующими клетками, мигрирующими под ожоговый струп (рисунок 19, Е).

При морфометрической оценке клеточного состава очага выявлено на 5 сутки снижение количества нейтрофилов, увеличение – лимфоцитов и фибробластов, на 10 сутки наблюдения – снижение количества нейтрофилов и гистиоцитов, увеличение количества лимфоцитов и фибробластов, на 20 сутки эксперимента –

только снижение количества гистиоцитов (таблица 43). Таким образом, изменения клеточного состава ожоговой раны во многом похожи на таковые в условиях локального применения МТ: снижение представительства нейтрофилов и гистиоцитов, увеличение количества лимфоцитов и фибробластов, что в целом способствует ограничению вторичной деструкции и активирует репаративные процессы после термического повреждения.

Далее проведена оценка содержания и активности тучных клеток в очаге ТТ (таблица 44). На 5 сутки увеличивается общее количество и количество дегранулированных тучных клеток, в том числе клеток с I и II степенями дегрануляции, возрастает коэффициент дегрануляции. На 10 сутки уменьшается общее содержание тучных клеток, снижается общее количество дегранулированных тучных клеток преимущественно за счет клеток III степени. На 20 сутки уменьшается общее содержание и количество дегранулированных тучных клеток, клеток I степени, коэффициент дегрануляции и яркость тучных клеток не изменяются.

Таблица 42 – Влияние системного применения МТ на показатели репарации раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
	5 сутки (n=16)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=16)	5 сутки (n=16)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=12)
Площадь ожога, см ²	11,66 (11,50; 11,94)	9,48 (9,28; 9,93) *	7,59 (7,23; 7,84) * **	10,92 (10,73; 11,03)	9,11 (8,53; 9,50) &	6,27 (6,18; 6,42) # & &&
Относительная площадь, %	3,34 (3,25; 3,39)	3,17 (3,10; 3,29)	2,99 (2,94; 3,12) *	3,43 (2,91; 3,46)	3,10 (3,01; 3,15)	2,54 (2,17; 2,86) # & &&
Скорость эпителизации, % / сутки	0,89 (0,86; 0,89)	1,90 (1,88; 1,95) *	2,26 (2,14; 2,55) * **	1,15 (1,04; 1,22)	2,90 (2,62; 3,27) # &	8,89 (7,80; 9,90) # & &&
Уменьшение площади раны, %	2,61 (2,59; 2,64)	3,68 (3,53; 4,23) *	11,49 (11,43; 11,64) * **	3,31 (3,17; 3,58)	9,48 (8,81; 10,22) # &	15,09 (13,39; 16,87) # & &&
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 2 на 5 сутки, ** – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки в группе 5, & - с группой 5 на 5 сутки, && - с группой 5 на 10 сутки.						

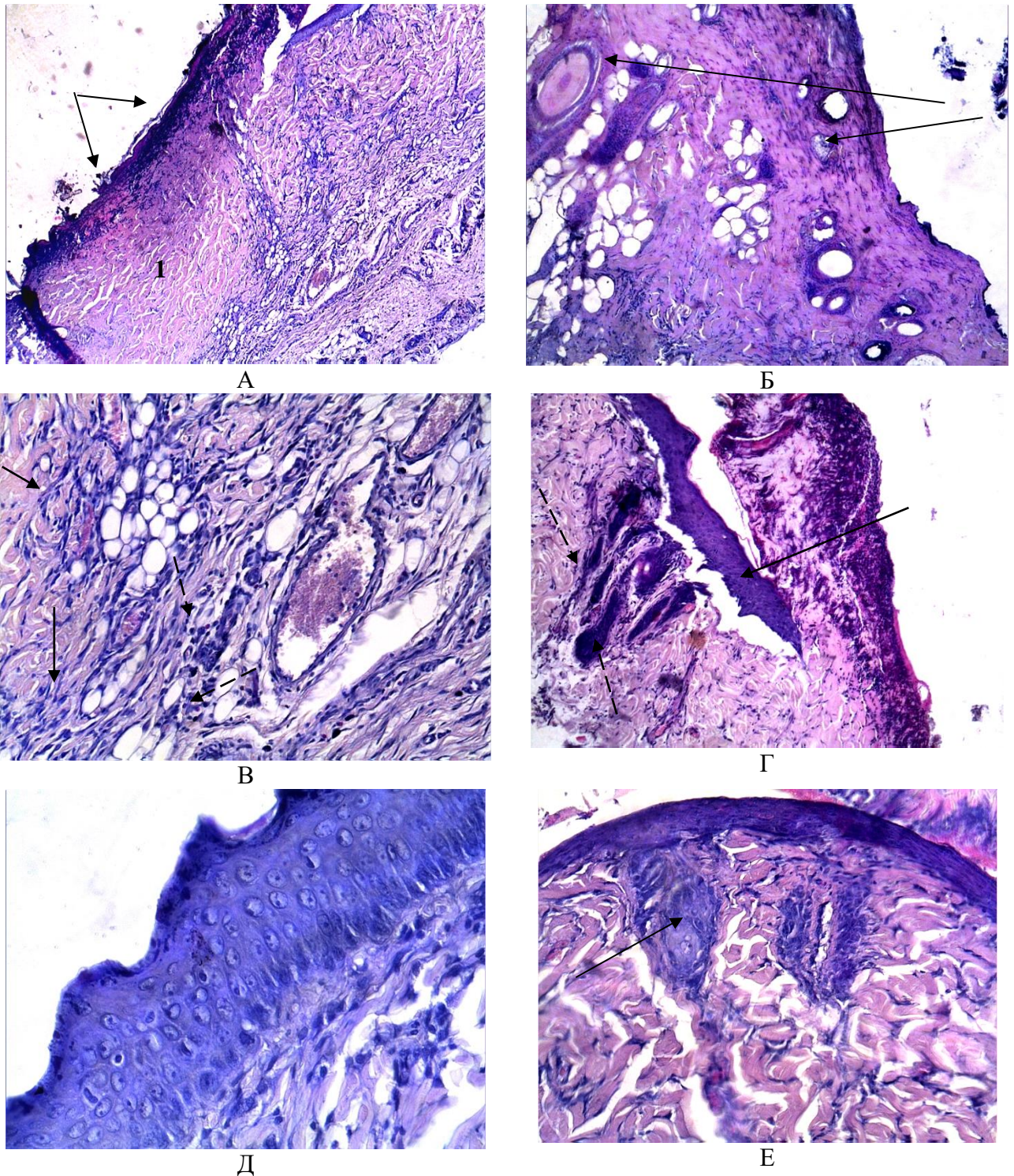


Рисунок 17 – Морфологические изменения в коже на 5 сутки ТТ в условиях внутрибрюшинного применения МТ. Окраска: гематоксилин-эозин. А – ожоговый струп (стрелки) над очагом некроза дермы (1), ув. х 50; Б – утрата извитости, гомогенизация, уплотнение и базофилия соединительно-тканых волокон собственно дермы, сохранившиеся очертания волосяных фолликулов (стрелки), ув. х 100; В – очаговая нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация (пунктирные стрелки) и пролиферация пучков молодых фибробластов (сплошные стрелки) в средних слоях дермы в перифокальной зоне, ув. х200; Г – врастание пласта эпидермиса под ожоговый струп (стрелка), пролиферация волосяных фолликулов в дерме на границе с очагом некроза (пунктирные стрелки), ув. х 200; Д – гиперплазия клеток эпидермиса во всех слоях, ув. х 400; Е – пролиферация клеток сальных желез (стрелки) в дерме перифокальной зоны, ув. х 400

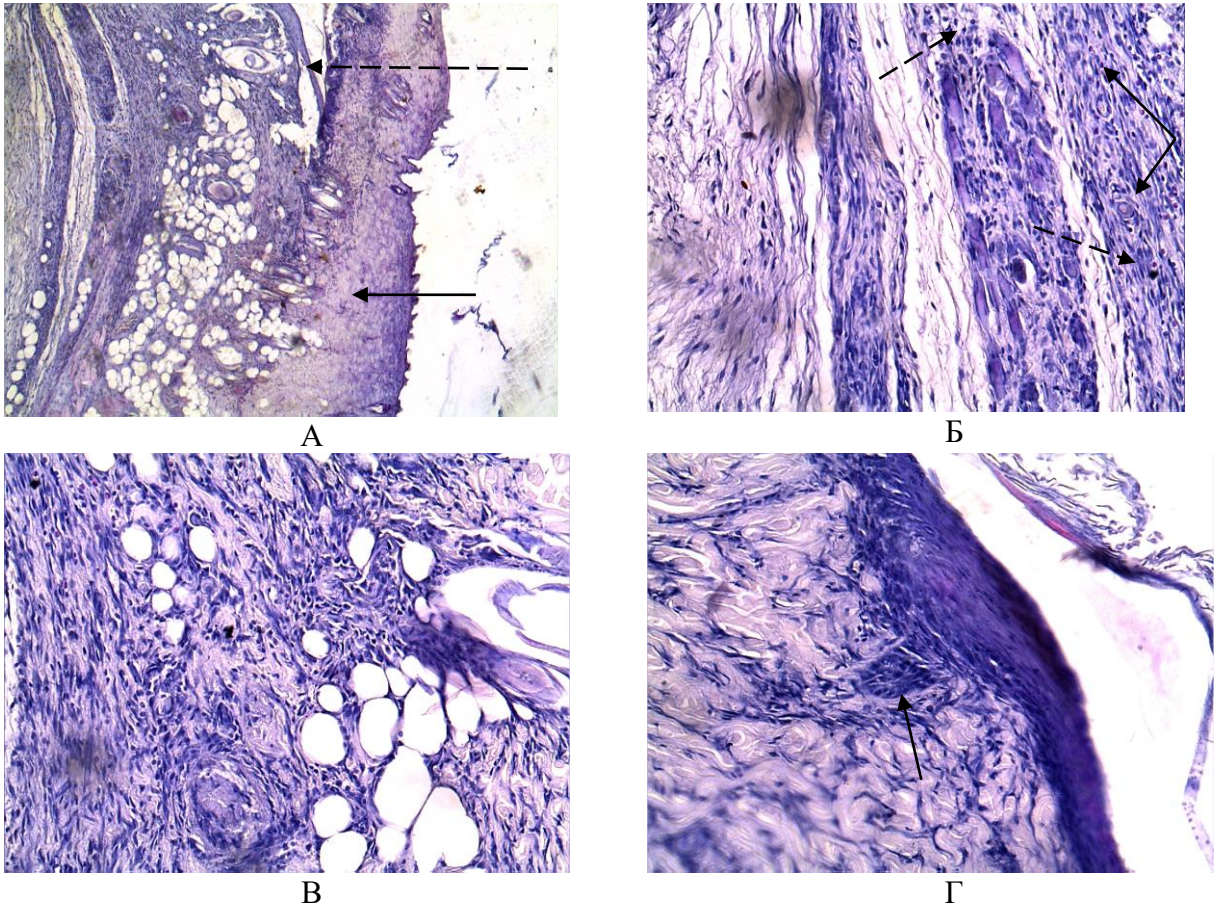
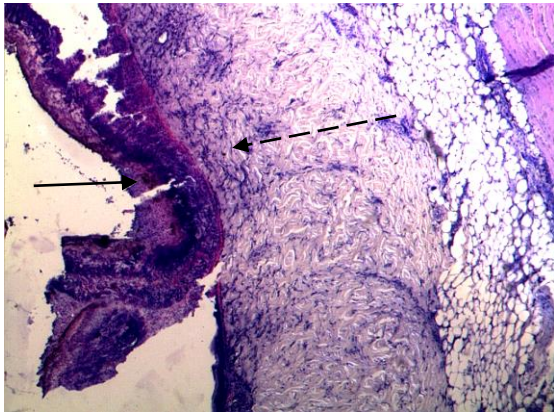
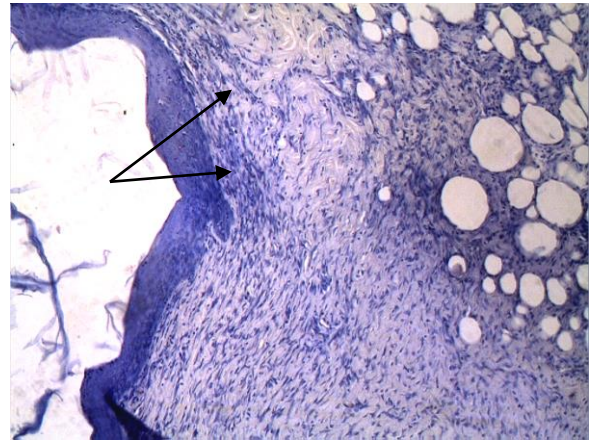


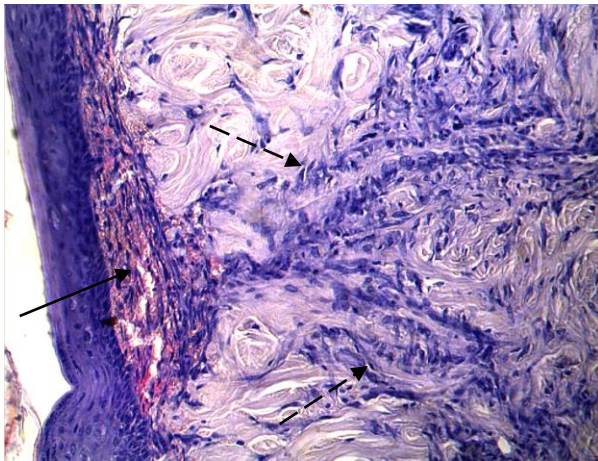
Рисунок 18 – Морфологические изменения в коже на 10 сутки ТТ в условиях внутрибрюшинного применения МТ. Окраска: гематоксилин-эозин. А – пролиферирующий пласт эпидермиса (пунктирная стрелка) отслаивает ожоговый струп (сплошная стрелка) от подлежащих тканей, ув. х 50; Б – перифокальная зона: в гиподерме очаговая нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация и очаги скопления макрофагов (пунктирные стрелки), ув. х 200; В – перифокальная зона: в собственно дерме разрастание незрелой грануляционной ткани и начальные процессы фибриллогенеза и неоангиогенеза, ув. х200; Г – эпителий волосяного фолликула (стрелка) участвует в эпителизации ожоговой поверхности, ув. х 200



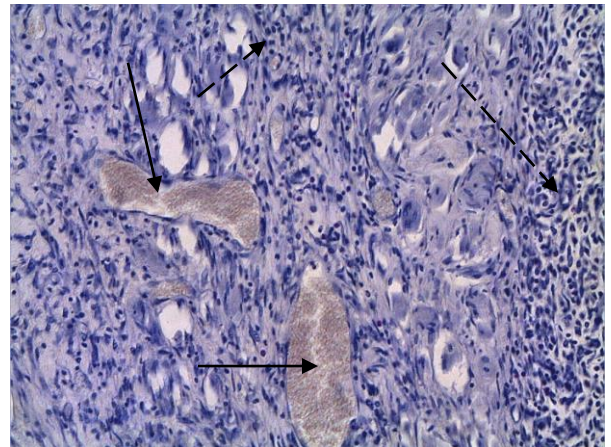
А



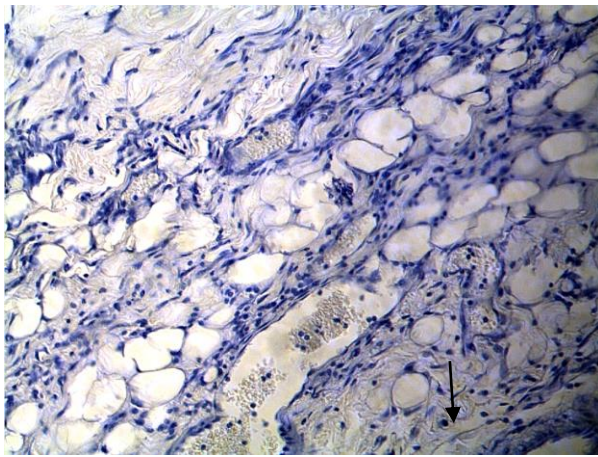
Б



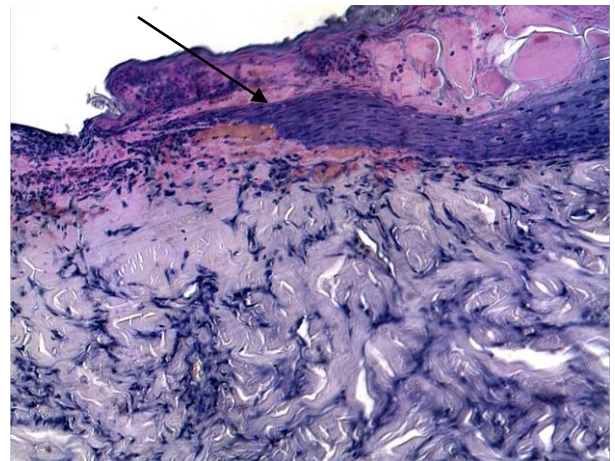
В



Г



Д



Е

Рисунок 19 – Морфологические изменения в коже на 20 сутки ТТ в условиях внутрибрюшинного применения МТ. Окраска: гематоксилин-эозин. А – ожоговый струп (стрелка), отслаивающийся от подлежащей незрелой рубцовой ткани (пунктирная стрелка), ув. х 50; Б – эпителизированная незрелая рубцовая ткань (стрелки) с большим количеством фибробластов и новообразованных соединительно-тканых волокон, ув. х 200; В – perifokal'naya zona: в поверхностных слоях дермы полнокровные незрелые капилляры (стрелка), в собственно дерме пролиферация сосудистых стенок (пунктирные стрелки), ув. х200; Г – perifokal'naya zona: в гиподерме полнокровные тонкостенные вены (стрелки) и очаговая круглоклеточная инфильтрация (пунктирные стрелки), ув. х 200; Д – perifokal'naya zona: в гиподерме умеренный отек межучочной ткани, небольшие очаги макрофагальной инфильтрации (стрелка), ув. х 200; Е – perifokal'naya zona: пролиферация кератиноцитов (стрелка) под ожоговый струп, ув. х 200

Таблица 43 – Влияние системного применения МТ на морфометрические показатели в очаге повреждения кожи при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
	5 сутки (n=16)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=16)	5 сутки (n=25)	10 сутки (n=26)	20 сутки (n=26)
Нейтрофилы, ед./мм ²	1184,7 (1080,0; 1320,0)	1117,7 (1020,0; 1240,0)	120,0 (100,0; 160,0) * **	835,8 (700,0; 920,0) #	884,6 (780,0; 1020,0) # &	128,5 (100,0; 140,0) & &&
Лимфоциты, ед./мм ²	282,3 (220,0; 340,0)	131,5 (100,0; 160,0) *	326,9 (260,0; 380,0) * **	1003,0 (880,0; 1160,0) #	303,8 (180,0; 440,0) # &	251,5 (220,0; 300,0) & &&
Фибробласты, ед./мм ²	140,9 (100,0; 160,0)	113,1 (80,0; 140,0)	840,8 (700,0; 940,0) * **	181,5 (120,0; 220,0) #	305,8 (180,0; 440,0) # &	942,3 (440,0; 1240,0) & &&
Гистиоциты, ед./мм ²	366,9 (320,0; 420,0)	569,2 (440,0; 640,0) *	667,7 (600,0; 740,0) * **	300,5 (220,0; 380,0)	256,9 (120,0; 340,0) # &	341,5 (300,0; 360,0) # &&
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 2 на 5 сутки, ** - с группой 2 на 10 сутки, # - с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки, && - с группой 5 на 10 сутки.						

Таблица 44 – Влияние системного применения МТ на количественный состав и функциональную характеристику тучных клеток в очаге повреждения кожи при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=8)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=9)	10 сутки (n=9)	20 сутки (n=9)	5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=8)
Общее количество клеток, ед./мм ²	166,87 (160,91; 172,82)	238,38 (226,46; 238,38) *	286,05 (274,14; 286,05) * ^	441,00 (441,00; 452,92) * ^ ^^	321,00 (321,81; 357,57) * #	238,38 (238,38; 250,30) * # &	202,62 (178,78; 214,54) * # & &
Количество дегр. клеток, ед./мм ²	35,76 (35,76; 41,72)	178,78 (166,87; 178,78) *	166,87 (154,95; 178,78) *	214,54 (202,62; 214,54) * ^ ^^	277,98 (266,06; 289,89) * #	128,78 (116,86; 140,70) * # &	101,10 (89,18; 113,03) * # & &
Количество дегр. клеток I ст., ед./мм ²	23,84 (11,92; 29,79)	83,43 (71,51; 83,43) *	59,59 (47,68; 71,51) * ^	178,78 (178,78; 178,78) * ^ ^^	154,95 (143,03; 178,78) * #	59,60 (47,68; 59,60) * &	83,43 (71,51; 95,35) * # & &
Количество дегр. клеток II ст., ед./мм ²	11,92 (0; 17,88)	47,68 (35,76; 47,68) *	35,76 (35,76; 47,68) * ^	11,92 (11,92; 11,92) ^ ^^	59,60 (59,60; 71,51) * #	39,60 (27,68; 39,60) * &	11,92 (0,00; 11,92) & &
Количество дегр. клеток III ст., ед./мм ²	5,96 (0; 11,92)	59,59 (47,68; 59,59) *	59,59 (59,59; 83,43) *	11,92 (11,92; 11,92) ^ ^^	61,51 (37,68; 73,43) *	29,60 (17,68; 41,51) * #	7,68 (2,76; 11,34) & &
Коэффициент дегрануляции клеток, у.е.	0,22 (0,21; 0,26)	0,75 (0,73; 0,76) *	0,59 (0,56; 0,63) * ^	0,49 (0,49; 0,49) * ^ ^^	0,86 (0,84; 0,90) * #	0,54 (0,50; 0,63) * &	0,47 (0,41; 0,56) * & &
Яркость клеток средняя, у.е.	79,51 (73,14; 83,76)	57,14 (51,36; 64,76) *	33,83 (33,67; 39,22) * ^	37,69 (37,69; 39,33) * ^	57,03 (49,26; 64,62) *	31,25 (17,86; 42,00) *	37,94 (23,89; 41,76) * &

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & – с группой 5 на 5 сутки, && – с группой 5 на 10 сутки.

В динамике общее содержание и количество дегранулированных тучных клеток, клеток с I и II степенями дегрануляции, коэффициент дегрануляции на 10 сутки меньше, чем на 5 сутки; общее содержание и количество дегранулированных тучных клеток, клеток с II и III степенями дегрануляции, коэффициент дегрануляции на 20 сутки меньше, чем на 5 и 10 сутки; количество дегранулированных тучных клеток с I степенью, яркость тучных клеток на 20 сутки меньше, чем на 5 сутки; количество дегранулированных тучных клеток с I степенью дегрануляции на 20 сутки больше, чем на 10 сутки эксперимента. На 5, 10 и 20 сутки общее содержание и количество дегранулированных тучных клеток, клеток с I степенью дегрануляции, коэффициент дегрануляции, а также на 5 и 10 сутки количество клеток с II и III степенями дегрануляции выше, яркость клеток на 5, 10 и 20 сутки наблюдения значимо ниже, чем в группе интактных животных.

При оценке экспрессии VEGF и MMP-9 в ожоговой ране при ТТ в условиях внутрибрюшинного применения МТ обнаружено, что на 5 сутки экспрессия VEGF и MMP-9 значимо не изменяется. На 10 и 20 сутки экспрессия VEGF значимо не изменяется, экспрессия MMP-9 снижается (таблица 45).

Итак, системное применение МТ при ТТ приводит в ожоговой ране к увеличению количества и дегрануляции тучных клеток на 5 сутки, снижению и частичному восстановлению количества и дегрануляции тучных клеток на 10 и 20 сутки наблюдения. Экспрессия в ожоговой ране VEGF значимо не изменяется, экспрессия MMP-9 снижается на 10 и 20 сутки эксперимента. Системное применение МТ приводит к ускорению заживления и сокращению площади ожоговой раны при одновременном снижении содержания в ней нейтрофилов, гистиоцитов, увеличении содержания лимфоцитов и фибробластов, снижении экспрессии MMP-9 и неоднозначном изменении количества и дегрануляции тучных клеток: увеличении на 5 сутки, снижении на 10 и 20 сутки.

Таблица 45 – Влияние системного применения МТ на иммуногистохимические показатели в ожоговой ране при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=7)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)	5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)
VEGF, у.е.	3,30 (2,90; 3,50)	25,05 (23,35; 28,30) *	35,50 (33,40; 38,10) * ^	25,80 (22,30; 27,90) * ^^	26,80 (23,90; 30,50) *	38,20 (33,40; 40,80) * &	28,40 (18,90; 30,10) * &&
ММР-9, у.е.	2,50 (2,10; 2,90)	2,85 (2,45; 3,05)	11,90 (10,80; 14,10) * ^	12,40 (12,2; 12,9) * ^	4,10 (3,30; 4,90) *	5,50 (1,80; 6,80) * # &	6,60 (5,30; 7,70) * # &
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки, && - с группой 5 на 10 сутки.							

3.4.2 Динамика изменений показателей свободно-радикального окисления в ожоговой ране при экспериментальной термической травме в условиях системного применения мелатонина

Внутрибрюшинное применение МТ при ТТ приводит к изменению содержания продуктов окислительной модификации липидов и белков в ожоговой ране, что отражает прямое и/или опосредованное влияние МТ на процессы СРО в очаге. Результаты представлены в таблицах 46, 47, 48. При исследовании содержания продуктов ПОЛ установлено, что на 5 сутки в гептановой фазе снижается количество оснований Шиффа, в изопропанольной фазе – диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов, оснований Шиффа (таблица 46). На 10 сутки ТТ в гептановой фазе снижается количество оснований Шиффа, в изопропанольной фазе – диеновых конъюгатов. К 20 суткам зафиксировано в гептановой фазе снижение содержания кетодиенов и сопряженных триенов, оснований Шиффа, в изопропанольной фазе – диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов, оснований Шиффа. В динамике ТТ в гептановой фазе экстракта ожоговой раны содержание кетодиенов и сопряженных триенов и оснований Шиффа на 20 сутки было меньше, чем на 5 и 20 сутки.

Отметим, что применение МТ не привело к полному восстановлению содержания продуктов ПОЛ в ожоговой ране, значимые отличия с группой интактных животных сохранялись в гептановой фазе для кетодиенов и сопряженных триенов на 5, 10 и 20 сутки ТТ, для оснований Шиффа на 5 сутки, в изопропанольной фазе для диеновых конъюгатов на 10 и 20 сутки, для кетодиенов и сопряженных триенов на 5 и 20 сутки, для оснований Шиффа - на 5, 10 и 20 сутки. Полное восстановление показателей наблюдалось для оснований Шиффа в гептановой фазе на 10 сутки. В условиях применения МТ содержание диеновых конъюгатов в изопропанольной фазе на 10 и 20 сутки, содержание кетодиенов и сопряженных триенов в изопропанольной фазе липидного экстракта на 20 сутки ТТ снижалось и становилось меньше, чем в коже у интактных животных.

В условиях применения МТ в ожоговой ране на 5, 10 и 20 сутки ТТ снижается суммарное количество продуктов ОМБ в спонтанном режиме детекции (таблица 47). На 5 сутки снижается суммарное количество АДНФГ, продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра, а также количество АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра. На 10 сутки снижается содержание АДНФГ и КДНФГ в ультрафиолетовой части спектра, суммарное количество АДНФГ, суммарное количество продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра, увеличивается суммарное содержание продуктов ОМБ в видимой части спектра и содержание АДНФГ в видимой части спектра. На 20 сутки ТТ снижается суммарное количество АДНФГ, суммарное количество КДНФГ, суммарное количество продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра, а также количество АДНФГ и КДНФГ в ультрафиолетовой части спектра, увеличивается количество КДНФГ в видимой части спектра. Во все сроки наблюдения суммарное количество продуктов ОМБ, АДНФГ, продуктов ОМБ в ультрафиолетовой части спектра, а также количество АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра значительно отличалось от значений в группе интактных животных, что позволяет говорить о частичном восстановлении содержания продуктов ОМБ в ожоговой ране.

В динамике ТТ в условиях системного применения МТ в ожоговой ране суммарное количество продуктов ОМБ, АДНФГ на 10 сутки больше, чем на 5 сутки. Суммарное количество продуктов ОМБ, КДНФГ, суммарное количество продуктов ОМБ в ультрафиолетовой и видимой части спектра, а также количество КДНФГ в ультрафиолетовой части спектра на 20 сутки больше, чем на 10 сутки, а суммарное количество АДНФГ на 20 сутки больше, чем на 5 сутки.

При оценке уровня метаболитов окислительной деструкции белка в очаге повреждения в металл-индуцированном режиме на 5 и 20 сутки снижается суммарное содержание продуктов ОМБ, суммарное содержание АДНФГ, суммарное содержание КДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в ультрафиолетовой и видимой частях спектра. На 10 сутки наблюдения увеличивается суммарное содержание продуктов ОМБ видимой части спектра. На 5 сутки все показатели за исключением АДНФГ в ультрафиолетовой части спектра

не отличались от значений в группе интактных животных, а на 20 сутки – были значимо выше, что позволяет говорить на 5 сутки о полном, а на 20 сутки о частичном восстановлении показателей ОМБ. Резервно-адаптационный потенциал снижался на 5 и 20 сутки за счет примерно равнозначного вклада АДНФГ и КДНФГ в области видимого и ультрафиолетового света.

Итак, внутрибрюшинное применение МТ в суммарной дозе 50 мг/кг приводит при ТТ к снижению содержания конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе экстракта ожоговой раны. В ожоговой ране снижается в спонтанном режиме суммарное содержание продуктов ОМБ, обусловленное снижением ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального характера, в металл-индуцированном режиме снижается содержание ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального и основного характера.

По всей видимости, выраженное (ниже, чем в группе интактных животных) снижение уровня первичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе экстракта ожоговой раны на 10 сутки является отражением МТ-зависимого ограничения ранних этапов ПОЛ и экранирования фосфолипидов за счет преимущественного окисления белков в ожоговой ране. В условиях применения МТ снижение конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, первичных и вторичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе достигало значений или было ниже, чем у интактных животных. В тоже время, содержание ранних и поздних продуктов ОМБ в спонтанном и индуцированном режимах восстанавливалось частично, не достигая значений в группе интактных животных. ПОЛ- и ОМБ-ограничивающий эффект МТ, поступающего из системного кровотока в ожоговую рану посредством пассивной диффузии, а также с использованием GLUT1 и PEPT1/2, может быть обусловлен механизмами, которые обсуждались выше при применении МТ в составе ДП при ТТ.

Таблица 46 – Влияние системного применения МТ на содержание продуктов ПОЛ в экстракте гомогената ожоговой раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=20)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=30)	20 сутки (n=21)	5 сутки (n=15)	10 сутки (n=15)	20 сутки (n=15)
ДК (г), е.и.о.	0,920 (0,863; 0,975)	0,889 (0,834; 0,966)	0,891 (0,836; 0,944)	0,927 (0,873; 0,951)	0,891 (0,885; 0,908)	0,893 (0,881; 0,915)	0,906 (0,887; 0,931)
КД и СТ (г), е.и.о.	0,049 (0,013; 0,088)	0,123 (0,112; 0,141) *	0,115 (0,101; 0,141) *	0,126 (0,092; 0,155) *	0,134 (0,094; 0,140) *	0,133 (0,086; 0,141) *	0,089 (0,085; 0,095) * # & &
ШО (г), е.и.о.	0 (0; 0,011)	0,018 (0,013; 0,031) *	0,009 (0,003; 0,018) * ^	0,025 (0,015; 0,056) * ^^	0,013 (0,012; 0,014) * #	0 (0; 0,002) #	0,002 (0,001; 0,004) # & &
ДК (и), е.и.о.	0,601 (0,596; 0,622)	0,594 (0,570; 0,732)	0,580 (0,568; 0,614)	0,613 (0,590; 0,647)	0,538 (0,534; 0,545) #	0,556 (0,550; 0,558) * #	0,562 (0,558; 0,569) * #
КД и СТ (и), е.и.о.	0,217 (0,209; 0,228)	0,259 (0,200; 0,213) *	0,210 (0,169; 0,264)	0,224 (0,211; 0,263)	0,209 (0,195; 0,228) * #	0,209 (0,200; 0,220)	0,199 (0,173; 0,213) * #
ШО (и), е.и.о.	0 (0; 0,011)	0,030 (0,015; 0,04) *	0,007 (0,004; 0,026) * ^	0,034 (0,016; 0,039) * ^^	0,009 (0,007; 0,015) * #	0,007 (0,004; 0,009) *	0,011 (0,009; 0,016) * #

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & – с группой 5 на 5 сутки, && – с группой 5 на 10 сутки. Показатели отражают содержание продуктов ПОЛ в гептановой (г) и изопропанольной (и) фазах липидного экстракта гомогената ожоговой раны.

Таблица 47 - Влияние системного применения МТ на содержание продуктов ОМБ в спонтанном режиме в экстракте гомогената ожоговой раны при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=30)	20 сутки (n=21)	5 сутки (n=13)	10 сутки (n=10)	20 сутки (n=16)
S АДНФГ uv, ед./мг белка	29,85 (24,69; 32,84)	51,49 (48,03; 55,81) *	60,50 (52,95; 93,13) * ^	52,08 (35,14; 82,61) * ^^	44,44 (35,14; 49,70) * #	49,82 (47,09; 55,59) * # &	39,81 (32,79; 53; 80) * #
S АДНФГ vs, ед./мг белка	6,93 (5,32; 8,71)	6,91 (5,72; 9,75)	3,53 (2,09; 5,07) * ^	8,36 (7,06; 15,36) * ^^	5,29 (3,97; 6,67)	7,68 (5,24; 9,16) #	8,69 (6,25; 22,08) *
S кДНФГ uv, ед./мг белка	8,19 (7,37; 10,59)	7,79 (7,34; 9,43)	15,19 (9,05; 25,63) * ^	15,27 (11,44; 31,38) * ^	6,48 (3,42; 7,86)	12,11 (9,21; 13,06) * # &	6,22 (4,16; 8,39) # &&
S кДНФГ vs, ед./мг белка	0,89 (0,69; 1,14)	0,91 (0,69; 1,41)	0,50 (0,35; 0,66) * ^	1,09 (0,72; 1,67) ^^	0,79 (0,41; 1,09)	0,74 (0,43; 1,00)	1,82 (1,44; 4,14) * # & &&
S ОМБ спонт., ед./мг белка	47,83 (41,94; 55,40)	66,87 (60,56; 76,11) *	79,30 (62,59; 122,34) * ^	82,04 (55,79; 35,89) * ^	55,79 (51,53; 64,65) * #	71,03 (67,38; 72,93) * # &	66,05 (56,70; 74;87) * # &&
S АДНФГ, ед./мг белка	38,54 (30,64; 41,39)	59,19 (52,29; 62,31) *	65,04 (54,51; 96,45) * ^	65,04 (42,19; 97,89) *	47,78 (42,19; 57,09) * #	57,71 (54,26; 62,64) * # &	54,92 (50,75; 65,43) * # &
S кДНФГ, ед./мг белка	10,12 (8,23; 11,31)	8,81 (8,09; 10,67)	15,49 (9,56; 26,11) * ^	16,99 (12,18; 33,88) * ^	6,75 (5,05; 8,83) *	13,21 (10,29; 13,88) &	8,74 (5,95; 12,49) # &&
% АДНФГ	79,31 (74,03; 80,65)	85,46 (82,78; 88,51) *	81,31 (78,29; 84,64)	77,27 (75,63; 81,18) ^	87,64 (86,58; 90,32) *	80,44 (79,83; 85,89) &	88,18 (83,57; 89,50) * # &&

Продолжение таблицы 47

% КДФГ	20,69 (19,35; 25,97)	14,54 (11,49; 17,22) *	18,69 (15,36; 21,70) ^	22,73 (18,82; 24,37) ^	12,56 (9,68; 13,42) *	19,56 (14,11; 20,17) &	11,82 (10,49; 16,43) * # &&
S uv, ед./мг белка	38,47 (34,05; 45,31)	59,10 (53,57; 68,66) *	74,97 (60,81; 118,45) * ^	65,17 (48,02; 114,01) * ^^	49,24 (42,57; 57,19) * #	61,32 (59,49; 63,87) * # &	46,49 (39,24; 58,45) * # &&
S vs, ед./мг белка	7,87 (6,02; 9,73)	7,81 (6,41; 11,16)	4,05 (2,35; 5,85) * ^	9,22 (7,77; 17,56) ^^	6,03 (4,50; 7,77)	8,41 (5,66; 10,16) # &	10,51 (7,97; 26,29) * &&
% uv	82,25 (79,79; 86,43)	88,44 (84,24; 90,21) *	96,01 (93,83; 97,16) * ^	87,78 (84,49; 88,76) * ^^	88,64 (86,06; 91,32) *	88,05 (86,21; 92,61) * # &	83,87 (59,52; 86,30) # & &&
% vs	17,75 (13,57; 20,20)	11,56 (9,79; 15,76) *	3,99 (2,84; 6,17) * ^	12,22 (11,24; 15,50) * ^^	13,16 (8,68; 13,94) *	11,95 (7,39; 13,79) * #	16,13 (13,69; 40,48) # & &&
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & – с группой 5 на 5 сутки, && – с группой 5 на 10 сутки. S — суммарное содержание; АДНФГ – альдегид-динитрофенилгидразоны; КДФГ – кетон-динитрофенилгидразоны; uv – ультрафиолетовая область спектра; vs – видимая область спектра.							

Таблица 48 – Влияние МТ на содержание продуктов ОМБ в металл-зависимом режиме в ожоговой ране при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=21)	10 сутки (n=30)	20 сутки (n=21)	5 сутки (n=13)	10 сутки (n=10)	20 сутки (n=16)
S АДНФГ uv, ед./мг белка	90,68 (70,81; 94,67)	386,82 (279,79; 542,03) *	178,71 (128,45; 239,17) * ^	248,92 (198,71; 324,91) * ^ ^^	100,59 (86,75; 122,00) * #	198,33 (161,81; 243,46) * &	184,65 (151,26; 237,73) * # &
S АДНФГ vs, ед./мг белка	18,81 (16,01; 21,09)	156,21 (90,34; 244,15) *	37,79 (29,25; 60,75) * ^	85,85 (60,89; 102,21) * ^ ^^	14,87 (13,14; 38,97) #	48,53 (32,97; 69,80) * &	32,03 (24,78; 42,89) * # & &
S КДНФГ uv, ед./мг белка	28,73 (24,72; 37,55)	208,12 (128,85; 320,23) *	76,51 (45,82; 94,77) * ^	110,31 (79,15; 158,62) * ^ ^^	23,29 (22,54; 52,78) #	66,24 (56,35; 127,56) * &	59,43 (47,15; 84,66) * # & &
S КДНФГ vs, ед./мг белка	2,07 (1,62; 2,32)	14,53 (8,45; 22,58) *	3,84 (2,93; 6,02) * ^	8,20 (5,83; 9,09) * ^ ^^	1,81 (1,55; 4,21) #	4,88 (3,21; 7,29) * &	2,97 (2,74; 5,19) # & &
S ОМБ индуц., ед./мг белка	140,38 (113,93; 155,46)	771,61 (507,38; 1128,99) *	312,84 (207,79; 393,90) * ^	461,89 (342,04; 624,81) * ^ ^^	139,23 (125,07; 203,21) #	310,15 (270,79; 484,52) * &	270,31 (225,66; 366,95) * # & &
S АДНФГ, ед./мг белка	109,49 (87,20; 115,77)	548,02 (370,12; 786,18) *	230,51 (157,87; 301,83) * ^	341,83 (256,85; 453,78) * ^ ^^	114,38 (100,81; 145,75) #	240,51 (211,56; 346,28) * &	211,78 (175,76; 278,25) * # & &
S КДНФГ, ед./мг белка	30,82 (26,73; 39,69)	223,59 (137,26; 342,81) *	80,12 (48,56; 101,26) * ^	118,51 (85,19; 171,03) * ^ ^^	24,25 (24,26; 57,46) #	70,38 (59,23; 134,27) * &	62,29 (49,99; 88,69) * # & &
% АДНФГ	76,89 (74,92; 78,23)	71,02 (69,99; 72,33)	74,56 (73,12; 76,10)	74,09 (73,45; 74,21)	80,46 (74,57; 81,04) #	74,43 (71,72; 78,13) &	76,71 (75,33; 77,51)

Продолжение таблицы 48

% КДФГ	23,10 (21,77; 25,08)	28,98 (27,67; 30,01)	25,44 (23,89; 26,88)	25,91 (25,79; 26,55)	19,54 (18,96; 25,43) #	25,57 (21,87; 28,28) &	23,29 (22,49; 24,67)
S uv, ед./мг белка	119,47 (95,53; 132,23)	594,94 (408,64; 862,26) *	252,79 (175,39; 344,84) * ^	356,64 (273,27; 483,53) * ^ ^^	124,53 (109,81; 153,38) #	255,34 (231,91; 371,02) * &	240,31 (198,54; 322,39) * # & &
S vs, ед./мг белка	20,91 (17,63; 23,23)	170,73 (98,74; 266,73) *	41,63 (32,13; 66,99) * ^	94,05 (66,72; 111,22) * ^ ^^	16,95 (14,69; 43,18) #	53,41 (36,18; 77,09) * # &	34,89 (27,12; 48,09) * # & &
% uv	85,19 (84,89; 86,16)	77,31 (76,37; 78,73)	83,11 (80,46; 88,00) ^	79,79 (78,82; 84,55)	88,61 (86,67; 89,18) #	82,03 (77,15; 88,97)	87,56 (86,46; 88,52) #
% vs	14,81 (13,84; 15,11)	22,69 (21,27; 23,63)	16,89 (11,99; 19,54) ^	20,21 (15,45; 21,18)	11,39 (10,82; 13,33) #	17,97 (11,03; 22,85)	12,44 (11,48; 13,54) #
РАП, %	61,81 (53,98; 72,55)	91,66 (86,44; 94,78) *	69,22 (62,76; 74,76) ^	82,24 (72,65; 88,89) * ^ ^^	61,52 (57,12; 69,72) #	76,70 (73,33; 86,09) * &	77,75 (71,56; 81,52) * &
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки, && - с группой 5 на 10 сутки. S — суммарное содержание; S — суммарное содержание; АДНФГ — альдегид-динитрофенилгидразоны; КДФГ — кетон-динитрофенилгидразоны; uv — ультрафиолетовая область спектра; vs — видимая область спектра.							

3.4.3 Динамика изменений показателей иммунного статуса при экспериментальной термической травме в условиях системного применения мелатонина

Установлено, что количественный состав лейкоцитов в крови на 10 и 20 сутки наблюдения значимо не изменяется относительно группы сравнения (таблица 49). На 5 сутки обнаружено увеличение количества лимфоцитов в крови без изменения общего количества лейкоцитов и других популяций лейкоцитов. В динамике общее количество лейкоцитов, общее количество нейтрофилов, палочкоядерных нейтрофилов, моноцитов на 10 и 20 сутки меньше, чем на 5 сутки, общее количество нейтрофилов на 20 сутки меньше, чем на 10 сутки, количество лимфоцитов на 10 сутки больше, чем на 5 суток, а на 20 сутки больше, чем на 10 суток. Относительно группы интактных животных сохраняются значимые различия на 5 суток с общим количеством лейкоцитов, общим количеством нейтрофилов, палочкоядерных нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов; на 10 суток – с общим количеством нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов; на 20 суток значимые различия с группой интактных животных отсутствовали [24].

Не обнаружено значимых изменений функциональной активности нейтрофилов крови по показателям активности, интенсивности фагоцитоза, фагоцитарного числа, активности и интенсивности спонтанного и индуцированного НСТ-теста, функционального резерва нейтрофилов на 5, 10 и 20 сутки (таблица 50). Все показатели поглотительной и НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов на 5 суток, а также поглотительной способности нейтрофилов на 10 суток значимо отличались от значений в группе интактных животных. Активность и интенсивность спонтанного НСТ-теста на 10 суток восстанавливалась и не отличалась от значений у интактных животных, чего нельзя сказать по отношению к животным с ТТ без применения МТ.

Оценка цитокинового профиля в сыворотке выявила снижение концентрации TNF- α на 10 и 20 сутки, значимых изменений концентрации IL-4 и IFN- γ не

зафиксировано (таблица 51). Во все сроки наблюдения концентрация TNF- α и IL-4 в сыворотке была выше, чем в группе интактных животных. Применение МТ при ТТ приводит к повышению концентрации МТ в сыворотке на 5 сутки, без значимых изменений этого показателя на 10 и 20 сутки; концентрация МТ в сыворотке на 5 сутки значимо выше, чем в группе интактных животных (таблица 52). Концентрация в сыворотке С-РБ снижается на 5 сутки и не изменяется на 10 и 20 сутки относительно группы крыс без применения МТ; на 5 и 10 сутки концентрация С-РБ в сыворотке выше, чем у интактных животных. В динамике ТТ в условиях применения МТ концентрация С-РБ в сыворотке на 10 и 20 сутки меньше, чем на 5 сутки, а на 20 сутки меньше, чем на 10 сутки наблюдения [33].

Итак, внутрибрюшинное применение МТ при ТТ приводит к более раннему восстановлению НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов крови, снижению концентрации в сыворотке TNF- α на 10 и 20 сутки, снижению концентрации в сыворотке С-РБ на 5 сутки. Указанные изменения позволяют в определенной мере констатировать снижение выраженности острофазового ответа при ТТ в условиях системного применения МТ. Данный факт является отражением событий в очаге ТТ, направленных на ограничение окислительной деструкции липидов и белков, уменьшение зоны вторичной альтерации, инфильтрации очага нейтрофилами и лимфоцитами, ускорения заживления ожоговой раны.

При оценке показателей адаптивного иммунитета обнаружено, что на 5 сутки значимо повышается количество в крови CD3⁺ лимфоцитов (таблица 53). Не выявлено значимых изменений количества CD45RA⁺ лимфоцитов в крови на 5, 10 и 20 сутки. В динамике ТТ количество в крови CD3⁺ лимфоцитов на 10 сутки меньше, чем на 5 сутки, а на 20 сутки больше, чем на 5 и 10 сутки. Отметим, что количество в крови CD3⁺ лимфоцитов на 10 и 20 сутки, а также CD45RA⁺ лимфоцитов на 5, 10 и 20 сутки значимо ниже, чем в группе интактных животных.

Представленные изменения количественного состава субпопуляций лимфоцитов в крови могут быть связаны с показателями количества в крови лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза (таблица 54). На 5 сутки выявлено значимое снижение количества в крови лимфоцитов с ранними признаками

апоптоза, а также с поздними признаками апоптоза, признаками некроза. Различия с группой интактных животных наблюдались на 5 сутки по количеству лимфоцитов с поздними признаками апоптоза, признаками некроза, на 10 сутки – по количеству лимфоцитов с ранними признаками апоптоза, а также лимфоцитов без признаков некроза и апоптоза, на 20 сутки отличий не зафиксировано. Таким образом, к 20 суткам количество в крови лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза восстановилось до значений в группе интактных животных.

Исследование концентрации иммуноглобулинов в сыворотке позволило установить повышение уровня Ig G на 5 и 10 сутки, к 10 суткам концентрация Ig G не отличалась от значений в группе интактных животных (таблица 55).

Итак, оценка иммунного статуса при экспериментальной ТТ в условиях внутрибрюшинного применения МТ внутрибрюшинно выявила увеличение количества в крови лимфоцитов, в том числе CD3⁺, снижение количества в крови лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза на 5 сутки, восстановление спонтанной НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов на 10 сутки, снижение концентрации в сыворотке TNF- α на 10 и 20 сутки, концентрации С-РБ – на 5 сутки, увеличение концентрации в сыворотке Ig G на 5 и 10 сутки.

Внутрибрюшинное применение МТ при ТТ не изменяет в крови количественного состава и функциональной активности нейтрофилов, за исключением восстановления спонтанной НСТ-редуцирующей способности на 10 сутки. Снижение концентрации в сыворотке TNF- α и С-РБ позволяют говорить о снижении выраженности острофазового ответа вследствие уменьшения деструктивных событий в очаге ТТ. Увеличение количества в крови лимфоцитов, в том числе CD3⁺, с одной стороны, связано с ограничением гибели их в кровотоке путем апоптоза и некроза в условиях снижения проапоптогенных факторов в крови, таких как TNF- α . При ускорении заживления и уменьшении площади очага ТТ в него меньше поступает лимфоцитов из кровотока. Уменьшается подавляющий эффект TNF- α на лимфопоэз. Следствием увеличения количества лимфоцитов в крови может быть увеличение концентрации в сыворотке Ig G, последний факт также, вероятно, связан с уменьшением экссудации плазменных белков в очаг ТТ.

Таблица 49 – Влияние системного применения МТ на количественный состав лейкоцитов в крови при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=33)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=22)	10 сутки (n=26)	20 сутки (n=19)	5 сутки (n=25)	10 сутки (n=15)	20 сутки (n=18)
Лейкоциты, • 10 ⁹ /л	5,70 (4,00; 6,70)	6,30 (5,10; 8,50) *	5,50 (4,30; 7,20)	4,60 (4,30; 6,20) ^	6,70 (6,40; 7,30) *	5,40 (4,90; 6,00) &	5,70 (4,30; 5,90) &
Базофилы, • 10 ⁹ /л	0	0 (0; 0,31) *	0 (0; 0,10) *	0	0 (0; 0,06)	0 (0; 0,05)	0
Эозинофилы, • 10 ⁹ /л	0,22 (0,04; 0,39)	0,15 (0,05; 0,25)	0,22 (0,09; 0,30)	0,16 (0,06; 0,17)	0,12 (0,06; 0,24)	0,12 (0,09; 0,23)	0,12 (0,06; 0,12) &
Палочкоядер- ные нейтро- филы, • 10 ⁹ /л	0 (0; 0,04)	0,207 (0; 0,58) *	0,04 (0; 0,29) ^	0	0,27 (0,10; 0,32) *	0 (0,04; 0,05) &	0,04 (0; 0,06) &
Сегментоядер- ные нейтро- филы, • 10 ⁹ /л	1,65 (1,09; 1,88)	2,78 (2,05; 4,55) *	2,48 (1,31; 3,65) * ^	2,05 (1,27; 2,94) ^	2,92 (2,52; 3,32) *	2,59 (2,34; 2,90) *	1,99 (1,89; 2,56) &
Нейтрофилы, • 10 ⁹ /л	1,70 (1,09; 1,88)	2,98 (2,43; 5,39) *	2,58 (1,31; 3,88) * ^	2,05 (1,27; 2,94) ^	3,15 (2,77; 3,57) *	2,59 (2,35; 2,93) * &	2,02 (1,94; 2,71) & &&
Лимфоциты, • 10 ⁹ /л	3,40 (2,32; 3,77)	2,49 (2,00; 2,86) *	2,27 (2,00; 3,69) *	2,79 (2,05; 3,92)	2,71 (2,51; 2,96) *#	2,11 (1,91; 2,34) * &	2,69 (2,26; 2,94) &&
Моноциты, • 10 ⁹ /л	0,28 (0,21; 0,41)	0,71 (0,29; 0,83) *	0,33 (0,22; 0,60) ^	0,22 (0,17; 0,29) ^ ^^	0,67 (0,53; 0,76) *	0,54 (0,34; 0,54) * &	0,35 (0,24; 0,57) &

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки, && - с группой 5 на 10 сутки 2.

Таблица 50 – Влияние системного применения МТ на функциональную активность нейтрофилов крови при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=26)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=8)	10 сутки (n=19)	20 сутки (n=14)	5 сутки (n=8)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=8)
АФ, %	19,50 (17,00; 23,00)	38,50 (32,5; 43,0) *	33,00 (24,0; 36,0) * ^	21,00 (17,0; 23,0) ^ ^^	36,00 (36,00; 39,00) *	31,00 (26,00; 35,00) * &	20,50 (17,50; 21,50) & & &
ИФ, у.е.	0,54 (0,41; 0,62)	1,47 (1,07; 1,92) *	1,14 (0,99; 1,77) *	0,60 (0,47; 0,86) ^ ^^	1,64 (1,22; 1,77) *	1,34 (1,06; 1,93) *	0,59 (0,53; 0,66) & & &
ФЧ, у.е.	2,45 (2,20; 3,10)	3,90 (3,30; 4,50) *	3,84 (3,05; 4,90) *	3,18 (2,35; 3,75) ^ ^^	4,57 (3,28; 5,53) *	4,08 (3,63; 6,23) *	3,05 (2,52; 3,51) & & &
НСТ-тест сп., акт-ть, %	5,00 (3,00; 7,00)	10,50 (8,0; 14,5) *	8,00 (6,0; 10,0) * ^	4,50 (4,0; 6,0) ^ ^^	10,00 (8,00; 15,00) *	6,00 (5,00; 10,00) &	5,50 (3,50; 7,50) & & &
НСТ-тест сп., инт-ть, у.е.	0,07 (0,05; 0,09)	0,14 (0,11; 0,16) *	0,11 (0,08; 0,14) *	0,06 (0,05; 0,09) ^ ^^	0,10 (0,08; 0,13) *	0,06 (0,06; 0,11)	0,05 (0,05; 0,06) &
НСТ-тест инд., акт-ть, %	9,00 (7,00; 13,00)	16,5 (12,5; 18,5) *	11,0 (8,0; 15,0) ^	8,5 (6,0; 11,0) ^ ^^	16,00 (13,00; 18,00) *	9,00 (7,00; 14,00) &	8,50 (7,00; 10,00) &
НСТ-тест инд., инт-ть, у.е.	0,12 (0,08; 0,17)	0,23 (0,19; 0,26) *	0,15 (0,12; 0,18) ^	0,11 (0,09; 0,12) ^ ^^	0,19 (0,18; 0,24) *	0,12 (0,08; 0,18) &	0,11 (0,07; 0,12) &
ФР (акт-ть НСТ- теста)	1,55 (1,33; 2,00)	1,50 (1,44; 1,65)	1,33 (1,20; 1,67)	2,00 (1,50; 2,67) ^ ^^	1,46 (1,24; 1,60)	1,50 (0,22; 1,80)	1,70 (1,26; 2,50)
ФР (инт-ть НСТ- теста)	1,80 (1,17; 2,00)	1,54 (1,33; 2,41)	1,27 (0,67; 1,75) ^	1,75 (1,20; 2,00) ^^	2,00 (1,46; 2,44)	1,50 (0,88; 2,25)	2,00 (1,50; 2,33)

Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки, && - с группой 5 на 10 сутки. АФ – активность фагоцитоза, ИФ – интенсивность фагоцитоза, ФЧ – фагоцитарное число, ФР – функциональный резерв.

Таблица 51 – Влияние системного применения МТ на концентрацию цитокинов в сыворотке при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатель	Группа 1 Интактные (n=12)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=12)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=16)	5 сутки (n=16)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=7)
TNF- α , пг/мл	1,18 (0,84; 1,96)	2,25 (2,02; 2,92) *	3,42 (2,72; 6,14) * ^	3,48 (1,77; 5,05) *	2,33 (1,85; 3,03) *	2,69 (2,19; 3,03) * #	1,91 (1,35; 3,03) * #
IFN- γ , пг/мл	0,83 (0,29; 1,24)	0,73 (0,12; 1,15)	0,98 (0,59; 1,35)	1,06 (0,65; 1,74) ^	0,84 (0,51; 1,49)	0,76 (0,52; 1,08)	1,08 (0,66; 1,22)
IL-4, пг/мл	0,79 (0,50; 1,75)	1,93 (1,36; 2,51) *	3,26 (2,58; 5,65) * ^	2,97 (1,57; 4,97) * ^	2,11 (1,79; 2,86) *	2,79 (2,43; 3,36) * &	2,18 (1,79; 3,01) *

Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки.

Таблица 52 – Влияние системного применения МТ на концентрацию в сыворотке мелатонина и С-РБ при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатель	Группа 1 Интактные (n=14)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=10)	10 сутки (n=12)	20 сутки (n=10)	5 сутки (n=10)	10 сутки (n=8)	20 сутки (n=8)
МТ, пг/мл	24,08 (11,56; 28,00)	26,32 (13,36; 33,88)	22,35 (13,70; 28,81)	21,57 (15,27; 28,15)	32,14 (23,47; 39,08) * #	24,61 (18,31; 27,98)	23,78 (15,26; 27,79)
С-РБ, пг/мл	1,29 (0,89; 1,66)	12,14 (11,67; 15,32) *	2,37 (1,42; 5,32) * ^	1,46 (1,38; 1,73) ^ ^^	9,23 (7,02; 10,05) * #	1,98 (1,98; 2,31) * &	1,29 (1,18; 1,35) & &&

Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки, && - с группой 5 на 10 сутки.

Таблица 53 – Влияние системного применения МТ на субпопуляционный состав лимфоцитов крови при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=12)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=8)	10 сутки (n=15)	20 сутки (n=11)	5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=7)
CD3 ⁺ , • 10 ⁹ /л	1,72 (1,22; 2,17)	1,22 (0,79; 1,40) *	1,06 (0,73; 1,58) *	1,44 (0,89; 1,94) ^^	1,38 (1,32; 1,79) #	0,98 (0,90; 1,19) * &	1,84 (1,54; 2,02) & &&
CD45RA ⁺ , • 10 ⁹ /л	0,36 (0,30; 0,46)	0,17 (0,09; 0,27) *	0,17 (0,14; 0,33) *	0,16 (0,12; 0,21) *	0,18 (0,17; 0,22) *	0,15 (0,14; 0,21) *	0,16 (0,13; 0,19) *
Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки, && - с группой 5 на 10 сутки.							

Таблица 54 – Влияние системного применения МТ на показатели гибели лимфоцитов крови при ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=10)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=8)	10 сутки (n=15)	20 сутки (n=11)	5 сутки (n=7)	10 сутки (n=7)	20 сутки (n=8)
Annexin-5-FITC-/ 7-AAD-, • 10 ⁹ /л	2,71 (2,16; 2,71)	1,57 (0,97; 3,08)	1,41 (1,28; 1,73) *	1,68 (1,08; 2,96)	2,45 (1,39; 2,55)	1,53 (1,01; 1,84) * &	2,17 (1,66; 2,52) &&
Annexin-5-FITC+/ 7-AAD-, • 10 ⁹ /л	0,42 (0,31; 0,53)	1,52 (0,93; 2,84) *	0,79 (0,58; 1,17) * ^	0,05 (0,27; 1,08) * ^	0,42 (0,28; 0,87) #	1,08 (0,76; 1,20) * &	0,55 (0,46; 0,61) &&
Annexin-5-FITC+/ 7-AAD+, • 10 ⁹ /л	0,002 (0,001; 0,012)	0,064 (0,035; 0,119) *	0,006 (0,002; 0,016) ^	0,007 (0,003; 0,033) * ^	0,009 (0,009; 0,012) * #	0,006 (0,004; 0,014)	0,005 (0,004; 0,007) &

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки, && - с группой 5 на 10 сутки.

Таблица 55 – Влияние системного применения МТ на концентрацию иммуноглобулинов в сыворотке при экспериментальной ТТ (Ме (Q25; Q75))

Показа- тели	Группа 1 Интактные (n=15)	Группа 2 ТТ+АсП			Группа 5 ТТ+МТ		
		5 сутки (n=12)	10 сутки (n=16)	20 сутки (n=12)	5 сутки (n=10)	10 сутки (n=10)	20 сутки (n=7)
Ig M, нг/мл	0,29 (0,27; 0,86)	0,32 (0,24; 0,53)	0,33 (0,22; 0,48)	0,38 (0,19; 0,52)	0,24 (0,18; 0,46)	0,26 (0,19; 0,29)	0,30 (0,26; 0,40)
Ig G, нг/мл	53,43 (44,21; 53,58)	30,43 (25,42; 38,68) *	30,53 (23,49; 36,54) *	43,80 (32,95; 65,45) ^ ^^	35,08 (31,49; 37,68) * #	46,05 (21,61; 57,88) # &	43,31 (23,68; 55,59)

Примечание. * – значимые (p<0,01) различия с группой 1, ^ – с группой 2 на 5 сутки, ^^ – с группой 2 на 10 сутки, # – с группой 2 на соответствующие сутки, & - с группой 5 на 5 сутки.

3.5 Сравнительный анализ эффектов мелатонина в составе дермальной пленки и системного применения мелатонина в динамике экспериментальной термической травмы

В условиях локального применения МТ по сравнению с внутривенным введением МТ площадь ожога значимо меньше на 10 и 20 сутки ТТ (рисунок 20). В эти же сроки скорость эпителизации ожоговой раны и уменьшение площади ожога больше. В очаге ТТ обнаружены значимые отличия по количественному составу клеток: нейтрофилов меньше на 5 и 10 сутки, гистиоцитов меньше на 5 сутки, а лимфоцитов больше на 5 и 20 сутки в условиях локального применения МТ (рисунок 21, А, Б, В). Экспрессия VEGF больше на 5 и 10 сутки, а экспрессия MMP-9 больше на 5 сутки и меньше на 10 и 20 сутки при ТТ на фоне применения МТ в составе ДП (рисунок 21, Г, Д). В условиях локального применения МТ количество дегранулированных тучных клеток на 5 сутки меньше за счет клеток I и II степеней, на 20 сутки меньше за счет клеток I степени, а на 10 сутки количество дегранулированных тучных клеток больше за счет клеток I степени (рисунок 22). Изменения экспрессии VEGF и MMP-9, активности тучных клеток, полагаем, способствуют репарации в очаге ТТ: на 5 сутки MMP-9 ускоряет очищение ожоговой раны и готовит плацдарм для заживления в условиях повышения экспрессии VEGF на 5 и 10 сутки, снижения экспрессии MMP-9 на 10 и 20 сутки.

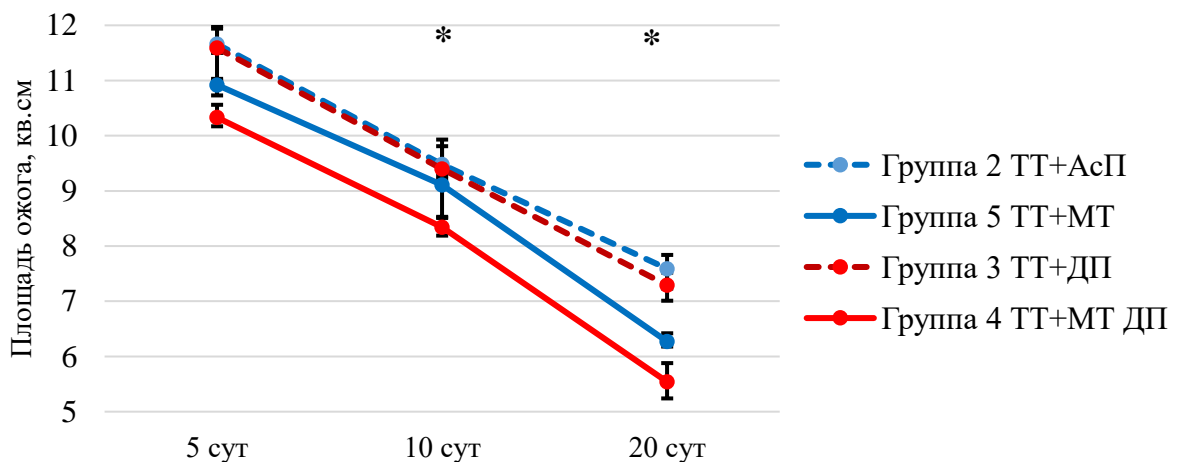


Рисунок 20 – Динамика площади ожога в изучаемых группах, (Me (Q25; Q75)),
* – значимые ($p < 0,01$) различия группы 4 с группой 5

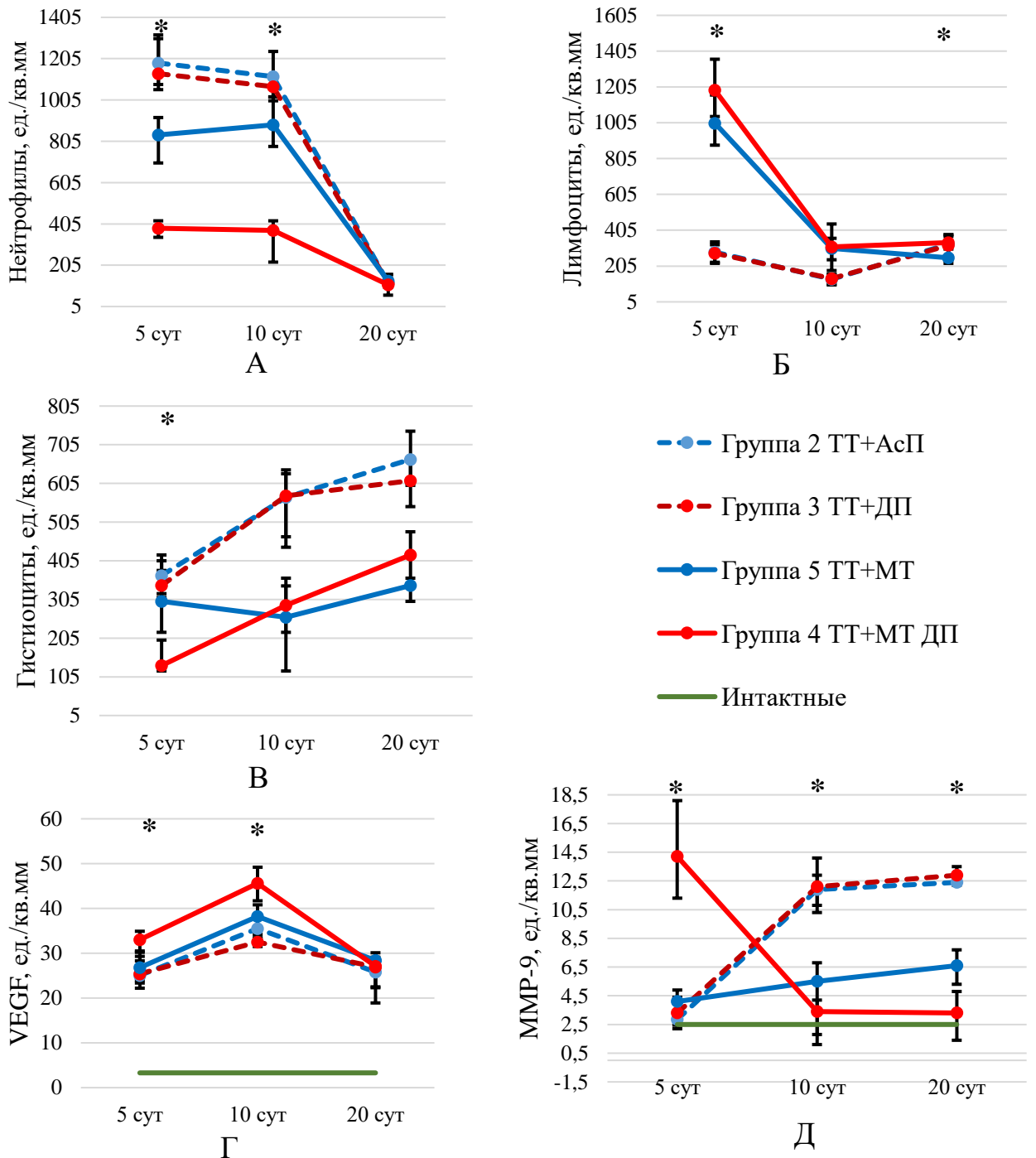


Рисунок 21 – Динамика количественного состава клеток и экспрессии VEGF и MMP-9 в очаге ТТ, (Ме (Q25; Q75)), * – значимые ($p < 0,01$) различия группы 4 с группой 5. А – содержание нейтрофилов. Б – содержание лимфоцитов. В – содержание гистиоцитов. Г – экспрессия VEGF. Д – экспрессия MMP-9

В условиях применения ДП с МТ по сравнению с внутрибрюшинным применением МТ снижается содержание кетодиенов и сопряженных триенов в гептановой фазе на 10 сутки, в изопропанольной фазе – на 20 сутки, в изопропанольной фазе – оснований Шиффа на 20 сутки, повышается содержание в

гептановой фазе и в изопропанольной фазе оснований Шиффа на 5 сутки (рисунок 23). Не обнаружено различий содержания продуктов ОМБ в зависимости от способа применения МТ. Полагаем, что такой отсроченный на 10 и 20 сутки ПОЛ-ограничивающий эффект МТ в составе ДП по сравнению с внутрибрюшинным введением МТ связан с активацией синтеза ферментов антиокислительной защиты, ограничением площади вторичной альтерации при ТТ и снижением количества и активности нейтрофилов в очаге, а увеличение конечных продуктов ПОЛ на ранних этапах (5 сутки) отражает ускоренное очищение ожоговой раны, более раннюю подготовку к репаративным процессам.

В условиях локального применения МТ по сравнению с внутрибрюшинным применением МТ при ТТ зафиксированы изменения иммунного статуса. На 5 сутки наблюдается более низкое количество нейтрофилов в крови за счет палочкоядерных и сегментоядерных форм, более низкое количество моноцитов, на 10 и 20 сутки – более низкое количество нейтрофилов в крови за счет сегментоядерных форм, а также более низкое количество моноцитов (рисунок 24 А, Б, В, Д). На 10 и 20 сутки в крови выше количество лимфоцитов (рисунок 24, Г). Функциональная активность нейтрофилов в крови зафиксирована на более низком уровне в условиях локального применения МТ (рисунок 25). Активность, интенсивность фагоцитоза, фагоцитарное число, активность спонтанного НСТ-теста, активность и интенсивность индуцированного НСТ-теста на 5 сутки ТТ меньше, чем при системном применении МТ (рисунки 25, 26). При оценке цитокинового профиля в крови отмечено, что концентрация IL-4 меньше на 5 сутки, а концентрация TNF- α меньше на 5 и 10 сутки при локальном применении МТ (рисунок 27, А и Б). В условиях применения ДП с МТ в сыворотке меньше концентрация С-РБ на 5 и 10 сутки по сравнению с системным применением МТ (рисунок 27, В). Концентрация в сыворотке МТ на 5 сутки выше при ТТ в условиях системного применения МТ по сравнению с локальным (рисунок 27, Г).

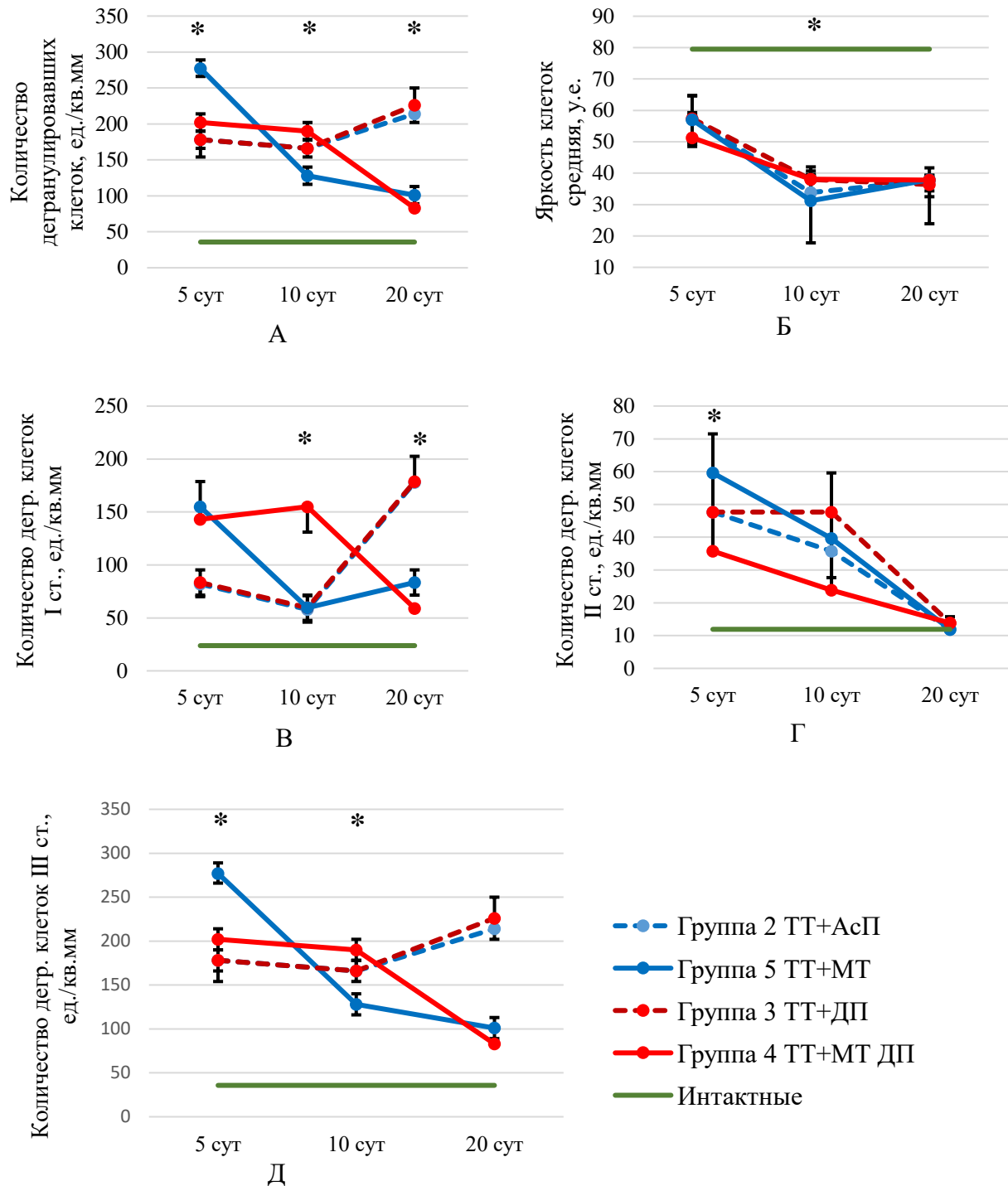


Рисунок 22 – Динамика дегрануляции тучных клеток в исследуемых группах в очаге ТТ, (Ме (Q25; Q75)), * – значимые ($p < 0,01$) различия группы 4 с группой 5. А – количество дегранулировавших клеток. Б – средняя яркость клеток. В – количество дегранулировавших клеток I ст. Г – количество дегранулировавших клеток II ст. Д – количество дегранулировавших клеток III ст.

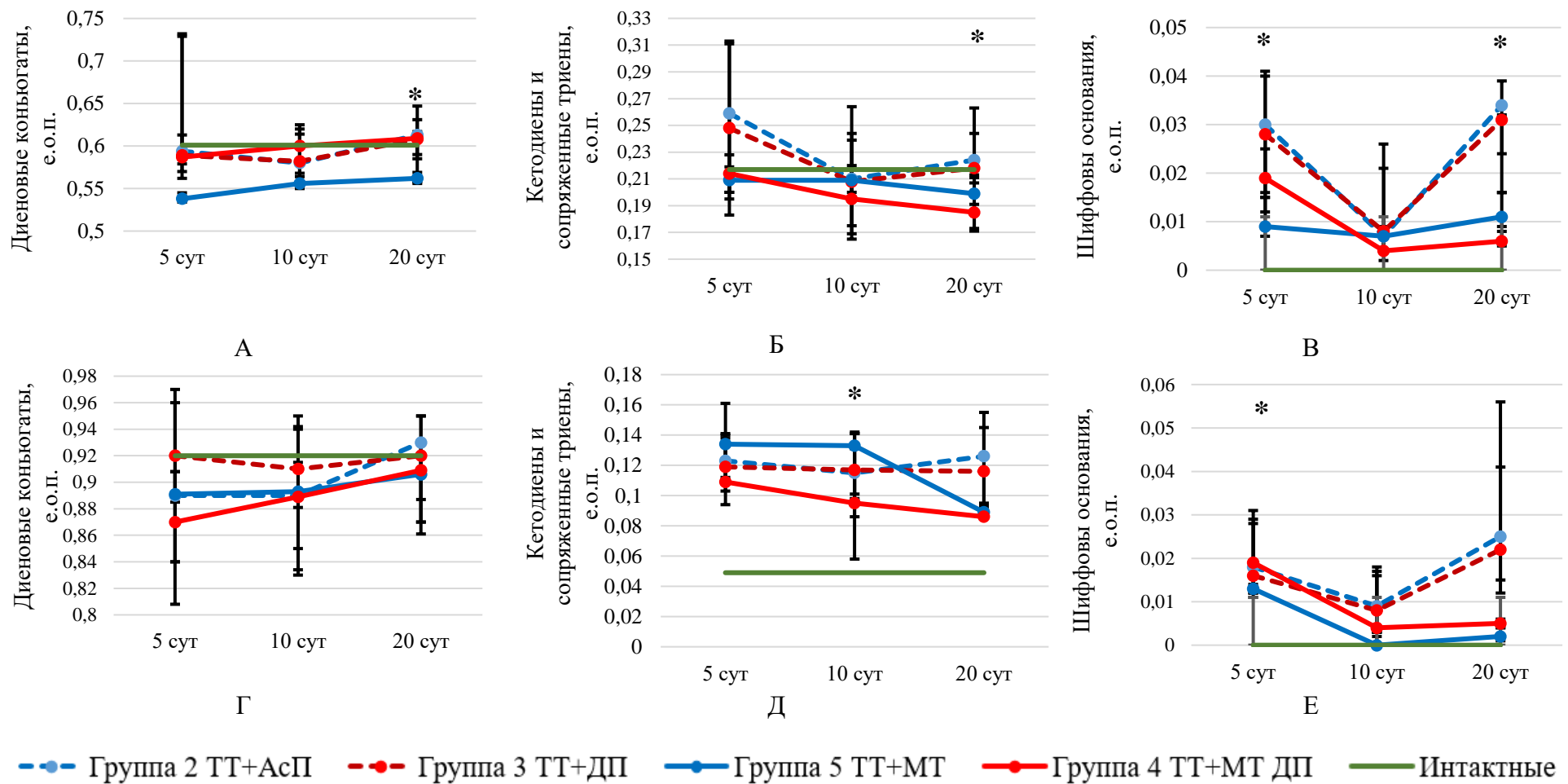


Рисунок 23 – Динамика содержания продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе (и) и гептановой (г) фазе в очаге ТТ, (Ме (Q25; Q75)), * – значимые ($p < 0,01$) различия с группы 4 с группой 5. А – содержание диеновых конъюгатов (и). Б – содержание кетодиенов и сопряженных триенов (и). В – содержание оснований Шиффа (и). Г – содержание диеновых конъюгатов (г). Д – содержание кетодиенов и сопряженных триенов (г). Е – содержание оснований Шиффа (г)

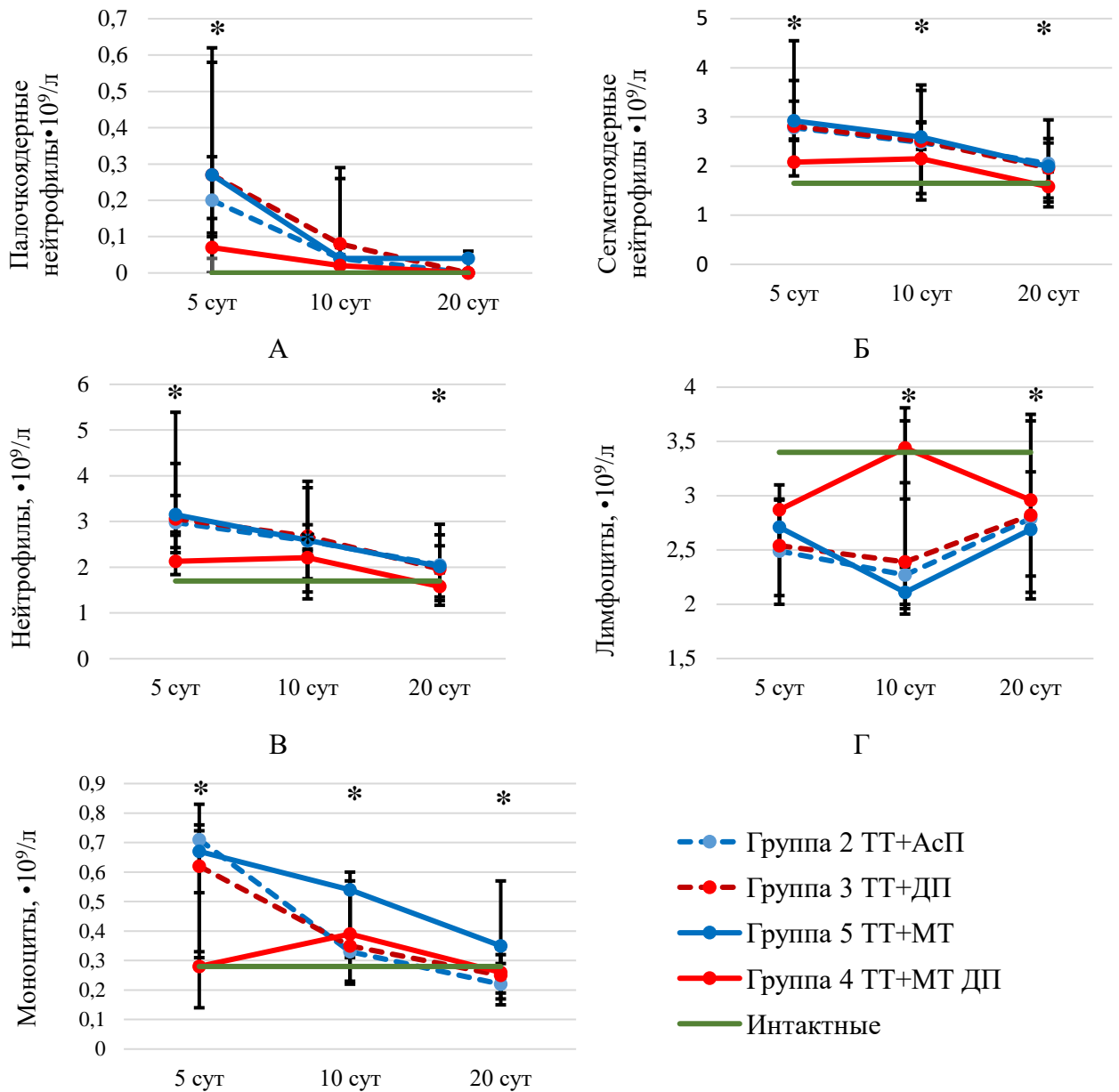


Рисунок 24 – Динамика лейкоцитарного состава периферической крови, (Ме (Q25; Q75)), * – значимые ($p < 0,01$) различия группы 4 с группой 5. А – содержание палочкоядерных нейтрофилов. Б – содержание сегментоядерных нейтрофилов. В – содержание нейтрофилов. Г – содержание лимфоцитов. Д – содержание моноцитов

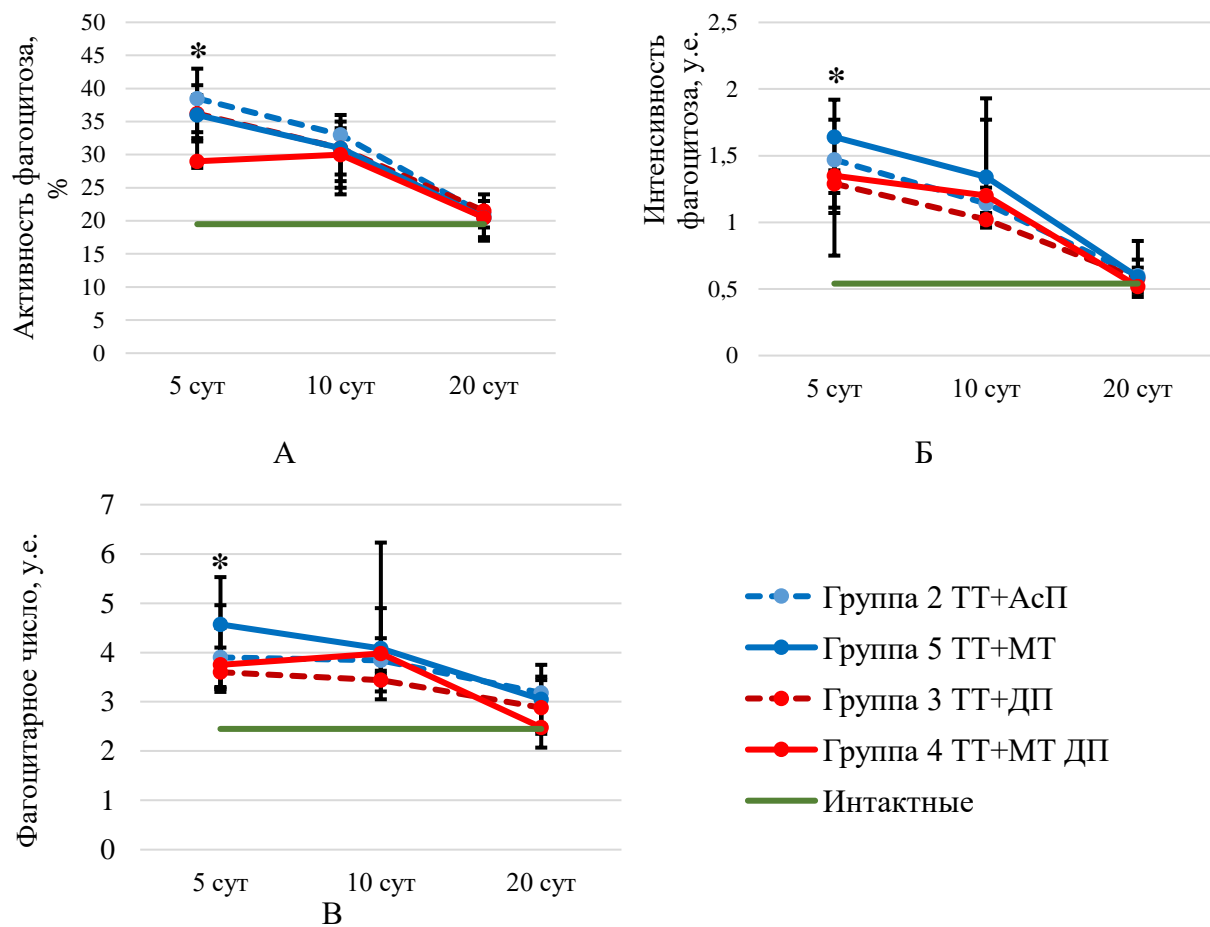


Рисунок 25 – Показатели фагоцитарной функции нейтрофилов, (Ме (Q25; Q75)), * – значимые ($p < 0,01$) различия группы 4 с группой 5. А – активность фагоцитоза. Б – интенсивность фагоцитоза. В – фагоцитарное число

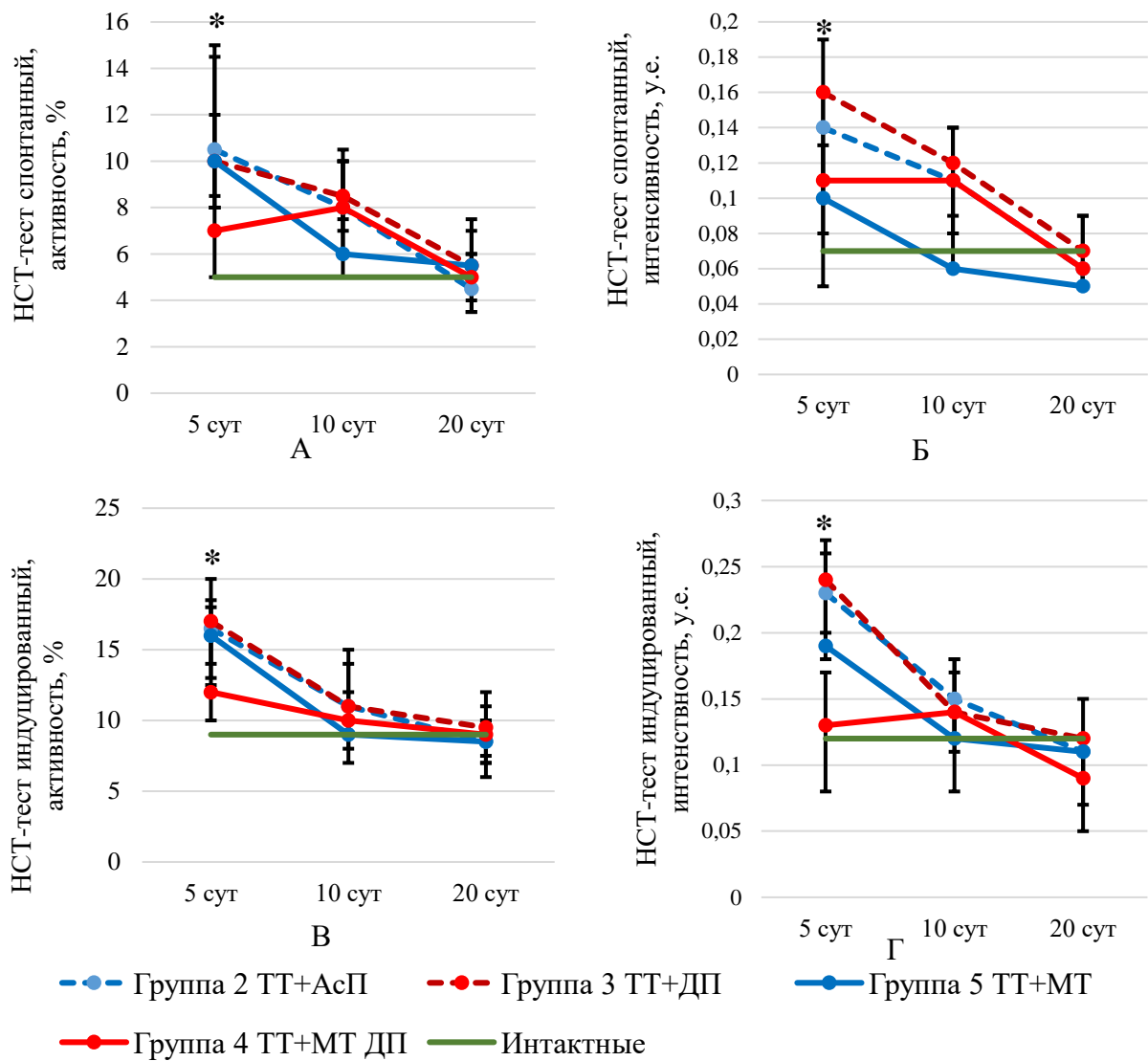


Рисунок 26 – Динамика показателей НСТ-теста, (Me (Q25; Q75)), * – значимые ($p < 0,01$) различия группы 4 с группой 5. А – НСТ-тест спонтанный, активность. Б – НСТ-тест спонтанный, интенсивность. В – НСТ-тест индуцированный, активность. Г – НСТ-тест индуцированный, интенсивность

Как было отмечено выше, локальное применение МТ сопровождается более высоким уровнем и менее значимым снижением количества лимфоцитов в крови. Оценка субпопуляционного профиля лимфоцитов выявила, что на 5 и 20 сутки больше количество $CD45RA^+$ лимфоцитов, а на 10 сутки – больше $CD3^+$ и $CD45RA^+$ в крови при применении МТ в составе ДП по сравнению с системным применением МТ (рисунок 28, А, Б). Данный факт находит отражение и в снижении количества

лимфоцитов с признаками раннего апоптоза на 5, 10 и 20 сутки, позднего апоптоза и некроза на 10 сутки эксперимента (рисунок 28, В, Г).

Концентрация Ig M и Ig G в сыворотке при ТТ в условиях локального применения МТ не отличается от соответствующих показателей при системном применении МТ на 5, 10 и 20 сутки эксперимента (рисунок 28, Д, Е).

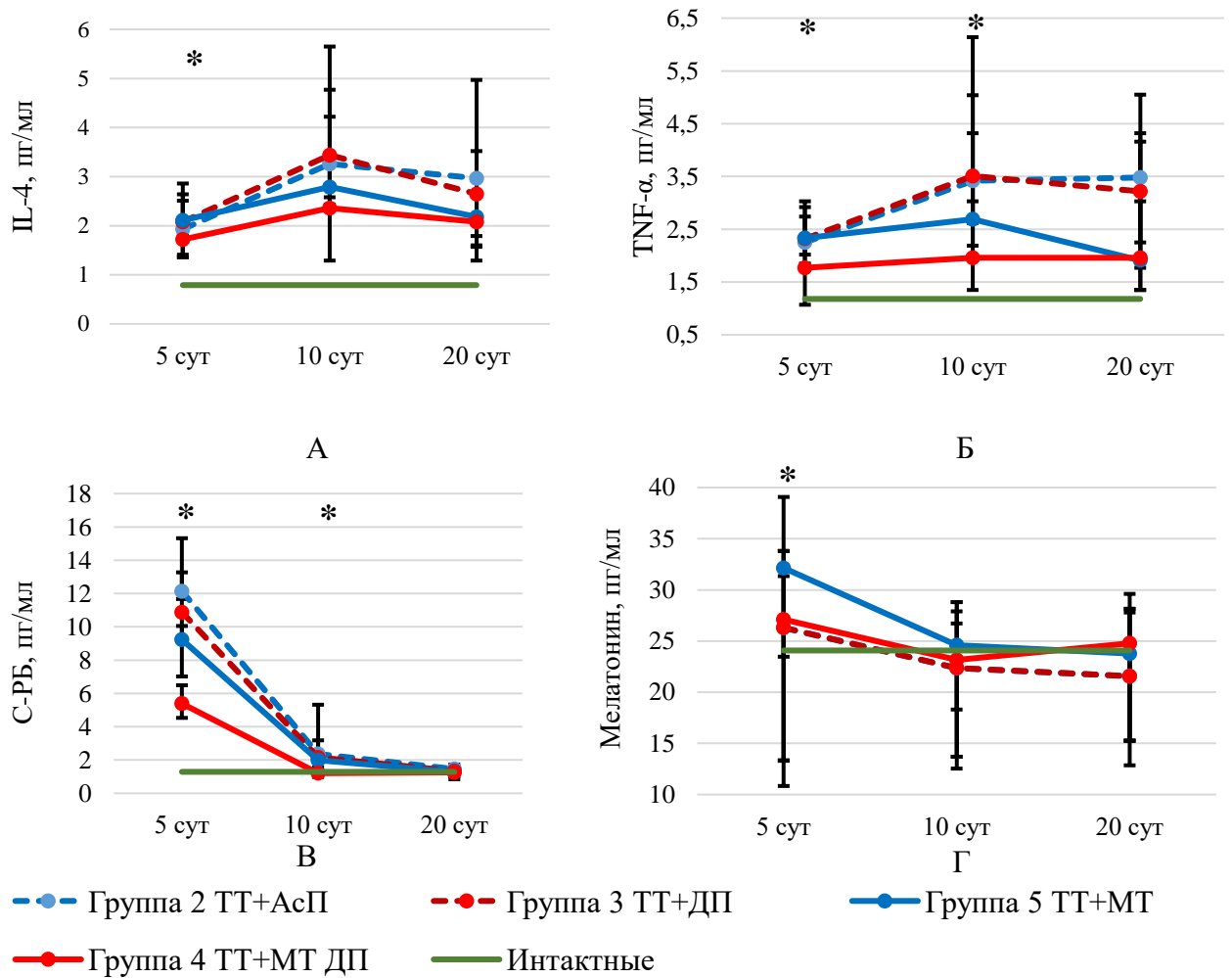


Рисунок 27 – Динамика концентрации С-РБ, мелатонина в крови, цитокинового профиля крови, (Me (Q25; Q75)), * – значимые ($p < 0,01$) различия с группы 4 с группой 5. А – динамика концентрация ИЛ-4. Б – динамика концентрация TNF- α , В – динамика концентрации С-РБ. Г – динамика концентрации МТ

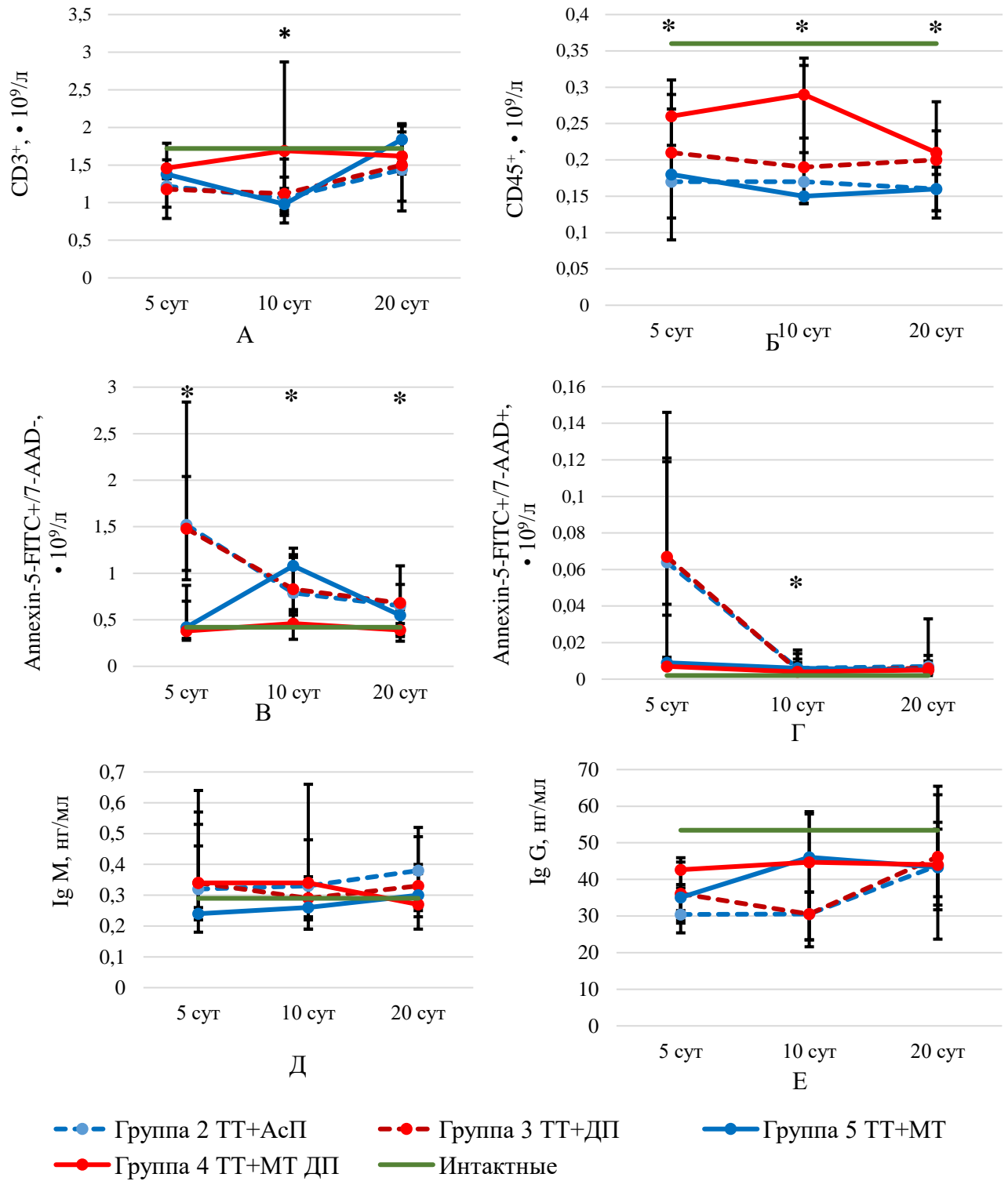


Рисунок 28 – Динамика субпопуляционного профиля лимфоцитов и концентрации ключевых иммуноглобулинов в сыворотке, (Me (Q25; Q75)), * – значимые (p<0,01) различия группы 4 с группой 5. А – содержание CD3⁺ лимфоцитов. Б – содержание CD45RA⁺ лимфоцитов. В – Annexin-5-FITC+/7-AAD⁻. Г – Annexin-5-FITC+/7-AAD⁺. Д – динамика уровня Ig M. Е – динамика уровня Ig G

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патофизиология ТТ включает комплекс событий с участием клеточных и гуморальных факторов, разворачивающихся в фазы воспаления, пролиферации и ремоделирования [233]. Особую проблему в патогенезе ТТ приобретает расширение зоны вторичной альтерации и прогрессирование ТТ в ходе фазы воспаления, когда избыточное накопление аутокоидов, ферментов, АФК, гиперкоагуляция и нарушение реологии в микроциркуляторном русле, вазоспазм, отек и эндотелиальная дисфункция вызывают изменения в прилегающих к ожоговой ране тканях и приводят к увеличению площади и глубины ожога, а также к эскалации системных изменений гомеостаза, включая острофазовый ответ, SIRS, гиперметаболизм, поражение внутренних органов [270]. При этом, если первичные изменения в центральной зоне очага повреждения, вызванные воздействием температурного фактора, необратимы, то окружающая ее зона потенциального повреждения, а также самая внешняя зона представляют области с обратимым повреждением клеток и критически важными мишенями для терапевтических воздействий [274]. Ключевые механизмы прогрессирования ТТ включают тромбоз, критическую ишемию и гипоксию тканей, окислительный стресс, гиперергическое воспаление и дисрегуляцию локального иммунного ответа на повреждение, избыточную аутофагию, апоптоз и др. и до конца не изучены [270, 303].

Способы лечения ТТ значительно эволюционировали от применения воска в Древнем Египте и настоя чайных листьев в Древнем Китае до внедрения ранней некрэктомии А. Паре в XVI веке, применения аутотрансплантации кожи и обезболивания в XIX веке [140]. Изучение патофизиологии ожоговой травмы в начале и середине XX века значительно улучшило терапевтические мероприятия в комбустиологии с многокомпонентным воздействием: ультраранняя (до 48 ч) некрэктомия, раневые покрытия или трансплантация кожи и местное лечение, обезболивание, инфузионная терапия, профилактика инфекционных осложнений [324]. В связи с данными о ключевых механизмах прогрессирования ожогов разрабатываются и с патогенетических позиций обосновываются

экспериментальные терапевтические подходы, в том числе локальное и системное применение куркумина, экстракта алоэ и др. растительных компонентов в качестве противовоспалительных, антиоксидантных, стимулирующих репарацию агентов, антицитокиновые препараты, ингибиторы компонентов комплемента, эритропоэтин, EGF, метиленовый синий, антиоксиданты N-ацетилцистеин, Cu-Zn СОД, гипербарическая оксигенация и др. [21, 22, 34, 35, 74, 109, 140, 184, 288].

Особый интерес приобретают БАВ – регуляторы гомеостаза эндогенного происхождения комплексного действия с минимальным набором побочных эффектов. Анаболический эффект при ТТ продемонстрирован в отношении инсулина, гормонов щитовидной железы, тестостерона, оксандролон и пропранолола, однако необходимы дополнительные данные для обоснования их применения [137]. У пациентов с глубокой ТТ применение рекомбинантного GM-CSF увеличивает экспрессию FGF, VEGF, сокращает сроки заживления [339].

Терапевтические стратегии при локальном воздействии на ожоговую рану направлены на модуляцию гемостаза, воспалительных реакций, ускорение эпителизации и заживление раны, ремоделирование рубца с ограничением патологического рубцевания, снижение эффектов ТТ на организм в целом в виде острофазовой и системной воспалительной реакции, постстрессовой иммунодепрессии, гиперметаболизма [293]. Локальная доставка лекарственных средств при лечении ТТ ограниченной площади является наиболее перспективным подходом в комбустиологии [308].

Среди раневых покрытий неподдельный интерес представляют ДП: они просты в использовании, повышают комплаентность пациентов с ожогами небольшой площади, дешевы, обеспечивают эффективный путем простой диффузии и в соответствии со вторым законом Фика способ поступления активного компонента в рану и окружающую кожу, позволяют избежать необходимости или снизить системное применение лекарственных средств при ожогах и как следствие их побочные эффекты, обеспечивают защиту раны от инфекций и механических повреждений. Среди широкого спектра потенциальных терапевтических агентов

при ТТ наше внимание привлёк эндогенный регулятор гомеостаза МТ, применяемый локально или системно, что и определило цель настоящей работы.

В динамике ТТ обнаружены известные закономерности заживления ожоговой раны и смены клеточного состава в очаге: от 5 к 20 суткам снижается абсолютная площадь ожоговой раны (к 20 суткам площадь уменьшается на 35% от исходной), увеличивается скорость эпителизации ожоговой раны; от 5 к 20 суткам в очаге ТТ уменьшается количество нейтрофилов, увеличивается представительство лимфоцитов, гистиоцитов, фибробластов. В очаге ТТ на 5, 10 и 20 сутки увеличивается экспрессия VEGF, а на 10 и 20 сутки увеличивается экспрессия MMP-9 – факторов, принимающих участие в репарации кожи. MMP-9 готовит плацдарм для репаративных реакций, успешной эпителизации [187]. VEGF регулирует ангиогенез, синтез коллагена и др. компонентов соединительной ткани, формирование рубца [332].

Нами получены данные об изменении количества и функциональной активности тучных клеток в очаге ТТ: от 5 к 20 суткам прогрессивно увеличивается общее количество тучных клеток, на 5, 10 и 20 сутки эксперимента увеличивается количество дегранулированных тучных клеток I, II, III степени. Участие тучных клеток в реализации событий раневого процесса подтверждается данными корреляционного анализа о связи площади раны с экспрессией MMP-9 и VEGF, коэффициентом дегрануляции тучных клеток в очаге ТТ. Площадь раны уменьшается по мере увеличения экспрессии в очаге VEGF на 5 сутки, MMP-9 на 10 и 20 сутки, дегрануляции тучных клеток на 5, 10 и 20 сутки эксперимента.

В первые 5 суток, когда преобладают альтеративные и сосудисто-экссудативные, лейкоцитарные реакции, дегрануляция тучных клеток и высвобождение преформированных медиаторов (гистамина, TNF- α , IL-1 β , IL-6 и др.) приводит к артериальной и венозной гиперемии, экссудации, активации фагоцитов [294]. Позднее, на 10-15 сутки высвобождение фактора роста кератиноцитов, VEGF активирует фибробласты, синтез коллагена. Протеаза-4 из тучных клеток выступает в роли хемоаттрактанта для лейкоцитов в воспалительную фазу раневого процесса. Увеличение синтеза коллагена связано с

активацией химазой мастоцитов сигнального пути TGF- β 1/Smads и пролиферацией фибробластов [86]. Серотонин, источником которого в очаге ТТ являются тучные клетки, снижает апоптоз, повышает выживаемость и миграцию фибробластов и кератиноцитов, участвуя в регуляции заживления [269].

Комплексный анализ метаболитов окислительной деструкции белков и липидов в ране при ТТ позволил установить, что на 5, 10, 20 сутки накапливаются вторичные и конечные продукты ПОЛ, экстрагируемые в гептановую фазу, и преимущественно конечные продукты ПОЛ в изопропанольной фазе липидного экстракта. Основным субстратом для окисления в коже являются липидом кератиноцитов (фосфолипиды, холестерин и триацилглицериды), секрета сальных желез, продукты его неферментативной окислительной деструкции входят в состав эпипилюидома кожи, который влияет на внутриклеточную сигнализацию через рецепторы простагландинов, рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами (PPAR)- α , PPAR- γ , опосредует изменения метаболизма, реакции воспаления, дифференцировку и гибель клеток кожи, потенцирует окислительный стресс [58, 134].

При ТТ в ране увеличивается суммарное содержание продуктов ОМБ в спонтанном режиме на 5, 10, 20 сутки за счет ранних продуктов нейтрального характера на 5, 10, 20 сутки, ранних и поздних продуктов основного характера на 20 сутки, поздних продуктов нейтрального характера на 10 и 20 сутки. В индуцированном режиме содержание продуктов ОМБ в ожоговой ране на 5, 10, 20 сутки ТТ увеличивается за счет ранних и поздних производных основного и нейтрального характера. На 5 и 20 сутки ТТ увеличивается резервно-адаптационный потенциал в ожоговой ране. Накопление продуктов ПОЛ и ОМБ в ожоговой ране является отражением избыточной генерации свободных радикалов активированными нейтрофилами, моноцитами/макрофагами, эндотелиоцитами и/или снижения активности систем антиокислительной защиты, а также демонстрируют роль изменений редокс-статуса ожоговой раны в патогенезе ТТ, являются основой для проведения дальнейших исследований по изучению процессов СРО в коже в клинических условиях у больных с ожогами для

обозначения продуктов ПОЛ и ОМБ в качестве диагностических биомаркеров и предикторов осложнений, а также показателей эффективности и мишеней проводимой терапии [246, 271].

Площадь и глубина поражения тканей, автономия очага первичной и вторичной альтерации определяют выраженность системных изменений при ТТ, которую оценивали по показателям острофазового ответа и иммунного статуса организма. При ТТ в крови на 5 и 10 сутки увеличивается количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов. На 20 сутки количественный состав лейкоцитов в крови полностью восстанавливался. При исследовании функциональной активности нейтрофилов крови выявлено повышение поглотительной и НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов, увеличение концентрации в сыворотке С-РБ. Максимальная выраженность проявлений острофазового ответа зафиксирована на 5 и 10 сутки ТТ.

Изменения адаптивного иммунитета после ТТ включали в крови на 5 и 10 сутки снижение общего количества лимфоцитов, $CD3^+$, на 5, 10 и 20 сутки снижение $CD45RA^+$ лимфоцитов. Патогенез снижения количества лимфоцитов в крови при ТТ включает ограничение лимфоцитопоэза, активацию гибели лимфоцитов в условиях увеличения продукции $TNF-\alpha$ и др. факторов. Определенный вклад вносит миграция лимфоцитов в очаг повреждения. На 5, 10 и 20 сутки ТТ в крови установлено увеличение количества лимфоцитов с признаками раннего апоптоза, позднего апоптоза и некроза.

При ТТ в сыворотке снижается концентрация Ig G на 5 и 10 сутки, что может быть обусловлено как снижением количества $CD45RA^+$ лимфоцитов, так и потерей плазменных белков в ходе экссудации в очаг повреждения. Изменение регуляции иммунного ответа при ТТ презентруется возрастанием концентрации в сыворотке $TNF-\alpha$ и IL-4 на 5, 10 и 20 сутки ТТ; концентрация IFN- γ значимо не изменяется.

При ТТ длительное повышение уровня в сыворотке провоспалительных цитокинов сопряжено с неблагоприятным исходом в результате SIRS и шока. В тоже время, повышение концентрации в сыворотке и в очаге ТТ противовоспалительных цитокинов (IL-4 и IL-10) выступает маркером

постожоговой иммуносупрессии. При ТТ ослаблен Th1-зависимый иммунный ответ и усилен Th2-зависимый, возможно, это объясняет отсутствие значимых изменений концентрации в сыворотке IFN- γ [178]. При ТТ повышение концентрации TNF- α в сыворотке связано с синдромом гиперметаболизма, в том числе генерацией АФК, катаболизмом липидов и высвобождением свободных жирных кислот, разобщением окисления и фосфорилирования [64]. Низкий уровень TNF- α в сыворотке связывают с хорошим прогнозом при ТТ [207]. Наряду с изменением соотношения Th1-/Th2-зависимого ответа, при ТТ имеет значение активация Th17, в том числе IL-4, в частности, это приводит к ухудшению репарации и риску ожогового сепсиса [348].

Роль изменений исследуемых показателей в патогенезе ТТ представлена на рисунке 29. В ответ на первичное повреждение участка кожи горячей водой в фазу воспаления происходит инфильтрация очага нейтрофилами, моноцитами, трансформирующимися в гистиоциты, лимфоцитами, фибробластами, тучными клетками, динамика содержания которых в очаге отражает их участие в реализации воспалительных реакций. В частности, генерацию АФК и активацию процессов СРО с накоплением в очаге продуктов ПОЛ и ОМБ, ферментов, медиаторов, принимающих участие в формировании вторичной альтерации. Синтез и секреция VEGF и MMP-9 обеспечивают позднее в фазу пролиферации реализацию репаративных реакций. В ответ на альтерацию инициируется TNF- α и др. цитокинами каскад реакций ответа острой фазы, включая увеличение в крови количества нейтрофильных гранулоцитов, моноцитов, активацию функции нейтрофилов, повышение концентрации в сыворотке С-РБ. Ответ острой фазы тесно связан с изменениями адаптивного иммунитета, включая снижение количества в крови CD3⁺ и CD45RA⁺, увеличение количества лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза, снижение концентрации Ig G в сыворотке.

В качестве экспериментальной терапии при ТТ выбран мультитропный регулятор эндогенного происхождения МТ. Предпосылками применения МТ при ТТ явились данные о собственной мелатонинергической системе кожи, включающей продуцирующие МТ клетки, рецепторы МТ клетках кожи, сведения

об изменении ритма секреции МТ при ТТ, о влиянии МТ на пролиферацию, дифференцировку эпидермоцитов после повреждения кожи ультрафиолетом, ионизирующим излучением [89, 101, 277, 286]. В настоящее время в РФ отсутствуют зарегистрированные лекарственные формы МТ для применения при ТТ кожи. Для локального применения МТ при ТТ нами проведен комплекс фармацевтико-технологических, фармацевтических и биофармацевтических исследований для выбора оптимального состава и методики получения ДП с МТ в соответствии с ОФС.1.4.1.0035.18 «Пленки». Создана оригинальная ДП на основе натрий-карбоксиметилцеллюлозы массой 6,0 г площадью около 12 см² с концентрацией МТ 5 мг/г, содержанием МТ 0,03 г.

Локальное применение МТ при ТТ приводит к ускорению заживления ожоговой раны. На 5, 10 и 20 сутки увеличивалась скорость эпителизации, уменьшалась площадь ожоговой раны, к 20 суткам она составила 46% от исходной площади (в группе животных с ТТ - 65%). В очаге ТТ снижалось содержание нейтрофилов на 5 и 10 сутки, гистиоцитов – на 5, 10 и 20 сутки, увеличивалось содержание лимфоцитов на 5 и 10 сутки, фибробластов – на 5, 10 и 20 сутки.

Протекторный, ускоряющий заживление эффект МТ в очаге ТТ обусловлен мультитропными свойствами и обеспечивается несколькими механизмами [255]. МТ влияет на содержание в ране факторов, принимающих участие в репарации: экспрессия MMP-9 увеличивалась на 5 сутки и снижалась на 10 и 20 сутки ТТ, экспрессия VEGF увеличивалась на 5 и 10 сутки. По другим данным, применение стоматологического геля с МТ при пародонтите снижает количество MMP-9 [50]. На ранних этапах после повреждения тканей МТ может выступать в роли индуктора секреции и функции MMP. МТ снижает синтез, секрецию перицитами и активность MMP-9 путем регуляции сигнального пути NOTCH3/NF-κB, повышает экспрессию эндогенного ингибитора MMP-9 TIMP-1 [253]. Механизмом снижения под влиянием МТ активности MMP-9, транскрипции гена, экспрессии мРНК и синтеза MMP-9 выступает снижение ацетилирования гистонов [341].



Рисунок 29 – Роль изменений клеточного состава, свободно-радикального окисления в очаге повреждения, иммунного статуса в крови в патогенезе ТТ. НФ – нейтрофилы, С-РБ – С-реактивный белок

Большинство исследований сосредоточено на антиангиогенном потенциале МТ при злокачественных опухолях в контексте онкостатического действия [131]. Антиангиогенный эффект МТ связан с блокадой секреции VEGF за счет подавления HIF-1 α , снижения активности внутриклеточного пути сигнализации HIF-1 α /ROS/VEGF и связанных генов, таких как эритропоэтин, NOS [132, 212]. Эффект МТ на ангиогенез и пролиферацию клеток носит регулирующий характер и зависит от концентрации МТ в среде и исходного пролиферативного потенциала клеток, вида патологии [229].

МТ является «smart»-гормоном: может подавлять или инициировать ангиогенез через различные сигнальные пути дозо- и контекстнозависимым образом, ведущие к различным биологическим исходам [255]. МТ при экспериментальной язве желудка увеличивает экспрессию HIF-1 α и синтез VEGF, ускоряет заживление слизистой [123]. Внутридермальное введение МТ ускоряет ангиогенез и экспрессию VEGF в очаге, заживление механической травмы кожи [252]. МТ увеличивает плотность сосудов за счет повышения синтеза VEGF по пути Erk1/2, ускоряет заживление ран и дефектов тканей при травмах кожи, костной ткани, сахарном диабете, ишемически-реперфузионных повреждениях почек, головного мозга [60, 123, 165, 305].

Локальное применение МТ при ТТ неоднозначно изменяет количество и активность тучных клеток в очаге. В ожоговой ране общее количество и дегрануляция тучных клеток увеличивались на 5 и 10 сутки, снижались на 20 сутки ТТ. По всей видимости, МТ рецептор-зависимым образом вмешивается в метаболизм и активность тучных клеток и оказывает регуляторное влияние на течение воспалительного процесса, репарации после ТТ за счет изменения синтеза и секреции тучными клетками аутокоидов, ферментов, цитокинов, факторов роста, АФК. Активированные тучные клетки сами синтезируют мелатонин с последующим ауто- и паракринным влиянием [85].

Применение МТ в составе ДП при ТТ снижает и частично восстанавливает содержание преимущественно вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе экстракта ожоговой раны на 10 и 20 сутки, в изопропанольной

фазе на 5, 10 и 20 сутки. В ожоговой ране снижается суммарное содержание продуктов ОМБ в спонтанном режиме на 5 сутки за счет ранних продуктов нейтрального характера, на 10 и 20 сутки за счет ранних и поздних продуктов нейтрального характера, в индуцированном режиме на 5 сутки за счет ранних продуктов нейтрального и основного характера, на 20 сутки за счет ранних и поздних продуктов нейтрального и основного характера. На 10 сутки в ожоговой ране содержание продуктов ОМБ в индуцированном режиме повышается преимущественно за счет поздних продуктов нейтрального и основного характера. Резервно-адаптационный потенциал ожоговой раны, оцениваемый по продуктам ОМБ, повышается на 10 сутки, снижается на 20 сутки ТТ.

Показано, что при повреждениях кожи МТ концентрируется в эпидермисе [163]. Прямой антиоксидантный эффект МТ при ТТ может быть обусловлен взаимодействием с гидроксильным и пероксильным радикалами, нерадикальными окислителями, включая перекись водорода, синглетный кислород и пероксинитрит, хелатирования металлов переменной валентности, таких как медь, железо [89]. Одна молекула МТ способна взаимодействовать с четырьмя и более АФК [346]. МТ может связывать АФК и ингибировать их генерацию путем активации цитозольной флавопротеинхионредуктазы II [268]. Опосредованные антиоксидантные эффекты МТ включают стабилизацию мембранного потенциала и регуляцию биоэнергетики митохондрий, снижение активности прооксидантного фермента ксантинооксидазы, повышение активности СОД, глутатионпероксидазы, глутатион--S-трансферазы, глутатионредуктазы, каталазы [158, 220]. Принципиальным в метаболизме клеток при воспалении является гликолитическое, блокирующее эффект Варбурга, действие МТ за счет способности ингибировать HIF-1 α [257].

Продемонстрировано, что площадь ожоговой раны при ТТ в условиях локального применения МТ сокращается по мере увеличения дегрануляции тучных клеток на 5 сутки, повышения экспрессии VEGF на 5 и 10 сутки, снижения экспрессии MMP-9 на 10 и 20 сутки ТТ. Установлено наличие ассоциации между площадью ожога и содержанием в ране вторичных и конечных продуктов ПОЛ в

гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта, суммарным содержанием продуктов ОМБ, содержанием ранних и поздних нейтрального характера продуктов ОМБ.

Применение МТ в составе ДП при ТТ изменяет показатели ответа острой фазы и иммунного статуса в крови: снижает количество сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов на 5 сутки, повышает и частично восстанавливает количество в крови лимфоцитов, $CD3^+$ и $CD45RA^+$ на 5 и 10 сутки. НСТ-редуцирующая способность нейтрофилов крови снижается и полностью восстанавливается на 5 сутки. Концентрация в сыворотке $TNF-\alpha$ снижается на 5, 10 и 20 сутки, концентрация $IL-4$ – на 10 сутки. В сыворотке концентрация С-РБ снижается на 5 и 10 сутки. Количество в крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза снижается на 5, 10 и 20 сутки, количество в крови лимфоцитов с признаками позднего апоптоза, признаками некроза снижается на 5 сутки. В сыворотке повышается концентрация $Ig G$ на 5 и 10 сутки ТТ.

Полагаем, что антиоксидантный эффект МТ ограничивает зону вторичного повреждения при ТТ, в том числе активацию и привлечение в очаг повреждения нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов. Модуляция реакций воспалительного процесса под влиянием МТ может быть связана со снижением выраженности альтерации и сосудисто-экссудативных реакций, продукции цитокинов и др. аутокоидов, что приведет к изменениям не только в очаге ТТ, но и острофазового ответа в целом. МТ через снижение экспрессии $NF-\kappa B$, зависимое от $SIRT1$, ингибирует синтез многочисленных воспалительных маркеров, таких как $iNOS$ и ЦОГ-2, $TNF-\alpha$ [124, 268]. МТ ингибирует также PI3K/Akt- и MAPK-связанные пути внутриклеточной сигнализации. Противовоспалительный эффект МТ реализуется за счет снижения синтеза и секреции провоспалительных ($IL-6$, $IL-23$, $TNF-\alpha$) и увеличения противовоспалительных ($IL-10$) цитокинов [112]. Большинство работ по протекторному действию МТ в коже за счет антиоксидантного, противовоспалительного, иммуномодулирующего, антиапоптогенного эффектов посвящены повреждению кожных покровов у человека, *in vivo* и *in vitro*

ультрафиолетом, язвенным поражениям кожи при сахарном диабете [163, 165, 285].

Антиапоптогенный, блокирующий аутофагию и стимулирующий пролиферацию эффекты МТ хорошо описаны в литературе и реализуются в различных клетках за счет протекции митохондрий, снижения каспаза-3-зависимых реакций, ограничения TNF- α -зависимого апоптоза, снижения экспрессии проапоптогенного белка Вах, белков RIP-1 и RIP-3, повышения экспрессии Bcl-2, активации сигнального пути mTOR, пути CTRP3/ miR-200a/ Nrf2 [45, 107, 143]. При инфаркте миокарда МТ уменьшает площадь некроза и увеличивает фракцию выброса за счет антиапоптогенного, противовоспалительного, антиоксидантного и нормализующего энергетический метаболизм эффектов [319].

Большинство исследователей полагают, что при повреждениях кожи МТ должен применяться исключительно локально, поскольку пероральное применение МТ не приводит к достаточной концентрации МТ в очаге повреждения, принимая во внимание низкую биодоступность, деградацию в печени и изолированность очага повреждения от системного кровотока либо требует очень высоких доз МТ [268, 287]. В частности, приводят данные о локальном применении МТ в составе спиртовых растворов, кремов, эмульсий, липосом при повреждении кожи ультрафиолетом, старении, облысении [116, 146, 227].

Нами проведен сравнительный анализ эффектов МТ в ДП и при внутрибрюшинном введении в ежедневной разовой дозе 10 мг/кг в течение 5 суток. Высокая доза МТ и парентеральный способ введения выбраны в связи с низкой доступностью и ограниченностью очага повреждения. Системное применение МТ при ТТ уменьшает абсолютную и относительную площадь ожоговой раны на 20 сутки (к 20 суткам 52% от исходной), увеличивает скорость ее эпителизации на 10 и 20 сутки. В ране снижалось количество нейтрофилов на 5 и 10 сутки, гистиоцитов – на 10 и 20 сутки, повышалось представительство лимфоцитов и фибробластов на 5 и 10 сутки; увеличивалось общее количество и дегрануляция тучных клеток на 5 сутки, снижалось общее число и дегрануляция тучных клеток на 10 и 20 сутки ТТ.

При иммуногистохимическом исследовании снижалась экспрессия MMP-9 на 10 и 20 сутки ТТ.

Внутрибрюшинное применение МТ у крыс при ТТ приводит к снижению содержания в ожоговой ране преимущественно конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, первичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе на 5, 10 и 20 сутки, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе на 5 и 20 сутки. В очаге повреждения снижалось и частично восстанавливалось при оценке в спонтанном режиме суммарное количество продуктов ОМБ на 5, 10 и 20 сутки преимущественно за счет ранних и поздних продуктов нейтрального характера. В металл-индуцированном режиме в ожоговой ране снижалось и полностью на 5 сутки, частично на 20 сутки восстанавливалось содержание ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального и основного характера.

Оценка иммунного статуса при ТТ в условиях внутрибрюшинного применения МТ внутрибрюшинно установила увеличение количества в крови лимфоцитов, в том числе CD3⁺, снижение количества в крови лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза на 5 сутки, восстановление спонтанной НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов на 10 сутки, снижение концентрации в сыворотке TNF- α на 10 и 20 сутки, концентрации С-РБ – на 5 сутки, увеличение концентрации в сыворотке Ig G на 5 и 10 сутки.

Итак, локальное применение МТ в составе ДП по сравнению с внутрибрюшинным введением МТ при ТТ приводит к значимому уменьшению площади и ускорению эпителизации ожоговой раны на 10 и 20 сутки, снижению содержания в ране нейтрофилов на 5 и 10 сутки, гистиоцитов на 5 сутки, повышению содержания лимфоцитов на 5 и 20 сутки, снижению количества и дегрануляции ТК на 5 и 20 сутки, повышению – на 10 сутки, повышению экспрессии VEGF на 5 и 10 сутки, MMP-9 на 5 сутки, снижению экспрессии MMP-9 на 10 и 20 сутки наблюдения; снижению содержания вторичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе на 10 сутки, вторичных и конечных в изопропанольной фазе на 20 сутки, повышению содержания конечных продуктов в гептановой и изопропанольной фазах на 5 сутки. В условиях локального применения МТ в

составе ДП на 5, 10 и 20 сутки наблюдается в крови менее выраженное повышение количества нейтрофилов и моноцитов, а на 10 и 20 сутки менее выраженное снижение количества лимфоцитов, в том числе $CD3^+$ и $CD45RA^+$, снижается количество лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза; в сыворотке меньше концентрация IL-4 и МТ на 5 сутки, TNF- α и С-РБ на 5 и 10 сутки, больше концентрация Ig M и Ig G на 5 сутки.

Предполагаемые механизмы протекторного действия МТ при экспериментальной ТТ с учетом полученных нами результатов представлены на интегральной схеме (рисунок 30). Применение МТ при ТТ приводит к изменению синтеза и/или секреции факторов, участвующих в репарации кожи после ТТ, в частности повышению содержания в очаге VEGF, снижению содержания MMP-9. Нами установлено изменение (увеличение на 5 и 10 сутки, снижение на 20 сутки) количества и активности по дегрануляции тучных клеток в динамике ТТ, что может иметь значение в экспрессии VEGF и MMP-9 в очаге термического повреждения. Кроме этого, тучные клетки через изменение активности фагоцитирующих клеток, эндотелиоцитов могут вмешиваться в редокс-статус ожоговой раны и выраженность реакций воспалительной фазы ТТ. Отражением прямого или опосредованного антиоксидантного эффекта МТ является снижение содержания в ожоговой ране продуктов окислительной деструкции липидов и белков. Наконец, противовоспалительный эффект МТ, реализуемый, в частности, за счет снижения синтеза и секреции TNF- α , с одной стороны, уменьшает выраженность ответа острой фазы по данным концентрации С-РБ в сыворотке, количества и функциональной активности нейтрофилов в крови, снижения представительства нейтрофилов в очаге, с другой стороны, имеет значение в уменьшении гибели лимфоцитов в крови, восстановлении их количественного состава в крови и как следствие увеличения их количества в очаге повреждения. Все отмеченные эффекты МТ (влияние на синтез и секрецию факторов репарации, модуляция количества и дегрануляции тучных клеток, антиоксидантный и противовоспалительный) имеют значение в эффективной реализации репарации в

очаге ТТ, ускоряют заживление ожоговой раны и снижают выраженность системных проявлений.

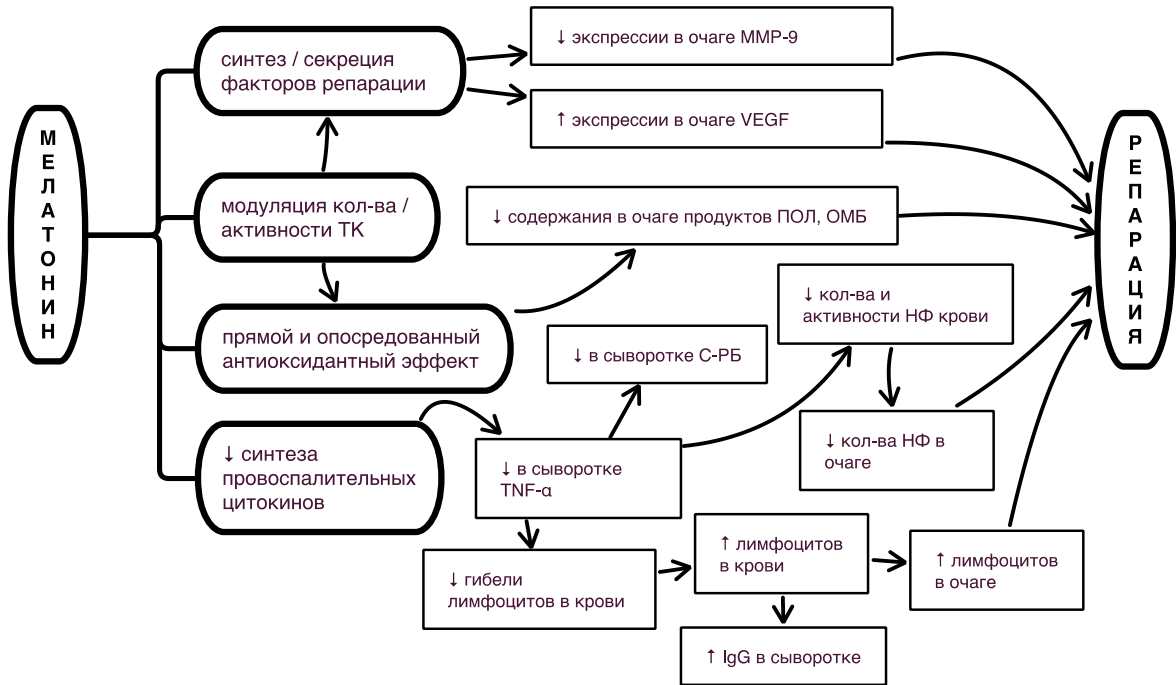


Рисунок 30 – Предполагаемые механизмы протекторного действия МТ при ТТ

ВЫВОДЫ

1. При термической травме от 5 к 20 суткам снижается абсолютная площадь ожоговой раны, уменьшается количество нейтрофилов, увеличивается – лимфоцитов, гистиоцитов, фибробластов, общее количество и дегрануляция тучных клеток, экспрессия MMP-9 и VEGF; площадь раны уменьшается по мере увеличения экспрессии MMP-9, VEGF, дегрануляции тучных клеток.

2. В ожоговой ране на 5, 10, 20 сутки накапливаются вторичные и конечные продукты перекисного окисления липидов в гептановой фазе, конечные продукты в изопропанольной фазе, увеличивается суммарное содержание продуктов окислительной модификации белков в спонтанном режиме за счет ранних и поздних продуктов нейтрального характера, в индуцированном режиме за счет ранних и поздних производных основного и нейтрального характера.

3. При термической травме в крови на 5 и 10 сутки увеличивается количество нейтрофилов, моноцитов, поглотительная и НСТ-редуцирующая способности нейтрофилов, концентрация С-РБ; снижается количество CD3⁺, на 5, 10 и 20 сутки снижается количество CD45RA⁺, увеличивается количество лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза; концентрация в сыворотке Ig G снижается на 5 и 10 сутки, TNF- α и IL-4 – возрастает на 5, 10 и 20 сутки.

4. Применение мелатонина в составе дермальной пленки при термической травме приводит к ускорению эпителизации и сокращения площади ожоговой раны, снижению содержания в ней нейтрофилов, гистиоцитов, увеличению – лимфоцитов, фибробластов; увеличению тучных клеток и их дегрануляции на 5 и 10 сутки, снижению – на 20 сутки; увеличению экспрессии MMP-9 на 5 сутки, экспрессии VEGF на 5 и 10 сутки, снижению экспрессии MMP-9 на 10 и 20 сутки.

5. Применение мелатонина в составе дермальной пленки при термической травме сопровождается в ожоговой ране снижением содержания преимущественно вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов в гептановой и в изопропанольной фазах, содержания продуктов окислительной модификации

белков за счет ранних и поздних аддуктов нейтрального характера, повышением резервно-адаптационного потенциала на 10 сутки, снижением – на 20 сутки.

6. Установлено при термической травме в условиях применения мелатонина в составе дермальной пленки наличие ассоциации между площадью ожога и экспрессией в ожоговой ране VEGF, MMP-9, содержанием дегранулированных тучных клеток, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта, суммарным, ранних и поздних нейтрального характера содержанием продуктов окислительной модификации белков.

7. Применение при термической травме мелатонина в составе дермальной пленки приводит в крови к снижению количества моноцитов, количества и НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов, повышению количества лимфоцитов, в том числе CD3⁺ и CD45RA⁺, снижению количества лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза, снижению концентрации в сыворотке TNF- α , IL-4, С-РБ, повышению – Ig G.

8. Применение при термической травме мелатонина внутривнутрибрюшинно по сравнению с локальным применением приводит к меньшему сокращению площади ожоговой раны на 10 и 20 сутки, большему количеству в ней нейтрофилов, гистиоцитов, и экспрессии MMP-9, меньшему количеству лимфоцитов и экспрессии VEGF, большему количеству дегранулированных тучных клеток на 5 и 20 сутки, меньшему – на 10 сутки; меньшему содержанию продуктов ПОЛ на 5 сутки, большему – на 10 и 20 сутки; в крови к более выраженному повышению количества моноцитов, количества и функции нейтрофилов, концентрации TNF- α , IL-4, С-РБ, мелатонина, более низкому количеству лимфоцитов, в том числе CD3⁺ и CD45RA⁺, концентрации Ig M и Ig G.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АДНФГ – альдегид-динитрофенилгидразоны

АФК – активные формы кислорода

ГПО – глутатионпероксидаза

ДК – диеновые конъюгаты

КД – кетодиены

СТ – сопряженные триены

ШО – основания Шиффа

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КДНФГ - кетон-динитрофенилгидразоны

КЛ – клетки Лангерганса

МДА – метилендиоксиамфетамин

МТ – мелатонин

НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат

НСТ – нитросиний тетразол

ОМБ – окислительная модификация белков

ОФС – общая фармакопейная статья

ПОЛ – перекисное окисление липидов

РСО – рабочего стандартного образца

СОД – супероксиддисмутаза

ТТ – термическая травма

ТСХ – тонкослойная хроматография

ЦОГ – циклооксигеназа

ЭДТА – этилендиаминтетраацетат (антикоагулянт)

С-РБ – С-реактивный белок

МКБ-10 – международная классификация болезней 10 пересмотра

7-ААД (7-Aminoactinomycin D) – 7-аминоактиномицин D

АМРК-ОРА1 (5' adenosine monophosphate-activated protein kinase/optic atrophy 1) – 5'АМФ-активируемая протеинкиназа/оптической атрофии 1

Annexin-5-FITC (annexin-5 fluorescein isothiocyanate) – конъюгированный с флуоресцеином изотиоцианатом аннексин 5

AP-1 (activating protein-1) – активирующий белок-1

CARS (compensatory antiinflammatory response syndrome) – компенсаторный противовоспалительный синдром

CD – кластер дифференцировки

CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) – гликопротеин цитотоксических Т-лимфоцитов 4

DAMP (damage-associated molecular patterns) – молекулярный фрагмент, ассоциированный с повреждениями

EGF (epidermal growth factor) – эпидермальный фактор роста

FGF (fibroblast growth factors) – фактор роста фибробластов

G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor) – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

GLUT1 (glucose transporter 1) – глюкозный транспортёр тип 1

GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

HIF-1 α (hypoxia-inducible factor 1-alfa) – фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа

IFN (interferon) – интерферон

IGF-1 (insulin-like growth factor 1) – инсулиноподобный фактор роста 1

IL (interleukin) – интерлейкин

iNKT (invariant natural killer T) – инвариантные естественные киллерные Т-клетки

KGF-2 (keratinocyte growth factor 2) – фактор роста кератиноцитов 2

MDSC (myeloid-derived suppressor cells) – клетки-супрессоры миелоидного происхождения

MIF (macrophage migration inhibitory factor) – ингибитор миграции макрофагов

MIP-2 α (macrophage inflammatory protein 2 alfa) – воспалительные белки макрофагов 2 альфа

miR (micro ribonucleic acid) – микроРНК

MMP (matrix metalloproteinases) – матриксные металлопротеиназы

NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) – никотинамидадениндинуклеотид

NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) – ядерный фактор «каппа-би»

NGF (nerve growth factor) – фактор роста нейронов

NK-клетки (natural killer cells) – клетки натуральные киллеры

NOS (nitric oxide synthase) – синтетаза оксида азота

Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) – ядерный фактор, связанный с эритроидом 2

PDGF (platelet-derived growth factor) – тромбоцитарный фактор роста

PEPT1/2 (peptide transporter 1/2) – транспортер олигопептидов

PGE2 (prostaglandin E2) – простагландин E2

PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors) – рецепторы, активируемые пероксисомными пролифератора

SIRS (systemic inflammatory response syndrome) – синдром системного воспалительного ответа

SIRT1 (sirtuin 1) – сиртуин 1

TGF (transforming growth factor) – трансформирующий фактор роста

Th (T-helper cells) – клетки Т-хелперы

TIMP-1 – тканевой ингибитор металлопротеиназ-1

TLR (Toll-like receptor) – толл-подобные рецепторы

TNF (tumor necrosis factor) – фактор некроза опухоли

Treg (regulatory T cells) – регуляторные Т-лимфоциты

VDR (vitamin D receptor) – рецептор витамина D

VEGF (vascular endothelial growth factor) – фактор роста эндотелия сосудов

M1, M2 – субпопуляции M1- и M2-макрофагов

PI3K/Akt- – ферменты фосфоинозитид-3-киназа, киназы АКТ

МАРК (mitogen-activated protein kinase) – митоген-активируемая протеинкиназа

RIP (ribosome-inactivating proteins) – рибосом-инактивирующие белки

СТРР3 (C1q/Tumor necrosis factor-Related Protein-3) – C1q/ фактор некроза опухоли-ассоциированный белок-3

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов, К.С. Роль изменений свободнорадикального окисления и иммунного статуса в репарации костной ткани при изолированном переломе бедренной кости в условиях озонотерапии : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Абрамов Кирилл Сергеевич. – Челябинск, 2021 – 165 с.
2. Автандилов, Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов. – Москва: Медицина, 2002. – 240 с. – ISBN 5-225-04151-5.
3. Агеева А.А., Осиков М.В., Симонян Е.В., Топорец Т.А., Потехина Е.А. Средство в виде пленки лекарственной, содержащей мелатонин, для лечения термической травмы. Пат. № 2751048. Заявка: 2020118766, 29.05.2020. Дата регистрации 07.07.2021 г. Бюл. № 19.
4. Бакеева, А.Е. Патогенетическое обоснование применения оригинальных ректальных суппозиторий с экстрактом куркумы при экспериментальном колите : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Бакеева Алина Евгеньевна. – Челябинск, 2021 – 238 с.
5. Васютков, В.Я. Трофические язвы стопы и голени / В.Я. Васютков. – Москва: Медицина, 1993. – 160 с. – ISBN 5-225-01948-X.
6. Володченко, А.М. Патогенетическое обоснование комбинированного применения эритропоэтина и лазерного излучения при ишемии спинного мозга (экспериментальное исследование) : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Черепанов Дмитрий Андреевич. – Челябинск, 2019 – 191 с.
7. Волчегорский, И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И.А. Волчегорский, А.Г. Налимов, В.Г. Яровинский // Вопросы медицинской химии. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127-131.
8. Государственный реестр медицинских изделий и организаций (индивидуальных предпринимателей), осуществляющих производство и

изготовление медицинских изделий. – Текст: электронный // федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения: [сайт]. – 2021. – URL: <https://roszdravnadzor.gov.ru/services/misearch> (дата обращения: 17.11.2021).

9. Давыдова, А.В. Разработка состава и технологии фитопрепаратов антимикробного действия : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Давыдова Анна Владимировна. – Москва, 2016 – 181 с.

10. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. – Текст: электронный // Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова [сайт]. – Санкт-Петербург, 2012. – URL: http://www.bio.msu.ru/res/DOC457/Dir_2010_63_Rus (дата обращения: 18.10.2021).

11. Долгушин, И.И. Нейтрофилы и гомеостаз / И.И. Долгушин, О.В. Бухарин. – Екатеринбург, 2001. – 256 с.

12. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. – Текст: электронный // Council of Europe [сайт]. – Страсбург, 1986. – URL: <https://rm.coe.int/CoERMPublicCommonSearchServices/DisplayDCTMContent?documentId=090000168007a6a8> (дата обращения 13.04.20).

13. Здравоохранение в России. 2019: статистический сборник / Федеральная служба государственной статистики (Росстат). – Москва, 2019. – 170 с. – ISBN 978-5-89476-470-2.

14. Кищенко, В.М. Пленки в российской медицине и косметологии: история развития, классификация, технология / В.М. Кищенко, В.В. Верниковский, И.М. Привалов, А.М. Шевченко // Фармация и фармакология. – 2020. – Т. 8, № 2. – С. 124-132.

15. Клычникова, Е.В. Взаимосвязь биохимических показателей окислительного стресса, эндогенной интоксикации и регуляции сосудистого тонуса у больных с ожоговой травмой / Е.В. Клычникова, Е.В.Тазина, С.В. Смирнов [и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 2015. – Т. 60, № 1. – С. 45-49.

16. Лихачева, А.Г. Динамика иммунного статуса и репаративных процессов при термической травме в условиях локального применения эпидермального фактора роста : клинико-экспериментальное исследование : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Лихачева Альфия Габдуллаевна. – Челябинск, 2013 – 167 с.
17. Львовская, Е.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов ПОЛ / Е.И. Львовская, И.А. Волчегорский, С.Е. Шемяков, Р.И. Лифшиц // Вопросы медицинской химии. – 1991. – № 4. – С. 92-93.
18. Огнева, О.И. Этолого-иммунологическая характеристика экспериментального десинхроноза в условиях искусственного освещения и применения мелатонина : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Огнева Ольга Игоревна. – Челябинск, 2016 – 239 с.
19. Осиков, М.В. Ассоциация показателей репарации в очаге повреждения и иммунного статуса в крови в динамике экспериментальной термической травмы / М.В. Осиков, А.А. Агеева // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. - №1. – С. 40-52.
20. Осиков, М. В. Взаимосвязь между изменением этологического статуса и концентрацией некоторых цитокинов в крови при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения / М. В. Осиков, О. И. Огнева // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2016. – Т. 60. – № 4. – С. 93-100.
21. Осиков, М. В. Влияние эритропоэтина на количественный состав и апоптоз лимфоцитов периферической крови в динамике экспериментальной термической травмы / М. В. Осиков, Е. В. Симонян, О. Т. Саедгалина // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т. 10(19). – № 2-1. – С. 479-481.
22. Осиков, М.В. Влияние локального применения эпидермального фактора роста на врожденный иммунитет и клеточный состав очага повреждения при экспериментальной термической травме / М.В. Осиков, Л.Ф. Телешева, А.Г. Лихачева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, № 3. – С. 280-283.

23. Осиков, М.В. Влияние мелатонина в составе оригинальной дермальной пленки на показатели адаптивного иммунитета при экспериментальной термической травме / М.В. Осиков, Е.В. Симонян, А.А. Агеева, К.В. Никушкина // Рос. иммунологический журнал. – 2021. – Т.24, № 2. – С. 181-188.
24. Осиков, М.В. Влияние системного применения мелатонина на репарацию и гематологические показатели при экспериментальной термической травме / М.В. Осиков, А.А. Агеева, Ю.И. Агеев // Уральский медицинский журнал. – 2020. – Т. 195. - №12. – С. 21 – 27
25. Осиков, М.В. Влияние трансдермальной пленки с эритропоэтином на гибель лимфоцитов и процессы свободнорадикального окисления в крови при экспериментальной термической травме у крыс / М.В. Осиков, Е.В. Симонян, О.Т. Башарова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2019. – Т. 63, № 2. – С. 72-79.
26. Осиков, М.В. Влияние эритропоэтина в составе трансдермальной пленки на показатели иммунного статуса крысы при экспериментальной термической травме / М.В. Осиков, Е.В. Симонян, О.Т. Саедгалина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 8. – С. 13-18.
27. Осиков, М.В. Влияние эритропоэтина на содержание продуктов перекисного окисления липидов в лимфоцитах при экспериментальной термической травме / М.В. Осиков, Е.В. Симонян, О.Т. Саедгалина // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, № 5. – С. 849-853.
28. Осиков, М.В. Локальный антиоксидантный эффект оригинальной дермальной пленки с мелатонином при термической травме / М.В. Осиков, Е.В. Симонян, А.А. Агеева, Ю.И. Агеев, А.А. Федосов, А.И. Сеницкий // Вестник РГМУ. – 2020. – № 6. – С. 108-116.
29. Осиков, М.В. Локальный ПОЛ-ограничивающий и ускоряющий заживление эффект мелатонина в составе оригинальной трансдермальной пленки при экспериментальной термической травме / М.В. Осиков, Е.В. Симонян, А.А. Агеева, А.И. Сеницкий, Ю.И. Агеев // Патологическая физиология и экспериментальная

- терапия. – 2021. – Т. 65. - № 1. – С. 94-101. – DOI: 10.25557/0031-2991.2021.01.94-101.
30. Осиков, М.В. Мелатонин в составе дермальной пленки ограничивает гибель лимфоцитов в крови при экспериментальной термической травме / Осиков М.В., Симонян Е.В., А.А. Агеева, Ю.И. Агеев // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 389-394. DOI: 10.15789/1563-0625-MIT-2158.
31. Осиков, М.В. Перспективы локального применения мелатонина для коррекции иммунного статуса при термической травме / М.В. Осиков, Е.В. Симонян, А.А. Агеева, А.А. Федосов // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 1. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=29489>
32. Осиков, М.В. Роль тучных клеток в репарации кожи после термической травмы в условиях применения оригинальной дермальной пленки с мелатонином / М.В. Осиков, А.А. Агеева, В.А. Ушакова, А.А. Федосов // Вестник РГМУ. – 2021. – № 4. – С. 36-44. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.035
33. Осиков, М.В. Цитокиновый профиль в крови и репарация в очаге повреждения в динамике экспериментальной термической травмы в условиях локального или системного применения мелатонина / М.В. Осиков, А.А. Агеева, В.А. Ушакова // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, № 4. – С. 693-698.
34. Патогенетическое обоснование применения эпидермального фактора роста при термической травме / М.В. Осиков, И.И. Долгушин, Л.Ф. Телешева, А.Г. Лихачева. – Москва: Академия естествознания, 2013. – 152 с.
35. Плейотропные эффекты и новые лекарственные формы эритропоэтина / Ю.И. Агеев, О.Н. Альмухаметова, В.Ю. Ахматов [и др.]; под ред. М.В. Осикова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 208 с. – ISBN: 978-5-9704-5034-5.
36. Саедгалина, О. Т. Механизм изменений иммунного статуса при экспериментальной термической травме в условиях применения новой лекарственной формы с эритропоэтином : специальность 14.03.03 "Патологическая физиология" : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Саедгалина Оксана Тагировна. – Челябинск, 2017. – 216 с.

37. Симонян, Е.В. Современные аспекты патофизиологии термической травмы / Е.В. Симонян, М.В. Осиков, А.А. Агеева, А.А. Федосов, В.А. Бычковских // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 3.; URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29723>
38. Смелова, И.В. Патогенетическое обоснование применения инфракрасного лазерного излучения при экспериментальном гипотиреозе : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Смелова Ирина Викторовна. – Челябинск, 2020 – 139 с.
39. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия : метод. рекомендации / сост. М.Е. Виксман, А.Н. Маянский. – Казань: [б.и.], 1979. – 14 с.
40. Фомина, М.А. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации / М.А. Фомина, Ю.В. Абаленихина. – Рязань: РязГМУ, 2014. – 60 с. – ISBN: 978-5-8423-0154-6.
41. Черепанов, Д.А. Роль вторичного гиперпаратиреоза в формировании иммунного статуса и коррекция его изменений амлодипином при хронической почечной недостаточности : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Черепанов Дмитрий Андреевич. – Челябинск, 2016 – 212 с.
42. Шнайдер, А. Сопоставление распределения изоформ фармацевтических препаратов эритропоэтина с использованием двухмерного гель-электрофореза / А. Шнайдер // Клиническая нефрология. – 2010. – № 2. – С. 50–53.
43. Шохин, И. Е. Оценка возможности замены исследований биоэквивалентности *in vivo* на изучение сравнительной кинетики растворения *in vitro* (процедура «биовейвер») при определении взаимозаменяемости лекарственных средств («дженериков») / И. Е. Шохин, Г. В. Раменская, Г. Ф. Василенко, Е. А. Малашенко // Химико-фармацевтический журнал. – 2010. – Т. 45, № 2. – С. 46-48.

44. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И.А. Волчегорский, И.И. Долгушин, О.Л. Колесников, В.Э. Цейликман. – Челябинск: ЧГПУ, 2000. – 167 с. – ISBN 5-85716-312-9.
45. Abdollahzade, N. Melatonin: a pleiotropic hormone as a novel potent therapeutic candidate in arsenic toxicity / N. Abdollahzade, M. Majidinia, S. Babri // *Mol Biol Rep.* – 2021. – Vol. 48, № 9. – P. 6603-6618.
46. Abdullahi, A. Animal models in burn research / A. Abdullahi, S. Amini-Nik, M.G. Jeschke // *Cell Mol Life Sci.* – 2014. – Vol.71, № 17. – P. 3241-3255.
47. Abdullahi, A. Taming the Flames: Targeting White Adipose Tissue Browning in Hypermetabolic Conditions / A. Abdullahi, M.G. Jeschke // *Endocr Rev.* – 2017. – Vol. 38, № 6. – P. 538-549.
48. AbuBakr, H.O. Burn-Induced Multiple Organ Injury and Protective Effect of Lutein in Rats / H.O. AbuBakr, S.H. Aljuaydi, S.M. Abou-Zeid, A. El-Bahrawy // *Inflammation.* – 2018. – Vol. 41, № 3. – P.760-772.
49. Acevedo, C.A. Re-Epithelialization Appraisal of Skin Wound in a Porcine Model Using a Salmon-Gelatin Based Biomaterial as Wound Dressing / C.A. Acevedo, E. Sánchez, N. Orellana [et al.]. – Text: electronic // *Pharmaceutics.* – 2019. – Vol. 11, № 5. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6571591/> (дата обращения: 18.10.2021).
50. Ahmed, E. Effect of Locally Delivered Melatonin as an Adjunct to Nonsurgical Therapy on GCF Antioxidant Capacity and MMP-9 in Stage II Periodontitis Patients: A Randomized Controlled Clinical Trial / E. Ahmed, O.G. Shaker, N. Yussif, D.M. Ghalwash. – Text: electronic // *Int J Dent.* – 2021. – Vol. 2021. – URL: <https://www.hindawi.com/journals/ijd/2021/8840167/> (дата обращения: 17.10.2021).
51. Akoglu, G. Plasma thiol levels are associated with disease severity in nonsegmental vitiligo / G. Akoglu, S. Neselioglu, E. Karaismailoglu [et al.] // *Indian J Dermatol.* – 2018. – Vol. 63. – P. 323-327.
52. Aleksiewicz, R. Effect of TNF- α Concentration on Selected Clinical Parameters of Swine After Burns / R. Aleksiewicz, K. Lutnicki, M. Likus [et al.] // *J Vet Res.* – 2018. – Vol. 62, № 3. – P. 335-340.

53. Alexander, R.T. Modeling the Distribution of Scald Type Burns in a Child / R.T. Alexander, D.R. Fowler // *Acad Forensic Pathol.* – 2016. – Vol. 6, № 4. – P. 638-656.
54. Alghamdi, B. The neuroprotective role of melatonin in neurological disorders / B. Alghamdi // *J Neurosci Res.* – 2018. – Vol. 96, № 7. – P.1136-1149.
55. Alharthy, N. Pattern of burns identified in the Pediatrics Emergency Department at King Abdul-Aziz Medical City: Riyadh / N. Alharthy, M. Al Mutairi, S. Al Queflie // *J Nat Sci Biol Med.* – 2016. – Vol. 7, № 1. – P.16-21.
56. Alluri, H. Melatonin Preserves Blood-Brain Barrier Integrity and Permeability via Matrix Metalloproteinase-9 Inhibition / H. Alluri, R.L. Wilson, C. Anasooya Shaji [et al.]. – Text: electronic // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, № 5. – URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0154427> (дата обращения: 17.10.2021).
57. Al-Tarrah, K. The influence of sex steroid hormones on the response to trauma and burn injury/ K. Al-Tarrah, N. Moiemmen, J.M. Lord. – Text: electronic // *Burns Trauma.* – 2017. – Vol. 5. – URL: <https://academic.oup.com/burnstrauma/article/doi/10.1186/s41038-017-0093-9/5680335> (дата обращения: 17.10.2021).
58. Altomare, A. Lipid peroxidation derived reactive carbonyl species in free and conjugated forms as an index of lipid peroxidation: limits and perspectives / A. Altomare, G. Baron, E. Gianazza [et al.]. – Text: electronic // *Redox Biol.* – 2021. – Vol. 42. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231721000471> (дата обращения: 17.10.2021).
59. Alves, D.R. Development of a High-Throughput ex-Vivo Burn Wound Model Using Porcine Skin, and Its Application to Evaluate New Approaches to Control Wound Infection / D.R. Alves, S.P. Booth, P. Scavone [et al.]. – Text: electronic // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2018. – Vol. 8. – URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2018.00196/full> (дата обращения: 17.10.2021).

60. Alzahrani, F.A. Melatonin improves therapeutic potential of mesenchymal stem cells-derived exosomes against renal ischemia-reperfusion injury in rats / F.A. Alzahrani // *Am J Transl Res.* – 2019. – Vol. 11, № 5. – P. 2887-2907.
61. Andersen, L.P. Pharmacokinetics of oral and intravenous melatonin in healthy volunteers / L.P. Andersen, M.U. Werner, M.M. Rosenkilde [et al.]. – Text: electronic // *BMC Pharmacol Toxicol.* – 2016. – Vol.17. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4759723/> (дата обращения: 17.10.2021).
62. Andrisic, L. Short overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in cancer / L. Andrisic, D. Dudzik, C. Barbas [et al.] // *Redox Biol.* – 2018. – Vol. 14. – P. 47-58.
63. Asadpour, L. Antimicrobial resistance, biofilm-forming ability and virulence potential of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in northern Iran / L. Asadpour // *J Glob Antimicrob Resist.* – 2018. – Vol. 13. – P. 214-220.
64. Auger, C. The biochemical alterations underlying post-burn hypermetabolism / C. Auger, O. Samadi, M.G. Jeschke // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* – 2017. – Vol. 1863, № 10, Pt B. – P. 2633-2644.
65. Avci, V. Treatment algorithm in 960 pediatric burn cases: A review of etiology and epidemiology / V. Avci, O.F. Kocak // *Pak J Med Sci.* – 2018. – Vol. 34, № 5. – P.1185-1190.
66. Baltatu, O.C. Cardioprotective Melatonin: Translating from Proof-of-Concept Studies to Therapeutic Use / O.C. Baltatu, S. Senar, L.A. Campos, J. Cipolla-Neto. – Text: electronic // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 18. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/18/4342> (дата обращения: 17.10.2021).
67. Barrett, L.W. Understanding acute burn injury as a chronic disease / L.W. Barrett, V.S. Fear, J.C. Waithman [et al.]. // *Burns Trauma.* – 2019. – Vol.7. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31534977/> (дата обращения: 17.10.2021).
68. Beckmann, N. Burn injury alters the intestinal microbiome's taxonomic composition and functional gene expression / N. Beckmann, A.M. Pugh, C.C. Caldwell. – Text: electronic // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, № 10. – URL:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6173435/> (дата обращения: 17.10.2021).

69. Beiraghi-Toosi, A. Burn-induced Oxidative Stress and Serum Glutathione Depletion; a Cross Sectional Study / A. Beiraghi-Toosi, R. Askarian, Sadrabadi F. Haghghi [et al.]. – Text: electronic // Emerg (Tehran). – 2018. – Vol. 6, № 1. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6289156/> (дата обращения: 18.10.2021).

70. Bekyarova, G. Effect of melatonin on burn-induced gastric mucosal injury in rats / G. Bekyarova, B. Galunska, D. Ivanova, T. Yankova // Burns. – 2009. – Vol. 35, № 6. – P. 863-868.

71. Benleulmi-Chaachoua, A. Protein interactome mining defines melatonin MT1 receptors as integral component of presynaptic protein complexes of neurons / A. Benleulmi-Chaachoua, L. Chen, K. Sokolina [et al.] // J Pineal Res. – 2016. – Vol. 60. – P. 95-108.

72. Berger, M.M. Micronutrient Deficiencies in Medical and Surgical Inpatients / M.M. Berger, O. Pantet, A. Schneider, N. Ben-Hamouda. – Text: electronic // J Clin Med. – 2019. – Vol. 8, № 7. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678268/> (дата обращения: 18.10.2021).

73. Bhattacharya, S. Melatonin and its ubiquitous anticancer effects / S. Bhattacharya, K.K. Patel, D. Dehari [et al.] // Mol Cell Biochem. – 2019. – Vol. 462, № 1-2. – P. 133-155.

74. Bostancı, M.E. The effects of sildenafil and N-acetylcysteine the zone of stasis in burns / M.E. Bostancı, C. Hepokur, E. Kisli // Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. – 2021. – Vol. 27, № 1. – P. 9-16.

75. Boutin, J.A. Is there sufficient evidence that the melatonin binding Site MT3 is Quinone Reductase 2? / J.A. Boutin, G. Ferry // J Pharmacol Exp Ther. – 2019. – Vol. 368. – P. 59-65.

76. Brinkmann, V. Neutrophil Extracellular Traps in the Second Decade / V. Brinkmann // J Innate Immun. – 2018. – Vol. 10. – P. 414-421.

77. Brown, L.V. Applications of mechanistic modelling to clinical and experimental immunology: an emerging technology to accelerate immunotherapeutic discovery and development / L.V. Brown, E.A. Gaffney, J. Wagg, M.C. Coles // *Clin Exp Immunol.* – 2018. – Vol. 193, № 3. – P. 284-292.
78. Burns. – Text: electronic // World Health Organization: [site]. – 2021. – URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns> (дата обращения: 17.11.2021).
79. Butts, C.C. Controlling intraoperative hemorrhage during burn surgery: a prospective, randomized trial comparing NuStat® hemostatic dressing to the historic standard of care / C.C. Butts, K. Bose, M.A. Frotan [et al.] // *Burns.* – 2017. – Vol. 43. – P. 374-378.
80. Cabral, L. Procalcitonin kinetics after burn injury and burn surgery in septic and non-septic patients - a retrospective observational study / L. Cabral, V. Afreixo, R. Meireles [et al.]. – Text: electronic // *BMC Anesthesiol.* – 2018. – Vol.18, № 1. – URL: <https://bmcanesthesiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12871-018-0585-6> (дата обращения: 18.10.2021).
81. Cai, E.Z. Creation of consistent burn wounds: A rat model / E.Z. Cai, C.H. Ang, A. Raju [et al.] // *Arch Plast Surg.* – 2014. – Vol. 41. – P. 317-324.
82. Campos-Cuerva, R. Nanostructured fibrin agarose hydrogel as a novel haemostatic agent / R. Campos-Cuerva, B. Fernández-Muñoz, F. Farfán López [et al.] // *J Tissue Eng Regen Med.* 2019. – Vol. 13, № 4. – P. 664-673.
83. Cañedo-Dorantes, L. Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review / L. Cañedo-Dorantes, M. Cañedo-Ayala. – Text: electronic // *International Journal of Inflammation.* – 2019. – Vol. 2019. – URL: <https://www.hindawi.com/journals/iji/2019/3706315/> (дата обращения: 18.10.2021).
84. Chen, C. Electrical stimulation as a novel tool for regulating cell behavior in tissue engineering / C. Chen, X. Bai, Y. Ding, I.S. Lee. – Text: electronic // *Biomater Res.* – 2019. – Vol. 23. – URL: <https://biomaterialsres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40824-019-0176-8> (дата обращения: 18.10.2021).

85. Chen, H. Characterization of gene expression in resting and activated mast cells / H. Chen, M. Centola, S.F. Altschul, H. Metzger // *J Exp Med.* – 1998. – Vol.188, № 9. – P. 1657-1668.
86. Chen, H. Mast cell chymase promotes hypertrophic scar fibroblast proliferation and collagen synthesis by activating TGF- β 1/Smads signaling pathway / H. Chen, Y. Xu, G. Yang [et al.] // *Exp Ther Med.* – 2017. – Vol.14, № 5. – P. 4438-4442.
87. Chen, L. Overexpression of the Oral Mucosa-Specific microRNA-31 Promotes Skin Wound Closure / L. Chen, A. Simões, Z. Chen [et al.]. – Text: electronic // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 15. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/15/3679/html> (дата обращения: 18.10.2021).
88. Cheng, J. Melatonin restricts the viability and angiogenesis of vascular endothelial cells by suppressing HIF-1 α /ROS/VEGF / J. Cheng, H.L. Yang, C.J. Gu [et al.] // *Int J Mol Med.* – 2019. – Vol. 43, № 2. – P. 945-955.
89. Chitimus, D.M. Melatonin's Impact on Antioxidative and Anti-Inflammatory Reprogramming in Homeostasis and Disease / D.M. Chitimus, M.R. Popescu, S.E. Voiculescu SE [et al.]. – Text: electronic // *Biomolecules.* – 2020. Vol.10, № 9. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32825327/>
90. Cipak Gasparovic, A. Biomarkers of oxidative and nitro-oxidative stress: conventional and novel approaches / A. Cipak Gasparovic, N. Zarkovic, K. Zarkovic [et al.] // *Br J Pharmacol.* – 2017. – Vol.174, № 12. – P.1771-1783.
91. Clark, A.T. Acute Kidney Injury After Burn: A Cohort Study From the Parkland Burn Intensive Care Unit / A.T. Clark, X. Li, R. Kulangara [et al.] // *J Burn Care Res.* – 2019. – Vol.40, № 1. – P. 72-78.
92. Col, C. Oxidative stress and lipid peroxidation products: effect of pinealectomy or exogenous melatonin injections on biomarkers of tissue damage during acute pancreatitis / C. Col, K. Dinler, O. Hasdemir [et al.] // *Hepatobiliary Pancreatic Dis Int.* – 2010. – Vol. 9, № 1. – P. 78-82.
93. Coleman, L.G. Jr. HMGB1/IL-1 β complexes in plasma microvesicles modulate immune responses to burn injury / L.G. Coleman Jr, R. Maile, S.W. Jones [et al.]. – Text: electronic // *PLoS One.* – 2018. – Vol.13, № 3. – URL:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0195335> (дата обращения: 18.10.2021).

94. Dai, J. Topical ROR inverse agonists suppress inflammation in mouse models of atopic dermatitis and acute irritant dermatitis / J. Dai, M.K. Choo, J.M. Park, D.E. Fisher // *J Investig Dermatol.* – 2017. – Vol. 137. – P. 2523-2531.

95. Davalli, P. Targeting Oxidatively Induced DNA Damage Response in Cancer: Opportunities for Novel Cancer Therapies / P. Davalli, G. Marverti, A. Lauriola, D. D'Arca. – Text: electronic // *Oxid Med Cell Longev.* – 2018. – Vol. 2018. – URL: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2018/2389523/> (дата обращения: 18.10.2021).

96. Davenport, L. A new model for standardising and treating thermal injury in the rat / L. Davenport, G. Dobson, H. Letson // *MethodsX.* – 2019. – Vol. 6. – P. 2021-2027.

97. de Aquino, P.E.A. The Wound Healing Property of N-Methyl-(2S,4R)-trans-4-Hydroxy-L-Proline from *Sideroxylon obtusifolium* is Related to its Anti-Inflammatory and Antioxidant Actions / P.E.A. de Aquino, T.F.G. de Souza, F.A. Santos [et al.]. – Text: electronic // *J Evid Based Integr Med.* – 2019. – Vol. 24. – URL: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2515690X19865166> (дата обращения: 18.10.2021).

98. Deckers, J. Langerhans Cells: Sensing the Environment in Health and Disease / J. Deckers, H. Hammad, E. Hoste. – Text: electronic // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.00093/full> (дата обращения: 18.10.2021).

99. Devine, R.A. The systemic immune response to pediatric thermal injury / R.A. Devine, Z. Diltz, M.W. Hall et al. // *Int J Burns Trauma.* – 2018. – Vol.8, №1. – P. 6-16.

100. Ding, H.F. Advances in the research of application of metabonomics in the treatment of severe burn or trauma / H.F. Ding, X.F. Zheng, Z.F. Xia // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* 2019. – Vol. 35, № 6. – P. 467-471.

101. Dong, K. Age Associated Decrease of MT-1 Melatonin Receptor in Human Dermal Skin Fibroblasts Impairs Protection Against UV-Induced DNA Damage / K. Dong, E. Goyarts, A. Rella. – Text: electronic // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 1. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/1/326/htm> (дата обращения: 18.10.2021).

102. Duan, H.J. Alteration of oxidative stress and expression of antioxidases in diaphragm of severely burned rats / H.J. Duan, Y.Q. He, C. Chen [et al.] // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. – 2019. – Vol. 35, № 7. – P. 507-511.
103. Dube, K. Melatonin has profound effects on mitochondrial dynamics in myocardial ischaemia/reperfusion / K. Dube, K. Dhanabalan, R. Salie [et al.]. – Text: electronic // *Heliyon*. – 2019. – Vol. 5, № 10. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844019363194?via%3Dihub> (дата обращения: 18.10.2021).
104. Eftimie, R. Mathematical Models for Immunology: Current State of the Art and Future Research Directions / R. Eftimie, J.J. Gillard, D.A. Cantrell // *Bull Math Biol*. – 2016. – Vol.78, № 10. – P. 2091-2134.
105. Ellis, S. Immunology of Wound Healing / S. Ellis, E.J. Lin, D. Tartar // *Curr Dermatol Rep*. – 2018. – Vol. 7. – P. 350-358.
106. Ergin Tuncay, M. A remarkable point for evaluating the severity of burns: Thiol-disulfide profile / M. Ergin Tuncay, A. Erkilic, A. Gunes [et al.] // *Burns*. – 2020. – Vol. 46, № 4. – P. 882-887.
107. Fan, C. Melatonin suppresses ER stress-dependent proapoptotic effects via AMPK in bone mesenchymal stem cells during mitochondrial oxidative damage / C. Fan, J. Feng, C. Tang [et al.]. – Text: electronic // *Stem Cell Res Ther*. – 2020. – Vol.11, № 1. – URL: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-020-01948-5> (дата обращения: 18.10.2021).
108. Fang, N. Identification of a novel melatonin-binding nuclear receptor: vitamin D receptor / N. Fang, C. Hu, W. Sun [et al.]. – Text: electronic // *J Pineal Res*. – 2019. – Vol. 68, № 1. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jpi.12618> (дата обращения: 18.10.2021).
109. Farmoudeh, A. Methylene blue-loaded niosome: preparation, physicochemical characterization, and in vivo wound healing assessment / A. Farmoudeh, J. Akbari, M. Saeedi [et al.] // *Drug Deliv Transl Res*. – 2020. – Vol. 10, № 5. – P.1428-1441.

110. Farrugia, B. The role of heparan sulfate in inflammation, and the development of biomimetics as anti-inflammatory strategies / B. Farrugia, M. Lord, J. Melrose, J. Whitelock // *J Histochem Cytochem.* – 2018. – Vol. 66, № 4. – P. 321-336.
111. Feldman, D.S. Fibrin as a Tissue Adhesive and Scaffold with an Angiogenic Agent (FGF-1) to Enhance Burn Graft Healing In Vivo and Clinically / D.S. Feldman, S. Osborne. – Text: electronic // *J Funct Biomater.* – 2018. – Vol. 9, № 4. – URL: <https://www.mdpi.com/2079-4983/9/4/68/htm> (дата обращения: 18.10.2021).
112. Ferlazzo, N. Is Melatonin the Cornucopia of the 21st Century? / N. Ferlazzo, G. Andolina, A. Cannata [et al.]. – Text: electronic // *Antioxidants (Basel).* – 2020. – Vol. 9, № 11. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7694322/> (дата обращения: 18.10.2021).
113. Fernandez-Gil, B. Melatonin protects rats from radiotherapy-induced small intestine toxicity / B. Fernandez-Gil, A.E. Abdel Moneim, F. Ortiz [et al.]. – Text: electronic // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, № 4. – URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0174474> (дата обращения: 18.10.2021).
114. Fijan, S. Efficacy of Using Probiotics with Antagonistic Activity against Pathogens of Wound Infections: An Integrative Review of Literature / S. Fijan, A. Frauwallner, T. Langerholc [et al.]. – Text: electronic // *Biomed Res Int.* – 2019. – Vol. 2019. – URL: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2019/7585486/> (дата обращения: 18.10.2021).
115. Finnerty, C.C. Hypertrophic scarring: The greatest unmet challenge after burn injury / C.C. Finnerty, M.G. Jeschke, L.K. Branski [et al.] // *Lancet.* – 2016. – Vol. 388. – P. 1427-1436.
116. Flo Sierra, A. In vivo and in vitro evaluation of the use of a newly developed melatonin loaded emulsion combined with UV filters as a protective agent against skin irradiation / A. Flo Sierra, M.L. Garduño Ramírez, A.C. Calpena Campmany [et al.] // *J. Dermatol. Sci.* 2013. – Vol. 69. – P. 202-214.
117. Folkestad, T. Acute kidney injury in burn patients admitted to the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis. / T. Folkestad, K.G. Brurberg, K.M. Nordhuus [et al.]. – Text: electronic // *Crit Care.* – 2020. – Vol. 24, № 1. – URL:

<https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-019-2710-4/> (дата обращения: 18.10.2021).

118. Fournier, A. Impact of Real-Time Therapeutic Drug Monitoring on the Prescription of Antibiotics in Burn Patients Requiring Admission to the Intensive Care Unit / A. Fournier, P. Eggimann, O. Pantet [et al.]. – Text: electronic // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2018. – Vol. 62, № 3. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5826126/> (дата обращения: 18.10.2021).

119. Friedrich, E.E. Thermal injury model in the rabbit ear with quantifiable burn progression and hypertrophic scar / E.E. Friedrich, S. Niknam-Bienia, P. Xie [et al.] // *Wound Repair Regen.* – 2017. – Vol. 25, № 2. – P. 327-337.

120. Fullerton, E.F. Impact of sex on pain and opioid analgesia: a review / E.F. Fullerton, H.H. Doyle, A.Z. Murphy // *Curr Opin Behav Sci.* – 2018. – Vol. 23. – P. 183-190.

121. Galano, A. Melatonin: A Versatile Protector against Oxidative DNA Damage / A. Galano, D.X. Tan, R.J. Reiter. – Text: electronic // *Molecules.* – 2018. – Vol. 23, № 3. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6017920/> (дата обращения: 18.10.2021).

122. Gallant-Behm, C.L. A microRNA-29 mimic (remlarsen) represses extracellular matrix expression and fibroplasia in the skin / C.L. Gallant-Behm, J. Piper, J.M. [et al.] // *J Invest Dermatol.* – 2019. – Vol. 139, № 5. – P.1073-1081.

123. Ganguly, K. Melatonin promotes angiogenesis during protection and healing of indomethacin-induced gastric ulcer: Role of matrix metalloproteinase-2 / K. Ganguly, A.V. Sharma, R.J. Reiter, S. Swarnakar // *J Pineal Res.* – 2010. – Vol. 49, № 2. – P. 130-140.

124. García, J.A. Contribution of inducible and neuronal nitric oxide synthases to mitochondrial damage and melatonin rescue in LPS-treated mice / J.A. García, F. Ortiz, J. Miana [et al.] // *J Physiol Biochem.* – 2017. – Vol. 73. – P. 235-244.

125. Gentile, F. DNA damage by lipid peroxidation products: implications in cancer, inflammation and autoimmunity / F. Gentile, A. Arcaro, S. Pizzimenti [et al.] // *AIMS Genet.* – 2017. – Vol. 4, № 2. – P. 103-137.

126. Georgescu, S.R. Quantification of urine test strips through reflectometric analysis. Identification of various pathological conditions associated with lichen planus / S.R. Georgescu, C.D. Ene, I. Nicolae [et al.] // *Rev. Chim.* – 2017. – Vol. 68. – P. 1103-1108.
127. Ghezzi, P. The oxidative stress theory of disease: levels of evidence and epistemological aspects / P. Ghezzi, V. Jaquet, F. Marcucci [et al.] // *Br J Pharmacol.* – 2017. – Vol. 174, № 12. – P. 1784-1796.
128. Ghosh, C. Aryl-Alkyl-Lysines Interact with Anionic Lipid Components of Bacterial Cell Envelope Eliciting Anti-Inflammatory and Antibiofilm Properties / C. Ghosh, N. Harmouche, B. Bechinger [et al.] // *ACS Omega.* – 2018. – Vol. 3, № 8. – P. 9182-9190.
129. Gianazza, E. Lipoxidation in cardiovascular diseases / E. Gianazza, M. Brioschi, A.M. Fernandez, C. Banfi. – Text: electronic // *Redox Biol.* – 2019. – Vol. 23. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6859589/> (дата обращения: 18.10.2021).
130. Gong, Y. The changes and prognostic value of liver function in young adults with severe burn: A retrospective observational study / Y. Gong, X. Long, H. Xu [et al.]. – Text: electronic // *Medicine (Baltimore).* – 2018. – Vol. 97, № 51. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6320172/> (дата обращения: 18.10.2021).
131. González, A. Melatonin as an Adjuvant to Antiangiogenic Cancer Treatments / A. González, C. Alonso-González, A. González-González [et al.]. – Text: electronic // *Cancers (Basel).* – 2021. – Vol. 13, № 13. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8268559/> (дата обращения: 18.10.2021).
132. González-González, A. Usefulness of melatonin as complementary to chemotherapeutic agents at different stages of the angiogenic process / A. González-González, A. González, N. Rueda [et al.]. – Text: electronic // *Sci Rep.* – 2020. – Vol. 10, № 1. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7076026/> (дата обращения: 18.10.2021).

133. Grieshaber-Bouyer, R. Neutrophil Heterogeneity as Therapeutic Opportunity in Immune-Mediated Disease / R. Grieshaber-Bouyer, P.A. Nigrovic. – Text: electronic // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6409342/> (дата обращения: 18.10.2021).
134. Gruber, F. The Skin Epilipidome in Stress, Aging, and Inflammation / F. Gruber, M. Marchetti-Deschmann, C. Kremslehner, M. Schosserer. – Text: electronic // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2021. – Vol. 11. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7859619/> (дата обращения: 18.10.2021).
135. Guerrero-Juarez, C.F. Single-cell analysis reveals fibroblast heterogeneity and myeloid-derived adipocyte progenitors in murine skin wounds / C.F. Guerrero-Juarez, P.H. Dedhia, S. Jin [et al.]. – Text: electronic // *Nat. Commun.* – 2019. – Vol. 10. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6368572/> (дата обращения: 18.10.2021).
136. Gürünlüoğlu, K. The Effects of Two Different Burn Dressings on Serum Oxidative Stress Indicators in Children with Partial Burn / K. Gürünlüoğlu, M. Demircan, A. Taşçı [et al.] // *J Burn Care Res.* – 2019. – Vol. 40, № 4. – P. 444-450.
137. Gus, E.I. Anabolic and anticatabolic agents used in burn care: What is known and what is yet to be learned / E.I. Gus, S. Shahrokhi, M.G. Jeschke // *Burns.* – 2020. – Vol. 46, № 1. – P. 19-32.
138. Haertel, E. Regulatory T cells are required for normal and activin-promoted wound repair in mice / E. Haertel, N. Joshi, P. Hiebert [et al.] // *Eur J Immunol.* – 2018. – Vol. 48. – P. 1001-1013.
139. Hall, C. Pathophysiologic Mechanisms and Current Treatments for Cutaneous Sequelae of Burn Wounds / C. Hall, C. Hardin, C.J. Corkins [et al.] // *Compr Physiol.* – 2017. – Vol. 8, № 1. – P. 371-405.
140. Hamblin, M.R. Novel pharmacotherapy for burn wounds: what are the advancements / M.R. Hamblin // *Expert Opin Pharmacother.* – 2019. – Vol. 20, № 3. – P. 305-321.

141. Hampson, P. Neutrophil dysfunction, immature granulocytes, and cell-free DNA are early biomarkers of sepsis in burn-injured patients / P. Hampson, R.J. Dinsdale, C.M. Wearn [et al.] // *Ann Surg.* – 2017. – Vol. 265. – P. 1241-1249.
142. Han Z. MiR-21/PTEN Axis Promotes Skin Wound Healing by Dendritic Cells Enhancement / Z. Han, Y. Chen, Y. Zhang [et al.] // *J. Cell Biochem.* – 2017. – Vol. 118. – P. 3511-3519.
143. Hao, E.Y. Melatonin regulates chicken granulosa cell proliferation and apoptosis by activating the mTOR signaling pathway via its receptors / E.Y. Hao, D.H. Wang, L.Y. Chang [et al.] // *Poult Sci.* – 2020. – Vol. 99, № 11. – P. 6147-6162.
144. Hardeland, R. Interactions of melatonin and microRNAs / R. Hardeland. – Text: electronic // *Biochem Mol Biol J.* – 2018. – Vol. 4. – URL: <https://biochem-molbio.imedpub.com/interactions-of-melatonin-and-micrnas.php?aid=21867> (дата обращения: 18.10.2021).
145. Hatami Moghadam, R. Assessment of biofilm formation among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in burn wounds in the west of Iran / R. Hatami Moghadam, A. Alvandi, N. Akbari [et al.] // *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* – 2018. – Vol. 64, № 15. – P.30-34.
146. Hatem, S. Clinical cosmeceutical repurposing of melatonin in androgenic alopecia using nanostructured lipid carriers prepared with antioxidant oils / S. Hatem, M. Nasr, N.H. Moftah [et al.] // *Expert Opin. Drug Deliv.* – 2018. – Vol. 15. – P. 927-935.
147. Hawkins, C.L. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications / C.L. Hawkins, M.J. Davies // *J Biol Chem.* – 2019. – Vol. 294, № 51. – P. 19683-19708.
148. Hazeldine, J. Prehospital immune responses and development of multiple organ dysfunction syndrome following traumatic injury: A prospective cohort study / J. Hazeldine, D.N. Naumann, E. Toman [et al.]. – Text: electronic // *PLoS Med.* – 2017. – Vol. 14, № 7. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5515405/> (дата обращения: 18.10.2021).
149. Hazra, S. Matrix metalloproteinase 9 as a host protein target of chloroquine and melatonin for immunoregulation in COVID-19: A network-based meta-analysis / S.

Hazra, A.G. Chaudhuri, B.K. Tiwary, N. Chakrabarti. – Text: electronic // Life Sci. – 2020. – Vol. 257. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7361122/> (дата обращения: 18.10.2021).

150. He, F. Facile and large-scale synthesis of curcumin/PVA hydrogel: effectively kill bacteria and accelerate cutaneous wound healing in the rat / F. He, H. Jiao, Y. Tian [et al.] // J Biomater Sci Polym Ed. – 2018. – Vol. 29. – P. 325-343

151. Hendrickson, C. 1H-NMR Metabolomics Identifies Significant Changes in Metabolism over Time in a Porcine Model of Severe Burn and Smoke Inhalation / C. Hendrickson, K. Linden, S. Kreyer [et al.]. – Text: electronic // Metabolites. – 2019. – Vol. 9, № 7. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6680385/> (дата обращения: 18.10.2021).

152. Hesselink, L. Neutrophil heterogeneity and its role in infectious complications after severe trauma / L. Hesselink, R. Spijkerman, K.J.P. van Wessem [et al.]. – Text: electronic // World J Emerg Surg. – 2019. – Vol. 14. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6542247/> (дата обращения: 18.10.2021).

153. Hettiaratchy, S. ABC of burns: pathophysiology and types of burns / S. Hettiaratchy, P. Dziewulski // BMJ. – 2004. – Vol. 328. – P. 1427-1429.

154. Hong, L. Hyaluronic acid (HA)-based hydrogels for full-thickness wound repairing and skin regeneration / L. Hong, M. Shen, J. Fang [et al.]. – Text: electronic // J Mater Sci Mater Med. – 2018. – Vol. 29, № 9. – URL: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10856-018-6158-x> (дата обращения: 18.10.2021).

155. Hristova, M. Molecular Mechanisms of Melatonin Protection from Gastric Mucosal Apoptotic Injury in Experimental Burns / M. Hristova, M. Tzaneva, G. Bekyarova [et al.]. – Text: electronic // Molecules. – 2018. – Vol. 23, № 4. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6017416/> (дата обращения: 18.10.2021).

156. Huang, H. Tumor Necrosis Factor- α -Induced Protein 8-like 2 Downregulation Reduces CD4⁺ T Lymphocyte Apoptosis in Mice with Thermal Injury / H. Huang, Y. Cui, Z. Tian [et al.] // *Med Sci Monit.* – 2019. – Vol. 25. – P. 7547-7556.
157. Huang, H.N. Antimicrobial peptide Epinecidin-1 promotes complete skin regeneration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected burn wounds in a swine model / H.N. Huang, C.Y. Pan, H.Y. Wu, J.Y. Chen // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 13. – P. 21067-21080.
158. Huo, X. Human Transporters, PEPT1/2, Facilitate Melatonin Transportation into Mitochondria of Cancer Cells: An Implication of the Therapeutic Potential / X. Huo, C. Wang, Z. Yu [et al.]. – Text: electronic // *J Pineal Res.* – 2017. – Vol. 62, № 4. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpi.12390> (дата обращения: 18.10.2021).
159. Hur, J. Inflammatory cytokines and their prognostic ability in cases of major burn injury / J. Hur, H.T. Yang, W. Chun [et al.] // *Ann. Lab. Med.* – 2015. – Vol. 35. – P. 105-110.
160. Inoue, Y. Resolvin D2 Limits Secondary Tissue Necrosis After Burn Wounds in Rats / Y. Inoue, Y.M. Liu, M. Otawara [et al.] // *J Burn Care Res.* – 2018. – Vol. 39, № 3. – P. 423-432.
161. Ito, M. Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding / M. Ito, Z. Yang, T. Andl [et al.] // *Nature.* – 2007. – Vol. 447. – P. 316-320.
162. Jacob, S. Xanthine oxidase contributes to sustained airway epithelial oxidative stress after scald burn / S. Jacob, D.N. Herndon, H.K. Hawkins [et al.] // *Int J Burns Trauma.* – 2017. – Vol. 7, № 6. – P. 98-106.
163. Janjetovic, Z. Melatonin and its metabolites protect human melanocytes against UVB-induced damage: Involvement of NRF2-mediated pathways / Z. Janjetovic, Jarrett S.G., Lee E.F. [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. Vol.7. – P. 1-13.
164. Jeschke, M.G. Postburn Hypermetabolism: Past, Present, and Future / M.G. Jeschke // *J Burn Care Res.* – 2016. – Vol. 37, № 2. – P. 86-96.
165. Jin, H. Melatonin protects endothelial progenitor cells against AGE-induced apoptosis via autophagy flux stimulation and promotes wound healing in diabetic mice / H. Jin, Z. Zhang, C. Wang [et al.] // *Exp Mol Med.* – 2018. – Vol. 50, № 11. – P. 1-15.

166. Jindatanmanusan, P. Wound Fluid Matrix Metalloproteinase-9 as a Potential Predictive Marker for the Poor Healing Outcome in Diabetic Foot Ulcers / P. Jindatanmanusan, S. Luanraksa, T. Boonsiri [et al.]. – Text: electronic // *Patholog Res Int.* – 2018. – Vol. 2018. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6206565/> (дата обращения: 18.10.2021).
167. Johnson, K.E. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair / K.E. Johnson, T.A. Wilgus // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2014. – Vol. 3, № 10. – P. 647-661.
168. Joseph, A. Molnar use of Standardized, Quantitative Digital Photography in a multicenter web-based Study / A. Joseph, W. K. Lew, D. A. Rapp [et al.] // *Published January*. – 2009. – № 12. – P. 19-26.
169. Kalkan, G. Dynamic thiol/disulfide homeostasis in patients with lichen planus / G. Kalkan, S. Emre, M. Alisik [et al.]. – Text: electronic // *J Clin Lab Anal.* – 2019. – Vol. 33. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6430352/> (дата обращения: 18.10.2021).
170. Kamoun, E.A. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings / E.A. Kamoun, E.S. Kenawy, X. Chen // *J Adv Res.* – 2017. – Vol. 8. – P. 217-33.
171. Kanno, E. Defect of Interferon γ Leads to Impaired Wound Healing through Prolonged Neutrophilic Inflammatory Response and Enhanced MMP-2 Activation / E. Kanno, H. Tanno, A. Masaki [et al.]. – Text: electronic // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 22. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6888635/> (дата обращения: 18.10.2021).
172. Karppinen, S.M. Toward understanding scarless skin wound healing and pathological scarring / S.M. Karppinen, R. Heljasvaara, D. Gullberg [et al.]. – Text: electronic // *F1000Res.* – 2019. – Vol. 8. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6556993/> (дата обращения: 18.10.2021).

173. Kartchner, L.B. One-hit wonder: Late after burn injury, granulocytes can clear one bacterial infection but cannot control a subsequent infection / L.B. Kartchner, C.J. Gode, J.L.M. Dunn [et al.] // *Burns*. – 2019. – Vol. 45, № 3. – P. 627-640.
174. Karunanidhi, A. Antibacterial and Antibiofilm Activities of Nonpolar Extracts of *Allium stipitatum* Regel. against Multidrug Resistant Bacteria / A. Karunanidhi, E. Ghaznavi-Rad, R.A. Hamat [et al.]. – Text: electronic // *Biomed Res Int*. – 2018. – Vol. 2018. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6076948/> (дата обращения: 18.10.2021).
175. Ke, J. Edaravone reduces oxidative stress and intestinal cell apoptosis after burn through up-regulating miR-320 expression / J. Ke, X. Bian, H. Liu [et al.]. – Text: electronic // *Mol Med*. – 2019. – Vol. 25, № 1. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6907153/> (дата обращения: 18.10.2021).
176. Keshavarzi, A. Ultra-Early versus Early Excision and Grafting for Thermal Burns up to 60% Total Body Surface Area; A Historical Cohort Study / A. Keshavarzi, M. Ayaz, M. Dehghankhalili // *Bull Emerg Trauma*. – 2016. – Vol. 4, № 4. – P. 197-201.
177. Khorasani, M.T. Incorporation of ZnO nanoparticles into heparinised polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels for wound dressing application / M.T. Khorasani, A. Joorabloo, A. Moghaddam [et al.] // *Int J Biol Macromol*. – 2018. – Vol. 114. – P. 1203-1215.
178. Kim, A. The Role of Th-17 Cells and $\gamma\delta$ T-Cells in Modulating the Systemic Inflammatory Response to Severe Burn Injury / A. Kim, T. Lang, M. Xue [et al.]. – Text: electronic // *Int J Mol Sci*. – 2017. – Vol. 18, № 4. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5412343/> (дата обращения: 18.10.2021).
179. Kim, B.S. The clinical significance of the MIF homolog d-dopachrome tautomerase (MIF-2) and its circulating receptor (sCD74) in burn / B.S. Kim, C. Stoppe, G. Grieb [et al.] // *Burns*. – 2016. – Vol. 42, № 6. – P. 1265-1276.
180. Kim, M. Comparative evaluations of hypertrophic scar formation in in vivo models / M. Kim, H. Kim, H.W. Kang // *Lasers Surg Med*. – 2018. – Vol. 50. – P. 661-668.

181. Kim, Y. Use of Fibrin Sealant for Split-Thickness Skin Grafts in Patients with Hand Burns: A Prospective Cohort Study / Y. Kim, D. Kym, Y.S. Cho [et al.] // *Adv Skin Wound Care*. – 2018. – Vol. 31, № 12. – P. 551-555.
182. Kim, Y.O. Determination of melatonin in biological samples by capillary electrophoresis / Y.O. Kim, H.J. Chung, S.T. Chung [et al.] // *J Chromatogr A*. – 1999. – Vol. 850, № 1-2. – P. 369-374.
183. Klein, G.L. The role of the musculoskeletal system in post-burn hypermetabolism / G.L. Klein // *Metabolism*. – 2019. – Vol. 97. – P. 81-86.
184. Korkmaz, H.I. C1 Inhibitor Administration Reduces Local Inflammation and Capillary Leakage, Without Affecting Long-term Wound Healing Parameters, in a Pig Burn Wound Model / H.I. Korkmaz, M.M.W. Ulrich, W.N.V. Wieringen [et al.] // *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem*. – 2021. – Vol. 20, № 2. – P. 150-160.
185. Korkmaz, H.I. The role of complement in the acute phase response after burns / H.I. Korkmaz, P.A.J. Krijnen, M.M.W. Ulrich [et al.]. – Text: electronic // *Burns*. – 2017. – Vol. 43, № 7. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305417917301535?via%3Dihub> (дата обращения: 18.10.2021).
186. Krausz, A.E. Biafine topical emulsion accelerates excisional and burn wound healing in mice / A.E. Krausz, B.L. Adler, A. Landriscina [et al.] // *Arch. Dermatol. Res*. – 2015. – Vol. 307. – P. 583-594.
187. Lang, T.C. A Critical Update of the Assessment and Acute Management of Patients with Severe Burns / T.C. Lang, R. Zhao, A. Kim [et al.] // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2019. – Vol. 8, № 12. – P. 607-633.
188. Larios-Arceo, F. Protective effects of melatonin against caustic esophageal burn injury in rats / F. Larios-Arceo, G.G. Ortiz, M. Huerta [et al.] // *J Pineal Res*. – 2008. – Vol. 45, № 2. – P. 219-23.
189. Larouche, J. Immune Regulation of Skin Wound Healing: Mechanisms and Novel Therapeutic Targets / J. Larouche, S. Sheoran, K. Maruyama, M.M. Martino // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2018. – Vol. 7, № 7. – P. 209-231.

190. Lateef, Z. The Cutaneous Inflammatory Response to Thermal Burn Injury in a Murine Model / Z. Lateef, G. Stuart, N. Jones [et al.]. – Text: electronic // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 3. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6387172/> (дата обращения: 18.10.2021).
191. Lee J.Y. Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells Affect Immunologic Profiling of Interleukin-17-secreting Cells in a Chemical Burn Mouse Model / J.Y. Lee, H.J. Jeong, M.K. Kim, W.R. Wee [et al.] // *Korean J Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 28, № 3. – 246-256.
192. Lee, J. Pharmacological Regulation of Oxidative Stress in Stem Cells / J. Lee, Y.S. Cho, H. Jung, I. Choi // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2018. – Vol. 2018. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6186346/> (дата обращения: 18.10.2021).
193. Lee, J.H. Melatonin-Induced PGC-1 α Improves Angiogenic Potential of Mesenchymal Stem Cells in Hindlimb Ischemia / J.H. Lee, Y.S. Han, S.H. Lee // *Biomol Ther (Seoul)*. – 2020. – Vol. 28, № 3. – P. 240-249.
194. Lee, Y.H. Serum Concentrations of Trace Elements Zinc, Copper, Selenium, and Manganese in Critically Ill Patients / Y.H. Lee, E.S. Bang, J.H. Lee [et al.] // *Biol Trace Elem Res.* – 2019. – Vol. 188, № 2. – P. 316-325.
195. Leliefeld, P.H. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation / P.H. Leliefeld, C.M. Wessels, L.P. Leenen [et al.]. – Text: electronic // *Crit Care.* – 2016. – Vol. 20. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4804478/> (дата обращения: 18.10.2021).
196. Li, H. Epidemiology and outcome analysis of 6325 burn patients: a five-year retrospective study in a major burn center in Southwest China / H. Li, Z. Yao, J. Tan [et al.] // *Sci Rep.* – 2017. Vol.7. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28383066/> (дата обращения: 18.10.2021).
197. Li, Y. Functions of V γ 4 T Cells and Dendritic Epidermal T Cells on Skin Wound Healing / Y. Li, J. Wu, G. Luo, W. He. – Text: electronic // *Front Immunol.* –

2018. – Vol. 9. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5994537/> (дата обращения: 18.10.2021).
198. Liguori, I. Oxidative stress, aging, and diseases / I. Liguori, G. Russo, F. Curcio [et al.] // *Clin Interv Aging*. – 2018. – Vol. 13. – P.757-772.
199. Lim, C.H. Hedgehog stimulates hair follicle neogenesis by creating inductive dermis during murine skin wound healing / C.H. Lim, Q. Sun, K. Ratti [et al.]. – Text: electronic // *Nat Commun*. – 2018. – Vol. 9, № 1. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6249328/> (дата обращения: 18.10.2021).
200. Lindley, L.E. Biology and Biomarkers for Wound Healing / L.E. Lindley, O. Stojadinovic, I. Pastar, M. Tomic-Canic // *Plast Reconstr Surg*. – 2016. – Vol. 138, № 3, Suppl. – P. 18S-28S.
201. Lingappan, K. NF- κ B in Oxidative Stress / K. Lingappan // *Curr Opin Toxicol*. – 2018. – № 7. – P. 81-86.
202. Liu, J. Role of the MT1 and MT2 melatonin receptors in mediating depressive- and anxiety-like behaviors in C3H/HeN mice / J. Liu, S.J. Clough, M.L. Dubocovich // *Genes Brain Behav*. – 2017. – Vol. 16. – P. 546-553.
203. Liu, L. Melatonin Target Proteins: Too Many or Not Enough? / L. Liu, N. Labani, E. Ceccon, R. Jockers. – Text: electronic // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2019. – Vol. 10. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6872631/> (дата обращения: 18.10.2021).
204. Liu, R. Antibacterial and hemostatic hydrogel via nanocomposite from cellulose nanofibers / R. Liu, L. Dai, C. Si, Z. Zeng // *Carbohydr Polym*. – 2018. – Vol. 195. – P. 63-70.
205. Liu, R. Mitochondrial DNA-Induced Inflammatory Responses and Lung Injury in Thermal Injury Murine Model: Protective Effect of Cyclosporine-A / R. Liu, F. Xu, S. Bi [et al.] // *J Burn Care Res*. – 2019. – Vol. 40, № 3. – P. 355-360.
206. Liu, S.H. The skin microbiome of wound scars and unaffected skin in patients with moderate to severe burns in the subacute phase / S.H. Liu, Y.C. Huang, L.Y. Chen [et al.] // *Wound Repair Regen*. – 2018. – Vol. 26, № 2. – P. 182-191.

207. Liu, X. Altered Genes and Biological Functions in Response to Severe Burns / X. Liu, Y. Rong, D. Huang [et al.]. – Text: electronic // *Biomed Res Int.* – 2021. – Vol. 2021. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8168476/> (дата обращения: 18.10.2021).
208. Liubaviciute, A. Regenerative potential of partially differentiated mesenchymal stromal cells in a mouse model of a full-thickness skin wound / A. Liubaviciute, V. Kasetas, A. Vaitkuvienė // *EXCLI J.* – 2018. – Vol. 17. – P. 871-888.
209. Lochner, A. Melatonin and cardioprotection against ischaemia/reperfusion injury: What's new? A review / A. Lochner, E. Marais, B. Huisamen. – Text: electronic // *J Pineal Res.* – 2018. – Vol. 65, № 1. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpi.12490> (дата обращения: 18.10.2021).
210. Lord, J.M. The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment / J.M. Lord, M.J. Midwinter, Y.F. Chen [et al.] // *Lancet.* – 2014. – Vol. 384, № 9952. – P. 1455-1465.
211. Luan, A. Noncoding RNAs in Wound Healing: A New and Vast Frontier / A. Luan, M.S. Hu, T. Leavitt [et al.] // *Adv Wound Care (New Rochelle).* – 2018. – Vol. 7, № 1. – P. 19-27.
212. Ma, Q. Role of melatonin in controlling angiogenesis under physiological and pathological conditions / Q. Ma, R.J. Reiter, Y. Chen // *Angiogenesis.* – 2020. – Vol. 23, № 2. – P. 91-104.
213. MacLauchlan, S.C. HIF-1 α represses the expression of the angiogenesis inhibitor thrombospondin-2 / S.C. MacLauchlan, N.E. Calabro, Y. Huang [et al.] // *Matrix Biol.* – 2018. – Vol. 65. – P. 45-58.
214. Mahmoudi, H. The effect of antimicrobial photodynamic therapy on the expression of biofilm associated genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from wound infections in burn patients / H. Mahmoudi, M. Pourhajibagher, M.Y. Alikhani, A. Bahador // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2019. – Vol. 25. – P. 406-413.
215. Mannes, M. Complement as driver of systemic inflammation and organ failure in trauma, burn, and sepsis / M. Mannes, C.Q. Schmidt, B. Nilsson [et al.]. – Text: electronic // *Semin Immunopathol.* – 2021. – Vol. 1-16. – URL:

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8243057/> (дата обращения: 18.10.2021).
216. Markus, R.P. Immune-pineal axis - acute inflammatory responses coordinate melatonin synthesis by pinealocytes and phagocytes / R.P. Markus, P.A. Fernandes, G.S. Kinker // *Br J Pharmacol.* – 2018. – Vol. 175, № 16. – P. 3239-3250.
217. Martín-Sierra, C. Lipoxidation and cancer immunity / C. Martín-Sierra, P. Laranjeira, M.R. Domingues, A. Paiva. – Text: electronic // *Redox Biol.* – 2019. – Vol. 23. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6859558/> (дата обращения: 18.10.2021).
218. Mascarenhas, D.D. Effects of the nephrlin peptide on post-burn glycemic control, renal function, fat and lean body mass, and wound healing / D.D. Mascarenhas, A.E. Ayadi, M. Wetzel [et al.] // *Int J Burns Trauma.* – 2016. – Vol. 6, № 3. – P. 44-50.
219. Massena, S. Identification and characterization of VEGF-A-responsive neutrophils expressing CD49d, VEGFR1, and CXCR4 in mice and humans / S. Massena, G. Christoffersson, E. Vagesjo [et al.] // *Blood.* – 2015. – Vol. 126. – P. 2016-2026.
220. Mayo, J.C. Melatonin Transport into Mitochondria / J.C. Mayo, R.M. Sainz, P. González-Menéndez [et al.] // *Cell Mol Life Sci.* – 2017. – Vol. 74. – P. 3927-3940.
221. Mayo, J.C. Melatonin uptake by cells: an answer to its relationship with glucose? / J.C. Mayo, A. Aguado, R. Cernuda-Cernuda [et al.]. – Text: electronic // *Molecules.* – 2018. – Vol. 23. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6222335/> (дата обращения: 18.10.2021).
222. Medina, J.L. Standardization of deep partial-thickness scald burns in C57BL/6 mice / J.L. Medina, A.B. Fourcaudot, E.A. Sebastian [et al.] // *Int. J. Burns Trauma.* – 2018. – Vol. 8. – P. 26-33.
223. Meier-Schellersheim, M. Mechanistic Models of Cellular Signaling, Cytokine Crosstalk, and Cell-Cell Communication in Immunology / M. Meier-Schellersheim, R. Varma, B.R. Angermann. – Text: electronic // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6798038/> (дата обращения: 18.10.2021).

224. Mendez-Romero, D. Weight changes and patterns of weight measurements in hospitalized burn patients: a contemporary analysis / D. Mendez-Romero, A.T. Clark, A. Christie, S.E. Wolf. – Text: electronic // *Burns Trauma*. – 2018. – Vol. 6. — URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6192117/> (дата обращения: 18.10.2021).
225. Menegat, T.A. Experimental models of scald burns: A scope review / T.A. Menegat, A.F. Oliveira, M.G.C. Majewski [et al.]. – Text: electronic // *Acta Cir Bras*. – 2019. – Vol. 34, № 10. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6907881/> (дата обращения: 18.10.2021).
226. Menendez-Menendez, J. Melatonin: an anti-tumor agent in hormone-dependent cancers / J. Menendez-Menendez, C. Martinez-Campa. – Text: electronic // *Int J Endocrinol*. – 2018. – Vol. 2018. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6189685/> (дата обращения: 18.10.2021).
227. Milani, M. Antiaging efficacy of melatonin-based day and night creams: A randomized, split-face, assessor-blinded proof-of-concept trial / M. Milani, A. Sparavigna // *Clin Cosmet Investig Dermatol*. – 2018. – Vol. 11. – P. 51-57.
228. Milkovic, L. Short Overview of ROS as Cell Function Regulators and Their Implications in Therapy Concepts / L. Milkovic, A. Cipak Gasparovic, M. Cindric [et al.] – Text: electronic // *Cells*. – 2019. – Vol. 8, № 8. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6721558/> (дата обращения: 18.10.2021).
229. Mirza-Aghazadeh-Attari, M. Melatonin: An atypical hormone with major functions in the regulation of angiogenesis / M. Mirza-Aghazadeh-Attari, R.J. Reiter, R. Rikhtegar [et al.] // *IUBMB Life*. – 2020. – Vol. 72. – P.1560-1584.
230. Mitran, M.I. Reactive Carbonyl Species as Potential Pro-Oxidant Factors Involved in Lichen Planus Pathogenesis / M.I. Mitran, I. Nicolae, M. Tampa [et al.]. – Text: electronic // *Metabolites*. – 2019. – Vol. 9, № 10. – URL:

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6836031/> (дата обращения: 18.10.2021).
231. Murray, R.Z. Development and use of biomaterials as wound healing therapies / R.Z. Murray, Z.E. West, A.J. Cowin, B.L. Farrugia. – Text: electronic // *Burns Trauma*. – 2019. – Vol. 7. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6346526/> (дата обращения: 18.10.2021).
232. Nakazawa, H. Coenzyme Q10 protects against burn-induced mitochondrial dysfunction and impaired insulin signaling in mouse skeletal muscle / H. Nakazawa, K. Ikeda, S. Shinozaki [et al.] // *FEBS Open Bio*. – 2019. – Vol. 9, № 2. – P. 348-363.
233. Nguyen, A.V. The Dynamics of the Skin's Immune System / A.V. Nguyen, A.M. Soulika. – Text: electronic // *Int J Mol Sci*. – 2019. – Vol. 20, № 8. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6515324/> (дата обращения: 18.10.2021).
234. Nielson, C.B. Burns: Pathophysiology of Systemic Complications and Current Management / C.B. Nielson, N.C. Duethman, J.M. Howard [et al.] // *J Burn Care Res*. – 2017. – Vol. 38, № 1. – P. e469-e481.
235. Niki, E. Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? / E. Niki. – Text: electronic // *Free Radic Biol. Med*. – 2018. – Vol. 124. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986115003719?via%3Dihub> (дата обращения: 18.10.2021).
236. Nishiguchi, T. Macrophage polarization and MRSA infection in burned mice / T. Nishiguchi, I. Ito, J.O. Lee [et al.] // *Immunol Cell Biol*. – 2017. – Vol. 95, № 2. – P. 198-206.
237. Nuutila, K. Immediate Treatment of Burn Wounds with High Concentrations of Topical Antibiotics in an Alginate Hydrogel Using a Platform Wound Device / K. Nuutila, J. Grolman, L. Yang [et al.] // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2020. – Vol. 9, № 2. – P. 48-60.
238. Oishi, A. Melatonin receptor signaling: impact of receptor oligomerization on receptor function / A. Oishi, E. Cecon, R. Jockers // *Int Rev Cell Mol Biol*. – 2018. – Vol. 338. – P. 59-77.

239. Osikov M.V. The effectiveness of local application of melatonin in the original dermal film in experimental thermal trauma / Osikov M.V., Ageeva A.A., Ageev Yu.I., Fedosov A.A., Nikushkina K.V., Loginova Yu.V. // *International Journal of Biomedicine*. – 2021. – Vol. 11, № 4. – P. 579-587.
240. Osuka, A. Immune response to traumatic injury: harmony and discordance of immune system homeostasis / A. Osuka, H. Ogura, M. Ueyama [et al.] // *Acute Med Surg*. – 2014. – Vol. 1, № 2. – P. 63-69.
241. Ozcan, O. Protective effect of Myrtle (*Myrtus communis*) on burn induced skin injury / O. Ozcan, H. Ipekci, B. Alev [et al.] // *Burns*. – 2019. – Vol. 45, 8. – P. 1856-1863.
242. Padmanabhan, J. In Vivo Models for the Study of Fibrosis / J. Padmanabhan, Z.N. Maan, S.H. Kwon [et al.] // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2019. – Vol. 8, № 12. – P. 645-654.
243. Park, E.K. The Anti-Wrinkle Mechanism of Melatonin in UVB Treated HaCaT Keratinocytes and Hairless Mice via Inhibition of ROS and Sonic Hedgehog Mediated Inflammatory Proteins / E.K. Park, H.J. Lee, H. Lee [et al.]. – Text: electronic // *Int J Mol Sci*. – 2018. – Vol. 19, № 7. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6073225/> (дата обращения: 18.10.2021).
244. Parnell, L.K.S. The Evolution of Animal Models in Wound Healing Research: 1993-2017 / L.K.S. Parnell, S.W. Volk // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2019. – Vol. 8, № 12. – P. 692-702.
245. Pellegrino, D. Oxidative Imbalance and Kidney Damage: New Study Perspectives from Animal Models to Hospitalized Patients / D. Pellegrino, D. La Russa, A. Marrone. – Text: electronic // *Antioxidants (Basel)*. – 2019. – Vol. 8, № 12. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6943704/> (дата обращения: 18.10.2021).
246. Pérez-Sala, D. Lipoxidation targets: From basic mechanisms to pathophysiology / D. Pérez-Sala, R. Domingues. – Text: electronic // *Redox Biol*. – 2019. – Vol. 23. – URL:

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6859579/> (дата обращения: 18.10.2021).
247. Peterson, N.C. To Treat or Not to Treat: The Effects of Pain on Experimental Parameters / N.C. Peterson, E.A. Nunamaker, P.V. Turner [et al.] // *Comp Med.* – 2017. – Vol. 67, № 6. – P. 469-482.
248. Petrović, J. $\gamma\delta$ T Cells Modulate Myeloid Cell Recruitment but Not Pain During Peripheral Inflammation / J. Petrović, J.R. Silva, C.A. Bannerman [et al.]. – Text: electronic // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6431614/> (дата обращения: 18.10.2021).
249. Pina, G. Long-term alteration of daily melatonin, 6-sulfatoxymelatonin, cortisol, and temperature profiles in burn patients: a preliminary report / G. Pina, J. Brun, S. Tissot, B. Claustrat // *Chronobiol Int.* – 2010. – Vol. 27, № 2. – P. 378-392.
250. Pires-Lapa, M.A. β -adrenoceptors trigger melatonin synthesis in phagocytes / M.A. Pires-Lapa, C.E. Carvalho-Sousa, E. Cecon [et al.]. – Text: electronic // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6121262/> (дата обращения: 18.10.2021).
251. Porumb, V. Design and Testing of an Experimental Steam-Induced Burn Model in Rats / V. Porumb, A.F. Trandabăț, C. Terinte [et al.]. – Text: electronic // *Biomed Res Int.* – 2017. – Vol. 2017. – URL: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/9878109/> (дата обращения: 18.10.2021).
252. Pugazhenthii, K. Melatonin accelerates the process of wound repair in full-thickness incisional wounds / K. Pugazhenthii, M. Kapoor, A.N. Clarkson [et al.] // *J Pineal Res.* – 2008. – Vol. 44, № 4. – P. 387-396.
253. Qin, W. Melatonin protects blood-brain barrier integrity and permeability by inhibiting matrix metalloproteinase-9 via the NOTCH3/NF- κ B pathway / W. Qin, J. Li, R. Zhu [et al.] // *Aging (Albany NY).* – 2019. – Vol. 11, № 23. – P. 11391-11415.
254. Queiroz, L.F. Epidemiology and outcome analysis of burn patients admitted to an Intensive Care Unit in a University Hospital. / L.F. Queiroz, E.H. Anami, E.F. Zampar [et al.] // *Burns.* – 2016. Vol. 42, № 3. – P.655-662.

255. Rahbarghazi, A. Role of melatonin in the angiogenesis potential; highlights on the cardiovascular disease / A. Rahbarghazi, M. Siahkouhian, R. Rahbarghazi [et al.]. – Text: electronic // *J Inflamm (Lond)*. – 2021. – Vol. 18, № 1. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7852194/> (дата обращения: 18.10.2021).
256. Rani, M. The composition of T-cell subsets are altered in the burn wound early after injury / M. Rani, M.G. Schwacha. – Text: electronic // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12, № 6. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5456360/> (дата обращения: 18.10.2021).
257. Reiter, R.J. Anti-Warburg Effect of Melatonin: A Proposed Mechanism to Explain its Inhibition of Multiple Diseases / R.J. Reiter, R. Sharma, S. Rosales-Corral. – Text: electronic // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22, № 2. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7828708/> (дата обращения: 18.10.2021).
258. Reiter, R.J. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas / R.J. Reiter, S. Rosales-Corral, D.X. Tan [et al.] // *Cell Mol Life Sci*. – 2017. – Vol. 74, № 21. – P. 3863-3881.
259. Reiter, R.J. Melatonin, a Full Service Anti-Cancer Agent: Inhibition of Initiation, Progression and Metastasis / R.J. Reiter, S.A. Rosales-Corral, D.X. Tan [et al.]. – Text: electronic // *Int J Mol Sci*. – 2017. – Vol. 18, № 4. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5412427/> (дата обращения: 18.10.2021).
260. Reiter, R.J. Melatonin: exceeding expectations / R.J. Reiter, D.X. Tan, A. Galano // *Physiology*. – 2014. – Vol. 29. – P. 325-33.
261. Riis, S. Hypoxia enhances the wound-healing potential of adipose-derived stem cells in a novel human primary keratinocyte-based scratch assay / S. Riis, R. Newman, H. Ipek [et al.] // *Int J Mol Med*. – 2017. – Vol. 39. – P. 587-594.
262. Ringheim, G.E. Teriflunomide attenuates immunopathological changes in the dark agouti rat model of experimental autoimmune encephalomyelitis / G.E. Ringheim, L. Lee, L. Laws-Ricker [et al.] // *Frontiers in neurology*. – 2013. – Vol. 4. – P. 169.

263. Rocco, M.L. Nerve Growth Factor: Early Studies and Recent Clinical Trials / M.L. Rocco, M. Soligo, L. Manni, L. Aloe // *Curr Neuropharmacol.* – 2018. – Vol. 16, № 10. – P. 1455-1465.
264. Rodrigues, M. Wound Healing: A Cellular Perspective / M. Rodrigues, N. Kosaric, C.A. Bonham, G.C. Gurtner // *Physiol Rev.* – 2019. – Vol. 99, № 1. – P. 665-706.
265. Rose, L.F. The Burn Wound Microenvironment / L.F. Rose, R.K. Chan // *Adv Wound Care.* – 2016. – Vol. 5. – P. 106-118.
266. Rowan, M.P. Burn wound healing and treatment: review and advancements / M.P. Rowan, L.C. Cancio, E.A. Elster [et al.]. – Text: electronic // *Crit Care.* – 2015. – Vol. 19. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4464872/> (дата обращения: 18.10.2021).
267. Roy, J. Physiological role of reactive oxygen species as promoters of natural defenses / J. Roy, J.M. Galano, T. Durand [et al.] // *FASEB J.* – 2017. – Vol. 31, № 9. – P. 3729-3745.
268. Rusanova, I. Protective Effects of Melatonin on the Skin: Future Perspectives / I. Rusanova, L. Martínez-Ruiz, J. Florido [et al.]. – Text: electronic // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 19. – <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6802208/> (дата обращения: 18.10.2021).
269. Sadiq, A. The Role of Serotonin during Skin Healing in Post-Thermal Injury / A. Sadiq, A. Shah, M.G. Jeschke [et al.]. – Text: electronic // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 4. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5979562/> (дата обращения: 18.10.2021).
270. Salibian, A.A. Current concepts on burn wound conversion-A review of recent advances in understanding the secondary progressions of burns / A.A. Salibian, A.T.D. Rosario, L.A.M. Severo [et al.] // *Burns.* – 2016. – Vol. 42, № 5. – P. 1025-1035.
271. Samuel, T.J. Cardiac Structure and Function in Well-Healed Burn Survivors / T.J. Samuel, M.D. Nelson, A. Nasirian [et al.] // *J Burn Care Res.* – 2019. – Vol. 40, № 2. – P. 235-241.
272. Sánchez-de-Diego, C. Interplay between BMPs and Reactive Oxygen Species in Cell Signaling and Pathology / C. Sánchez-de-Diego, J.A. Valer, C. Pimenta-Lopes [et

- al.]. – Text: electronic // *Biomolecules*. – 2019. – Vol. 9, № 10. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6843432/> (дата обращения: 18.10.2021).
273. Sanjar, F. Temporal shifts in the mycobiome structure and network architecture associated with a rat (*Rattus norvegicus*) deep partial-thickness cutaneous burn / F. Sanjar, A.J. Weaver, T.J. Peacock [et al.] // *Med Mycol*. – 2020. – Vol. 58, № 1. – P. 107-117.
274. Schmauss, D. Treatment of secondary burn wound progression in contact burns-a systematic review of experimental approaches / D. Schmauss, F. Rezaeian, T. Finck [et al.] // *Journal of burn care & research: official publication of the American Burn Association*. – 2015. – Vol. 36. – P. 176-189.
275. Schwacha, M.G. Burn injury is associated with an infiltration of the wound site with myeloid-derived suppressor cells / M.G. Schwacha, S.R. Scroggins, R.K. Montgomery [et al.] // *Cell Immunol*. – 2019. – Vol. 338. – P. 21-26.
276. Sen, S. Anti-inflammatory effect of epidermal growth factor conjugated silk fibroin immobilized polyurethane ameliorates diabetic burn wound healing / S. Sen, P. Basak, B. Prasad Sinha [et al.] // *Int J Biol Macromol*. – 2020. – Vol. 143. – P. 1009-1032.
277. Shabeeb, D. Biochemical and histopathological evaluation of the radioprotective effects of melatonin against gamma ray-induced skin damage / D. Shabeeb, M. Najafi, A.E. Musa [et al.] // *Curr Radiopharm*. – 2019. – Vol. 12. – P. 72-81.
278. Shook, B. CD301b+ Macrophages Are Essential for Effective Skin Wound Healing / B. Shook, E. Xiao, Y. Kumamoto [et al.] // *J Invest Dermatol*. – 2016. – Vol. 136. – P. 1885-1891.
279. Shpichka, A. Skin tissue regeneration for burn injury / A. Shpichka, D. Butnaru, E.A. Bezrukov [et al.]. – Text: electronic // *Stem Cell Res Ther*. – 2019. – Vol. 10, № 1. – URL: [ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6419807/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6419807/) (дата обращения: 18.10.2021).
280. Shukla, S.K. Can miRNAs Serve as Potential Markers in Thermal Burn Injury: an in silico approach / S.K. Shukla, A.K. Sharma, R. Bharti [et al.]. – Text: electronic // *J Burn Care Res*. – 2020. – Vol. 41, № 1. – P. 57-64.

281. Sil, P. More Than Skin Deep: Autophagy Is Vital for Skin Barrier Function / P. Sil, S.W. Wong, J. Martinez. – Text: electronic // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6026682/> (дата обращения: 18.10.2021).
282. Simonneaux, V. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: A review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters / V. Simonneaux, C. Ribelayga // *Pharmacol. Rev.* – 2003. – Vol. 55. – P. 325-395.
283. Singer, A.J. Burn Wound Healing and Tissue Engineering / A.J. Singer, S.T. Boyce [et al.]. – Text: electronic // *J. Burn Care Res.* – 2017. – Vol. 38, № 3. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5461657/> (дата обращения: 18.10.2021).
284. Singer, A.J. The effects of Platelet-rich Plasma on healing of partial thickness burns in a porcine model / A.J. Singer, J. Toussaint, W.T. Choi [et al.] // *Ann Burns Fire Disasters.* – 2018. – Vol. 31, № 4. – P. 298-305.
285. Skobowiat, C. Melatonin and its derivatives counteract the ultraviolet B radiation-induced damage in human and porcine skin ex vivo / C. Skobowiat, A.A. Brożyna, Z. Janjetovic [et al.]. – Text: electronic // *J Pineal Res.* – 2018. – Vol. 65, № 2. – URL: [ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6105533/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6105533/) (дата обращения: 18.10.2021).
286. Slominski, A.T. Characterization of serotonin and N-acetylserotonin systems in the human epidermis and skin cells / A.T. Slominski, T.K. Kim, K. Kleszczyński [et al.]. – Text: electronic // *J Pineal Res.* – 2020. – Vol. 68, № 2. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7007327/> (дата обращения: 18.10.2021).
287. Slominski, A.T. Metabolism of melatonin in the skin: Why is it important? / A.T. Slominski, I. Semak, T.W. Fischer [et al.] // *Exp Dermatol.* – 2017. – Vol. 26, № 7. – P. 563-568.
288. Smolle, C. The History and Development of Hyperbaric Oxygenation (HBO) in Thermal Burn Injury / C. Smolle, J. Lindenmann, L. Kamolz, F.M. Smolle-Juettner. – Text: electronic // *Medicina (Kaunas).* – 2021. – Vol. 57, № 1. – URL:

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7827759/> (дата обращения: 18.10.2021).
289. Soliman, A.M. Role of MicroRNA in Proliferation Phase of Wound Healing / A.M. Soliman, S. Das, N. Abd Ghafar, S.L. Teoh. – Text: electronic // *Front Genet.* – 2018. – Vol. 9. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5817091/> (дата обращения: 18.10.2021).
290. Song, J. Insulin and exercise improved muscle function in rats with severe burns and hindlimb unloading / J. Song, L.A. Baer, M.R.S. Threlkeld [et al.]. – Text: electronic // *Physiol Rep.* – 2019. – Vol. 7, № 14. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6661272/> (дата обращения: 18.10.2021).
291. Stavrou, E.X. Factor XII and uPAR upregulate neutrophil functions to influence wound healing / E.X. Stavrou, C. Fang, K.L. Bane [et al.] // *J Clin Invest.* – 2018. – Vol. 128. – P. 944-959.
292. Stein, C. Pain inhibition by opioids-new concepts // C. Stein / *Schmerz.* – 2019. – Vol. 33, № 4. – P. 295-302.
293. Stone, Ii.R. Advancements in Regenerative Strategies Through the Continuum of Burn Care // Ii.R. Stone, S. Natesan, C.J. Kowalczewski [et al.]. – Text: electronic *Front Pharmacol.* – 2018. – Vol. 9. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6046385/> (дата обращения: 18.10.2021).
294. Succar, J. Mouse Mast Cell Protease-4 Recruits Leukocytes in the Inflammatory Phase of Surgically Wounded Skin / J. Succar, G. Giatsidis, N. Yu [et al.] // *Adv Wound Care (New Rochelle).* – 2019. – Vol. 8, № 10. – P. 469-475.
295. Sullivan, A.B. The importance of the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system in epithelium traversal depends upon conditions of host susceptibility / A.B. Sullivan, K.P. Tam, M.M. Metruccio [et al.] // *Infect Immun.* – 2015. – Vol. 83, № 4. – P. 1629-1640.

296. Suofu, V. Dual role of mitochondria in producing melatonin and driving GPCR signaling to block cytochrome c release / V. Suofu, W. Li, F.G. Jean-Alphonse [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2017. – Vol. 114. – P. 7997-8006.
297. Taghavi Ardakani, A. The effects of melatonin administration on disease severity and sleep quality in children with atopic dermatitis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial / A. Taghavi Ardakani, M. Farrehi, M.R. Sharif [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol*. – 2018. – Vol. 29. – P. 834-840.
298. Taha, H. A 'metabolic bundle' including Oxandrolone in optimising the metabolic status of severely burn injured patients: a retrospective analysis of the first 50 patients / H. Taha, B. Steinke, H. Fischer [et al.]. – Text: electronic // *GMS Interdiscip Plast Reconstr Surg DGPW*. – 2019. – Vol. 8. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6883381/> (дата обращения: 18.10.2021).
299. Talizin, T.B. Acute kidney injury and intra-abdominal hypertension in burn patients in intensive care / T.B. Talizin, M.S. Tsuda, M.T. Tanita [et al.] // *Rev Bras Ter Intensiva*. – 2018. – Vol. 30, № 1. – P. 15-20.
300. Tan, D. Chemical and physical properties and potential mechanisms: Melatonin as a broad-spectrum antioxidant and free radical scavenger / D. Tan, R.J. Reiter, L.C. Manchester [et al.] // *Curr Top Med Chem*. – 2002. – Vol. 2. – P. 181-197.
301. Tan, D.X. On the significance of an alternate pathway of melatonin synthesis via 5-methoxytryptamine: comparisons across species / D.X. Tan, R. Hardeland, K. Back [et al.] // *J Pineal Res*. – 2016. – Vol. 61. – P. 27-40.
302. Tan, D.X. Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes / D.X. Tan, L.C. Manchester, X. Liu [et al.]. – Text: electronic // *J Pineal Res*. – 2013. – Vol. 54, № 2. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpi.12026> (дата обращения: 18.10.2021).
303. Tan, J.Q. The roles of autophagy and apoptosis in burn wound progression in rats / J.Q. Tan, H.H. Zhang, Z.J. Lei [et al.] // *Burns*. – 2013. – Vol. 39. – P. 1551-1556.

304. Taneja, V. Sex Hormones Determine Immune Response / V. Taneja. – Text: electronic // Front Immunol. – 2018. – Vol. 9. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6119719/> (дата обращения: 18.10.2021).
305. Tang, Y. Melatonin Pretreatment Improves the Survival and Function of Transplanted Mesenchymal Stem Cells after Focal Cerebral Ischemia / Y. Tang, B. Cai, F. Yuan [et al.] // Cell Transplant. – 2014. – Vol. 23, № 10. – P. 1279-1291.
306. Tanno, H. Invariant NKT cells promote skin wound healing by preventing a prolonged neutrophilic inflammatory response / H. Tanno, K. Kawakami, E. Kanno [et al.] // Wound Repair Regener. – 2017. – Vol. 25. – P. 805-815.
307. Tilstam, P.V. MIF family cytokines in cardiovascular diseases and prospects for precision-based therapeutics / P.V. Tilstam, D. Qi, L. Leng [et al.] // Expert Opin Ther Targets. – 2017. – Vol. 21, № 7. – P. 671-683.
308. Tiwari, R. Localized Delivery of Drugs through Medical Textiles for Treatment of Burns: A Perspective Approach / R. Tiwari, G. Tiwari, A. Lahiri [et al.] // Adv Pharm Bull. – 2021. – Vol. 11, № 2. – P. 248-260.
309. Tobalem, M. The burn comb model revisited / M. Tobalem, R. Wettstein, E. Tschanz [et al.] // Burns. – 2020. – Vol. 46, № 3. – P. 675-681.
310. Tordjman, S. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits / S. Tordjman, S. Chokron, R. Delorme [et al.] // Curr Neuropharmacol. – 2017. – Vol. 15, № 3. – P. 434-443.
311. Tra Thanh, N. Optimization and characterization of electrospun polycaprolactone coated with gelatin-silver nanoparticles for wound healing application / N. Tra Thanh, M. Ho Hieu, N. Tran Minh Phuong [et al.] // Mater Sci Eng C. – 2018. – Vol. 91. – P. 318-329.
312. Tunali, T. Melatonin reduces oxidative damage to skin and normalizes blood coagulation in a rat model of thermal injury / T. Tunali, G. Sener, A. Yarat, N. Emekli // Life Sci. – 2005. – Vol. 76, № 11. – P. 1259-1265.

313. Turner, C.T. Granzyme K Expressed by Classically Activated Macrophages Contributes to Inflammation and Impaired Remodeling / C.T. Turner, M.R. Zeglinski, K.C. Richardson [et al.] // *J Investig Dermatol.* – 2019. – Vol. 139, № 4. – P. 930-939.
314. Turner, P.V. A Review of Pain Assessment Methods in Laboratory Rodents / P.V. Turner, D.S. Pang, J.L. Lofgren // *Comp Med.* – 2019. – Vol. 69, № 6. – P. 451-467.
315. Tyurina, Y.Y. Redox lipidomics technology: Looking for a needle in a haystack / Y.Y. Tyurina, V.A. Tyurin, T. Anthonyimuthu [et al.] // *Chem Phys Lipids.* – 2019. – Vol. 221. – P. 93-107.
316. Vallée, A. TGF- β in fibrosis by acting as a conductor for contractile properties of myofibroblasts / A. Vallée, Y. Lecarpentier. – Text: electronic // *Cell Biosci.* – 2019. – Vol. 9. – URL: <https://cellandbioscience.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13578-019-0362-3> (дата обращения: 18.10.2021).
317. Varoni, E.M. The Impact of Melatonin in Research / E.M. Varoni, C. Soru, R. Pluchino [et al.]. – Text: electronic // *Molecules.* – 2016. – Vol. 21, № 2. – URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/21/2/240> (дата обращения: 18.10.2021).
318. Varrassi, G. Towards an Effective and Safe Treatment of Inflammatory Pain: A Delphi-Guided Expert Consensus / G. Varrassi, E. Alon, M. Bagnasco // *Adv Ther.* – 2019. – Vol. 36, № 10. – P. 2618-2637.
319. Veiga, E.C.D.A. Melatonin and the cardiovascular system in animals: systematic review and meta-analysis / E.C.D.A. Veiga, R.D.S. Simões, L.L. Caviola [et al.]. – Text: electronic // *Clinics (Sao Paulo).* – 2021. – Vol. 76. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34644731> (дата обращения: 18.10.2021).
320. Vollono, L. Potential of Curcumin in Skin Disorders / L. Vollono, M. Falconi, R. Gaziano [et al.]. – Text: electronic // *Nutrients.* – 2019. – Vol. 11, № 9. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6770633/> (дата обращения: 18.10.2021).
321. Walker, H.L. A standard animal burn / H.L. Walker, Jr A.D. Mason // *J Trauma.* – 1968. – Vol. 8, № 1. – P. 1049-1051.

322. Wang, C.R. Knockout of MicroRNA-155 Ameliorates the Th17/Th9 Immune Response and Promotes Wound Healing / C.R. Wang, H.F. Zhu, Y. Zhu // *Curr Med Sci.* – 2019. – Vol. 39, № 6. – P. 954-964.
323. Wang, X. T Lymphocytes Attenuate Dermal Scarring by Regulating Inflammation, Neovascularization, and Extracellular Matrix Remodeling / X. Wang, S. Balaji, E.H. Steen [et al.] // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2019. – Vol. 8, № 11. – P. 527-537.
324. Wang, Y. Burn injury: Challenges and advances in burn wound healing, infection, pain and scarring / Wang Y., Beekman J., Hew J. [et al.] // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2018. – Vol.123. – P. 3-17.
325. Wang, Y. Stimulation role of epinephrine in transcription of the melatonin synthesis key enzyme AANAT in the pineal gland of broilers / Y. Wang, Z. Zhang, H. Guo [et al.] // *Mol Cell Biochem.* – 2019. – Vol. 453 № 1-2. – P. 111-119.
326. Wardhana, A. How to create burn porcine models: a systematic review / A. Wardhana, R.F.M. Lumbuun, D. Kurniasari // *Ann Burns Fire Disasters.* – 2018. – Vol. 31, № 1. – P. 65-72.
327. Weber, B. Modeling trauma in rats: similarities to humans and potential pitfalls to consider / B. Weber, I. Lackner, M. Haffner-Luntzer [et al.]. – Text: electronic // *J Transl Med.* – 2019. – Vol. 17, № 1. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6728963/> (дата обращения: 18.10.2021).
328. Wei, C. Mechanism of taurine in alleviating myocardial oxidative stress in rats after burn through p38 MAPK signaling pathway / C. Wei, X. Ding, C. Liu [et al.] // *Minerva Med.* – 2019. – Vol. 110, № 5. – P. 472-475.
329. Wei, J. Radiation-Induced Normal Tissue Damage: Oxidative Stress and Epigenetic Mechanisms / J. Wei, B. Wang, H. Wang [et al.]. – Text: electronic // *Oxid Med Cell Longev.* – 2019. – Vol. 2019. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6875293/> (дата обращения: 18.10.2021).

330. Wilgus, T.A. Neutrophils and Wound Repair: Positive Actions and Negative Reactions / T.A. Wilgus, S. Roy, J.C. McDaniel // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2013. – Vol. 2, № 7. – P. 379-388.
331. Wilgus, T.A. The Importance of Mast Cells in Dermal Scarring / T.A. Wilgus, B.C. Wulff // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2014. – Vol. 3, № 4. – P. 356-365.
332. Wilgus, T.A. Vascular Endothelial Growth Factor and Cutaneous Scarring / T.A. Wilgus // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2019. – Vol. 8, № 12. – P. 671-678.
333. Wise, L.M. VEGF Receptor-2 Activation Mediated by VEGF-E Limits Scar Tissue Formation Following Cutaneous Injury // L.M. Wise, G.S. Stuart, N.C. Real [et al.] // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. – 2018. – Vol. 7, № 8. – P. 283-297.
334. Wong, Y.M. Ubiquitin Urine Levels in Burn Patients / Y.M. Wong, H.M. LaPorte, L.J. Albee [et al.]. – Text: electronic // *J Burn Care Res*. – 2017. – Vol. 38, № 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26204385/> (дата обращения: 18.10.2021).
335. Wu, D. Severe Burn Injury Progression and Phasic Changes of Gene Expression in Mouse Model / D. Wu, M. Zhou, L. Li [et al.] // *Inflammation*. – 2019. – Vol. 42, № 4. – P. 1239-1251.
336. Wurzer, P. Herpesviradae infections in severely burned children / P. Wurzer, M.R. Cole, R.P. Clayton [et al.] // *Burns*. – 2017. – Vol. 43, № 5. – P. 987-992.
337. Xia, Y. Epidermal growth factor promotes mesenchymal stem cell-mediated wound healing and hair follicle regeneration / Y. Xia, X.E. You, H. Chen [et al.] // *Int J Clin Exp Pathol*. – 2017. – Vol. 10, № 7. – P. 7390-7400.
338. Xu, Y. Valuable prognostic indicators for severe burn sepsis with inhalation lesion: age, platelet count, and procalcitonin / Y. Xu, X. Jin, X. Shao [et al.]. – Text: electronic // *Burns Trauma*. – 2018. – Vol. 6. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6205790/> (дата обращения: 18.10.2021).
339. Yan, D. Recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor n deep second-degree burn wound healing / D. Yan, S. Liu, X. Zhao [et al.]. – Text: electronic // *Medicine (Baltimore)*. – 2017. – Vol. 96, № 22. – URL:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5459702/> (дата обращения: 18.10.2021).

340. Yang, P. Different Faces for Different Places: Heterogeneity of Neutrophil Phenotype and Function / P. Yang, Y. Li, Y. Xie, Y. Liu. – Text: electronic // *J Immunol Res.* – 2019. – Vol. 2019. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6421822/> (дата обращения: 18.10.2021).

341. Yeh, C.M. Melatonin as a potential inhibitory agent in head and neck cancer / C.M. Yeh, S.C. Su, C.W. Lin [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 52. – P. 90545-90556.

342. Yin, S. Burn Serum Increases Staphylococcus aureus Biofilm Formation via Oxidative Stress / S. Yin, B. Jiang, G. Huang [et al.]. – Text: electronic // *Front Microbiol.* – 2017. – Vol. 8. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5487419/> (дата обращения: 18.10.2021).

343. Yousuf, Y. The response of muscle progenitor cells to cutaneous thermal injury / Y. Yousuf, M.G. Jeschke, A. Shah [et al.]. – Text: electronic // *Stem Cell Res Ther.* – 2017. – Vol. 8, № 1. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5646146/> (дата обращения: 18.10.2021).

344. Zarkovic, K. Contribution of the HNE-immunohistochemistry to modern pathological concepts of major human diseases / K. Zarkovic, A. Jakovcevic, N. Zarkovic // *Free Radic Biol Med.* – 2017. – Vol. 111. – P. 110-126.

345. Zavala, S. Impact of insufficient admission vitamin D serum concentrations on sepsis incidence and clinical outcomes in patients with thermal injury / S. Zavala, J. Larson, M. O'Mahony, M.A. Rech // *Burns.* – 2020. – Vol. 46, № 1. – P. 172-177.

346. Zhang, H.M. Melatonin: A well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions / H.M. Zhang, Y. Zhang // *J Pineal Res.* – 2014. – Vol. 57. – P. 131-146.

347. Zhang, L. Biochemical basis and metabolic interplay of redox regulation / L. Zhang, X. Wang, R. Cueto [et al.]. – Text: electronic // *Redox Biol.* – 2019. – Vol. 26. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6831867/> (дата обращения: 18.10.2021).

348. Zhang, P. The pathogenesis and diagnosis of sepsis post burn injury / P. Zhang, B. Zou, Y.C. Liou, C. Huang. – Text: electronic // *Burns Trauma*. –2021. – Vol. 9. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7901709/> (дата обращения: 18.10.2021).
349. Zhang, W.X. Melatonin protects against sepsis-induced cardiac dysfunction by regulating apoptosis and autophagy via activation of SIRT1 in mice. / W.X. Zhang, B.M. He, Y. Wu [et al.]. *Life Sci*. – 2019. – Vol.217. – P. 8-15.
350. Zhang, Y. Growth factor therapy in patients with partial-thickness burns: a systematic review and meta-analysis / Y. Zhang, T. Wang, J. He, J. Dong // *Int. Wound J*. – 2016. – Vol. 13. – P. 354-366.
351. Zhang, Y.C. Application and advances in the research of animal models in burn research / Y.C. Zhang, L. Wang, J. Lu // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. – 2019. – Vol. 35, № 9. – P. 692-696.
352. Zhao, D. Melatonin Synthesis and Function: Evolutionary History in Animals and Plants / D. Zhao, Y. Yu, Y. Shen [et al.]. – Text: electronic // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2019. – Vol. 10. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6481276/> (дата обращения: 18.10.2021).
353. Zhao, R.Z. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review) / R.Z. Zhao, S. Jiang, L. Zhang, Z.B. Yu // *Int J Mol Med*. – 2019. – Vol. 44, № 1. – P. 3-15.
354. Zhao, Y. Novel protective role of the circadian nuclear receptor retinoic acid-related orphan receptor-alpha in diabetic cardiomyopathy / Y. Zhao, L. Xu, S. Ding [et al.]. – Text: electronic // *J Pineal Res*. – 2017. – Vol. 62, № 3. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpi.12378> (дата обращения: 18.10.2021).
355. Zhdanova, I.V. Endogenous melatonin levels and the fate of exogenous melatonin: age effects / I.V. Zhdanova, R.J. Wurtman, A. Balcioglu [et al.]. – Text: electronic // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. – 1998. – Vol. 53. – URL: <https://academic.oup.com/biomedgerontology/article/53A/4/B293/592663> (дата обращения: 18.10.2021).

356. Zheng, Y. Interleukin-22, a potent target for treatment of non-autoimmune diseases / Y. Zheng, T. Li // *Hum Vaccin Immunother.* – 2018. – Vol. 14, № 12. – P. 2811-2819.
357. Zhu, J. Hyaluronic acid and polyethylene glycol hybrid hydrogel encapsulating nanogel with hemostasis and sustainable antibacterial property for wound healing / J. Zhu, F. Li, X. Wang [et al.] // *ACS Appl Mater Interfaces.* – 2018. – Vol. 10. – P. 13304-13316.
358. Zhu, X.M. The involvement of endoplasmic reticulum stress response in immune dysfunction of dendritic cells after severe thermal injury in mice / X.M. Zhu, N. Dong, Y.B. Wang [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 6. – P. 9035-9052.
359. Zisapel, N. New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation / N. Zisapel // *Br J Pharmacol.* – 2018. – Vol. 175. – P. 3190-3199.