

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ԲՈՒԼՈՅԱՆ ՍՈՆԱ ԱԶԱՏԻ

«ԴԵՐՄԱՖԵՆ» ՔՍՈՒՔԻ ԵՎ ՆՐԲԱՔՍՈՒՔԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ
ՄՈՐՖՈՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ՎԻՃԱԿԻ ԵՎ ՎԵՐԱԿԱՆԳՆՈՂ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ
ԶԵՐՄԱՅԻՆ ԱՅՐՎԱԾՔՆԵՐԻ ԴԵՊՔՈՒՄ

Գ.00.03 – «Մոլեկուլային և բջջային կենսաբանություն»
մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկանծովի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ-2017

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

БУЛОЯН СОНА АЗАТОВНА

ВЛИЯНИЕ МАЗИ И КРЕМА “ДЕРМАФЕН” НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ
СОСТОЯНИЕ И РЕГЕНЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ
ТКАНЕЙ ПРИ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности
03.00.03 - «Молекулярная и клеточная биология»

ԵՐԵՎԱՆ-2017

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոնի գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավար՝ կենս. գիտ. թեկնածու Հ.Վ. Գասպարյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենս. գիտ. դոկտոր Տ.Կ. Դավթյան

կենս. գիտ. թեկնածու Մ.Հ. Մալաքյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԱՆ Ճառագայթային բժշկության և
այրվածքների գիտական կենտրոն

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2017թ. սեպտեմբերի 8-ին, ժամը 15:00-ին ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտում, Կենսաքիմիայի 042 մասնագիտական խորհրդում (ՀՀ, 0014, Երևան, Հասրաթյան 7):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի գրադարանում և <http://molbiol.sci.am> կայքում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2017թ. օգոստոսի 4-ին:

042 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար
կենս. գիտ. թեկնածու



Գ.Մ. Մկրտչյան

Тема диссертации утверждена на заседании ученого совета Научно-технологического центра органической и фармацевтической химии НАН РА.

Научный руководитель: кандидат биол. наук Гаспарян Г.В.

Официальные оппоненты: доктор биол. наук Давтян Т.К.

кандидат биол. наук Малакян М.Г.

Ведущая организация: Научный центр радиационной медицины и
ожогов МЗ РА

Защита диссертации состоится 8 сентября 2017г. в 15:00 часов на заседании специализированного совета 042 по Биохимии, в Институте молекулярной биологии НАН РА (РА, 0014, г. Ереван, ул. Асратяна 7).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института молекулярной биологии НАН РА и на сайте <http://molbiol.sci.am>.

Автореферат разослан 4 августа 2017г.

Ученый секретарь специализированного совета 042,
кандидат биол. наук

Մկրտչյան Գ.Մ.



ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ՆԿԱՐԱԳԻՐԸ

Թեմայի արդիականությունը: Պրակտիկ բժշկության վիճակագրական տվյալների ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ այրվածքները հանդիսանում են տրավմատիզմի ամենատարածված ձևերից մեկը [Фисталь Э.Я., Козинец Г.П. и др., 2005]:

Բազմաթիվ հետազոտողներ պարզել են, որ բոլոր տեսակի այրվածքները և մաշկային վնասվածքները ունեն առողջացման մեկ օրինաչափություն, որտեղ պլտերատիվ և բորբոքային ռեակցիաներին հաջորդում են պրոլիֆերատիվ պրոցեսները՝ ավարտվելով դերմալ հյուսվածքների վերակազմավորման և ամբողջական էպիթելիզացիայի պրոցեսներով [Gosain A., DiPietro L.A., 2004]:

Սակայն արժե հիշատակել, որ բազմաթիվ տեղային և համակարգային գործոններ, տարբեր տիպի ինֆեկցիաներ կարող են հանգեցնել վերքի ոչ լիարժեք լավացմանը՝ բարդացնելով այրվածքի պաթոլոգիան [Guo S., DiPietro L.A., 2010]:

Մի շարք հետազոտողներ գտնում են, որ այրվածքային վերքերի բուժման ամենաէֆեկտիվ մոտեցումը դա վերքի լավացման ժամանակի կրճատումն է [Hartford C.E., 2012]:

Ժամանակակից բժշկության մեջ այրվածքային վերքերի բուժման համար կիրառվում են տարբեր մեթոդներ և բազմաթիվ դեղամիջոցներ: Դրանց մի մասի ազդեցության պայմաններում ճնշվում է պաթոգեն միկրոֆլորայի աճը, մեկ այլ դեպքում՝ այրվածքային տեղամասերում ապահովում են հակաբորբոքային ազդեցություն, իսկ մյուսների դեպքում՝ ուժեղանում են մաշկի ռեգեներացիոն պրոցեսները [Спиридонова Т.Г., 2001]: Չնայած տեղային այրվածքների համար նախատեսված դեղանյութերի առատությանը, դրանց բուժման մեթոդների կատարելագործումը դեռևս մնում է բժշկության արդիական խնդիրներից մեկը [Парамонов Б.А., и др., 2000]: Հաշվի առնելով վերը նշվածը, ակնհայտ է դառնում, որ նոր օրիգինալ հակաայրվածքային դեղաքսուքների որոնումը և հետազոտումը մնում է ժամանակակից կոմբուստոլոգիայի կարևորագույն խնդիրներից մեկը:

Հետազոտության նպատակը և խնդիրները: Արձաձվող պրոբլեմների արդիականությունից ելնելով՝ ներկայացվող հետազոտության հիմքում նպատակ է դրվել հայտնաբերել, ուսումնասիրել և բժշկական պրակտիկա ներդնել դեղաքսուքներ, որոնք լիովին կարող են վերականգնել մաշկային հյուսվածքները՝ իրենց հատուկ կառուցվածքային էլեմենտներով հատկապես, ջերմային այրվածքների առկայության պայմաններում: Այսպիսի դեղաքսուք կարող է հանդիսանալ ՆՕՔԻ-ում սինթեզված կիսափնթետիկ հակաբիոտիկ **Ֆեցիլինի** հիմքի վրա ստացված քսուքը:

Նշված նպատակին հասնելու համար առաջադրվել են հետևյալ խնդիրները՝

- Որոնել, հետազոտել և ստանալ նոր դեղամիջոց, որի բաղադրության մեջ որպես ակտիվ նյութ պետք է մտնի հակաբակտերիալ, հակաբորբոքային և այրվածքային վերքերը վերականգնող հատկություններ ունեցող Ֆեցիլին քիմիական միացությունը՝ 5%-ի չափով և հայտնի տեղային անեսթետիկ Անեսթեզին դեղամիջոցը, նույնպես 5%-ի չափով («Դերմաֆեն»):
- Ստանալ Դերմաֆենի հիդրոֆոբ քսուքի և հիդրոֆիլ նրբաքսուքի դեղաձևերը, պարզելու համար նրանց արդյունավետությունը այրվածքային վերքերի բուժման համար:

- Այրվածքային վերքերի լավացման տարբեր ժամանակահատվածներում գնահատել վերականգնողական պրոցեսների դինամիկան ստուգիչ, Լևոմեկոլ քսուքի և Սինտոմիցին նրբամածուկի ազդեցության պայմաններում՝ իրականացնելով համեմատական վերլուծություն նոր դեղաքսուք «Դերմաֆեն»-ի հետ՝ գնահատելու համար դեղաքսուքների արդյունավետությունը:
- Փորձարկվող դեղանյութերի էֆեկտիվությունը գնահատել այրվածքային վերքերի բջջաբանական, մաշկային հյուսվածքների մակրոսկոպիական, ընդհանուր մորֆոլոգիական, հիստոքիմիական և մորֆոմետրիական հետազոտություններով:

Աշխատանքի գիտական նորոյթը: Ուսումնասիրվել և հայտնաբերվել են «Դերմաֆեն» դեղաքսուքների մաշկային այրվածքները վերականգնելու հատկությունները, որոնք էապես գերազանցում են իրենց նմանակներին:

Իրականացված ընդհանուր մորֆոլոգիական և մորֆոմետրիական հետազոտությունները ցույց են տվել, որ Դերմաֆեն դեղաքսուքների ազդեցության պայմաններում կրճատվում են վերքի լավացման փուլերի ժամանակահատվածները, ավարտվելով մաշկային հյուսվածքի լիարժեք ռեգեներացիայով:

Ասվածին նպաստում է նաև այն փաստը, որ հայտարկվող դեղաքսուքի բաղադրության մեջ մտնող 6-(-1-ֆենիլցիկլոպենտիլ-1-կարբամիդա)-պինիցիլինի նատրումական աղի բյուրեղափոխատն (Ֆեցիլին) ունի արտահայտված հակամանրէային ակտիվություն՝ կարողանում է ճնշել մի շարք ինֆեկցիոն հիվանդություններ [ՀՀ արտոնագիր 389, 1997թ], ինչպես նաև մաշկային այրվածքների և զանազան վնասվածքների պայմաններում Ֆեցիլինի 5% դեղաքսուքը ունի արտահայտված վերականգնող հատկություններ [ՀՀ արտոնագիր №2526A]:

Նկատի ունենալով այրվածքային ցավերի սպեցիֆիկությունը՝ նոր ստացված դեղաքսուքների մեջ ներմուծվել է տեղային անզգայացնող դեղանյութ «Անեսթեզինը», որը զգալիորեն նվազեցնում է այրվածքային վերքերի ցավային գրգիռները:

Աշխատանքի գիտագործնական նշանակությունը: «Դերմաֆեն»-ի այրվածքային վերքերը բուժելու արտահայտված հատկությունների շնորհիվ, այն կարող է կիրառվել բժշկության մեջ բուժելու համար տարբեր աստիճանի և ծագում ունեցող այրվածքային վերքեր, ինչպես նաև մաշկային այլ զանազան վնասվածքներ:

Մաշկային վնասվածքները բուժելիս չի պահանջվում օգտագործել լրացուցիչ դեղամիջոցներ, այդ թվում նաև այլ հակաբակտերիալ և ցավազրկող դեղանյութեր: Բացի այդ հարկ է նշել, որ ակտիվ բաղադրանյութը՝ ունենալով արտահայտված վերականգնող հատկություններ, չունի կողմնակի ազդեցություններ, անվնաս է և չի առաջացնում տեղային գրգռողական ռեակցիաներ, ինչը ըստ մեզ թույլ կտա համապատասխան նախակլինիկական և կլինիկական հետազոտություններից հետո ներդնել այն դեղարտադրման ոլորտ:

Աշխատանքի նախնական քննարկումները: Աշխատանքի արդյունքները զեկուցվել են Երիտասարդ քիմիկոսների II Միջազգային գիտաժողովում «Քիմիան Այսօր» (2nd International Conference of Young Chemists «Chemistry today», Tbilisi, 2012), Հայկական Քիմիական Ընկերության III գիտաժողովում (III научная конференция Армянского химического общества, Ереван, 2012г.), Երիտասարդ գիտնականների III Միջազգային գիտաժողով «Երկխոսություններ գիտության մասին» (3rd International Scientific

Conference on “Dialogues on Sciences”, Yerevan, 2015) և Երիտասարդ գիտնականների Միջազգային գիտաժողով «Բնագիտության նոր միտումները» (International young scientists conference “ New trends in life science”, Yerevan, 2016): Ատենախոսության նախնական փորձաքննությունը կայացել է ՀՀ ԳԱԱ ՕԴՔԳՏԿ-ի գիտական խորհուրդում:

Հրապարակումներ: Ատենախոսության թեմայով տպագրվել է 11 աշխատանք՝ հայրենական և արտասահմանյան գիտական պարբերականներում:

Ատենախոսության կառուցվածքը: Ատենախոսությունը ներկայացված է հայերենով, շարադրված նյութի ծավալը կազմում է 145 համակարգչային տպագիր էջ, բաղկացած է ներածությունից, երեք գլուխներից (գրական ակնարկ, հետազոտությունների նյութեր և մեթոդներ, հետազոտությունների արդյունքներ և քննարկում), եզրակացությունից, գրականության ցանկից, որը ներառել է 223 սկզբնաղբյուր: Աշխատանքում ներկայացված է 28 նկար, 4 աղյուսակ և 5 գծապատկեր:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՆՅՈՒԹԵՐ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐ

Հետազոտությունների իրականացման համար սինթեզվել է “Դերմաֆեն” քսուքի և նրբաքսուքի ակտիվ բաղադրանյութ հանդիսանող “Ֆեցիլինը”, որը իրենից ներկայացնում է 6-(1-ֆենիլցիկլապենտիլ-1-կարբամիդա)-պենիցիլինի Na-ական աղի բյուրեղահիդրատը ($C_{20}H_{23}N_2NaO_4S \times 3H_2O$) [Мнджоян А. Л. и др. 1974]: Նկատի ունենալով այրվածքային վերքերի ցավային սպեցիֆիկությունը՝ հայտարկվող դեղաքսուքների կազմի մեջ մտցվել է տեղային անզգայացնող Անեսթեզինը ($C_9H_{11}NO_2$): Նախօրոք պատրաստվել են քսուքի և նրբաքսուքի հիմքերը, ապա այդ զանգվածների մեջ ներմուծվել են Ֆեցիլինը և Անեսթեզինը՝ ստանալով դեղաքսուքների 5%-ոց ձևերը:

Հետազոտությունների իրականացման համար օգտագործվել են 180–200գ Wistar ոչ ազգակցական սպիտակ առնետներ: Այրվածքների մոդելավորման նպատակով նեմբուտալային անզգայացման պայմաններում (40մգ/կգ ներորովայնային ներարկում) առնետների հետին ազդրակողային հատվածներից հեռացվել է մազաձածկույթը և 5սմ^2 մակերեսով մետաղյա տաք թիթեղը $70 \pm 2^\circ\text{C}$ -ում 5-7 վրկ. տևողությամբ ամուր սեղմվել է մաշկին՝ առաջացնելով II աստիճանի խորը դերմալ այրվածքներ (IIIA) [Moritz A, Henriquez, FC. 1947, Giavonni M.L., et al, 2012, Парамонов Б.А., и др., 2000]:

Փորձարկվող կենդանիները պատահական սկզբունքով բաժանվել են 6 խմբերի՝ 1. Ստուգիչ խումբ՝ ջերմային այրվածքներով կենդանիներ; 2. Համեմատական խումբ՝ ջերմային այրվածքներով կենդանիներ, բուժված Լևոմեկոլ քսուքով; 3. Համեմատական խումբ՝ կենդանիներ բուժված Սինտոմիցին նրբամածուկով; 4. Փորձնական խումբ՝ կենդանիներ, բուժված Դերմաֆեն քսուքով; 5. Փորձնական խումբ՝ կենդանիներ, բուժված Դերմաֆեն նրբաքսուքով; 6. Ինտակտ խումբ: Այրվածքային փորձարարական վերքերը 28 օր անընդմեջ մշակվել են համապատասխան հայտարկվող դեղաքսուքներով: Բոլոր խմբերի կենդանիների մոտ վնասվածքների վերականգնման դինամիկան ուսումնասիրվել է հետազոտությունների 3–րդ, 7–րդ, 15–րդ, 21–րդ և 28–րդ օրերին:

Մակրոսկոպիկ և չափագրական հետազոտությունները վիզուալ նկարագրվել և նկարահանվել են թվային տեսախցիկով: Այրվածքային վերքերի մակերեսները չափվել

են AxioVision LE 4.8.2 SP3 ծրագրի միջոցով և հիմք ընդունելով սկզբնական օրվա մակերեսը՝ հաջորդիվ օրերին հաշվարկվել է վնասված տեղամասի տոկոսը:

Հիստոպաթոլոգիական հետազոտություններ իրականացնելու համար փորձի համապատասխան օրերին յուրաքանչյուր խմբից 5 կենդանի ենթարկվել է աֆտանագիայի, որից հետո այրվածքային վերքերի տեղամասերից վերցվել են մաշկի նմուշներ և ֆիքսվել են 10% բուֆերացված ֆորմալինում: Ստացված 3-5μ հաստությամբ պարաֆինային կտրվածքները ներկվել են հեմատոքսիլին էոզինով: Մաշկի վնասված հյուսվածքների վերականգման դինամիկան գնահատվել է ընդհանուր մորֆոլոգիական պարամետրերով, որոնք են նեկրոզի առկայություն, բորբոքում, անգիոգենեզ, կոլագենի ձևավորում և էպիթելիզացիա:

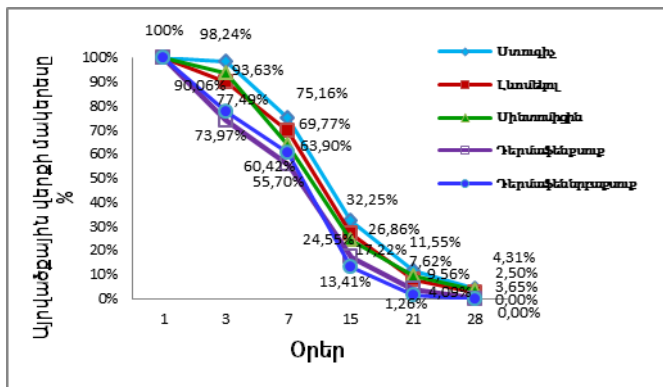
Բջջաբանական հետազոտությունները իրականացվել են ըստ Ռոմանովսկի-Գիմզայի մեթոդի: Մորֆոմետրիական հետազոտությունները ուսումնասիրվել են Մասսոնի եռաբլում եղանակով, որտեղ փորձերի 7-րդ օրվանից նմուշների 5 կամայական դաշտերից ստացվել են 400× խոշորացմամբ RGB նկարներ: Կոլագենի սինթեզման դինամիկան որոշվել է ImageJ ծրագրի Threshold Colour Plugin-ով, որի միջոցով իրականացվել է գույների կլաստերային սեգմենտացիա և չափվել է կոլագենային թելերի մակերեսը: Միննոյն ծրագրի Cell Counter Plugin-ի օգնությամբ հաշվվել է նմուշներում առկա բորբոքային բջիջների և ֆիբրոբլաստների քանակը: Էպիթելիզացիայի քանակական դինամիկան գնահատելու համար ստացվել են նաև 125× խոշորացմամբ նկարներ, այնուհետև AxioVision LE 4.8.2 SP3 ծրագրի միջոցով չափվել է էպիդերմիսի հաստությունը:

Տվյալների ստատիստիկ անալիզը իրականացվել է IBM SPSS Statistics 22.0.0.0 ծրագրի միջոցով: Բոլոր թվային տվյալները արտահայտված են որպես միջին $\pm$ ստանդարտ շեղում (SD): Տվյալների ստատիստիկ անալիզը իրականացվել է one-way ANOVA-ի միջոցով, ինչին հաջորդել է Բոնֆերրոնիի պոստֆակտում թեստը (post hoc test):

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

Մակրոսկոպիկ և չափագրական հետազոտություններ: Վիզուալ հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ ջերմային այրվածքների 3-րդ օրվանից սկսած կենդանիների բոլոր խմբերի մոտ դիտվում են ցայտուն արտահայտված սահմաններով և հաստ դարչնագույն կեղևով այրվածքային վերքեր: Չափագրական հետազոտությունների 3-րդ օրը Դերմաֆենով մշակված խմբերում համեմատած ստուգիչ խմբի հետ, տեղի են ունենում այրվածքային մակերեսների աննշան փոքրացման երևույթներ ($p < 0,05$) (գծ. 1), իսկ Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին խբերում գրեթե տարբերություն չի գրանցվում: Նմանատիպ պատկեր է գրանցվում հետազոտությունների 7-րդ օրը:

Հետազոտությունների 15-րդ օրը Դերմաֆեն դեղաքսուքների ազդեցության պայմաններում, տեղի են ունենում վերքի վերականգնման ակտիվ պրոցեսներ: Այս դեպքում վնասված տեղամասերում դիտվում է ակտիվ էպիթելիզացիայի երևույթներ, գրանուլյացիոն հյուսվածքի ձևավորմամբ: Չափագրական հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ համեմատած ստուգիչ խմբի կենդանիների այրվածքային մակերեսների՝ Դերմաֆեն նրբաքսուքով և քսուքով բուժված կենդանիների այրվածքային մակերեսները զգալիորեն կրճատվել են ($p < 0,01$) (գծ. 1):

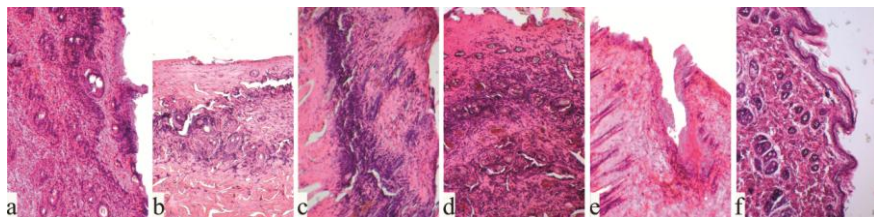


Գծապատկեր 1. Այրվածքային վերքերի մակերեսի փոփոխման դինամիկան փորձի պայմաններում (%)

Հետազոտությունների 21-րդ օրը Դերմաֆեն քսուրների ազդեցության տակ վերքային վնասվածքները գրեթե չեն հայտնաբերվում, իսկ կեղևը լիովին բացակայում է: Ստացված չափագրական հետազոտությունները վկայում են, որ Դերմաֆեն դեղաքսուրների ազդեցության տակ տեղի է ունենում վերքի մակերեսի զգալի նվազում ($p < 0,001$) (գծ. 1): Հետաքրքրական է նշել, որ Դերմաֆեն նրբաքսուրով բուժված կենդանիների մոտ տեսանելի ռեգեներացիոն պրոցեսները ավարտվում են հետազոտությունների 23-րդ օրը, իսկ քսուրի դեպքում՝ այրվածքների առաջացումից 27 օր հետո, ինչը չի գրանցվում փորձնական մյուս խմբերի մոտ:

Հետազոտությունների 28-րդ օրը Դերմաֆեն քսուրով և նրբաքսուրով բուժված կենդանիների վնասված մաշկային հյուսվածքներում ռեգեներացիոն պրոցեսները լիովին ավարտվում են մաշկի մազաձածկույթի ամբողջական վերականգնմամբ, որը չի գրանցվում ստուգիչ, Լևոմեյոլով և Սինտոմիցինով մշակված կենդանիների մոտ (գծ. 1):

Հյուսվածքաբանական, հիստոքիմիական մորֆոմետրիական և բջջաբանական հետազոտություններ: Ընդհանուր մորֆոլոգիական հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ այրվածքների 3-րդ օրը բոլոր խմբերի կենդանիների մոտ նկատվում է իդենտիկ հյուսվածքաբանական պատկեր, որտեղ ինչպես էպիդերմիսի, այնպես էլ դերմայի բոլոր շերտերը և հյուսվածքային էլեմենտները ենթարկվել են բազմաթիվ ախտաբանական փոփոխությունների:

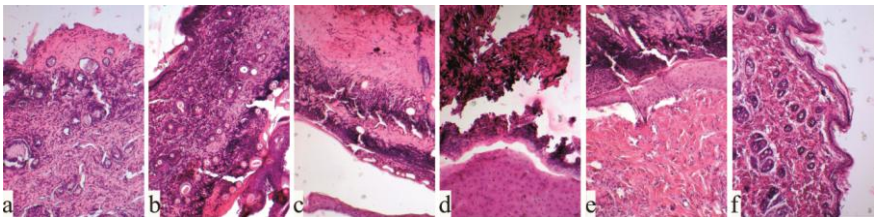


Նկար 1. Մաշկի միկրոսկոպիական նկար: Փորձի 3-րդ օրը.

- a) Ստուգիչ b) Լևոմեյոլ c) Սինտոմիցին d) Դերմաֆեն քսուր e) Դերմաֆեն նրբաքսուր
f) Ինտակտ; Ներկում՝ հեմատոքսիլին-էոզինով, խոշորացում՝ 125×

Փորձարարական խմբերի բոլոր կենդանիների մաշկային հյուսվածքներում հայտնաբերվում են կոագուլյացիոն նեկրոզավորման տարածուն օջախներ (նկ.1a,b,c,d,e): Հետազոտվող միկրոդաշտերում դոմինանտում են սուր բորբոքային ինֆիլտրատները, որոնք հիմնականում կազմված են նեյտրոֆիլներից:

Այրվածքային վնասվածքների 7-րդ օրը ստուգիչ, Լևոմեկոլով և Սինտոմիցինով բուժված կենդանիների մոտ դեռևս դոմինանտում են ծավալուն բորբոքային երևույթները՝ մեծ քանակությամբ նեյտրոֆիլային ինֆիլտրացիայով: Հայտնաբերվում են նեկրոզավորված հյուսվածքի և նոր ձևավորվող հյուսվածքի միջև դեմարկացիոն տեղամասեր: Լևոմեկոլ, և հատկապես Սինտոմիցին խմբերի մոտ դերմալ հյուսվածքներում հայտնաբերվում են սկզբնական անգիոգենեզի, ֆիբրոբլաստների միգրացիայի և վաղ գրանուլյացիոն հյուսվածքի ձևավորման պրոցեսներ (նկ.2a,b,c): Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժված կենդանիների մոտ, հետազոտությունների տվյալ օրը առկա է նեկրոզավորված հյուսվածքի գրեթե ամբողջական տարանջատում: Տեղի է ունենում ակտիվ էպիթելիալացիա՝ կերատինոցիտների ակտիվ պրոլիֆերացիայով: Դերմալ հյուսվածքում ընթանում են վաղ գրանուլյացիոն պրոցեսներ՝ անգիոգենեզ և ֆիբրոբլաստների միգրացիա, մատրիքսային էլեմենտների նախնական սինթեզով: Ի տարբերություն ստուգիչ, Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին խմբերի այս խմբերում սուր բորբոքային պրոցեսները գրեթե բացակայում են (նկ.2d,e):



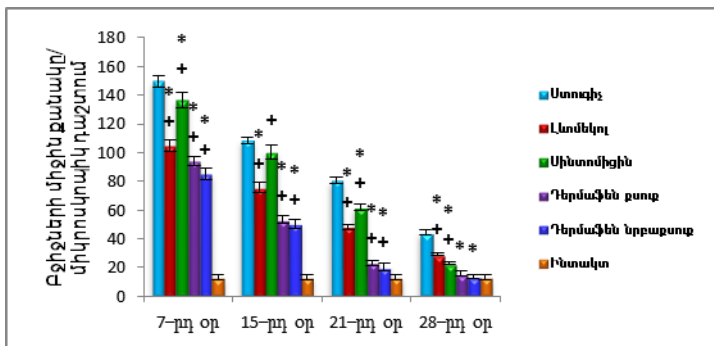
Նկար 2. Մաշկի միկրոսկոպիական նկար: Փորձի 7-րդ օրը.

a) Ստուգիչ b) Լևոմեկոլ c) Սինտոմիցին d) Դերմաֆեն քսուք e) Դերմաֆեն նրբաքսուք f) Ինտակտ; Ներկում՝ հեմատոքսիլին-էոզինով, խոշորացում՝ 125×

Բջջաբանական հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ ստուգիչ, Լևոմեկոլ, Սինտոմիցին խմբերի կենդանիներից վերցված քսուքներում առկա են մեծ քանակությամբ նեյտրոֆիլներ: Հայտնաբերվում են քիչ քանակությամբ մոնոնուկլեար բջիջներ, որոնք հիմնականում մակրոֆագերն են: Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժված կենդանիների բջջաբանական նմուշներում նեյտրոֆիլների քանակությունը համեմատած մնացած խմբերին նվազել է, որտեղ նրանց մեծ մասը լիզիսի է ենթարկվել: Երկու խմբերում էլ նկատվում է մակրոֆագերի քանակության բարձրացման տենդենցիա:

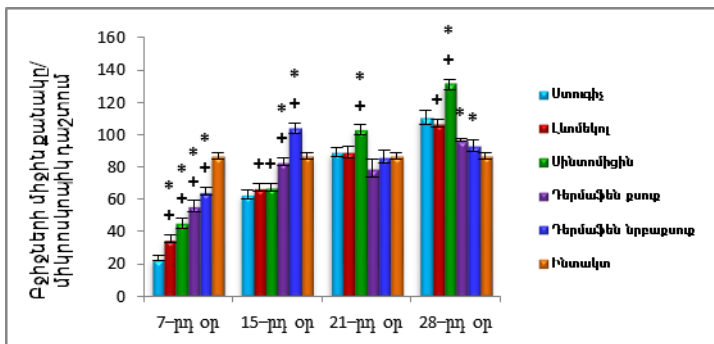
Բորբոքային բջիջների մորֆոմետրիական հաշվարկները ցույց են տալիս, որ փորձի 7-րդ օրը ստուգիչ, Լևոմեկոլով և Սինտոմիցինով բուժված կենդանիների մոտ բորբոքային բջիջների քանակությունը բավականին բարձր է, ինչը կազմում է $149,6 \pm 3,975$, $104,8 \pm 3,962$ և $137 \pm 5,339$ բջիջ մեկ միկրոսկոպիկ դաշտում համապատասխանաբար: Այս ցուցանիշները համաեմատաբար ցածր են Դերմաֆեն քսուքով և նրբաքսուքով բուժված կենդանիների նմուշներում՝ կազմելով $94,2 \pm 2,775$ և

85±4,183 բջիջ ($p<0,001$) (զծ.2), ինչը վկայում է դեղաքսուքի բորբոքային պրոցեսները ճնշելու ընդունակության մասին:

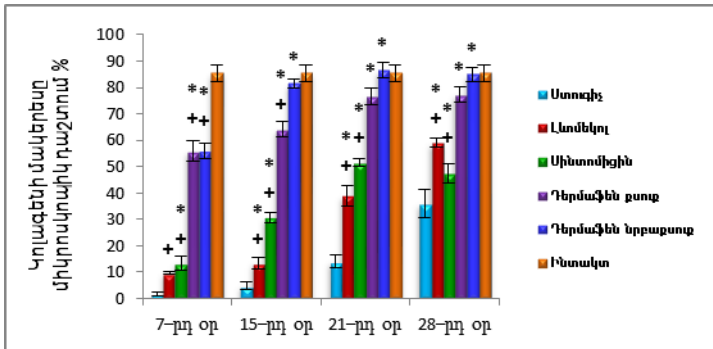


Գծապատկեր 2: Բորբոքային բջիջների քանակը այրվածքային վերքերի լավացման դինամիկայում: Թվային տվյալները արտահայտված են որպես միջին ± SD; * $p<0,001$ համեմատած ստուգիչի հետ, + $p<0,001$ համեմատած ինտակտի հետ:

Ֆիբրոբլաստների քանակության հաշվարկները ցույց տվեցին, որ ի տարբերություն ստուգիչ խմբի ցուցանիշների, փորձարարական խմբերում տեղի են ունենում ֆիբրոբլաստների ակտիվ միգրացիայի երևույթներ ($p<0,001$): Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժված կենդանիների մոտ ֆիբրոբլաստների քանակությունը կազմում է 64,8±2,588 և 55,8±3,493 բջիջ միկրոսկոպիկ դաշտում՝ զգալիորեն գերազանցելով Լևոմեկոլի և Սինտոմիցինի ցուցանիշներին՝ որոնք են 35,2±2,387 և 45,2±3,271 բջիջ համապատասխանաբար: Նույն ժամանակահատվածում ստուգիչ խմբի կենդանիների ֆիբրոբլաստների քանակը հասնում են միջինում 23,4±1,517 բջիջ (զծ.3):

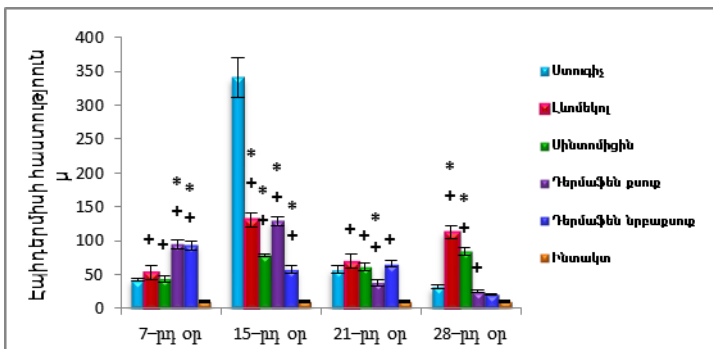


Գծապատկեր 3: Ֆիբրոբլաստների քանակը այրվածքային վերքերի լավացման դինամիկայում: Թվային տվյալները արտահայտված են որպես միջին ± SD; * $p<0,001$ համեմատած ստուգիչի հետ, + $p<0,001$ համեմատած ինտակտի հետ:



Գծապատկեր 4: Կոլագենի ձևավորումը այրվածքային վերքերի լավացման դինամիկայում: Թվային տվյալները արտահայտված են որպես միջին $\pm$ SD; * $p < 0,001$ համեմատած ստուգիչի հետ, + $p < 0,001$ համեմատած ինտակտի հետ:

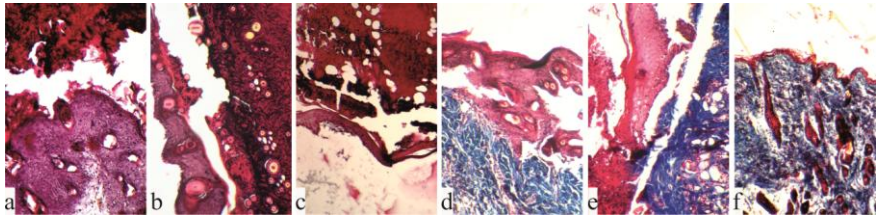
Կոլագենի մորֆոմետրիական չափումները ցույց տվեցին, որ Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժված կենդանիների մոտ կոլագենային թելերի սինթեզը բավականին ակտիվ է և կազմում է $55,868 \pm 4,013\%$ և $55,834 \pm 3,056\%$ համապատասխանաբար ($p < 0,001$), իսկ Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին դեղաքսուքներով բուժված կենդանիների դերմայում հայտնաբերվում են կոլագենային թելերի թույլ արտահայտված սինթեզ՝ կազմելով $9,68 \pm 0,58\%$ և $13,551 \pm 2,678\%$ համապատասխանաբար: Ստուգիչ խմբում կոլագենային թելերի սինթեզ գրեթե տեղի չի ունենում՝ կազմելով ընդամենը $1,71 \pm 0,646\%$ (գծ.4): Կոլագենային թելերի ակտիվ սինթեզը Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժված խմբերում ամենայն հավանականությամբ պայմանավորված է ֆիբրոբլաստների բարձր քանակով: Պետք է նշել, որ դեղաքսուքներով բուժվող խմբերի մաշկային հյուսվածքներում նոր սինթեզվող կոլագենային թելերը դեռևս անկանոն են դասավորված և հանդես են գալիս ցրված օջախների տեսքով:



Գծապատկեր 5: Էպիթելիալ շերտի պրոցեսների ընթացքը այրվածքային վերքերի լավացման դինամիկայում: Թվային տվյալները արտահայտված են որպես միջին $\pm$ SD; * $p < 0,001$ համեմատած ստուգիչի հետ, + $p < 0,001$ համեմատած ինտակտի հետ:

Մաշկային հյուսվածքներում հայտնաբերվում են վաղ էպիթելիզացիայի պրոցեսներ: Բոլոր խմբերում տեղի են ունենում կերատինոցիտների ակտիվ միգրացիայի և պրոլիֆերացիայի երևույթներ, բերելով էպիդերմիսի նախնական ձևավորվորմանը, որը հիպերպլաստիկ է և նորմալից ավելի հաստ: Նոր ձևավորվող էպիդերմիսում առկա են միայն բազալ և փշավոր շերտերը, իսկ արտաքինից այն հիմնականում դեռևս միացած է նեկրոզված հյուսվածքին: Էպիդերմիսը դեռևս ամուր կապված չէ դերմային և որոշ դեպքերում այն հեշտությամբ տարանջատվում է նրանից (նկ.3a,b,c,d,e):

Վերականգնվող էպիդերմիսի մորֆոմետրիական անալիզը ցույց է տալիս, որ ստուգիչ, Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին խմբերում էպիդերմիսի քանակական տվյալները միմյանցից գրեթե չեն տարբերվում և կազմում են $42,76 \pm 1,924 \mu$, $52,86 \pm 9,835 \mu$ և $43,76 \pm 5,075 \mu$ համապատասխանաբար: Մինչդեռ Դերմաֆեն քսուքով և նրբաքսուքով բուժված կենդանիների էպիդերմիսը ավելի հաստացած է ($p < 0,001$), շնորհիվ այստեղ ընթացող պրոլիֆերացիոն պրոցեսների՝ կազմելով $94,43 \pm 3,517 \mu$ և $92,41 \pm 5,961 \mu$ համապատասխանաբար (զծ.5):



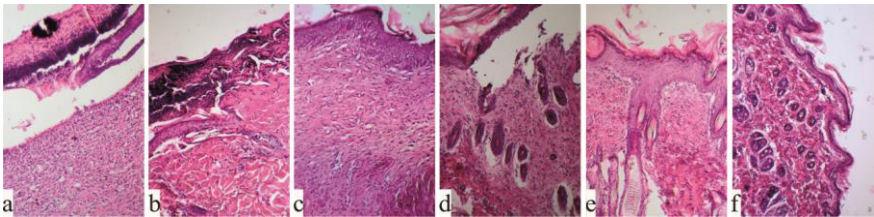
Նկար 3. Մաշկի միկրոսկոպիական նկար: Փորձի 7-րդ օրը.

a) Ստուգիչ b) Լևոմեկոլ c) Սինտոմիցին d) Դերմաֆեն քսուք e) Դերմաֆեն նրբաքսուք f) Ինտակտ: Ներկում՝ Մասսոնի եռաքրոմ մեթոդով, խոշորացում՝ 125×

Փորձի 15-րդ օրը Դերմաֆեն դեղաքսուքների ազդեցության տակ տեղի են ունենում ուշ պրոլիֆերացիոն գործընթացներ՝ գրանուլյացիոն հյուսվածքի ձևավորմամբ: Նոր դեղաքսուքների ազդեցության պայմաններում ակտիվանում են նեկրոզված հյուսվածքների մաքրման գործընթացները՝ արդյունքում բերելով կոագուլացիոն նեկրոտիկ հյուսվածքի ամբողջովին շերտազատմանը: Բջջաբանական հետազոտություններից պարզվում է, որ Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժված կենդանիների մաշկային քսուքներում ի տարբերություն մնացած խմբերի՝ նեյտրոֆիլներ չեն հայտնաբերվում, իսկ գրանուլյացիոն հյուսվածքում բորբոքային բջիջներից գերակայում են մակրոֆագերը: Մորֆոմետրիական հետազոտությունները վկայում են, որ փորձի 15-րդ օրը Դերմաֆեն քսուքով և հատկապես նրբաքսուքով բուժված կենդանիների մոտ տեղի է ունենցել ֆիբրոբլաստների քանակության ակնառու աճ՝ հանգեցնելով կոլագենային թելերի մակարդակի նկատելի բարձացման, համեմատած ստուգիչի ($p < 0,001$): Այս խմբերում ֆիբրոբլաստների քանակությունը գերակայում է բորբոքային բջիջների նկատմամբ (զծ.2,3): Չնայած կոլագենային թելերի տոկոսային քանակությունը Դերմաֆեն նրբաքսուքի ազդեցության պայմաններում գրեթե հասնում է նորմային, սակայն հիստոքիմիական պատկերը ցույց է տալիս, որ դերման դեռևս կազմված է գրանուլյացիոն հյուսվածքից, որտեղ թելերը մանր են, քիչ հասունացած և որակապես դեռևս զիջում են նորմային (զծ.4):

Հետևաբար պետք է եզրակացնել, որ փորձարկվող նոր դեղաքսուքները ապահովում են բորբոքային պրոցեսների ավելի արագ ընթացքը, սկիզբ դնելով պրոլիֆերացիայի փուլի ավելի վաղ զարգացմանը: Լևոմեկոլ, Սինտոմիցին և ստուգիչ խմբերում հետազոտությունների նշված օրը սուր բորբոքային երևույթները դեռևս պահպանում են իրենց ինտենսիվությունը:

Այրվածքների 21-րդ օրվա ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ գրեթե բոլոր փորձնական խմբերում տեղի են ունենում ուշ պրոլիֆերատիվ պրոցեսներ և վաղ վերակազմավորման երևույթներ՝ ուղեկցվելով սպիի հասունացմամբ: Ստուգիչ և Լևոմեկոլ խմբի կենդանիների մոտ մորֆոլոգիական պատկերները ցույց են տալիս, որ այրվածքի կենտրոնական մասում առկա է տարանջատված նեկրոզավորված հյուսվածք, որտեղ դեռևս էպիթելիզացիայի պրոցեսներ չեն հայտնաբերվում: Ստուգիչ խմբի դերմայում գրանուլացիոն հյուսվածքը նոր է սկսել ձևավորվել և դեռևս ունի բավականին մեծ քանակությամբ մազանոթներ: Լևոմեկոլի և Սինտոմիցինի դեպքում առկա են գրանուլացիոն հյուսվածքի հասունացման երևույթներ՝ մազանոթները սկսել են փակվել կոլագենային թելերով (նկ.4a,b,c): Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժված մաշկային հյուսվածքներում բորբոքային-ինֆիլտրատիվ պրոցեսները իսպառ բացակայում են: Նկատվում են հյուսվածքի նախնական վերակազմավորման և սպիի հասունացման երևույթներ: Դերմայում հայտնաբերվում են գեղձային հյուսվածքի ակտիվ ընթացող պրոլիֆերացիայի և դիֆերենցացիայի երևույթներ (նկ.4d,e):



Նկար 4. Մաշկի միկրոսկոպիական նկար: Փորձի 21-րդ օրը.

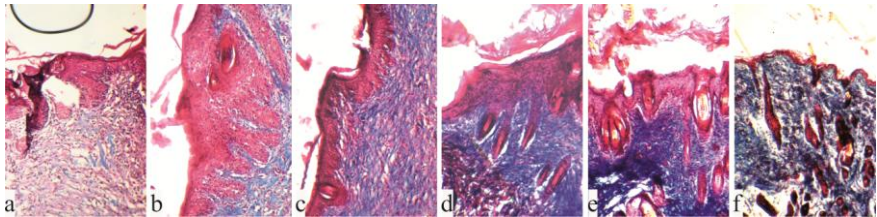
a) Ստուգիչ b) Լևոմեկոլ c) Սինտոմիցին d) Դերմաֆեն քսուք e) Դերմաֆեն նրբաքսուք f) Ինտակտ; Ներկում՝ հեմատոքսիլին-էոզինով, խոշորացում՝ 125×

Բջջաբանական հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ հետազոտվող բոլոր խմբերի բջջային քսուքներում առկա են մակրոֆագեր և լիմֆոցիտներ, որոնց քանակությունը ստուգիչ, Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին խմբերում միջին հաշվով մեկ միկրոսկոպիկ դաշտում կազմում է 3-4 բջիջ: Դերմաֆեն դեղաքսուքների ազդեցության պայմաններում բջջաբանական նմուշներում հայտնաբերվում են 1-2 իմունային բջիջներ հիմնականում մակրոֆագերի և լիմֆոցիտների տեսքով:

Մորֆոմետրական հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ համեմատած փորձի նախորդ ժամանակահատվածի, Ստուգիչ և Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին խմբերում տեղի է ունենում բորբոքային բջիջների քանակի նվազման և ֆիբրոբլաստների քանակի բարձրացման երևույթներ: Ի տարբերություն այս խմբերի Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժման դեպքում նկատվում է ինչպես բորբոքային բջիջների, այնպես էլ ֆիբրոբլաստների գումարային քանակի անկում (գծ.2,3): Սա բացատրվում է նրանով, որ Դերմաֆեն քսուքների ազդեցության տակ հյուսվածքների վերականգման պրոցեսները անցել են վերակազմավորման փուլի, որտեղ տեղի է ունենում բջիջների

ապոպտոզ, ինչի արդյունքում մակրոֆագերի և ֆիբրոբլաստների քանակությունը նվազում է:

Փորձի 21-րդ օրը ստուգիչ խմբում կոլագենային թելերը դեռևս բարակ են և սակավ, իսկ Լևոմեկոլի ազդեցության տակ թեն թելերի քանակը գերազանցում է ստուգիչին ($p < 0,001$) (զծ.4), սակայն մորֆոլոգիապես իդենտիկ է նրան (նկ.5 a,b): Ի դեպ Սինտոմիցինով բուժված կենդանիների դերմայում հայտնաբերվում է կոլագենային թելերի դիֆուզ դասավորվածություն, որոշակի տեղամասերում ձևավորված են երկարավուն կոլագենային թելեր: Քանակապես այս խմբի ցուցանիշը նույնպես գերազանցում է ստուգիչին ($p < 0,001$) (զծ.4), սակայն դերմայում դեռևս գերակայում է ուշ գրանուլյացիոն հյուսվածքը (նկ.5c): Դերմաֆեն քսուքի և նրբաքսուքի ազդեցության պայմաններում դերմայում ակտիվանում են կոլագենի հասունացման երևույթները, թելերը սկսվում են փոխկապակցվել իրար հետ՝ ձեռք բերելով որոշակի օրիենտացիա (նկ.5d,e), քանակապես գերազանցելով մնացած խմբերի ցուցանիշներին ($p < 0,001$) (զծ.4):



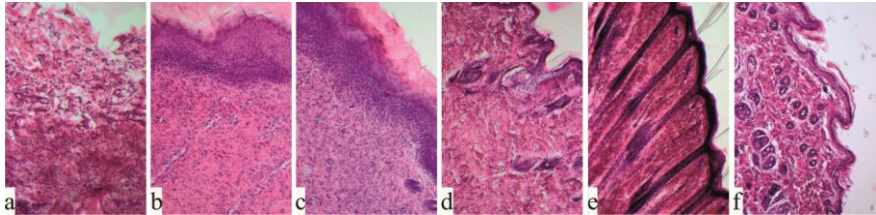
Նկար 5. Մաշկի միկրոսկոպիական նկար: Փորձի 21-րդ օրը.

a) Ստուգիչ b) Լևոմեկոլ c) Սինտոմիցին d) Դերմաֆեն քսուք e) Դերմաֆեն նրբաքսուք f) Ինտակտ: Ներկում՝ Մասսոնի եռաշրուն մեթոդով, խոշորացում՝ 125×

Հետազոտությունների նշված օրը ակտիվանում են էպիթելիզացիայի պրոցեսները: Ստուգիչ խմբի կենդանիների մոտ նոր զարգացող էպիդերմիսում նկատվում են շերտերի ձևավորման երևույթներ (նկ.5a): Չնայած որ, Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին խմբերի կենդանիների էպիդերմիսի չափերը իդենտիկ են ստուգիչին, սակայն այստեղ առկա են չափավոր գեղձային դիֆերենցացիայի երևույթներ (նկ.5b,c): Դերմաֆեն նրբաքսուքի և քսուքի ազդեցության տակ գեղձային հյուսվածքի պրոլիֆերացիան առավել ակտիվ է, որն արտահայտվում է մազային ֆոլիկուլների դիֆերենցացիայով, որոնք դերմայի բազալ մասից աճում են դեպի էպիդերմիսի վերին շերտեր՝ իր հերթին ապահովելով մաշկային հյուսվածքների ակտիվ վերակազմավորման պրոցեսները (նկ.5d,e): Կարևոր է նշել, որ հետազոտության տվյալ օրը նրբաքսուքի էպիդերմիսը հիպերպլաստիկ է, նրա հաստությունը քանակապես չի զիջում ստուգիչին, իսկ քսուքի պարագայում էպիդերմիսի հաստությունը կրճատվել է, քանակապես զիջելով ստուգիչ խմբի ցուցանիշներին ($p < 0,001$) (զծ.5):

Այրվածքների 28-րդ օրը ստուգիչ, Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին խմբերում ռեգեներացիոն պրոցեսները դեռևս չեն ավարտվել, մաշկի էպիթելիզացիան դեռևս շարունակվում է և առկա են տեղամասեր, որտեղ մասամբ բացակայում է էպիդերմիսը: Դերմայում հայտնաբերվում են գրանուլյացիոն հյուսվածքի տարածուն տեղամասեր: Գեղձային դիֆերենցացիան լավ արտահայտված է հիմնականում առողջացող հյուսվածքի պերիֆերիկ մասերում (նկ.6a,b,c): Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժված կենդանիների

մոտ ռեգեներացիոն պրոցեսները ավարտվել են հյուսվածքների լիարժեք վերակազմավորմամբ: Նրանց ազդեցության տակ տեղի է ունեցել վերքի ամբողջական էպիթելիզացիա և գեղձային հյուսվածքների դիֆերենցացիա: Դերմայում առկա են բազմաթիվ մազային ֆոլիկուլներ, լավ զարգացած ճարպագեղձեր և քրտնագեղձեր (նկ.6d,e):



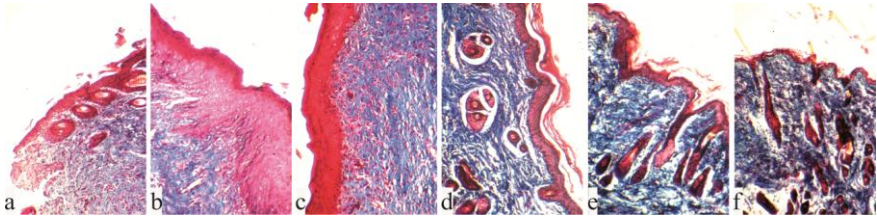
Նկար 6. Մաշկի միկրոսկոպիական նկար: Փորձի 28-րդ օրը.

a) Ստուգիչ b) Լևոմեկոլ c) Սինտոմիցին d) Դերմաֆեն քսուր e) Դերմաֆեն նրբաքսուր f) Ինտակտ; Ներկում՝ հեմատոքսիլին-էոզինով, խոշորացում՝ 125×

Մորֆոմետրիական հաշվարկները ցույց են տալիս, որ ստուգիչ խմբի կենդանիների մոտ բորբոքային բջիջների մակարդակը նվազել է՝ կազմելով $44,4 \pm 1,949$ բջիջ: Մինչդեռ Լևոմեկոլով և Սինտոմիցինով բուժված կենդանիների մաշկային հյուսվածքներում բորբոքային բջիջները կազմում են $29,4 \pm 1,14$ և $23 \pm 1,225$ բջիջ միկրոսկոպիկ դաշտում համապատասխանաբար ($p < 0,001$), որը զգալիորեն գերազանցում է նորմային (զծ.2): Հակառակ բորբոքային բջիջների քանակին, ստուգիչ, Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին խմբերի կենդանիների մաշկային հյուսվածքներում ֆիբրոբլաստների քանակը աճել է՝ հասնելով $110,8 \pm 4,266$, $107 \pm 2,55$ և $131 \pm 3,391$ բջիջ միկրոսկոպիկ դաշտում համապատասխանաբար, ինչը նույնպես զգալիորեն գերազանցում է նորմային ($86,8 \pm 1,789$ բջիջ) ($p < 0,001$) (զծ.3): Տվյալ ցուցանիշները վկայում են, որ այս խմբերում դեռևս ընթանում են ակտիվ պրոլիֆերատիվ պրոցեսներ: Դերմաֆեն քսուրի և նրբաքսուրի ազդեցության տակ բորբոքային բջիջների քանակությունը կազմում է $16 \pm 2,121$ և $13,6 \pm 1,517$ բջիջ միկրոսկոպիկ դաշտում համապատասխանաբար ($p < 0,001$)՝ գրեթե հասնելով նորմային ($13 \pm 1,871$ բջիջ) (զծ.2): Դրա հետ մեկտեղ ֆիբրոբլաստների քանակությունը նշված խմբերում նույնպես հասնում է նորմային՝ կազմելով $96,8 \pm 0,837$ և $93,4 \pm 3,435$ բջիջ միկրոսկոպիկ դաշտում համապատասխանաբար (զծ. 3):

Չնայած ֆիբրոբլաստների քանակության աճմանը, ստուգիչ խմբի մաշկային հյուսվածքում նկատվում է կոլագենային թելերի սինթեզման աննշան բարձրացում՝ հասնելով $35,907 \pm 5,292\%$ (զծ.4): Կոլագենային թելերը դեռևս բարակ են և չունեն նորմալ դերմային բնորոշ օրիենտացիա (նկ.7a): Լևոմեկոլի և Սինտոմիցինի ազդեցության պայմաններում կոլագենային թելերի մակարդակները թեև բարձր են ստուգիչից, սակայն դեռևս չեն հասել նորմային՝ կազմելով $59,13 \pm 1,14\%$ $47,307 \pm 3,675\%$ համապատասխանաբար ($p < 0,001$) (զծ.4): Լևոմեկոլի ազդեցության պայմաններում հանդիպում են մանր կոլագենային թելերով խրձեր: Սինտոմիցինի դեպքում նկատվում է III տիպի բարակ կոլագենային թելերի փոխակերպում I տիպի հաստ կոլագենով (նկ.7 b,c): Սրա հետ մեկտեղ, Դերմաֆեն դեղաքսուրներով բուժված կենդանիների մաշկը ամբողջովին վերակազմավորվել է: Դերմայում առկա են լավ հասունացած, նորմալ

սպիին բնորոշ կոլագենային թելեր, որտեղ գերակայում են I տիպի հաստ թելերը՝ զուգահեռ օրիենտացիայով (նկ.7 d,e): Կոլագենային թելերի քանակությունը քսուքի դեպքում կազմում է $77,266 \pm 2,799\%$, իսկ նրբաքսուքի դեպքում՝ $84,737 \pm 2,714\%$: Այս ցուցանիշները քիչ են տարբերվում նորմայից ($85,495 \pm 3,142\%$) (զծ. 4): Սա նույնպես վկայում է այն մասին, որ Դերմաֆեն դեղաքսուքների ազդեցության տակ տեղի է ունեցել դերմայի ամբողջական վերակազմավորման երևույթներ:



Նկար 7. Մաշկի միկրոսկոպիական նկար: Փորձի 28-րդ օրը.

a) Ստուգիչ b) Լևոմեկոլ c) Սինտոմիցին d) Դերմաֆեն քսուք e) Դերմաֆեն նրբաքսուք f) ինտակտ; Ներկում՝ Մասսոնի եռաշրուն մեթոդով, խոշորացում՝ $125\times$

Էպիդերմիսի մորֆոլոգիական ուսումնասիրություններից պարզվում է, որ ստուգիչ կենդանիների մոտ վնասվածքի կենտրոնական մասերում էպիթելիզացիայի պրոցեսները թույլ են արտահայտված, իսկ պերիֆերիայում նկատվում են վաղ պրոլիֆերացվող կերատինոցիտներ (նկ.7a): Էպիդերմիսի հաստությանը այստեղ կազմել է $31,82 \pm 3,096\mu$ (զծ.5): Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին դեղաքսուքների ազդեցության տակ էպիդերմիսում դեռևս ընթանում են ակտիվ հիպերպլաստիկ պրոցեսներ, իսկ կերատինոցիտների քանակը հատկապես շատ է բազալ շերտում (նկ.7b,c): Հիպերպլազիայի հաշվին այս խմբերում էպիդերմիսի հաստությունը կազմում է $112,45 \pm 9,570\mu$ և $83,56 \pm 5,915\mu$ (զծ. 5): Դերմաֆեն դեղաքսուքներով բուժված կենդանիների մաշկային հյուսվածքներում էպիթելիզացիոն պրոցեսները ամբողջովին ավարտվել են: Էպիդերմիսը մորֆոլոգիապես ունի ինտակտին մոտ կառուցվածք, որտեղ հստակ տարբերակվում են նրա բոլոր շերտերը, առկա են մազային ֆոլիկուլներ (նկ.7d,e): Դերմաֆեն քսուքի ազդեցության տակ էպիթելիզացիոն պրոցեսները մի փոքր ավելի ուշ են ավարտվել, որտեղ էպիդերմիսի հաստության ցուցանիշը հասել է $25,54 \pm 2,723\mu$, իսկ նրբաքսուքի դեպքում այն գրեթե հասել է նորմային՝ կազմելով $20,93 \pm 1,299\mu$, ինչը ստատիստիկորեն չի տարբերվում ինտակտից ($10,39 \pm 0,849\mu$) (զծ. 5):

Այսպիսով, այս ժամանակահատվածի մորֆոլոգիական և մորֆոմետրիական տվյալները նույնպես հաստատում են, որ Դերմաֆեն քսուքի և նրբաքսուքի ազդեցության տակ մաշկային հյուսվածքի վերականգնման պրոցեսները արագանում են՝ հանգեցնելով նրանց կառուցվածքային և բջջային էլեմենտների լիովին վերականգնմանը՝ հասնելով ինտակտ խմբի ցուցանիշներին:

Ընդհանրացնելով վերը ստացվածը, մենք փորձել ենք մեկ աղյուսակում գետեղել փորձի բոլոր օրերի ընդհանուր մորֆոլոգիական անալիզի որակական տվյալները, որոնք ցույց են տալիս Դերմաֆեն քսուքի և նրբաքսուքի առավելությունները հայտարարվող մնացած քսուքների նկատմամբ՝ փորձի բոլոր ժամանակահատվածներում (աղ.1):

**Աղյուսակ 1 Հյուսվածքաբանական պարամետրերի փոփոխությունները
այրվածքային վերքերի լավացման դինամիկայում**

	Օրեր	Նեկրոզներ	Բորբոքում	Անգիոզենեզ	Կոլագեն	Էպիթելիզացիա
Ստուգիչ	3-րդ օր	+	+	-	-	-
	7-րդ օր	+	+	+	+	+
	15-րդ օր	+	+	+	+	+
	21-րդ օր	+	+	+	+	+
	28-րդ օր	-	-	+	+	+
Լևոմեկոլ	3-րդ օր	+	+	-	-	-
	7-րդ օր	+	+	+	+	+
	15-րդ օր	+	+	+	+	+
	21-րդ օր	+	-	+	+	+
	28-րդ օր	-	-	+	+++	+
Սինտոմիցին	3-րդ օր	+	+	-	-	-
	7-րդ օր	+	+	+	+	+
	15-րդ օր	-	+	+	+	+
	21-րդ օր	-	-	+	+	+
	28-րդ օր	-	-	+	+	+
Դերմաֆեն քսուլ	3-րդ օր	+	+	-	-	-
	7-րդ օր	+	+	+	+	+
	15-րդ օր	-	+	+	+	+
	21-րդ օր	-	-	+	+	+
	28-րդ օր	-	-	+	+	+
Դերմաֆեն նրբաքսուլ	3-րդ օր	+	+	-	-	-
	7-րդ օր	+	+	+	+	+
	15-րդ օր	-	+	+	+	+
	21-րդ օր	-	-	+	+	+
	28-րդ օր	-	-	+	+	+

Պարամետրերը դասակարգվել են ըստ իրենց ինտենսիվության «-» պրոցեսի բացակայություն, «+» թույլ պրոցես, «++» չափավոր պրոցես, «+++» ինտենսիվ պրոցես, «++++» գերինտենսիվ պրոցես

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆ

1. «Դերմաֆեն» դեղաքսուքները ջերմային այրվածքների առկայության պայմաններում ցուցաբերում են ցայտուն արտահայտված մաշկային հյուսվածքները վերականգնելու հատկություն՝ զգալիորեն արագացնելով վերքի լավացման ընթացքը, նկատելիորեն գերազանցելով Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին դեղաքսուքներին:
2. Շնորհիվ դեղաքսուքներում առկա ակտիվ կոմպոնենտ Ֆեցիլինի հակաբակտերիալ հատկության, ինֆեկցիոն երևույթները կանխարգելվում են՝ բերելով բորոբոքային պրոցեսների ավելի արագ ավարտման, իրենց տեղը զիջելով պրոլիֆերատիվ պրոցեսներին:
3. Հյուսվածքաբանական, բջջաբանական և մորֆոմետրիական հետազոտությունները վկայում են, որ Դերմաֆեն դեղաքսուքների ազդեցության պայմաններում տեղի է ունենում ֆիբրոբլաստների վաղ միգրացիա՝ արդյունքում ակտիվացնելով նրանց կողմից կոլագենային թելերի սինթեզը, հանգեցնելով պրոլիֆերատիվ փուլի ժամանակահատվածի զգալի կրճատմանը:
4. Փորձարկվող դեղաքսուքները նպաստում են կերատինոցիտների արագ միգրացիայի և պրոլիֆերացիայի պրոցեսներին՝ ապահովելով վերքի կայուն և արագ էպիթելիզացիան, էպիդերմիսի հասունացումը և գեղձային հյուսվածքների ձևավորումը դերմայում: Դեղաքսուքները նպաստում են այրվածքային վերքերի արդյունավետ վերակազմավորմանը և լիակատար բուժմանը՝ գերազանցելով Լևոմեկոլ և Սինտոմիցին դեղաքսուքներին:
5. Դեղաքսուքները օժտված են այրվածքային վերքերի յուրահատուկ ցավային գրգիռները մեղմելու հատկությամբ, մաշկի վրա գրգռողական ազդեցություն չեն թողնում:
6. Իր արտահայտված վերականգնող հատկությունների շնորհիվ Դերմաֆեն դեղաքսուքը կարող է համալրել ջերմային այրվածքները բուժող դեղանյութերի շարքը: Այն կարող է օգտագործվել ինչպես բժշկական պրակտիկայում, այնպես էլ կենցաղում, որպես տարբեր աստիճանի այրվածքների և տարբեր ծագում ունեցող մաշկային վնասվածքների բուժման արդյունավետ միջոց:

ԱՏԵՆԱՆՈՍՈՒԹՅԱՆ ԹԵՄԱՅՈՎ ՏՊԱԳՐԱԾ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԻ ՑԱՆԿ

Հոդվածներ

1. Довлатян А.К., Арутюнян Р.С., Гаспарян Г.В., Булоян С.А. Исследование противовоспалительной активности цетилпиридиний пероксодисульфата в условиях экспериментального ожога. // Кровь. 2012; 2(14): с. 81-84.
2. Акопян К.А., Погосян Ю.М., Гаспарян Г.В., Булоян С.А. Исследование эффективности применения мази комбинированного действия “Юбивакс” при

лечении ожогов на модели экспериментальной ожоговой раны у крыс. // Вопросы теоретической и клинической медицины. 2015; 18(1): с. 56-59.

3. Булюян С.А. Действие мази Дермафен на регенераторные процессы кожи белых крыс после экспериментального термического ожога. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015; 10(2): с.268-272.
4. Акопян К.А., Погосян Ю.М., Гаспарян Г.В., Булюян С.А. Влияние мази “Юбивакс” на регенераторные процессы эпидермальной ткани белых крыс на модели экспериментальных кислотных ожогов. // Вопросы теоретической и клинической медицины. 2015; 18(6): с. 25-28.
5. Акопян К.А., Погосян Ю.М., Гаспарян Г.В., Булюян С.А., Мовсисян М.Р., Караханян С.А. Исследование репаративной активности мази «Юбивакс» на слизистой оболочке полости рта белых крыс, на модели экспериментальных щелочных и кислотных ожогов. // Вопросы теоретической и клинической медицины. 2016; 19(4): с. 36-41.
6. Buloyan S.A., Gasparyan H.V. Histopathological evaluation of wound healing property of Dermafen cream on experimental thermal skin tissue burn. // Blood and Cancer. 2016; 1(21): p. 43-48.
7. Овакимян С.С., Гаспарян Г.В., Овакимян С.С., Мелконян А.Г., Булюян С.А., Пагутян, Н.А. Действие некоторых лечебных мазей на изменения фракционного состава фосфолипидов и перекисное окисление липидов при термических ожогах. // Медицинская наука Армении. 2016; 56(4): с.70-75.

Նյութեր տպագրված միջազգային գիտաժողովներում

8. Sahakyan A., Buloyan S. Obtaining study of biological activities of chitosan layers with 1-vinylpirazol-4-carboxilic acids. // Proceedings of the 2nd International Conference of Young Chemists «Chemistry today», Tbilisi, Georgia, 2012, p. 61-62.
9. Булюян С.А., Гаспарян Г.В., Топузян В.О. Влияние Na⁺ производного 6-(1-фенилциклопентил-1-карбамид) пенициллина (фецилин) на репаративные процессы эпидермиса белых крыс после термического ожога. // III научная конференция Армянского химического общества. Ереван, РА. 2012, с. 56.
10. Buloyan S.A., Gasparyan H.V. Experimental studies of Dermafen in healing third degree burn wound in rats. // Proceedings of the 3rd International Scientific Conference on “Dialogues on Sciences”. Yerevan, RA, 2015, p. 81.
11. Buloyan S., Gasparyan H., Poghosyan A. Investigation of Dermafen cream wound healing effect on deep dermal burns in experiments. // Proceedings of the international young scientists conference “New trends in life science”, Biological journal of Armenia. 2016; 68, special issue. p.39-42.

Влияние мази и крема “Дермафен” на морфофункциональное состояние и регенеративную активность тканей при термических ожогах

Резюме

Ключевые слова: термический ожог, заживление ран, лекарственные мази, цитология, гистопатология

В практической медицине исследования статистических данных показали, что ожоги являются одним из самых распространенных форм травматизма. При ожоговых поражениях травмируется не только кожный покров и окружающие его ткани, а также развивается широкий спектр некробиотических и дистрофических изменений, вовлекая как центральный, так и периферический нервные системы.

В настоящее время для лечения ожогов применяются разные методы и препараты с различными терапевтическими эффектами. Известно, что при использовании одних препаратов ограничивается развитие патогенной микрофлоры, в других - усиливаются регенеративные процессы эпителиальных покровов кожи, а в некоторых случаях предотвращаются гнойобразующие процессы. Несмотря на это редко встречаются мази, которые одновременно могут обеспечить нормальный ход заживления ожоговых ран. Отсюда следует, что наиболее важным является исследование и внедрение таких препаратов, которые могли бы обеспечить нормальный физиологический процесс восстановления поврежденных тканей, ускоряя очищение ран от гноя и некротических масс.

Ввиду вышеизложенного, перед нами была поставлена цель разработать эффективные лекарственные мази, для лечение ожоговых ран и их внедрение в медицинскую практику. Для реализации поставленной цели были выдвинуты следующие задачи.

- Поиск, исследование и внедрение нового препарата, в состав которого как активное вещество должно входить 5%-ое химическое соединение Фецилин, обладающее антибактериальным, противовоспалительным и регенеративным свойствами и известный 5%-ный местный анестетик Анестезин (“Дермафен”).
- Получение лекформ гидрофобной мази и гидрофильного крема Дермафена, в дальнейшем для выявления их эффективности при лечения термических ожоговых ран.
- Оценить динамику восстановительных процессов в разные периоды регенерации, как в контрольной группе, так и под воздействием мази Левомеколя и линимента Синтомицина - проводя сравнительный анализ с новой мазью «Дермафен», для оценки ее эффективности.
- Оценить эффективность исследуемых препаратов при лечении ожоговых ран с применением макроскопических, цитологических, общих морфологических, гистохимических, морфометрических методов.

Эксперименты проводились на белых беспородных крысах линии Вистар массой 180-200г. После анестезии подопытных крыс (внутрибрюшинным введением нембутала 40мг/кг), с поверхности тазобедренной части был удален волосной покров. Для получения глубоких дермальных ожогов II степени (IIIA), металлический стержень площадью 5см², при температуре 70±2°C, в течение 5-7сек. сдавливали на кожу крыс. Выявление и исследование регенеративных свойств лекарственных мазей оценивали современными медико-биологическими методами: макрофотографический (Canon), планиметрический (измерение площади раны по программе A xioVision LE 4.8.2 S P3), цитологический (Романовский-Гимза), гистологический (гематоксилин и эозин), гистохимический (трихром по Массону) и морфометрические (количества воспалительных клеток, фибробластов, коллагеновых волокон, толщина эпидермиса, как показатель степени эпителизации). Все данные выражены в средних значениях ±S.D. Статистический анализ данных проводился с помощью программы IBM SPSS Statistics 22.0.0.0, методом one-way ANOVA, с применением поправки Бонферрони.

Исследования показали, что апробированные новые лекарственные мази, в сравнении с известными тестируемыми мазями и особенно с контролем, макроскопически значительно ускоряют эпителизацию и реструктуризацию кожной ткани в два и более раза, ускоряя заживление ран, восстанавливая волосной покров кожи. Морфологические, морфометрические и цитологические исследования показали, что острые воспалительные процессы после лечения Дермафеном у животных почти полностью исчезают на 7-ой день исследований, в отличие от его аналогов. Под воздействием новых лекарственных мазей на 15-й день исследований макроскопически и микроскопически регистрируются явления полного отслоения коагуляционно-некротической ткани. Видны активные эпителизационные процессы, в которых присутствуют вновь образованные эпидермальные слои. В поврежденных участках тканей наблюдаются активные процессы миграции фибробластов и синтез коллагеновых волокон, показатели которых в значительной степени превышают по показателям остальных групп (p<0.001). На 21-ый день под влиянием Дермафена наблюдается предварительная реструктуризация раневого участка с образованием рубцовой ткани. Гистохимически было установлено, что имеющиеся в рубцовой ткани коллагеновые волокна воссоединились друг с другом, приобретая определенную ориентацию, схожую с нормой. На 28-ой день опыта, по сравнению с остальными группами под действием Дермафена происходит полное завершение регенерационных процессов, где встречаются сформированные волосные фолликулы, хорошо развитая железистая ткань дермы. Отмечается четко сформированные слои эпидермальной ткани.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о ярко выраженных противоожоговых свойствах лекарственных мазей Дермафена и подтверждают нашу позицию о том, что заявленные новые лекарственные мази могут быть внедрены в медицинскую практику, как новые противоожоговые препараты, а также для лечения травм различной этиологии.

The action of “Dermafen” cream and ointment on morphofunctional state and regeneration processes of tissue after thermal burn

Summary

Key words: Thermal burns, wound healing, medical ointments, cytology, histopathology

According to the medical statistics, burns are one of the most ubiquitous forms of injuries. Burn affected not only skin and underlying tissue, but also, during it develops wide spectrum of necrobiotic and dystrophic changes, involving both central and peripheral nervous systems. Currently, for burn treatment used many medical ointment and creams with various therapeutic effects. Some of them have antimicrobial effects, others intensify regenerative processes, while the others provide anti-inflammatory effects. However, a household remedy for wounds, preventing sepsis and promoting scar tissue attenuation is still a challenge in medicine.

In view of the above, we intended to develop an effective burn healing drug, which may be used in medical practice. To achieve this goal, the following tasks were put forward.

- Search, develop and study new drug, which contains 5% Fecilin as an active agent. Fecilin possess antibacterial, regenerative and anti inflammatory effects. For anesthetic management 5% of local anesthetic benzocaine is added. This new drug is provisionally named Dermafen.
- Obtaining hydrophobic ointment and hydrophilic cream forms of Dermafen, for further identification of their effectiveness in burn treatment.
- Evaluation of wound healing rate on various period of burn in control group and under the influence of Levomekol and Synthomycin, with comparison to Dermafen.
- Evaluation of regenerative properties of this drugs by gross, cytological, histopathological examination and morphometric analysis.

Studies were performed on Wistar rats, weighing 180~200g. The hips of the rats were shaved under anesthesia (40 mg/kg Nembutal Sodium via intraperitoneal injection). Deep dermal burns are then affected by applying hot metal to depilated areas (2,5x2cm, 70°C, 5sec.).

Regenerative properties of this new drugs were studied through gross examination, planimetric analysis (wound area measurement by AxioVision LE 4.8.2 SP3 software), cytological (Romanowsky-Giemsa stain), histopathological examination (H&E, Masson's trichrome stain) and morphometric analysis (inflammatory cells and fibroblasts count, dermal collagen analysis by ImageJ software, epidermise measurement by AxioVision LE 4.8.2 SP3 software). All data were expressed as means $\pm$ S.D. Statistical analysis of data was performed using IBM SPSS Statistics 22.0.0. software with one-way ANOVA, followed by Bonferroni post hoc test.

Gross examination of burn injuries showed that, in comparison with known ointments and with control, animals treated with Dermafen demonstrated rapid healing, including complete re-epithelialization and hair formation.

Histopathological, cytological and morphometric analysis showed that, compare with other groups, acute inflammatory processes in this groups were almost completed on 7th day of experiments. On 15th day of experiments in groups treated with Dermafen observed complete removal of damaged and dead tissue. Besides that, on this day there were active epithelialization, fibroblast migration and proliferation, collagen synthesis and accumulation, which were significantly greater than in the other groups ($p < 0.001$). On 21th day of experiments Dermafen leads to early remodeling of extracellular matrix and scar maturation. The scar tissue consists with large collagen fibers. During maturation processes the collagen fibers by covalent cross linking obtain oriented parallel structure. In contrast to other groups, on the final day of experiment in groups treated with Dermafen, healing processes were completed with successful remodeling. There were well formed hair follicles, complete glands formation and epithelialization, as well as, absence of granulation or scarring.

Thus, this study demonstrates that the new drug Dermafen possesses prominent wound healing properties. It may be used as a household remedy, as well as in medical practice, as an effective drug for treatment of wounds of varying etiology.