

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Пензенский государственный университет»

*На правах рукописи*

**ШАБРОВ Александр Валерьевич**

**ОБОСНОВАНИЕ РАЦИОНАЛЬНОЙ ТАКТИКИ РАННИХ  
ВНУТРИПРОСВЕТНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ ПРИ ХИМИЧЕСКИХ  
ОЖОГАХ ПИЩЕВОДА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

Специальность 14.01.17 – Хирургия

Д и с с е р т а ц и я  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор  
Никольский Валерий Исаакович

Пенза – 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений .....	4
Введение.....	5
<b>Глава 1. Обзор литературы .....</b>	<b>14</b>
1.1. Моделирование локального ожога пищевода у экспериментальных животных различными химическими реагентами – кислотами и щелочами .....	14
1.2. Различия в темпах регенерации пищевода после химического ожога щелочью и кислотой .....	20
1.3. Влияние антиоксидантной терапии на процессы регенерации тканей после химических ожогов.....	23
1.4. Механизмы процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в организме .....	25
1.4.1. Состояние прооксидантной и антиоксидантной систем после химических ожогов .....	28
1.4.2. Эффективность антиоксидантной терапии после химических ожогов .....	32
1.5. Современные методы внутрипросветных операций на пищеводе при послеожоговой рубцовой стриктуре.....	34
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования.....</b>	<b>38</b>
2.1. Экспериментальное исследование .....	38
2.1.1. Моделирование химического ожога пищевода уксусной кислотой ....	39
2.1.2. Моделирование химического ожога пищевода щелочью .....	40
2.2. Биохимическое исследование материала, полученного в эксперименте.....	45
2.2.1. Определение уровня диеновых и триеновых конъюгатов.....	45
2.2.2. Определение уровня малонового диальдегида .....	46
2.2.3. Определение уровня каталазы .....	46
2.2.4. Определение уровня церулоплазмينا .....	47
2.2.5. Определение уровня супероксиддисмутазы .....	48
2.3. Методы статистической обработки полученных данных .....	49
<b>Глава 3. Результаты и обсуждение.....</b>	<b>50</b>

3.1. Разработка экспериментальной модели локального ожога пищевода различными химическими реагентами – кислотами и щелочами.....	50
3.2. Различия в темпах регенерации пищевода после химического ожога кислотой и щелочью .....	54
3.3. Состояние системы перекисного окисления липидов после химического ожога пищевода различными химическими реагентами .....	64
3.4. Анализ основных показателей темпов регенерации стенки пищевода после химического ожога органа уксусной кислотой при воздействии антиоксидантов .....	72
3.5. Состояние системы перекисного окисления липидов после химического ожога пищевода уксусной кислотой на фоне воздействия антиоксидантов .....	80
3.6. Анализ основных показателей темпов регенерации стенки пищевода после химического ожога органа едким натром при воздействии антиоксидантов .....	86
3.7. Состояние системы перекисного окисления липидов после химического ожога пищевода едким натром на фоне воздействия антиоксидантов .....	92
Заключение .....	101
Выводы .....	110
Практические рекомендации .....	112
Клиническая значимость.....	113
Список литературы .....	114

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДК – диеновые конъюгаты

МДА – малоновый диальдегид

Me – медиана

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ТБК – тиобарбитуровая кислота

ТК – триеновые конъюгаты

ТХУ – трихлоруксусная кислота

НСТ – нитрозолий тетрасиний

ФМС – феназинметасульфат

НАД-Н – никотинамидадениндинуклеотид

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

НАДФ-Н – никотинамидадениндинуклеотидфосфат

ЭМГПС – этилметилгидроксипиридина сукцинат

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Острые химические повреждения верхнего отдела желудочно-кишечного тракта в России занимают третье место в структуре острой химической травмы и составляют в среднем 8,5–42,5 %. [Черноусов А. Ф. и соавт., 2000].

В 70 % случаев химическим агентом является уксусная кислота [Лужников Е. Л., 1999; Доржиев Б. Д. и соавт., 2012], далее по частоте следует едкий натр (каустическая сода, натрия гидроокись), концентрированные растворы серной, хлористоводородной кислот. Повреждения пищевода различной степени тяжести могут быть вызваны приемом таких веществ, как ацетон, формалин, нашатырный спирт, скипидар, медный купорос, перекись водорода и др. [Годжелло Э. А. и соавт., 2000, 2007; Higaki-Mori H. et al., 2011].

Данные отравления у взрослых сопровождаются летальностью, остающейся высокой [Масевич Ц. Г. и соавт., 1995], и большим количеством осложнений, наиболее серьезным из которых является формирование рубцовых сужений пищевода и желудка [Никольский В. И. и соавт., 2011, 2014; Климашевич А. В. и соавт., 2011, 2012; Воскресенская М. Л. и соавт., 2015]. Рубцовые стриктуры пищевода являются самой частой доброкачественной патологией пищевода и развиваются у 33–74 % больных, перенесших химический ожог пищевода [Годжелло Э. А. и соавт., 2006, 2013], составляя около 70 % его стенозов [Черноусов А. Ф. и соавт., 2000; Баландина И. А. и соавт., 2007; Муравьев В. Ю. и соавт., 2015].

С целью изучения регенерации стенки пищевода, а также для поиска лекарственных препаратов, ускоряющих процессы регенерации данного органа, исследователи моделируют химический ожог пищевода на экспериментальных животных [Рукевич С. Г. и соавт., 2014; Воробьева В. М. и соавт., 2010, 2013; DosSantos J. S. et al., 2013; Wang C. Z. et al., 2015; Ku ÇuK. A. et al., 2017]. Одной из основных проблем моделирования химического ожога пищевода является сложность дозировки химического агента и, как следствие, большой

процент гибели животных на этапе нанесения травмы. При химическом ожоге пищевода раствором кислот от 15 до 27 % экспериментальные животные погибают в первые сутки эксперимента [Колесников С. И. и соавт., 2009; Рукевич С. Г. и соавт., 2014]. В последующие дни эксперимента исследователи не отмечают высокого процента гибели животных. При химическом ожоге растворами щелочей с первых суток эксперимента отмечают некротические изменения в стенке пищевода и желудка, которые вызывают высокий риск перфорации и, как следствие, гибель животных на первой неделе эксперимента [Тыхенова М. Л. и соавт., 2012].

Тяжелая химическая травма сопровождается изменением кислородного баланса организма. В результате нарушается как транспорт, так и утилизация кислорода. Данные изменения клинически проявляются развитием тканевой гипоксии. Комплекс биохимических реакций, сопровождающих химическую травму, обуславливает появление большого количества активных форм кислорода, что в последующем запускает патогенез оксидативного стресса [Ерофеева М. В. и соавт., 2008; Власов А. П. и соавт., 2012; Козка А. А. и соавт., 2015].

Антиоксиданты нашли широкое применение при лечении ран, вызванных термическим, химическим, физическим факторами воздействия [Гусева Л. В., 2006; Моисеева И. Я. и соавт., 2008; Кабанова А. А. и соавт., 2011; Доровских В. А. и соавт., 2014; Козка А. А. и соавт., 2015; Олифирова О. С. и соавт., 2016, 2017; RehouS. et al., 2017]. Под воздействием данных препаратов исследователи отмечают повышение интенсивности репаративных процессов в ранах как при местном использовании препарата [Гейниц А. В. и соавт., 2008; Вильдяева М. В. и соавт., 2015], так и при системной терапии [Почепень О. Н. и соавт., 2009; Беляев А. Н. и соавт., 2017]. При включении в терапию антиоксидантных препаратов очищение гнойной раны от некротических масс происходит на порядок быстрее [Олифирова О. С. и соавт., 2015]. Применение различных антиоксидантов позволяет на 60–70 % ускорить процессы регенерации и

эпителизации раневого дефекта [Гейниц А. В. и соавт., 2008; Кабанова А. А. и соавт., 2011; Козка А. А. и соавт., 2015].

После химического ожога пищевода в 15–70 % случаев формируется рубцовая стриктура пищевода. Травматичность операций, их многоэтапность, несостоятельность швов пищеводно-кишечных анастомозов (12–54,6 % случаев), а также в последующем развитие рубцовых сужений анастомозов являются отрицательными моментами лечения данного заболевания [Годжелло Э.А. и соавт., 2013; Волков О.И. и соавт., 2014]. Таким образом, профилактика и лечение послеожоговых рубцовых стриктур миниинвазивными методиками (бужирование и стентирование пищевода) на протяжении многих лет остаются сложной и актуальной проблемой в хирургии [Климашевич А.В. и соавт., 2012; Repici A., et al., 2008], что свою очередь определяет необходимость в дифференцированном подходе к тактике ведения пациентов в зависимости от вида коррозионного вещества, сроков от момента химической травмы и выбора метода внутрипросветного вмешательства.

**Степень разработанности проблемы.** В настоящее время общепризнано, что существуют различия в патогенезе химических ожогов пищевода различными химическими реагентами – кислотами и щелочами. Раствор кислоты приводит к развитию коагуляционного некроза пищевода с образованием плотного струпа, под которым развивается процесс воспаления (ожоговый эзофагит). Щелочные растворы вызывают омыление тканей с зоной некроза без образования струпа. Результатом ожога щелочью является глубокое поражение стенки органа, что способствует более частому, чем при поражении кислотой, развитию внеорганных осложнений [Лужников Е. А. и соавт., 1999].

После химической травмы пищевода отмечается гиперпродукция эндогенных радикалов-инициаторов, которые вместе с экзогенными прооксидантами запускают вторичные свободнорадикальные реакции. Отмечается увеличение концентраций продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [Пинчук Т. П., 2009].

Ведется поиск оптимальных лекарственных препаратов улучшающих результаты лечения больных химическими ожогами пищевода. В связи с этим исследователи создают модели химического ожога органа кислотами и щелочами в эксперименте [Воробьева В. М. и соавт., 2013].

Однако в результате различий в патогенезе ожогов пищевода щелочными растворами и растворами кислот до настоящего времени не создана оптимальная модель локального ожога пищевода, позволяющая предотвратить гибель животных на ранних этапах эксперимента. Также отсутствуют данные о процессах регенерации стенки пищевода после ожогов щелочами и кислотами на основании современных методов морфологических и биохимических исследований. В современной литературе не отмечено различий в эффективности влияния антиоксидантов на процесс регенерации стенки пищевода в связи с этиологией химического реагента.

В современной литературе нет определения четких сроков проведения ранних внутрипросветных вмешательств на пищеводе. По данным различных авторов, сроки проведения этих вмешательств на пищеводе колеблются в широких пределах – от 2 до 8 недель, без соотношения данных сроков с процессами регенерации стенки пищевода, воздействием лекарственных препаратов-репаратантов [Тарасов А. Н. и соавт., 2010; Климашевич А. В. и соавт., 2012; Белевич В.Л. и соавт., 2012; Матвеева Л.В. и соавт., 2014; Скажутина Т. В.и соавт., 2016; KatzkaD. A., 2001]. В связи с этим отсутствует дифференцированный подход в лечении пациентов при выборе методов ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода. Все это явилось побудительным мотивом для выполнения настоящего исследования.

**Цель:** Изучить влияние оксидатного стресса, эффективность воздействия антиоксидантов и особенности регенерации стенки пищевода после химических ожогов различными прижигающими жидкостями для определения оптимальных методов и сроков внутрипросветных вмешательств.

**Задачи:**

1. Создать модель локального ожога пищевода у экспериментальных животных кислотами и щелочами.
2. Изучить различия в темпах регенерации пищевода после химического ожога щелочью и кислотой.
3. Установить соответствие между динамикой оксидантного стресса и темпами регенерации стенки пищевода.
4. В условиях эксперимента определить динамику оксидантного стресса и установить эффективность воздействия антиоксидантов в зависимости от вида прижигающей жидкости.
5. На основании данных морфологического исследования и состояния системы «прооксиданты-антиоксиданты» разработать рациональную тактику ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода.

**Научная новизна.** Разработаны оптимальные экспериментальные модели химического ожога пищевода различными химическими реагентами: кислотами и щелочами. Впервые в эксперименте на кроликах выполнено моделирование химического ожога пищевода разработанными устройствами, химическими реагентами являлись 46 % уксусная кислота и 18,5 % раствор едкого натра. Получены 2 патента РФ на изобретение № 134422 от 20.11.2013 и № 163272 от 10.07.2016.

На основании результатов экспериментальных морфологических исследований и анализа лабораторных показателей маркеров оксидантного стресса определены темпы регенерации стенки пищевода после химического ожога и взаимосвязь темпов регенерации с процессами перекисного окисления липидов.

Впервые определено воздействие антиоксидантов на динамику оксидантного стресса и темпы регенерации стенки пищевода. Доказано положительное влияние антиоксидантных препаратов в зависимости от природы химического реагента. Обнаружено, что введение антиоксидантных препаратов при химическом ожоге пищевода 46 % уксусной кислотой

сокращает сроки репарации стенки органа на 9 дней. При ожоге пищевода раствором едкого натра 18,5 % отмечено незначительное влияние антиоксидантной терапии.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Применение созданного устройства для моделирования локального химического ожога пищевода с дифференцированным подходом при использовании кислот и щелочей позволяет предотвратить гибель экспериментальных животных на ранних этапах исследования.

Результаты проведенного исследования подтверждают теоретическую концепцию о дифференцированных процессах регенерации пищевода после химических ожогов пищевода кислотой и щелочью с различиями в балансе системы прооксиданты-антиоксиданты. Установленный факт позволяет формировать новые подходы к терапии ожогов пищевода различными химическими реагентами.

Установлено, что при химическом ожоге пищевода кислотными растворами показано применение препаратов с антиоксидантной активностью. При химическом ожоге пищевода растворами щелочей назначение антиоксидантов нецелесообразно.

Разработана рациональная тактика ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода. В экспериментальной работе доказана целесообразность применения бужирования пищевода на 30 сутки после химического ожога пищевода раствором уксусной кислоты без применения антиоксидантного препарата и на 21-е сут с применением антиоксиданта, а также на 21-е сут после химического ожога раствором щелочи вне зависимости от включения антиоксидантных препаратов в терапию. При наличии высокого риска развития рубцовой стриктуры пищевода, по данным нейросетевого прогнозирования, целесообразно применение стентирования пищевода биodeградируемыми стентами в аналогичные временные промежутки.

Создан лечебно-профилактический алгоритм при химическом ожоге пищевода раствором кислоты и щелочи.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Для моделирования ожога пищевода щелочными растворами необходимо использовать разработанное устройство доставки химического реагента с вакуумной составляющей для локализации контакта прижигающей жидкости и стенки органа.

2. При химическом ожоге пищевода различными химическими реагентами имеется дифференциация в темпах регенерации стенки органа.

3. Динамика оксидантного стресса напрямую влияет на способность репарации пищевода после химического ожога.

4. Применение препаратов, обладающих антиоксидантной активностью, обуславливает коррекцию дисбаланса в системе прооксиданты-антиоксиданты, способствуя увеличению темпов регенерации.

5. Применение ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода должно основываться на видах коррозионного вещества, определении сроков смен фаз воспаления в стенке пищевода и купирования оксидантного стресса.

**Степень достоверности полученных результатов.** Обоснованность научных выводов и положений не вызывает сомнений. Результаты, полученные автором с использованием современных методов исследования, свидетельствуют о решении поставленных задач. Выводы объективно и полноценно отражают результаты проведенных исследований. Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики медико-биологического профиля с помощью критериев параметрической и непараметрической оценки достоверности с использованием программ «Biostat 2009» и «Microsoft Excel».

**Внедрение в практику.** Результаты исследований внедрены в учебный процесс на кафедре «Хирургия» Медицинского института Пензенского

государственного университета, на кафедре «Общая и оперативная хирургия с топографической анатомией и курсом стоматологии» Медицинского института Ульяновского государственного университета, в работу ООО «Центр доклинических исследований», в лечебный процесс хирургического отделения ГБУЗ «Пензенская областная клиническая больница им. Н.Н. Бурденко».

**Личный вклад автора.** Личный вклад автора заключается в определении цели и задач научного исследования, осуществлении подробного анализа современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, разработке плана исследования.

Диссертант непосредственно принял участие во всех этапах исследования: проведении эксперимента на животных и последующем наблюдении за ними. Выполнял забор биологического материала для последующего анализа. Принимал участие в морфологическом и биохимическом исследовании полученных образцов. Проводил поиск доказательств эффективности сделанных им предположений. Провел подробный анализ полученных результатов с последующей их статистической обработкой, сформулировал обоснованные выводы и разработал практические рекомендации.

**Апробация работы.** Результаты работы доложены: на V Международной научной конференции «Актуальные проблемы медицинской науки и образования» (Пенза, 2015г.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию НУЗ «Отделенческая клиническая больница на станции Пенза ОАО «РЖД»; V съезде хирургов юга России с международным участием (Волгоград, 2017 г.); Пензенском областном научно-практическом обществе хирургов им. С. В. Кульнева (Пенза, 2011, 2013, 2015 гг.).

**Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ университета.** Работа выполнена в рамках комплексной научной программы кафедры «Хирургия" Пензенского

государственного университета в соответствии с тематическим планом кафедральных (индивидуальных) НИР на 2016–2020 гг., код ГРН 76.09.99. Исследование проведено при поддержке гранта Президента РФ МК-4428.2011.7 от 18.02.2011 «Лечение пациентов с рубцовыми стриктурами пищевода».

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.**

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.17 – хирургия: экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 8 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований, 1 публикация в журнале на платформе Scopus. Получено 2 патента РФ на изобретение № 134422 от 20.11.2013 и № 163272 от 10.07.2016.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 138 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы результатов исследований с обсуждением полученных результатов, заключения, выводов, списка литературы, включающего 190 источников, в том числе 130 отечественных и 60 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 50 рисунков.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. МОДЕЛИРОВАНИЕ ЛОКАЛЬНОГО ОЖОГА ПИЩЕВОДА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ РЕАГЕНТАМИ – КИСЛОТАМИ И ЩЕЛОЧАМИ

С целью изучения репаративных процессов стенки пищевода и воздействия лекарственных препаратов на процесс регенерации ожоговой поверхности необходимо создание оптимальной модели ожога пищевода у экспериментальных животных.

Одной из основных проблем моделирования химического ожога пищевода является проблема выбора подопытного животного. Чем меньше размеры животного, тем меньшее количество раствора щелочи или кислоты способно вызвать гибель подопытного животного. Токсическое действие прижигающих жидкостей зависит не столько от концентрации вещества, сколько от количества введенного раствора. При пероральном приеме уксусной кислоты количество вещества, при которой наступает гибель до 50 % подопытных животных (крыс), соответствует 1 мл 25 % раствора [Колесников С. И. и соавт., 2009]. По данным экспериментальной работы М. Л. Воскресенской (2017), увеличение объема раствора кислоты более 0,5 мл с концентрацией раствора 20 % и выше приводит к гибели животных вследствие шока или перфорации пищевода в течение 1,5–14 ч после получения химического ожога.

По данным литературы, основными экспериментальными животными в работах являлись крысы линии Wistar [Рукевич С. Г. и соавт., 2014; Ямпиров С. С. и соавт., 2017; Senturk E. et al., 2011; DosSantos J. S. et al., 2013; Sun Y. X. et al., 2013; Elmas O. et al., 2014; Wang C. Z. et al., 2015], белые беспородные мыши самцы [Соловьев Н. А. и соавт., 2006], беспородные белые крысы самцы [Колесников С. И. и соавт., 2009; Шашкова О. Н. и соавт., 2009; Доржиев Б. Д.

и соавт., 2012; Nassar M. A. et al., 2012], беспородные кролики самцы [Канюков В. Н. и соавт., 2012], кролики породы шиншилла [Воробьева В. М. и соавт., 2010, 2013], беспородные собаки [Сапегина Ф. З. и соавт., 2005].

Существует ряд недостатков известных способов моделирования термических ожогов: невозможность нанесения стандартного ожога одной и той же площади, выраженной в абсолютных (см<sup>2</sup>) и в относительных (процент от всей площади поверхности тела) единицах, проведение измерения площади и глубины ожога [Воробьева В. М. и соавт., 2010, 2013].

Разработаны способы определения глубины поражения пищевода при его химическом ожоге. Основным способом диагностики химического ожога пищевода в острой стадии является в настоящее время эзофагоскопия. В зависимости от характера изменений слизистой оболочки пищевода определяют степень химического ожога:

I степень – катаральное поражение (отек и гиперемия слизистой оболочки);

II степень – эрозивное поражение, не выходящее за пределы собственной мышечной пластинки слизистой оболочки;

III степень – язвенное поражение слизистой оболочки и подслизистого слоя;

IV степень – язвенно-некротическое поражение слизистого, подслизистого и мышечного слоев стенки органа [Авхименко М. М. и соавт., 2009].

Таким образом, существуют различия в глубине поражения стенки пищевода, зависящие от типа прижигающего вещества, концентрации, объема введенного раствора и времени экспозиции.

Прижигающие жидкости, способные вызвать химический ожог пищевода, по своей химической структуре делятся на несколько подгрупп: кислоты, щелочи и окислители. Данные химические реагенты воздействуют не только на ткани, находящиеся в непосредственном контакте с ними, но и имеют свойство резорбции через слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта. Резорбированная кислота вызывает изменения в кислотно-основном состоянии

организма по типу метаболического ацидоза. Резорбтивное действие растворов щелочей невелико [Белькова Т. Ю. и соавт., 2001]. Существуют особенности патогенеза ожога пищевода органическими и неорганическими кислотами. По данным И. В. Марковой (1998), растворы кислот являются сильнодействующими соединениями, практически не обладая свойствами резорбции. При диссоциации неорганические кислоты выделяют большое количество тепла, что в свою очередь усугубляет ожог, добавляя термический фактор агрессии к химическому.

Усиление тяжести состояния подопытного животного, а также прогрессирование метаболических изменений добавляет поражение дыхательных путей. В ходе проведения эксперимента у подопытных животных возникает аспирация введенного в пищевод раствора кислоты или щелочи при возникновении рвоты. Также возможным механизмом аспирации является пассивное затекания химического реагента при проведении вводного наркоза [Белькова Т. Ю., 2001].

Чем обширнее поражение и поверхность ожога, тем выше резорбция химического агента, а следовательно, и интоксикация. Наиболее оптимальным способом контроля объема поражения пищевода является зрительный контроль с помощью эндоскопической аппаратуры. При этом уменьшается площадь контакта прижигающей жидкости со слизистой пищевода [Сапегина Ф. З., 2005]. Данный метод ограничен размерами животного и может быть применим только у крупных животных. У мелких (крысы, мыши) и средних (кролики) животных данный метод неприменим. Для этих категорий подопытных животных в большей степени актуальна проблема сложности дозировки химического агента и, как следствие, высокая летальность животных от шока на этапе нанесения травмы.

В качестве прижигающего вещества из группы кислот в экспериментальных исследованиях используют раствор уксусной кислоты. [Баландина И. А. 2001; Ружевиц С. Г. и соавт., 2014; Колесников С. И. и соавт., 2009; Тыхенова М. Л. и соавт., 2012; Воробьева В. М. и соавт., 2010,

2013]. Уксусная кислота является слабым электролитом, в состоянии диссоциации находится лишь малая часть ее молекул [Лужников Е. А. и соавт., 1999]. Потому при ожоге растворами кислот существует широкий интервал между минимальной концентрацией раствора, способного вызвать патологический процесс, и максимально допустимой, при которой возможен летальный исход. Так, С. Г. Рукевич и соавт. (2014) проводил эксперимент с использованием

30 % уксусной кислоты. В качестве экспериментальных животных выступали крысы линии Wistar. В исследованных группах выполнено моделирование химического ожога пищевода, в частности, подслизистой основы и мышечной оболочки. И. А. Баландина (2003) в своей работе использовала беспородных собак. В качестве прижигающей жидкости была выбрана 70 % уксусная кислота. В работе исследованы морфологические изменения стенки пищевода спустя 6 месяцев после химического ожога. Отмеченная морфологическая картина свидетельствовала о признаках хронического воспаления всех слоев пищевода с развитием соединительной ткани [Баландина И. А. и соавт., 2003].

Щелочные растворы, используемые в качестве прижигающих жидкостей, в основном являются сильными электролитами. Щелочи легко диссоциируют, образуя гидроксид-ионы [Лужников Е. А., 1999]. Для этих растворов характерен узкий интервал концентраций, при которых возможно осуществить эксперимент с необходимым по глубине поражением стенки пищевода и минимальной гибелью животных на ранней стадии [Bakan V., et al., 2015]. В работе Ф. З. Сапегиной использовали 30 % раствор каустической соды с экспозицией прижигающей жидкости в течение 30 с. Экспериментальными животными являлись беспородные собаки [Сапегина Ф. З. и соавт., 2005]. В эксперименте, осуществленном В. Н. Канюковым, использовали 2,5 % раствор гидроксида натрия с экспозицией 5 с. Экспериментальную работу выполняли на кроликах породы шиншилла [Канюков В. Н. и соавт., 2012].

Существуют «внепищеводные» способы создания модели ожога пищевода в эксперименте без введения в просвет кислоты или щелочи.

В работе М. В. Воробьевой (2011) под внутривенной седацией животным выполняли экскорацию эпидермального слоя кожи на идентичных участках площадью 1,5 см<sup>2</sup> (3 участка у каждого кролика). Участки подвергали воздействию 70 % раствора уксусной кислоты. Преимуществом такого способа является возможность прогнозировать площадь ожоговой поверхности, так как при моделировании ожога пищевода внутрипросветными методами невозможно предугадать площадь ожога вследствие растекания раствора щелочи или кислоты по стенке органа [Воробьева В. М. и соавт., 2010, 2013].

Раствор кислоты, попадая на слизистую оболочку пищевода, приводит к развитию коагуляционного некроза стенки органа с образованием плотного струпа, под которым развивается процесс воспаления (ожоговый эзофагит). Струп приостанавливает дальнейшее продвижение кислоты вглубь стенки органа, тем самым ограничивая процесс [Белькова Т. Ю. и соавт., 2001]. Наиболее частыми причинами смерти подопытных животных при использовании в качестве прижигающей жидкости кислоты являются: экзотоксический шок, ранние желудочно-кишечные кровотечения, а также развитие острой почечной недостаточности на фоне тяжелого гемоглобинурийного нефроза [Лужников Е. А. и соавт., 1999]. В отличие от кислот, щелочи воздействуют гидроксильными ионами (ОН<sup>-</sup>), которые при взаимодействии с тканевыми белками образуют хорошо растворимые в воде альбуминаты, вследствие чего щелочи способны глубоко проникать в ткани, вызывая их резкую гидратацию и набухание (колликвационный некроз) [Борис А. И. и соавт., 1994]. Данная группа веществ вызывает омыление тканей с зоной некроза без образования струпа. Результатом ожога щелочью является глубокое поражение стенки органа, что способствует более частому, чем при поражении кислотой, развитию внеорганных осложнений. Хотя прием щелочей происходит значительно реже, они приводят к наиболее тяжелым по глубине и протяженности ожогам пищевода [Якушин Е. А. и соавт., 1980]. Следствиями химического поражения пищевода являются перфорации органа с более высокой частотой летальных исходов, чем при ожогах уксусной кислотой

[Ратнер Г. Л. и соавт., 1982; Лужников Е. Л. и соавт., 1999; Фейгин Г. А. и соавт., 2017; Murata S. et al., 1995].

При увеличении времени контакта прижигающей жидкости со слизистой оболочкой пищевода соответственно увеличивается обширность и глубина поражения пищевода. В свою очередь при увеличении объема пораженных тканей повышается частота осложнений, таких как перфорация пищевода, медиастинит, эмпиема плевры. В экспериментальных работах при моделировании ожога пищевода растворами органических кислот данная проблема не стоит остро в связи с приостановлением распространения реагента вглубь органа [Белькова Т. Ю. и соавт., 2001], в результате отсутствует необходимость в уменьшении времени экспозиции раствора или удалении последнего из полости пищевода [Колесников С. И. и соавт., 2009; Шашкова О.Н. и соавт., 2009; Bakan V. et al., 2015].

В литературе описан прием, позволяющий ограничить время контакта раствора щелочи со слизистой оболочкой пищевода. Ф. З Сапегина (2005) предложила под эндоскопическим контролем в пищевод заводить металлический зонд с марлевым тампоном, пропитанным раствором каустической соды. Тампон прижимали к стенке пищевода на уровне его грудного отдела с экспозицией 3 мин. Данный способ может быть применен только у крупных животных [Сапегина Ф. З., 2005].

Таким образом, основными проблемами формирования ожогов пищевода у животных в эксперименте являются сложность дозировки химического агента и как следствие, высокая летальность животных от шока на этапе нанесения травмы и в результате развившихся осложнений на этапе регенерации, а также необходимость создания локального рубца на стенке пищевода. Создание ограниченного по площади локально ожога позволит снизить гибель животных от истощения на поздних этапах эксперимента. Несмотря на наличие большого количества проводимых экспериментальных работ, не создана оптимальная модель химического ожога пищевода различными прижигающими жидкостями.

## **1.2. РАЗЛИЧИЯ В ТЕМПАХ РЕГЕНЕРАЦИИ ПИЩЕВОДА ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ЩЕЛОЧЬЮ И КИСЛОТОЙ**

В клинической практике в связи с особенностями патогенетических механизмов и дальнейшей репарацией стенки пищевода после химических ожогов отмечено различное воздействие на ткани растворов кислот и щелочей. Щелочные растворы вызывают омыление тканей с последующим колликвационным некрозом без образования плотного струпа, что вызывает более глубокое поражение тканей с более обширной зоной ожогового эзофагита [Лужников Е. А. и соавт., 1999;Ивашкин В. Т. и соавт., 2000; KatzkaD. A., 2001; RobustelliU.et al., 2011]. Последнее обстоятельство, по данным С. Х. Сарманаева (2009), приводит к более частым пищеводно-желудочным кровотечениям при отравлении щелочными растворами. Струп образуется по консистенции рыхлый и мягкий, легко травмируется, что нередко вызывает перфорацию органа с последующим медиастинитом, отеком надгортанника и голосовых связок [Глотов В. А. и соавт., 1981; Ратнер Г. Л. и соавт., 1982; Карвалл Х. Ф и соавт., 1990; Ивашкин В. Т. и соавт., 2000; Волков С. В. и соавт., 2005; Джумабаев Э. С и соавт., 2013].

По данным Ф. З. Сапегинной (2005), наиболее грубые и тяжелые изменения в стенке пищевода возникают после воздействия щелочей. Макроскопическая картина свидетельствует о наличии в стенке органа обширных очагов некроза. Некротические изменения в стенке органа характеризуются развитием глубоких язв с угрозой перфорации. Патологические изменения в стенке желудка при воздействии химического реагента на стенку органа аналогичны [Тыхенова М. Л. и соавт., 2012]. При гистологическом исследовании пищевода на 3-и, 7-е сут отмечается ярко выраженная картина колликвационного некроза, лейкоцитарная инфильтрация, полнокровие сосудов, тромбообразование. В аналогичный временной промежуток после химического ожога кислотами при макроскопическом осмотре определяется утолщение стенок пищевода за счет отека и набухания

тканей, наличия участков изъязвления эпителия. В некоторых случаях воспалительный процесс распространяется на соседние органы и ткани (трахея, бронхи), но без язвенно-некротического компонента, характерного при химическом ожоге щелочами. При микроскопическом исследовании до 10 сут эксперимента в тканях при ожогах пищевода независимо от этиологии химических реагентов сохраняется отек подслизистой основы, густая нейтрофильная инфильтрация [Рукевич С. Г. и соавт., 2014]. В последующем при организации язв различия в объеме поражения после ожогов пищевода различными химическими веществами снижаются [Сапегина Ф. З., 2005].

При химическом ожоге щелочными растворами с начала третьей недели после химического ожога прослеживается гистологическая картина экссудативной фазы воспаления, характеризующаяся инфильтрацией нейтрофильными лейкоцитами [Баландина И. А. и соавт., 2003, 2007]. По мере очищения ожоговой поверхности от тканевого детрита возникают язвы, поражающие нередко всю стенку органа. Язвенная поверхность отграничивается грануляционным валом, с тенденцией к созреванию. Процессы пролиферации соединительной ткани определяются в виде увеличения количества лимфоцитов, незрелых фибробластов. Клетки многослойного плоского неороговевающего эпителия появляются в краях язв на третьей неделе после ожога [Сапегина Ф. З., 2005].

На третьей неделе после химического ожога пищевода щелочью гистологическая картина препарата пищевода аналогична после воздействия кислотой. Максимальное количество лимфоцитов определяется на третьей неделе. Начиная с четвертой недели отмечается уменьшение количества лимфоцитов, появление клеток многослойного плоского эпителия на базальной мембране. Данные изменения свидетельствуют об активных процессах пролиферации в этот временной промежуток [Климашевич А. В., 2014].

В конце третьей недели после химических ожогов прижигающими жидкостями независимо от вида химического реагента при морфологическом исследовании определяется вяло текущее воспаление, продолжается

рубцевание ожоговых ран, образовавшихся в местах наибольшего некроза стенки органа [Баландина И. А. и соавт., 2007].

Через полтора месяца после ожога пищевода прижигающими веществами формируется зрелая волокнистая соединительная ткань, независимо от химического состава прижигающей жидкости. Процессы воспаления к этому времени стихают. В этот временной промежуток наблюдается гиперкератоз и утолщение эпителия пищевода с замещением молодой соединительной ткани – зрелой [Сапегина Ф. З., 2005, Климашевич А. В., 2014].

Наличие большого количества экспериментальных работ по моделированию химических ожогов пищевода подчеркивает нерешенность проблемы изучения патогенеза химической травмы данного органа. Но при сравнительной оценке патологического процесса после ожога различными химическими реагентами возникает проблема в сопоставлении данных, полученных во время разных экспериментов. Большинство исследователей не ставило целью сравнение репарации при ожогах щелочными растворами и растворами кислот. Исследования были выполнены на разных видах подопытных животных, что может затруднять сравнение полученных результатов. В экспериментальных работах, посвященных химическим ожогам, в качестве исследуемых моделей использовали глазную поверхность кроликов весом 3,5–4,0 кг [Канюков В. Н. и соавт., 2012], кожу кроликов породы шиншилла весом 1,0–1,5 кг [Воробьева В. М. и соавт., 2011], пищевод беспородных собак [Баландина И. А. и соавт., 2007], пищевод и желудок крыс линии Wistar средней массой 200–250 г. [Доржиев В. Д. и соавт., 2012; Рукевич С. Г. и соавт., 2014; Aciksari, K. et al., 2013; Raetska Ya. et al., 2014; Fang Q. et al., 2017; Ozbayoglu A. et al., 2017]. В исследованиях отражены качественные параметры изменений в стенке пищевода и в меньшей степени количественные параметры. Таким образом, существует необходимость изучения различий в темпах регенерации пищевода после химического ожога щелочью и кислотой с использованием характеристик, отражающих динамику

репарации стенки органа на основании современных методов морфологических и биохимических исследований.

### **1.3. ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ НА ПРОЦЕССЫ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ**

Известно, что после возникновения раны процесс ее заживления проходит три стадии: воспаление, грануляция, ремоделирование [Hart J. et al., 2002]. Стадия воспаления характеризуется нарушением в микроциркуляторном звене гомеостаза, что ведет к гипоксии в ране, активации и хемотаксису фагоцитов. Эти факторы активируют механизмы, способствующие продукции активных форм кислорода: активацию системы ксантин-ксантинооксидаза, формирование «кислородного взрыва» фагоцитов, нарушение транспорта электронов в дыхательной цепи митохондрий и др. [Клебанов Г. И. и соавт., 2006]. В то же время в клетках раневого очага и в других органах и тканях отмечается снижение активности антиоксидантной системы [Shukla A. et al., 1997; Mcdaniel D. H. et al., 1998; Miyazaki H. et al., 2007; El-Ferjani R. M. et al., 2016]. В итоге на стадии воспаления отмечается гиперпродукция эндогенных радикалов-инициаторов, которые вместе с экзогенными прооксидантами (кислотой или щелочью) запускают вторичные свободнорадикальные реакции. Таким образом, происходит ингибирование механизмов, ответственных за смену следующих стадий раневого процесса: грануляцию и ремоделирование, т.е. увеличивается время заживления раны. Данная ситуация является обоснованием для применения экзогенных антиоксидантов и их производных с целью ускорения смен фаз раневого процесса [Galliano M. et al., 2001; Altavilla D. et al., 2001; Sarsozen B. et al., 2002; Deniz M. et al., 2013; Cevik M. et al., 2013].

Одним из параметров, определяющих эффективность терапии, является длительность фиксации некротических масс и сроки отторжения струпа. При включении в терапию антиоксидантов-антигипоксантов очищение раны от

фибринозных налетов и некротических тканей, нормализация биохимических показателей крови, появление грануляций и эпителизации раны происходит в несколько раз быстрее, чем без использования данных препаратов [Маркова И. В., 1998; Лужников Е. А. и соавт., 2006; Ерофеева М. В. и соавт., 2008; Вильдяева М. В. и соавт., 2015].

Т. П. Пинчук (2009) применял антиоксиданты в качестве консервативной терапии в лечении пациентов с химическим ожогом желудка. Данный препарат вводился непосредственно в края язв желудка, образованных в месте контакта химического реагента со стенкой желудка, т.е. при четвертой степени химического ожога. В процессе динамического наблюдения подтверждением положительного влияния антиоксидантов на регенерацию ожоговой язвы желудка служили в основном признаки ускорения темпов формирования рубца, раннее появление грубой волокнистой соединительной ткани. При включении антиоксидантов в состав консервативной терапии процессы регенерации по данным морфологического исследования в основной группе происходили быстрее на 2–3 дня, чем в контрольной.

Известно, что радикалы  $\text{OH}^\cdot$  при снижении активности антиоксидантной системы запускают вторичные свободнорадикальные процессы перекисидации липидов не только в зоне первичного поражения, но и в перифокальной зоне [Луцевич О. Э. и соавт., 2011; Козка А. А. и соавт., 2015; Brisbois E. J. et al., 2014]. Дисбаланс в системе прооксиданты-антиоксиданты исследователи отмечают во всех органах и системах [Белова М. В. и соавт., 2007; Говорин А. В. и соавт., 2009; Zhi L. et al., 2015; Bratu L. M. et al., 2016; Pielesz A. et al., 2017, 2018]. По данным литературы, в основном антиоксиданты применяют системно в качестве ингибиторов процессов перекисного окисления липидов при оксидатном стрессе [Царегородцева С. А. и соавт., 2006; Лужников Е. А. и соавт., 2006; Белова М. В. и соавт., 2007; Говорин А. В. и соавт., 2009; Chen L. et al., 2015] и местно в качестве индукторов репаративных процессов [Охрименко А. А. и соавт., 2006; Пинчук Т. П. и соавт., 2009. ; Kilincaslan H. et al., 2013, 2014, 2015; Ng K. et al., 2013; Firat C. et al., 2013; Silveira P. C. et al.,

2014; MoJ. et al., 2014]. В связи с этим возникает вопрос о возможности ускорения процессов регенерации стенки пищевода при устранении системного дисбаланса системы антиоксиданты-прооксиданты для ускорения заживления ожоговой поверхности. Так как растворы кислот и щелочей в разной степени поражают стенку пищевода, то существует необходимость в изучении эффективности антиоксидантов дифференцированно при ожогах данными веществами.

#### **1.4. МЕХАНИЗМЫ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ОРГАНИЗМЕ**

Свободнорадикальное окисление липидов наблюдается во всех тканях аэробных организмов (в основном мембранах и липопротеиновых структурах) и является разветвленным цепным процессом. На сегодня теория и параметры развития процессов перекисного окисления липидов в разных экспериментальных системах хорошо разработаны и изучены. Свободнорадикальные процессы условно разделяются на три этапа:

1. Зарождение цепей.
2. Развитие цепных реакций и их разветвление.
3. Обрыв цепей [Литвицкий П. Ф. и соавт., 1997; Меньщикова Е. Б., 2006; Нимаев Ж. Ц., 2009].

На этапе зарождения цепей из молекул липидов в биологических системах образуются свободные радикалы. Зарождение цепей с образованием первичных радикалов происходит под действием экзогенных химических или физических факторов.

Во время развития свободнорадикальных процессов особое значение имеют два типа свободных радикалов – неорганической природы и радикалы органического происхождения, которые образуются в основном на этапе развития цепных реакций, т.е. окислении липидов [Меньщикова Е. Б., 2006; Luk'yanova L. D. et al., 1997].

К радикалам неорганической природы относят активные формы кислорода [Малышев Б. Д. и соавт. 1994; Cadenas E et al., 1989]: гидропероксидный радикал ( $\text{HO}_2^-$ ), супероксидный анион-радикал ( $\text{O}_2^-$ ), и гидроксил-радикал ( $\text{OH}^-$ ), а также гипохлорную кислоту ( $\text{HOCl}$ ) и пероксид водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) [Зенков Н. К. и соавт., 1993; Bannister J. Y et al., 1982].

Взаимодействие активных форм кислорода с ненасыщенными жирными кислотами, в большом количестве присутствующими в составе клеточных мембран, дает начало этапу развития цепных реакций и их разветвления, в ходе которого образуются перекисные и липидные радикалы [Меньщикова Е. Б., 2006]. Липидные радикалы при дальнейшей спонтанной перегруппировке образуют так называемые диеновые конъюгаты, обладающие высокой способностью реагировать с кислородом с образованием перекисного радикала и являющиеся одним из характерных маркеров оксидативного стресса [Меньщикова Е. Б., 2006]. Перекисный радикал акцептирует атом водорода от жирной кислоты, превращает данную молекулу в свободный радикал и становится более стабильным соединением, инициируя новую цепную реакцию, или трансформируется в нестабильную циклическую эндоперекись [Меерсон Ф. З. и соавт., 1981]. При разрушении данного соединения образуется большое количество новых продуктов, в том числе и малоновый диальдегид [Ситницкий А. Э. и соавт., 1989].

В клетках действуют факторы и протекают процессы, ограничивающие и прекращающие перекисные и свободнорадикальные реакции. Одним из них является взаимодействие радикалов и перекисей липидов между собой, что ведет к условному третьему этапу, к образованию «нерадикальных» соединений или обрыву цепи. Если частота обрывов цепи превалирует над частотой разветвлений, то процессы перекисного окисления липидов замедляются до полного прекращения. При обратном соотношении скорость свободнорадикальных процессов постепенно возрастает [Барабой В. А. и соавт., 1991].

Для защиты мембран клеток и самих клеток от агрессивного воздействия инициаторов процессов перекисного окисления липидов существуют ферментная и неферментная системы их инактивации [Каган, В. Е. и соавт., 1979]. Древнейшим защитным приспособлением явилось возникновение антиоксидантных ферментов, локализованных преимущественно внутри клетки: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы. Эти ферменты связаны с мембранами митохондрий и ориентированы против активных форм кислорода или продуктов перекисного окисления липидов, обеспечивая оптимальную жизнедеятельность клетки [Барабой В. А. и соавт., 1992; Глушков С. И., 2006; Zhan R. X. et al., 2012; Frišman E. et al., 2013].

Защита мембран клеток осуществляется присутствием непосредственно в липидном бислое встроенных в него жирорастворимых антиоксидантов. При взаимодействии данных компонентов с липидными радикалами образуются радикалы антиоксидантов, которые не продолжают цепи свободнорадикальных процессов, а обрывают их, тем самым реализуя эффект антиоксидантной защиты [Дмитриев Л. Ф. и соавт., 1994; Rizzo J. A. et al., 2016].

Ключевая роль в обеспечении структурно-функциональной стабильности клетки принадлежит токоферолу. Данный фермент защищает клетку от деструкции, вызванной продуктами гидролиза фосфолипидов фосфолипазой А<sub>2</sub>. Токоферол реагирует с радикалами липидов и другими свободными радикалами, выполняющими роль инициаторов цепей. Антиоксидантная активность токоферола представляет собой баланс между прооксидантным и антиоксидантным эффектом. При физиологических концентрациях токоферол является антиоксидантом, при избыточной концентрации данный фермент продолжает цепь, то есть действует прооксидантно [Бурлакова, Е. Б. и соавт., 1985, 1992; Yamamoto Y. et al., 2012; Stanizzi A. et al., 2015].

В антиоксидантной защите нуждаются не только клеточные мембраны. Подобная защита также необходима и биологическим жидкостям. Основной для антиоксидантной системы вне клетки является система церулоплазмин–трансферрин [Теселкин, Ю. О. и соавт., 1987; Клебанов, Г. И. и соавт., 1999;

Dubick M. A. et al., 2015]. Его действие основано на связывании ионов  $Fe^{3+}$  и на окислении ионов  $Fe^{2+}$ , а также на взаимодействии этих ферментов с кислородными радикалами [Владимиров Ю. А. и соавт., 1991].

Функция защиты липидсодержащих структур клетки от повреждения супероксидными радикалами принадлежит ферменту церулоплазмину [Асельдерова А. Ш. и соавт., 1992]. Увеличение концентрации церулоплазмينا в крови приводит к увеличению ее антиокислительной активности. При взаимодействии церулоплазмينا с супероксидом не образуется перекись водорода. Активированные лейкоциты способны инициировать процесс перекисного окисления липидов, продуцируя те субстраты, с которыми взаимодействуют церулоплазмин и трансферрин [Теселкин Ю. О. и соавт., 1987].

Таким образом, анализ данных литературы свидетельствует о необходимости изучения состояния прооксидантной и антиоксидантной систем после химического ожога пищевода различными химическими веществами как явления неспецифического ответа на повреждающий фактор. С целью объективизации величины оксидантного стресса требуется изучение изменения в динамике уровня ферментов систем прооксидантной агрессии и оксидантной защиты.

#### **1.4.1. Состояние прооксидантной и антиоксидантной систем после химических ожогов**

Оксидантный стресс – состояние истощения антиоксидантной защиты, возникающее в результате дисбаланса между антиоксидантами и прооксидантами в сторону преобладания последних. Данный патофизиологический механизм является неспецифическим и возникает в ответ на любое повреждение [Лужников Е. А. и соавт., 2000; Власов А. П. и соавт., 2013; Беляев А. Н. и соавт., 2014; Adjepong M. et al., 2016, Raposio E. et al., 2017].

Особое значение данные процессы играют в патологии химических ожогов пищевода. При воздействии кислоты или щелочи интенсифицируются

процессы перекисного окисления липидов [Лужников Е. А. и соавт., 2000; Белова М. В. и соавт., 2007; Антипина Л. Г. и соавт., 2007].

В основе активизации процессов свободно-радикального окисления при ожогах прижигающими жидкостями лежит их местное деструктивное и резорбтивное действие [Лужников Е. А. и соавт., 2000], в то же время кислота или щелочь являются источником радикалов [Нимаев Ж. Ц., 2009]. Всасывание радикалов в системный кровоток, а также резорбция продуктов ожоговой деструкции клеток через образующиеся раневые поверхности происходит быстро. В то же время обезвреживание продуктов перекисного окисления липидов ограничено детоксикационными возможностями организма, в том числе и резервами антиоксидантной системы [Нимаев Ж. Ц., 2009].

В крови больных ожогами пищевода химической этиологии исследователи отмечают преобладание первичных продуктов перекисного окисления липидов, вносящих дисбаланс в систему прооксиданты-антиоксиданты. М. В. Белова (2007) в своей работе отмечала высокий уровень диеновых конъюгатов, превышающий норму в несколько раз. Одновременно с этим регистрировала двукратный прирост концентрации малонового диальдегида. В то же время отмечала компенсаторный ответ со стороны антиоксидантной системы в виде многократного увеличения концентрации токоферола относительно нормы. Уровень церулоплазмينا имел тенденцию к снижению.

По данным А. В. Говорина (2009), при химическом ожоге уксусной эссенцией повышается уровень производных тиобарбитуровой кислоты в плазме крови, а также снижается общая антиокислительная активность крови, в том числе и активность каталазы эритроцитов.

После химического ожога пищевода имеет место тенденция к увеличению в крови уровня малонового диальдегида, что указывает на увеличение скорости и интенсивности процессов перекисного окисления липидов. При этом уровень токоферола прогрессивно снижается к первой неделе после травмы. Эта ситуация приводит к дисбалансу в системе

прооксиданты-антиоксиданты в результате роста продуктов перекисного окисления липидов, нарушая целостность мембран с последующей гибелью клеток [Лужников Е. А. и соавт., 2006; Власов А. П. и соавт., 2012; Zhou C et al., 2015, CsontosC. et al., 2012].

Интенсификацию процессов перекисного окисления липидов отмечают не только в остром периоде химической травмы, но и на этапе сформированной стриктуры пищевода. По результатам исследования Л. Г. Антипиной (2007), у больных со стриктурой пищевода, в терапию которых не были добавлены препараты группы антиоксидантов, имелась исходная активация реакций перекисного окисления липидов, проявляющаяся увеличением концентрации как диеновых конъюгатов, так и малонового диальдегида более чем в 2 раза.

Резорбция уксусной кислоты ведет к внутрисосудистому гемолизу эритроцитов, который в сочетании с экзотоксическим шоком вызывает синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания [Уразаев Т. Х. и соавт., 1998; Белькова Т. Ю. и соавт., 2001]. Следствием этого является высвобождение большого количества гемоглобина, ионов железа и геминовых соединений, которые ускоряют разложение гидроперекисей, приводя к образованию свободных радикалов. Радикалы, в свою очередь, активизируют новые цепи свободнорадикальных процессов [Чеснокова Н. П. и соавт., 2006; Нимаев Ж. Ц., 2009].

Гемоглобиновый катализ осуществляется в отсутствие ферментов и не поддается ингибированию. Этот процесс способствует разрушению клеточных мембран, усугубляя тяжесть окислительного стресса [Лужников Е. А. и соавт., 2007; Нимаев Ж. Ц., 2009].

Химическую травму пищевода необходимо рассматривать как стрессовый фактор. Рядом авторов отмечено, что при стрессовом воздействии наблюдаются изменения показателей защитных функций, выражающиеся в иммуносупрессии с последующим постепенным восстановлением резистентности [Яковлев Г. М. и соавт., 1990; Баландина И. А. и соавт., 2014; Bolton P. M., 1979; Antonacci A. C., 1984]. Наиболее лабильные изменения

отмечаются в показателях клеточного иммунитета. Длительность и выраженность изменений зависят от исходного состояния иммунной системы. Период иммунодепрессии соответствует стадии резистентности. Репаративная регенерация опережает иммунологическую реакцию, так как в начальном периоде стресса иммуногенез подавлен [Левандо В. А. и соавт., 1990; Лебедев К. А. и соавт., 1991; Баландина И. А. и соавт., 2014].

По данным литературы, у больных с отравлениями прижигающими жидкостями имеет место иммунопатия, проявляющаяся лейкоцитозом, высокой метаболической активностью нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитопенией, а также снижением активности сывороточного лизоцима и лизоцима слюны [Климов Н. А. и соавт., 1991; Ястребова Е. В. и соавт., 1997]. Данный патологический процесс связан прежде всего с токсическим действием прижигающих жидкостей, но, по данным ряда авторов, одним из звеньев патогенеза иммунопатии является оксидативный стресс [Белькова Т. Ю. и соавт., 2001; Власов А. П. и соавт., 2004; Нимаев Ж. Ц., 2009]. При разрушении тканей во время контракта стенки пищевода с кислотой или щелочью, высвобождаются вещества антигенной природы, которые одновременно с экзогенными антигенами меняют активность иммунокомпетентных клеток, оказывая тормозящее влияние на процессы репаративной регенерации [Белькова Т. Ю. и соавт., 2001; Нимаев Ж. Ц., 2009].

Таким образом, при химических ожогах пищевода отмечены устойчивые изменения в системе прооксиданты-антиоксиданты. Но в современной литературе при анализе уровня оксидативного стресса не проводится дифференциации между этиологическим фактором химической травмы: кислотой и щелочью. Кислоты способны к резорбции из просвета желудочно-кишечного тракта, становясь при этом прооксидантами и увеличивая степень оксидативного стресса. В то же время растворы щелочей, не обладая склонностью к резорбции, способствуют развитию грубых изменений стенки пищевода. Данный патологический процесс приводит к активации вторичных свободно-

радикальных процессов, и, как следствие, инициации процессов перекисного окисления липидов. В результате существует необходимость отдельного изучения в динамике уровней оксидативного стресса после химических ожогов растворами кислот и щелочей.

#### **1.4.2. Эффективность антиоксидантной терапии после химических ожогов**

По мнению ряда исследователей, включение в медикаментозную терапию препаратов группы антиоксидантов-антигипоксантов необходимо для адекватной доставки кислорода тканям, сокращения уровня лактоацидоза, улучшения синаптической передачи. Данные препараты имеют способность модулировать работу рецепторных комплексов, активировать энергосинтезирующую функцию митохондрий, усиливать связывание эндогенных веществ [Ерофеева М. В. и соавт., 2008; Власов А. П. и соавт., 2014].

Применение антиоксидантов способствует стабилизации в крови уровня малонового диальдегида, также и на этапе уже сформированной постожоговой рубцовой стриктуры [Антипова Л. Г. и соавт., 2007].

Повышение концентрации в крови диеновых конъюгатов поддерживает высокий уровень токоферола и способствует нормализации содержания в крови церулоплазмينا, что предотвращает дальнейший дисбаланс в системе прооксиданты-антиоксиданты [Лужников Е. А. и соавт., 2006].

Антиоксиданты способствуют снижению агрегационной активности тромбоцитов [Власов А. П. и соавт., 2009; Беляев А. Н. и соавт., 2016], что в клинической практике отмечается уже на второй день от начала лечения. В эти же сроки наблюдается нормализация вязкости крови, что улучшает текучесть крови на уровне микроциркуляции [Нимаев Ж. Ц., 2009].

Препараты группы антиоксидантов благотворно влияют на процессы иммуногенеза. По данным Ж. Ц. Нимаева (2009), через сутки от начала лечения

у больных исследуемой группы, которым применялась антиоксидантная терапия, на 25 % от исходного уменьшался лейкоцитоз, вдвое сокращалась лимфоцитопения, снижалась концентрация супероксид-радикала кислорода. В то время как у лиц, не получавших терапию антиоксидантами, лейкоцитоз увеличивался на 20 %, прогрессивно снижалось относительное количество лимфоцитов на фоне роста метаболической активности нейтрофильных гранулоцитов.

По мнению ряда исследователей, применение препаратов антиоксидантных групп показано при химических ожогах пищевода [Белькова Т. Ю. и соавт., 2001; Ерофеева М. В. и соавт., 2008; Нимаев Ж. Ц., 2009]. Но в современной литературе отсутствует дифференциация между химическим ожогом кислотой или щелочью при выборе консервативной терапии. Исходя из этого, на основании клинических наблюдений и проведенных экспериментальных исследований невозможно сделать выводы относительно эффективности антиоксидантной терапии при ожогах пищевода различными прижигающими веществами в сравнительном аспекте.

Таким образом, на сегодня существует большое количество экспериментальных работ, посвященных моделированию химических ожогов пищевода. Но данные модели обладают рядом недостатков, таких как отсутствие дозированного введения химического реагента в просвет органа, невозможность локализации химической травмы. Следствием данных недостатков является высокая гибель экспериментальных животных как на этапе нанесения химической травмы пищевода, так и в отдаленном периоде на этапе сформированной постожоговой стриктуры пищевода. В итоге возникает необходимость создания оптимальной модели химического ожога пищевода различными прижигающими жидкостями. Данные химические растворы в разной степени оказывают местное деструктирующее и общее интоксикационное воздействие на подопытных животных, что требует изучения темпов регенерации пищевода после химических ожогов растворами

щелочей и кислот. Так как растворы прижигающих жидкостей в разной степени поражают стенку пищевода, то существует необходимость изучения в динамике уровней оксидантного стресса после химических ожогов растворами кислот и щелочей и, как следствие, эффективности антиоксидантов дифференцированно при химических ожогах растворами различных химических групп.

### **1.5. Современные методы внутрипросветных операций на пищеводе при послеожоговой рубцовой стриктуре**

В современной хирургии пищевода в структуре оперативных вмешательств удельный вес набирают высокотехнологичные миниинвазивные операции относительно радикальных операций [Скажутина Т. В. и соавт., 2016; СаоУ et al., 2017]. По данным литературы, одним из перспективных направлений при лечении послеожоговых рубцовых стриктур пищевода является стентирование органа [Муравьев В.М. и соавт., 2010; Климашевич А. В. и соавт., 2012; SchubertD et al., 2010; EmreA. et al., 2018]. Преимущества стентирования неоспоримы: дозированная и равномерная дилатация стриктуры, более легко переносимая манипуляция для пациента, чем баллонная дилатация или бужирование пищевода [Дмитриев Е. Г. и соавт., 2012; Климашевич А. В. и соавт., 2012].

Основными показаниями к стентированию пищевода (по данным различных авторов) при доброкачественных стриктурах являются:

- 1) длительно существующая (более шести месяцев) стриктура пищевода;
- 2) высокая частота рецидивов стриктуры пищевода [Муравьев В.М. и соавт., 2010; Климашевич А. В. и соавт., 2012; Мумладзе Р.Б.и соавт., 2013].

В связи с развитием научно-технического прогресса и созданием новых материалов разрабатываются различные варианты стентов, обладающих разными свойствами. Данные свойства материалов, используемых

в конструкции устройства, определяют задачи стентирования пищевода определенным видом стента. Варианты стентов:

- 1) по составу:
  - a. металлические – нержавеющая сталь, сплавы никеля с кадмием, с титаном (нитинол);
  - b. пластиковые – полиэстер;
  - c. биodeградируемые– полилактат, полидиоксанон;
- 2) по покрытию стента:
  - a. непокрытые;
  - b. покрытые (силиконом, полиуретаном, политетрафторэтиленом);
  - c. частично покрытые;
- 3) по наличию или отсутствию памяти формы:
  - a. самораскрывающиеся;
  - b. раскрываемые баллоном;
- 4) по уровню установки стента:
  - a. шейные (верхняя воронка стента располагается под устьем пищевода);
  - b. средняя треть пищевода;
  - c. нижняя треть пищевода (оснащены специальным антирефлюксным клапаном) [Волков О.И., 2004; Мумладзе Р.Б. и соавт., 2013; Федоров А. Г. и соавт., 2013].

И если задачи стентирования пищевода, по данным литературы, металлическими или пластиковыми стентами с покрытием или без не вызывают противоречий, то наименее изученным является вопрос использование стентов, изготовленных из биodeградируемых материалов. Преимуществом данных устройств является отсутствие необходимости в удалении стента и, как следствие, в профилактике развития осложнений в виде формирования новых стриктур, вызванных грануляционными тканями, миграции стента и язвы пищевода [Климашевич А. В, 2010; Дмитриев Е.Г. и соавт., 2012;

Годжелло Э. А. и соавт., 2012; Кригер А. Г. и соавт., 2013; Смоляр А.Н. и соавт., 2014; Cao Y et al., 2017; Sato H et al., 2018].

Недостатком резорбируемых стентов является невозможность прогнозирования дальнейшего течения болезни [Годжелло Э. А. и соавт., 2013]. Процесс биоразложения является неконтролируемым, особенно при длительно рецидивирующих стриктурах пищевода. Большинство биоразлагаемых в организме человека материалов резорбируются через образование соединительной ткани [Лисин А. В. и соавт., 2015; Легонькова О.А. и соавт., 2017]. В то же время в основе развития стриктуры пищевода лежит гиперпролиферация соединительной ткани, в результате установка данного стента в просвет пищевода при сформированной стриктуре оказывает лишь временный эффект в виде механической дилатации просвета органа с последующим рецидивом стриктуры.

Таким образом, показанием к установке биоразлагаемых стентов является лечебно-профилактическое стентирование пищевода до развития стриктуры органа. По данным современной литературы, отсутствует единое мнение о сроках проведения ранних внутрипросветных вмешательств на пищеводе, данные сроки варьируются в широких пределах – от двух до восьми недель [Тарасов А. Н. и соавт., 2010; Климашевич А. В. и соавт., 2012; Белевич В. Л. и соавт., 2012; Матвеева Л.В. и соавт., 2014; Скажутина Т. В. и соавт., 2016]. В данный временной промежуток отмечаются различные патоморфологические процессы, протекающие в стенке органа, – от ожогового эзофагита до развития сформированной стриктуры. При установке биодеградируемых стентов в просвет пищевода на этапе ожогового эзофагита отмечается лизирование материала стента лейкоцитами, так называемый эффект «биоэрозии», при этом достаточно небольшие фрагменты (менее 10 мм) усваиваются фагоцитами и далее гидролизуются внутриклеточно до мономерных анионов [Легонькова О.А. и соавт., 2017], что сокращает срок воздействия стента. При стентировании пищевода на этапе сформированной стриктуры данная операция окажет лишь временное положительное воздействие, так как стент замещается

вновь образованной соединительной тканью [Лисин А.В. и соавт., 2015]. В результате существует необходимость морфологической верификации сроков установки биodeградируемых стентов на основе изучения процесса регенерации пищевода после химического ожога раствором кислоты и щелочи.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Исследования на животных проводили в соответствии с приказом Минздрава СССР от 11.10.1983 и № 267 Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003, а также международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (Washington, D.C. 1996) и требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986), принципами ГОСТ 33044-2014 "Надлежащая лабораторная практика".

Работу выполняли на базе Медицинского института Пензенского государственного университета (директор института и заведующий кафедрой хирургии д.м.н., профессор А. Н. Митрошин) и «Центра доклинических исследований» (директор центра И. В. Ефимова, ветеринарное удостоверение 258 № 0003806 от 23.12.2008, выдано ФГБОУ ВО «Пензенский государственный аграрный институт», сертификат аккредитации ООО «Технопарк «Сколково» № 001154 от 01.12.2017). На проведение эксперимента было получено разрешение локального этического комитета Пензенского государственного университета (протокол № 9 от 30.10.2015).

В качестве экспериментальных животных были выбраны половозрелые кролики-самцы породы шиншилла массой не менее 3,5 кг и не более 5 кг.

Расчет количества экспериментальных животных для каждой группы проводили по формуле

$$n = \frac{(z_{\alpha} + z_{\beta})^2}{\delta^2} \cdot \sigma^2,$$

где  $n$  – число животных в каждой группе;  $z_{\alpha}$  и  $z_{\beta}$  – критические значения нормального распределения, соответствующие заданным уровням

ошибок I и II рода. Для мощности теста в 80 %, уровня достоверности 0,05 верны значения  $z_{\alpha} = 1,96$  и  $z_{\beta} = 0,84$  (критические значения  $z$  стандартного нормального распределения);

$\delta$  – разница измеряемых величин ( $\mu_2 - \mu_1$ );

$\sigma$  – стандартное отклонение [Исламов Р. А., 2016].

Данные для вычисления были взяты из работы С. Г. Рукевич (2014) по изучению эффективности антиоксидантов при химическом ожоге пищевода уксусной кислотой в эксперименте.

За сравниваемые группы экспериментальных животных выбраны группа 1 – контрольная группа и группа 3 – основная группа животных, получавших антиоксидант. Сроки вывода составили 60-е сут эксперимента/

Таким образом, количество особей в каждой группе составило:

$$n = \frac{(1,96 + 0,84)^2}{13^2} \cdot 18^2 = 15,03 \text{ особей.}$$

### **2.1.1. Моделирование химического ожога пищевода уксусной кислотой**

С целью выявления оптимальной концентрации уксусной кислоты выполнено моделирование химического ожога уксусной эссенцией, как наиболее часто встречающегося химического реагента на трех кроликах [Доржиев Б. Д. и соавт., 2012]. При химическом ожоге уксусной кислотой 70 % в объеме 1 мл трое экспериментальных животных умерли на вторые сут эксперимента. При аутопсии верифицирован химический ожог пищевода без явлений перфорации, причиной смерти явился экзотоксический шок. В следующем этапе эксперимента концентрация кислоты была уменьшена до 30 % раствора. Экспериментальные животные выжили до конца исследования, но по данным аутопсии явлений химического ожога пищевода не отмечено. В результате принято решение о повышении концентрации кислоты до 46 %.

Создавали ожог путем экспозиции уксусной кислоты в течение 1 мин в объеме 1 мл. Для этого под общей анестезией расширяли ротовую

полость подопытному животному, вводили зонд (рисунок 2.1) диаметром 8 мм с боковыми отверстиями размером 5×2 мм около слепо заканчивающегося конца с марлевым тампоном внутри, в просвете зонда располагался капилляр до уровня бокового отверстия зонда. Длина зонда, введенного в пищевод, составляла 15 см, что соответствует уровню средней трети пищевода кролика. По капилляру первоначально вводили 0,5 мл 46 % уксусной кислоты для того, чтобы жидкость дошла до дистального отверстия капилляра, затем подавали 1 мл 46 % уксусной кислоты. Время экспозиции составляло 1 мин. В последующем быстро удаляли зонд. Для нивелирования побочных эффектов наркоза и пробуждения подопытного животного вводили 10 % раствор кофеина бензоата внутримышечно в объеме 1 мл. В течение 30 мин контролировали состояние животного до выхода из наркоза.

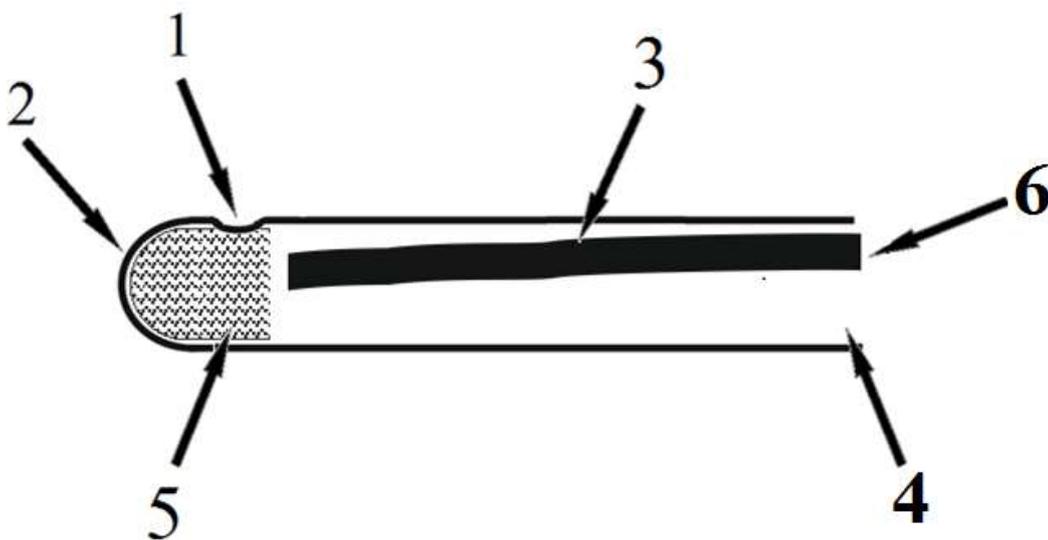


Рисунок 2.1 – Устройство доставки уксусной кислоты:

- 1 – боковое отверстие; 2 – слепо заканчивающийся конец; 3 – капилляр в просвете;  
4 – проксимальный конец; 5 – марлевый тампон; 6 – введение кислоты

### 2.1.2. Моделирование химического ожога пищевода щелочью

Моделирование химического ожога щелочным раствором выполняли с использованием 30 % раствора едкого натра, основываясь на работах Ф. З. Сапегиной (2005). Результатом воздействия щелочи явилась гибель

экспериментальных животных в течение 3-х сут от момента химической травмы. В связи с этим концентрация раствора была уменьшена до 18,5 %, но в последующем эксперименте один кролик из трех умер на 3-и сут, двое кроликов умерли на 7-е сут эксперимента.

В дальнейшем был проведен анализ причин гибели экспериментальных животных. При использовании полиэтиленовой трубки с подведенным к боковому отверстию капилляром происходило неконтролируемое введение реагента в просвет пищевода. Отсутствие дозированного воздействия реагента с поверхностью пищевода из-за неравномерного распределения прижигающего раствора по стенке органа способствовало появлению участков с различной глубиной поражения, что увеличивало гибель животных.

С целью предотвращения гибели животных было разработано другое устройство для доставки щелочного раствора. При моделировании химического ожога пищевода щелочными растворами использовали зонд со вставленным в его просвет капилляром. Отличительными особенностями устройства являлось наличие инструмента для создания отрицательного давления в просвете зонда. Данное устройство подсоединяли к проксимальному концу зонда. Ближе к дистальному концу расположено отверстие капилляра, открывающееся непосредственно на боковой стенке зонда. Здесь же, вокруг дистального отверстия капилляра, расположены 20 небольших боковых отверстий.

Создавали ожог путем экспозиции едкого натра 18,5 % в течение 1 мин в объеме 3 мл. Для этого под общей анестезией расширяли ротовую полость кролику, вводили зонд (рисунок 2.2) диаметром 8 мм, имеющий 20 боковых отверстий диаметром 1 мм около слепо заканчивающегося конца. В просвет зонда вставляли капилляр, дистальный конец которого располагался на боковой стенке устройства на уровне боковых отверстий. Длина зонда, введенного в пищевод, составляла 15 см., что соответствует уровню средней трети пищевода кролика. По капилляру первоначально вводили 0,5 мл 18,5 % едкого натра для того, чтобы жидкость дошла до дистального отверстия

капилляра. Затем включали устройство для создания вакуума. Химический реагент под действием отрицательного давления самостоятельно поступал через дистальное отверстие капилляра в просвет пищевода посредством боковых отверстий в просвет зонда и скапливался в вакуум-инструменте. Затем быстро удаляли зонд. Для нивелирования побочных эффектов наркоза и пробуждения кролика вводили кофеина бензоата внутримышечно 1 мл 10 % раствора. В течение 30 мин контролировали состояние животных до выхода из наркоза.

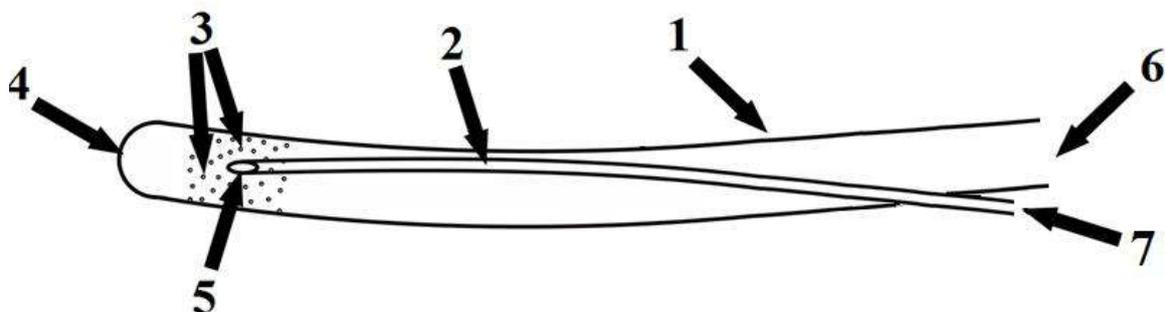


Рисунок 2.2 – Устройство доставки щелочного раствора:

1 – полиэтиленовая трубка; 2 – капилляр в просвете; 3 – боковые отверстия на дистальном конце; 4 – слепо заканчивающийся конец; 5 – дистальное отверстие капилляра, открывающееся непосредственно на боковой стенке зонда; 6 – проксимальный конец, к которому крепится инструмент для создания отрицательного давления; 7 – введение раствора щелочи

В отличие от предыдущего устройства доставки, в данном случае использовали устройство для вакуум-аспирации. Посредством созданного в просвете зонда отрицательного давления происходило сближение стенки пищевода и зонда в зоне боковых отверстий. Через боковые отверстия осуществлялась аспирация химического реагента, попавшего в просвет пищевода через дистальное отверстие капилляра. В результате химическое вещество ограничено контактировало со стенкой пищевода подопытного животного. Реагент выводился из просвета пищевода, предупреждая системное воздействие прижигающей жидкости на экспериментальное животное.

Химический агент воздействовал только на участок пищевода, находящийся непосредственно в контакте с боковой стенкой зонда, что позволяло формировать ожог локального характера.

Начиная с первых суток с момента формирования ожога и на протяжении последующих 14 дней кроликам основных групп после ожогов 46 % раствором уксусной кислоты и 18,5 % раствором едкого натра внутримышечно вводили препарат «Мексидол». Международное непатентованное название препарата – этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС). Дозировка составила 5 мг на 1 кг веса животного. Животным контрольных групп вводили эквивалентное количество физиологического раствора на каждый килограмм веса животного.

Расчет дозы выполняли на основании значения показателя разовой дозы для человека из инструкции по применению данного лекарственного средства. Данный показатель составил 2–3 мг/кг массы тела, среднее значение показателя составило 2,5 мг/кг массы тела внутримышечно 3 раза в сутки. Пересчет дозы для экспериментальных животных проводили с учетом коэффициентов для межвидового переноса доз, зависящих от массы тела: для человека данный коэффициент при массе 70 кг составляет 39, для кролика с массой 3,5 кг – 18,5 [Хабриев Р. У., 2005].

Однократная доза препарата составила  $(2,5 \cdot 39) / 18,5 = 5,27$ , или 5 мг/кг массы тела экспериментального животного. Лекарственное средство вводили внутримышечно три раза в день. Суточная доза ЭМГПС составила 15 мг/кг массы тела кролика.

Таким образом, в исследование вошло 60 половозрелых кроликов-самцов породы шиншилла массой не менее 3,5 кг и не более 5 кг. Экспериментальных животных разделили на четыре группы: две основных – с введением ЭМГПС, и две контрольных – с введением физиологического раствора для растворов кислоты и щелочи по 15 особей в каждой.

У экспериментальных животных основных и контрольных групп выполняли забор крови на 5, 14, 21, 30, 45-е сут с последующим

центрифугированием на аппарате ELMi CM-70 при 3000 тыс. оборотов.

Полученные образцы сыворотки замораживали при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Животных основных и контрольных групп выводили из эксперимента на 5, 14, 21, 30, 45 и 60-е сут, в соответствии с рекомендациями Конвенции по защите животных, принятой Советом Европы в 1986г., путем передозировки эфира. Выполняли забор образцов пищевода экспериментальных животных. Данные препараты фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина (в термостате при температуре  $37-40^{\circ}\text{C}$ ). После обезвоживания в спиртах восходящей концентрации объекты заливали в парафин с последующим приготовлением гистологических срезов толщиной 8 мкм. Для гистологического и морфометрического исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Морфологическое исследование полученного материала проводили на базе Медицинского института Пензенского государственного университета на кафедре «Клиническая морфология и судебная медицина с курсом онкологии» (заведующий кафедрой и соисполнитель работы – к.м.н., доцент М. Г. Федорова).

Светооптическое исследование окрашенных срезов проводили с помощью микроскопа фирмы «CarlZeiss» под увеличением от 40 до 400 раз. Морфометрическое исследование выполняли с использованием фотографической насадки к микроскопу «Axioskop».

Посредством программ «Axiovision» и «ImageTool v.3.0» на микрофотографиях проводили подсчет следующих элементов:

- количество нейтрофильных лейкоцитов;
- количество лимфоцитов;
- толщину эпителия пищевода;
- площадь новообразованных сосудов микроциркуляторного русла.

Результаты подсчетов заносили в специально разработанный протокол исследования.

## **2.2. БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МАТЕРИАЛА, ПОЛУЧЕННОГО В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Биохимическое исследование образцов сывороток крови проводили на базе Медицинского института Пензенского государственного университета на кафедре «Физиологии человека» (заведующий кафедрой – д.м.н., профессор Н. И. Микуляк, соисполнитель работы – к.б.н., доцент О. П. Петрушова).

Ранее собранные образцы сывороток крови подопытных животных размораживали при температуре 37°C и определением следующих параметров:

- уровня диеновых конъюгатов;
- уровня триеновых конъюгатов;
- уровня малонового диальдегида;
- уровня каталазы;
- уровня церулоплазмينا;
- уровня супероксиддисмутазы.

### **2.2.1. Определение уровня диеновых и триеновых конъюгатов**

Метод основан на установлении содержания продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по поглощению липидным экстрактом монохроматического светового потока в ультрафиолетовой области спектра. Диеновые (ДК) и триеновые (ТК) конъюгаты экстрагируются в гептан-изопропанольных фракциях. Так как в гептане экстрагируются в основном нейтральные липиды, а в изопропанол – фосфолипиды, то гептановая фракция свидетельствует об активности ПОЛ в нейтральных липидах, а изопропанольная свидетельствует об активности в фосфолипидах.

К 0,2 мл плазмы крови добавляли 2 мл гептан-изопропанольной смеси в соотношении 1:1, встряхивали в течение 5 мин. Далее гептан-изопропанольные фракции переносили в чистые пробирки без остатков

сыворотки крови и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 мин. После чего 0,5 мл верхней гептановой и нижней изопропанольной фаз переносили в чистые пробирки и добавляли 2 мл 96 % раствора этанола. Полученные пробы фотометрировали на спектрофотометре СФ-103. Гептановую фазу оценивали против этанола при длине волны 233 нм (поглощение ДК). Изопропанольную фазу оценивали при длине волны 278 нм (поглощение 1 К). Содержание ДК, ТК оценивали по относительным величинам  $E_{232}/\text{концентрация общих липидов}$ ,  $E_{278}/\text{концентрация липидов}$  и выражали в относительных единицах [Колб В.Г., 1982].

### 2.2.2. Определение уровня малонового диальдегида

При взаимодействии малонового диальдегида (МДА) с двумя молекулами тиобарбитуровой кислоты (ТБК) при температуре 100°С образуется окрашенный триметиновый комплекс с максимумом поглощения при 532 нм (зеленый светофильтр).

В пробирки Эппендорфа вносили 0,5 мл сыворотки крови, 1 мл раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Далее проводили центрифугирование при режиме 4000 об/мин в течение 30 мин. Отбирали 850 мкл надосадочной жидкости, добавляли 1,7 мл 0,8 % раствора ТБК. После чего пробирки помещали на кипящую водяную баню на 15 мин. Далее пробы колориметровали на спектрофотометре СФ-103 при 532 нм. Расчет концентрации МДА (С) проводили по формуле:

$$C = D \cdot 2 / 1,56 \text{ нМоль/мл сыворотки,}$$

где  $D$  – оптическая плотность; 2 – разведение; 1,56 – молярный коэффициент экстинкции МДА [Колб В. Г., 1982].

### 2.2.3. Определение уровня каталазы

Принцип метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Реакцию запускали добавлением 0,1 сыворотки крови к 2 мл 0,03 % раствора перекиси водорода. В холостую пробу добавляли дистиллированную воду вместо сыворотки крови кроликов. Реакцию останавливали через 10 мин добавлением 1 мл 4 % молибдата аммония. Интенсивность окраски измеряли на длине волны 410 нм против контроля на реактивы (2 мл воды, 0,1 мл исследуемой жидкости, 1 мл молибдата аммония).

Активность каталазы рассчитывали по формуле

$$E = (A_{\text{хол.пр}} - A_{\text{оп.пр}}) / v \cdot t \cdot k,$$

где  $A_{\text{хол.пр}}$ ,  $A_{\text{оп.пр}}$  – активность холостой и опытной проб соответственно;  $k$  –  $22,2 \cdot 10^3 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ;  $t$  – время (600 с);  $v$  – объем исследуемой жидкости (0,1 мл) [Колб В. Г., 1982].

#### 2.2.4. Определение уровня церулоплазмينا

Активность церулоплазмينا определяли модифицированным методом Ревина, который базируется на окислении р-фенилендиамина при участии этого фермента. Ферментативную реакцию останавливали добавлением фтористого натрия. По оптической плотности образующихся продуктов судили о концентрации церулоплазмينا.

В обычные химические пробирки вносили по 0,1 мл гомогената. В одну из пробирок, служащую контрольной, добавляли 2 мл раствора фтористого натрия (с целью инактивации ферментативной активности церулоплазмينا). Затем во все пробирки помещали по 8 мл ацетатного буфера и по 1 мл раствора р-фенилендиамина (используемого в качестве субстрата). Пробирки встряхивали и ставили на 1ч в водяную баню с температурой 37°C. После инкубации во все пробирки, за исключением контрольной, доливали по 2 мл раствора фтористого натрия. Содержимое пробирок перемешивали и переносили в холодильник, где выдерживали в течение 30 мин при температуре 4°C.

Пробы колориметровали на фотоэлектрическом калориметре с зеленым светофильтром (530нм) в кюветах с шириной слоя 10 мм. Результаты сравнивали с данными контрольной пробы (бледно-розовая окраска). Умножали значения оптической плотности на коэффициент пересчета 875, получали величину концентрации церулоплазмина (в мг/л) [Колб В. Г., 1982].

### 2.2.5. Определение уровня супероксиддисмутазы

Активность данного фермента определяли по ингибированию скорости восстановления тетразолия нитросинего (НСТ) в неэнзиматической системе феназинметасульфата (ФМС) и НАД-Н. Среда инкубации общим объемом 3 мл содержала 0,1М фосфатный буфер рН 7,8, 0,33 мМ ЭДТА, 0,41 мМ НСТ, 0,01 мМ ФМС и 0,8 мМ НАД-Н. В опытную пробу вносили также супернатант (около 0,1 мл). Реакцию запускали добавлением НАД-Н и регистрировали спектрофотометрически по приросту экстинкции через каждую минуту и течение 5 мин, либо суммарно через 5 мин при 540 нм. За единицу активности супероксиддисмутазы принимали количество фермента, необходимого для 50 % ингибирования восстановления НСТ. Расчет вели по формуле

$$\left(100 - \frac{E_0 \cdot 100}{E_k}\right) / 50 \text{ мг белка} = \text{усл. Ед на 1 мг белка,}$$

где  $E_0$  и  $E_k$  – среднее значение прироста экстинкции за 1 мин ( $E/5$  мин) соответственно в опытной и контрольной пробах, когда скорость реакции была близка к линейной. Об активности каталазы судили по убыли перекиси водорода (в микромолях в 1 мин на 1 мг белка) при 240 нм в течение 5 мин. НАДФ-Н – пероксидазную реакцию проводили в среде инкубации, в которой донор водорода глутатион заменен на НАДФ-Н, по его убыли в микромолях на 1 мг белка оценивали энзиматическую активность. Содержание белка определяли по Лоури [Матюшин Б. Н. и соавт., 1991].

### 2.3. МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ

Все результаты исследования обработаны вариационно-статистическими методами. Для проверки нормальности распределения в данной работе использовали критерий Шапиро-Уилкса, который базируется на анализе линейной комбинации разностей порядковых статистик и рекомендуется к применению при отсутствии априорной информации о типе возможного отклонения от нормальности распределения (Лакин Г. Ф., 1990). Все описанные в данной работе параметры имели распределение, близкое к нормальному.

Для всех изучавшихся параметров определяли минимальное (Min) и максимальное (Max) значения, среднюю арифметическую (M), стандартное отклонение (m). Достоверность различий между рядами вариантов определяли с помощью параметрического критерия Фишера и непараметрического критерия Колмогорова – Смирнова (Гублер Е. В., 1990). При этом различия считали достоверными при 95 % пороге вероятности ( $p < 0,05$ ). Для сравнения групп по количественному признаку использовали методы непараметрической статистики: для связанных групп критерий Вилкоксона, для несвязанных – критерий Манна–Уитни.

Статистическую обработку проводили на IBM PC/AT «Pentium-IV» в среде Microsoft Windows XP Professional 2003 с использованием пакетов прикладных программ «Statistica 6.0».

## Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1. РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ЛОКАЛЬНОГО ОЖОГА ПИЩЕВОДА РАЗЛИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ РЕАГЕНТАМИ–КИСЛОТАМИ И ЩЕЛОЧАМИ

Создание экспериментальной модели химического ожога пищевода имеет цель последующее изучение процессов репарации стенки органа. Для осуществления данной цели необходимым условием является выживание экспериментальных животных до сроков выведения из эксперимента, установленных протоколом. Гибель кроликов может происходить как в первые часы, дни эксперимента вследствие эндотоксикоза из-за резорбции химического реагента, так и в более поздние сроки из-за осложнений химического ожога пищевода.

В качестве экспериментальных животных были выбраны 72 половозрелых кролика-самца породы шиншилла массой не менее 3,5 кг и не более 5 кг.

С целью доставки прижигающего раствора до стенки пищевода был создан специальный зонд диаметром 8 мм, имеющий боковое отверстие размером 5×2 мм около слепо заканчивающегося конца с марлевым тампоном внутри, в просвете зонда располагался капилляр до уровня бокового отверстия зонда. Длина зонда, введенного в пищевод, составляла 15 см, что соответствует уровню средней трети пищевода кролика [Никольский В. И. и соавт., 2013].

В основной и контрольной группах после воздействия 46 % раствором уксусной кислоты все 30 экспериментальных животных были выведены из исследования в обозначенные протоколом сроки, ранней гибели животных не отмечали. При аутопсии кроликов выявляли развитие воспалительной реакции, фиброза в соседних с пищеводом органах (рисунок 3.1). При исследовании самого органа обнаруживали развитие воспалительной реакции, охватывающей значительные по протяженности участки пищевода.

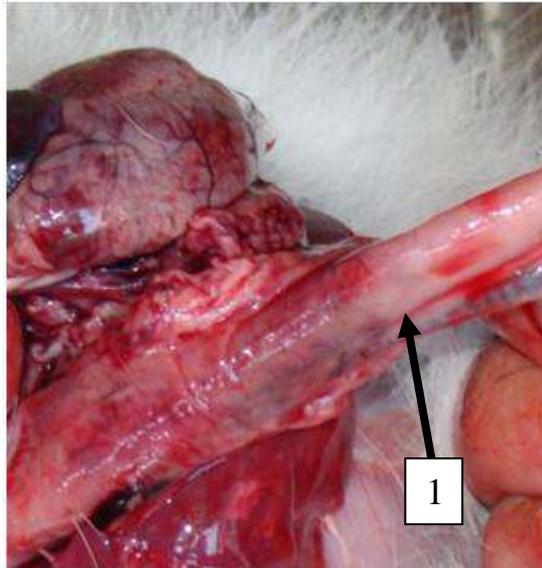


Рисунок 3.1– Органокomплекc кролика – дискредитированный пищевод в проекции средней его части после химического ожога 46 % уксусной кислотой

При моделировании химического ожога пищевода 30 % раствором едкого натра отмечали гибель экспериментальных животных в течение 3-х сут от момента химической травмы. При аутопсии выявляли гангрену пищевода, охватывающую по протяженности весь орган (рисунок 3.2).



Рисунок 3.2– Пищевод кролика на 2-сут эксперимента (ожог щелочью):  
1– тотальная гангрена пищевода

После уменьшения концентрации раствора едкого натра до 18,5 %, отмечали гибель одного кролика. При аутопсии верифицировали перфорацию пищевода в верхней трети с развитием медиастинита (рисунки 3.2, 3.3, 3.4).

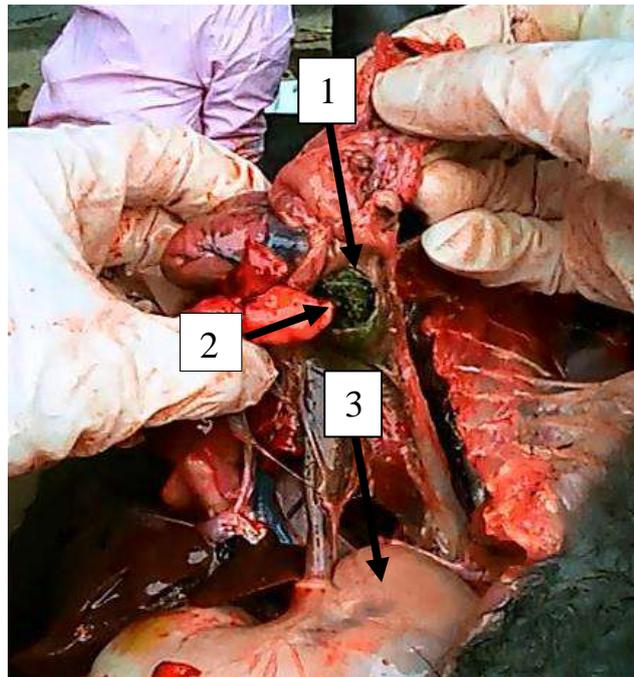


Рисунок 3.3– Органокomплекc кролика, модель химического ожога пищевода 18,5 % раствором едкого натра, умершего на 3-и сут эксперимента:  
 1 – пищевые массы в средостении; 2 – перфорация пищевода в верхней трети органа; 3 – желудок



Рисунок 3.4– Пищевод кролика, модель химического ожога пищевода 18,5 % раствором едкого натра, умершего на 3-и сут эксперимента:  
 1 – перфорация нижней трети пищевода кролика после химического ожога

Основными причинами ранней гибели экспериментальных животных считали отсутствие дозированного воздействия реагента на поверхность пищевода из-за неравномерного распределения раствора щелочи по стенке органа, что приводило к появлению участков с различной глубиной поражения и увеличению гибели животных.

В результате была разработана другая модель для доставки химического реагента к стенке пищевода. Отличительными особенностями данного устройства являлись наличие инструмента для создания отрицательного давления в просвете зонда. Последний подсоединяли к проксимальному концу зонда. Посредством созданного в просвете зонда отрицательного давления происходило сближение стенки пищевода и зонда. Через боковые отверстия осуществлялась аспирация химического реагента. В результате химическое вещество выводили из просвета пищевода, предупреждая системное воздействие раствора щелочи на подопытного животного. Химический агент воздействовал только на участок пищевода, находившийся непосредственно в контакте с боковой стенкой зонда.

В последующем был выполнен эксперимент по моделированию химического ожога пищевода 18,5 % раствором едкого натра на 30 кроликах породы шиншилла: по 15 особей в контрольной и основной группах. В результате применения модифицированного устройства для доставки химического реагента отмечали отсутствие гибели подопытных животных на ранних этапах эксперимента, формирование более локальной зоны ожога пищевода (рисунок 3.5).

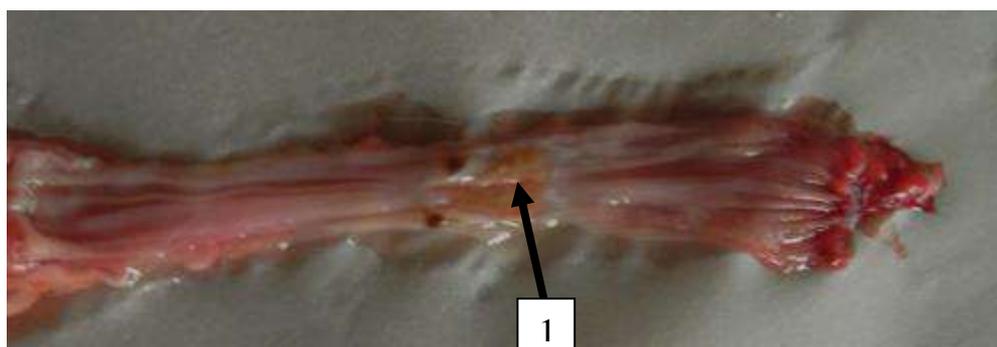


Рисунок 3.5 –Пищевод кролика на 21-е сут эксперимента, основная группа (ожог щелочью):1 – локальный дискредитированный участок пищевода кролика, зона непосредственного контакта щелочного раствора со стенкой органа

Таким образом, в экспериментальной работе была создана модель химического ожога пищевода различными химическими реагентами на 60 половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла. Выявлена необходимость дифференцированного подхода к моделированию ожога пищевода щелочным раствором и раствором кислоты. При ожоге 46 % раствором уксусной кислоты в меньшей степени имеет значение площадь соприкосновения химического реагента со стенкой органа без развития осложнений. При моделировании химического ожога 18,5 % раствором едкого натра отмечали необходимость дополнительных модификаций устройства для доставки реагента в виде включения в конструкцию аспиратора, изменения конфигурации боковых отверстий. Данные нововведения позволили нивелировать как местные деструктивные осложнения от химической травмы пищевода, так и негативные эффекты вследствие резорбции раствора щелочи.

### **3.2. РАЗЛИЧИЯ В ТЕМПАХ РЕГЕНЕРАЦИИ ПИЩЕВОДА ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА КИСЛОТОЙ И ЩЕЛОЧЬЮ**

Животных обеих групп выводили из эксперимента на 5, 14, 21, 30, 45 и 60-е сут путем передозировки эфира. Выполняли забор образцов пищевода экспериментальных животных. Для гистологического и морфометрического исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Светооптическое исследование окрашенных срезов проводили с помощью микроскопа под увеличением от 40 до 400 раз. Выполняли морфометрическое исследование полученных образцов с подсчетом количества нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов, определением толщины эпителия пищевода, площади новообразованных сосудов микроциркуляторного русла.

При анализе микропрепаратов обеих групп на 5-е сут было выявлено: некроз слизистой оболочки, собственной пластинки слизистой, подслизистой основы и мышечного слоя, локальная десквамация эпителия, отек, лейкоцитарная инфильтрация всех слоев стенки.

Воздействие химических реагентов на слизистую оболочку пищевода приводило к воспалительным изменениям органа, что подтверждалось увеличением лейкоцитов в стенке пищевода (рисунок 3.6). Количество лейкоцитов в обеих группах имело максимальное значение на 5-е сут эксперимента, что соответствовало экссудативной фазе воспаления (таблица 3.1). В гистологических образцах пищевода после химического ожога едким натром был отмечен некроз слизистой оболочки и подслизистой основы пищевода до мышечного слоя с повреждением гладких миоцитов (рисунок 3.7), что характеризовало глубину деструктивных изменений органа после ожога щелочными растворами. Количество лейкоцитов после воздействия уксусной кислотой составило 91 клетку в поле зрения, при ожоге едким натром составило 10 клеток в поле зрения. К 21-м сут эксперимента данный показатель был минимален, при ожоге кислотой количество лейкоцитов составило 15 клеток в поле зрения, при воздействии щелочного раствора показатель составил 5 клеток. На 30-е сут эксперимента лейкоциты в гистологическом материале встречались единично в группе ожога пищевода уксусной кислотой. На 30-е сут в группе ожога пищевода едким натром и последующие сутки в обеих группах лейкоциты не были обнаружены.

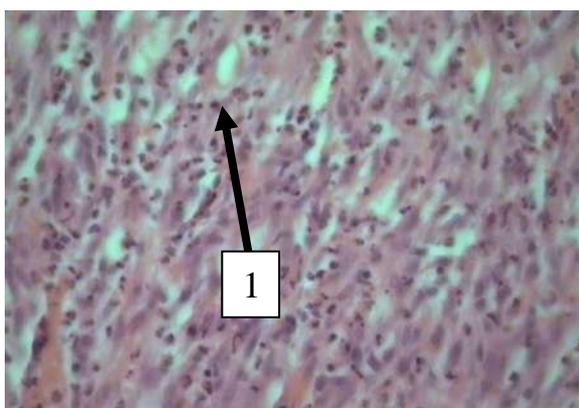


Рисунок 3.6 – Гистологический препарат. Пищевод кролика на 5-е сут эксперимента (ожог кислотой). Клеточный состав экссудата:

1 – преобладают нейтрофильные лейкоциты  
(окраска гематоксилином-эозином,  $\times 400$ )

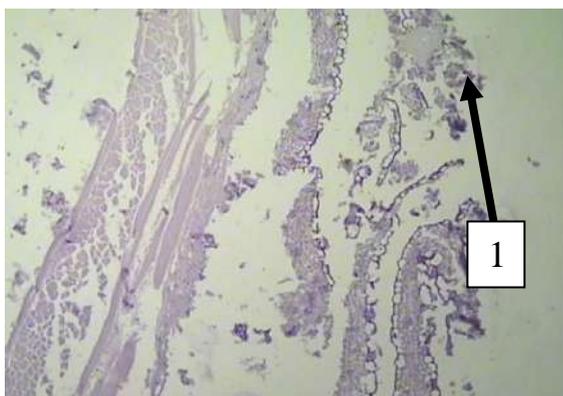


Рисунок 3.7 – Некротизированная слизистая оболочка пищевода (ожог щелочью):  
1 – полностью разрушенный эпителий, 5-е сут  
(окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

Таблица 3.1 – Изменение количества лейкоцитов (ед. в поле зрения) в стенке пищевода после химического ожога уксусной кислотой и едким натром (Me,  $n = 30$ )

Показатель	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут
Ожог уксусной кислотой	95	39	20	19
Ожог едким натром	10	8	5	не обнаружены
Достоверная значимость	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

Количество лимфоцитов в обеих группах имело максимальное значение на 21-е сут, что соответствовало пролиферативной фазе воспаления (таблица 3.2). Лимфоциты в группе ожогов уксусной кислотой составили 18 клеток в поле зрения, при ожоге едким натром – 6 клеток в поле зрения. К 21-м сут данный показатель был максимален: при ожоге кислотой количество лимфоцитов составило 48 клеток в поле зрения, при ожоге щелочью – 12 клеток в поле зрения. На 30-е сут эксперимента лимфоциты составили 20 клеток в поле зрения. В тоже время в группе ожога пищевода едким натром, а в последующие сутки – в обеих группах, лейкоциты обнаружены не были.

Различия между двумя группами во всех сутках эксперимента были достоверны ( $p < 0,05$ ) и свидетельствовали о наиболее выраженных процессах воспаления после поражения стенки органа раствором уксусной кислоты до 30-х сут эксперимента (рисунок 3.8). Различия уровня маркеров воспаления, в частности лейкоцитов и лимфоцитов после ожогов растворами кислоты и щелочи, связаны с механизмом воздействия химического реагента на стенку органа.

Таблица 3.2 – Изменение количества лимфоцитов (ед. в поле зрения) в стенке пищевода после химического ожога уксусной кислотой и едким натром (Me,  $n = 30$ )

Показатель	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут
Ожог уксусной кислотой	18	33	48	20
Ожог едким натром	6	7	12	не обнаружены
Достоверная значимость	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

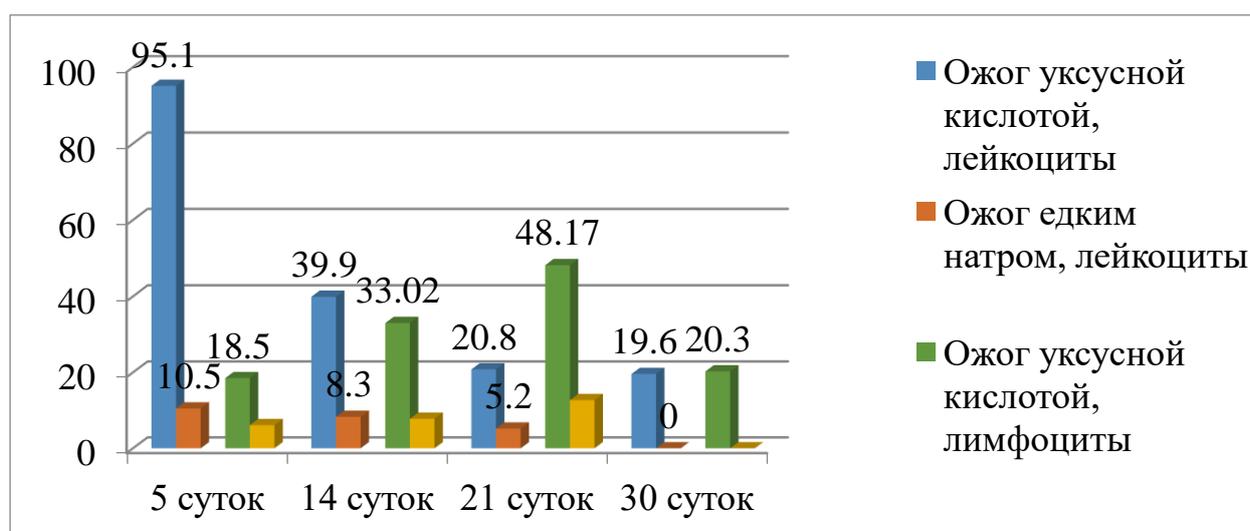


Рисунок 3.8 – Динамика показателей воспаления стенки пищевода. Лейкоциты и лимфоциты (клетки в поле зрения),  $n = 30$

Воздействие раствора кислоты приводило к развитию коагуляционного некроза стенки пищевода с образованием плотного струпа (рисунок 3.9), под которым развивался процесс воспаления (ожоговый эзофагит). В отличие от кислот, щелочи способны глубоко проникать в ткани, вызывая их резкую гидратацию и набухание (колликвационный некроз). Данная группа прижигающих жидкостей вызывала омыление тканей с развитием зоны некроза без образования струпа (рисунок 3.10). Таким образом, ожоговая поверхность после воздействия щелочных растворов в большей степени очищалась от некротизированных масс с последующим купированием воспалительных явлений, чем после ожога уксусной кислотой.

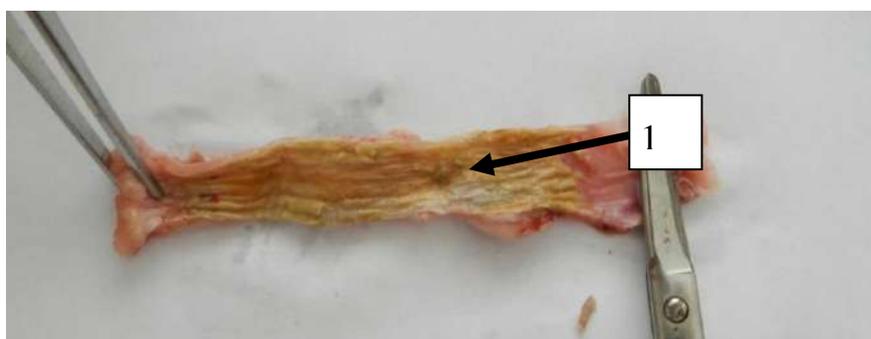


Рисунок 3.9 – Пищевод кролика на 5-сут эксперимента (ожог кислотой):  
1 – дискредитированный пищевод в проекции средней его части  
после химического ожога

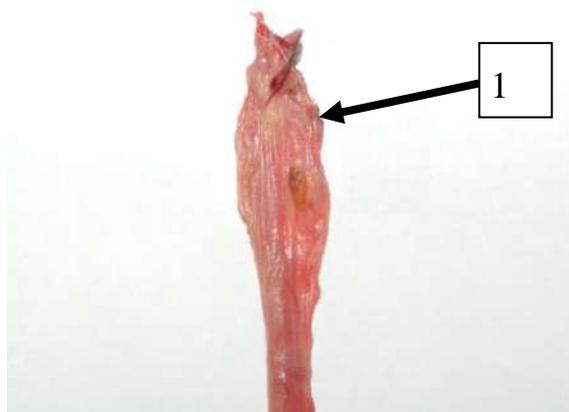


Рисунок 3.10 – Пищевод кролика на 5-сут эксперимента (ожог щелочью):  
1 – язва нижней трети пищевода кролика после химического ожога

Новообразованные сосуды (рисунок 3.11), как показатель процесса гиперпролиферации и регенерации соединительной ткани, в группе ожогов пищевода уксусной кислотой отмечали впервые на 14-е сут. Площадь новообразованных сосудов была максимальна к 30-м сут эксперимента, составила 2466,99 мкм<sup>2</sup>/мм<sup>2</sup> (таблица 3.3, рисунок 3.12). В группе ожогов пищевода едким натром данный показатель также был максимален к 30-м сут эксперимента и составил 75,6 мкм<sup>2</sup>/мм<sup>2</sup>.

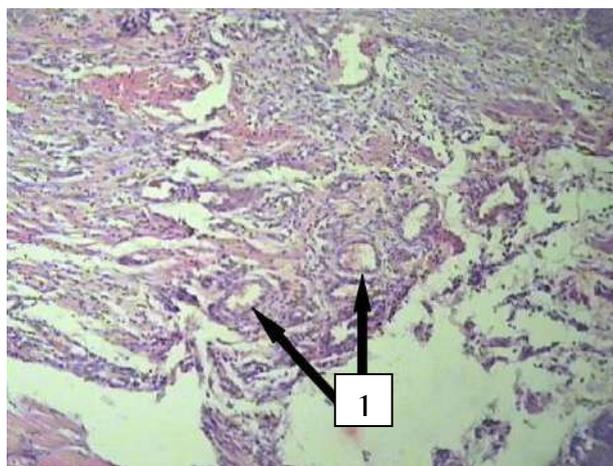


Рисунок 3.11 – Гистологический препарат. Пищевод кролика на 14-е сут эксперимента (ожог щелочью): 1 – новообразованные сосуды в подлежащей соединительной ткани, 14-е сут (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

Таблица 3.3 – Площадь новообразованных сосудов (мкм<sup>2</sup>/мм<sup>2</sup>) после химического ожога уксусной кислотой и едким натром (Me,  $n = 30$ )

Показатель	14 сут	21 сут	30 сут
Ожог уксусной кислотой	528,53	707,78	2466,99
Ожог едким натром	53,3	67,2	75,6
Достоверная значимость	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

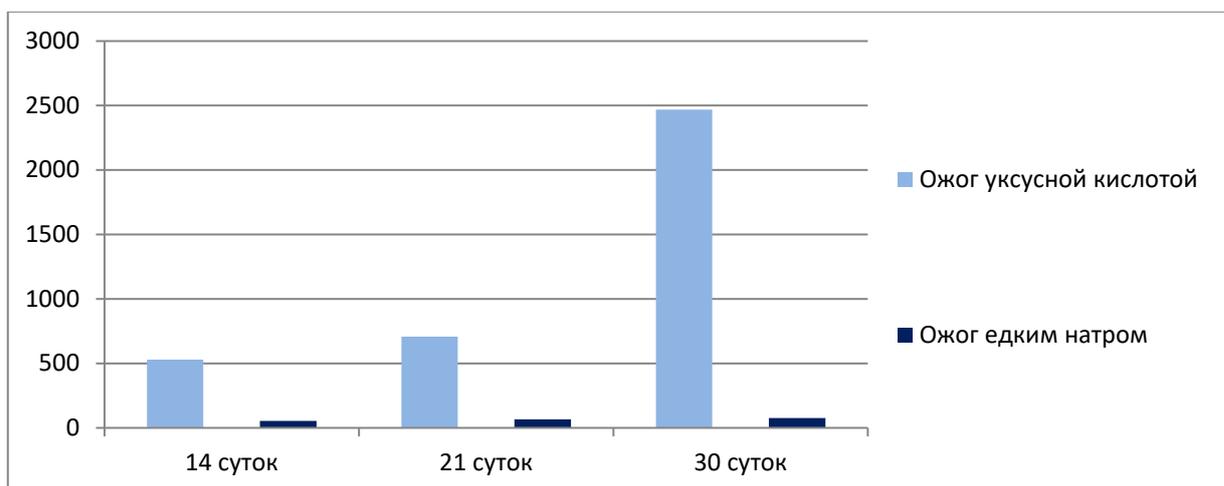


Рисунок 3.12 – Площадь новообразованных сосудов стенки пищевода в динамике, мкм<sup>2</sup>/мм<sup>2</sup>,  $n = 30$

Сравнивая показатель площади новообразованных сосудов, можно судить об интенсивности кровоснабжения эпителия пищевода и, как следствие, о регенераторных процессах – более интенсивные процессы регенерации были после ожога растворами кислот относительно ожогов щелочными растворами. Значительное превалирование данного показателя после ожога уксусной кислотой (рисунок 3.13) связано в большей степени с отсутствием субстрата для прорастания сосудов в зоне ожоговой раны после воздействия щелочи (рисунок 3.14). Щелочные растворы, в отличие от растворов кислот, проникая вглубь тканей, способствовали развитию массивного колликвационного некроза подслизистой оболочки, которая в дальнейшем отторгалась вместе с ожоговым струпом. Постожоговые изменения в слизистой и подслизистой оболочках пищевода после химической травмы растворами кислот характеризовались развитием выраженного струпа, приостанавливающего проникновение кислоты вглубь органа, без явлений массивного некроза и соответственно отторжения значительного объема тканей, через которые и способны «прорасти» вновь образующиеся сосуды. Снижение процессов пролиферации после ожога щелочью, судя по количеству лимфоцитов в зоне ожога, более глубокое проникновение химического реагента в стенку органа приводят к снижению образования соединительной ткани и, как следствие, отражаются на показателе ангиогенеза.

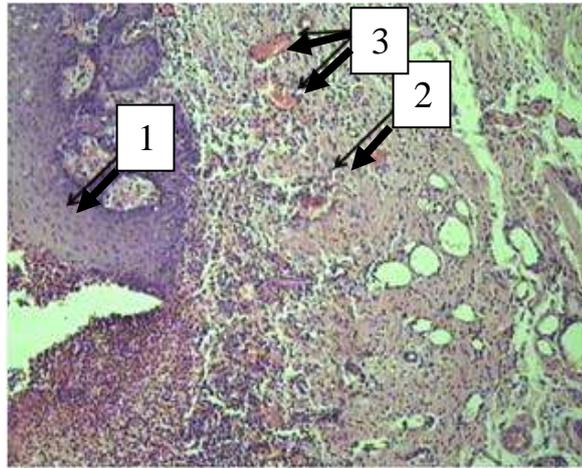


Рисунок 3.13 –Гистологический препарат. Пищевод кролика на 30-есут эксперимента (ожог кислотой): 1 – восстановленный эпителий; 2 – грануляционная ткань; 3– новообразованные сосуды в зоне ожога пищевода (окраска гематоксилином-эозином,×100)



Рисунок 3.14 –Гистологический препарат. Пищевод кролика на 30-есут эксперимента (ожог щелочью): 1 – начало эпителизации язвенного дефекта (окраска гематоксилином-эозином,×100)

Вновь образованный эпителий пищевода в ходе эксперимента впервые был отмечен на 30-е сут (таблица 3.4). Значение данного показателя было больше после ожога пищевода кислотой (95,08 мкм), чем после ожога щелочью (43,5 мкм). Толщина эпителия достигала своего максимума к 60-м сут в обеих группах, больше в группе ожогов кислотой (237,46 мкм) (рисунок 3.15), чем в группе ожогов щелочью (107,7 мкм) (рисунок 3.16). Данное различие

(рисунок 3.17) как итоговый показатель репарации стенки органа был связан с предшествующими по времени фазами регенерации – экссудации и пролиферации, превалирующими по времени после ожога растворами кислот.

Таблица 3.4 – Толщина эпителия (мкм) после химического ожога уксусной кислотой и едким натром (Me,  $n = 30$ )

Показатель	30 сут	45 сут	60 сут
Ожог уксусной кислотой	92,95	185,47	202,06
Ожог едким натром	43,5	54,4	107,7
Достоверная значимость	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

Таким образом, отмечено различное течение регенерации стенки пищевода после воздействия растворов кислот и щелочей. После ожога пищевода раствором кислоты отмечено преобладание количества лейкоцитов, лимфоцитов в первые 30 сут по сравнению с аналогичным периодом течения ожоговой раны после ожога щелочным раствором, площади новообразованных сосудов с 14-е по 30-е сут и толщины эпителия с 30-х по 60-е сут после химической травмы (рисунок 3.15), чем после ожога пищевода щелочными растворами.

Данные факты свидетельствуют о затяжном течении эзофагита после химической травмы раствором кислоты. Но по данным Ф. З. Сапегинной, 2005, наиболее тяжелые и глубокие изменения возникали в пищеводе после воздействия каустической содой. Особенности действия кислоты и щелочи выявлялись лишь на ранних этапах эксперимента, до 10-х сут ожога. При организации язв разница в распространенности и глубине поражения после ожогов различными прижигающими веществами постепенно стиралась.

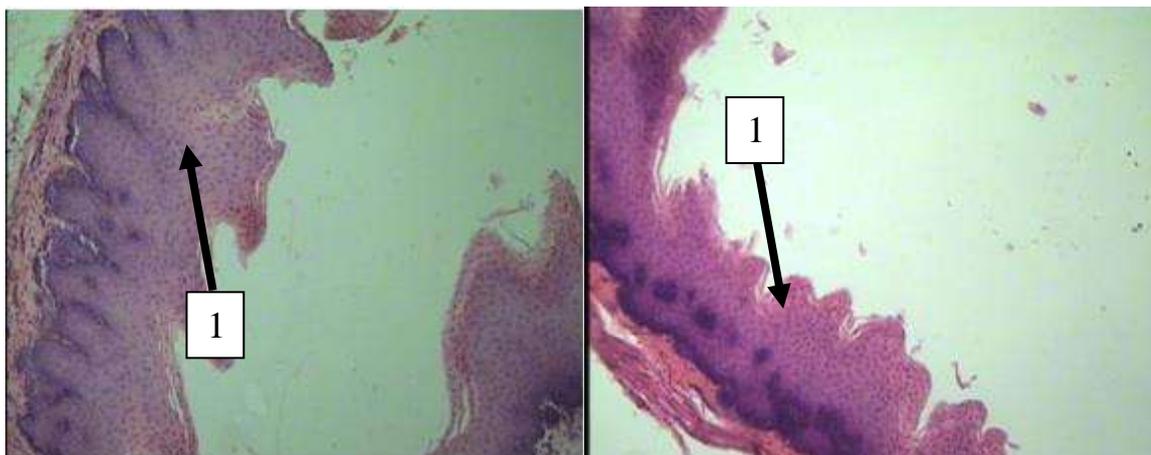


Рисунок 3.15 – Гистологический препарат. Пищевод кролика на 60-есут эксперимента(ожог кислотой):  
1 – многослойный плоский эпителий с умеренными признаками гиперкератоза в зоне ожога пищевода (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

Рисунок 3.16 – Гистологический препарат. Пищевод кролика на 60-есут эксперимента (ожог щелочью):  
1 – многослойный плоский эпителий с умеренными признаками гиперкератоза в зоне ожога пищевода(окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

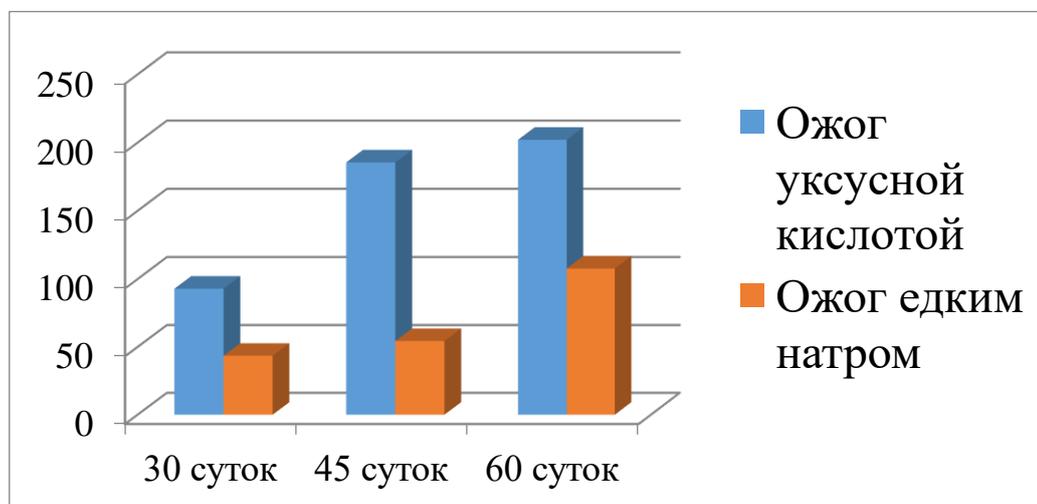


Рисунок 3.17 –Толщина эпителия пищевода в динамике, мкм,  $n = 30$

В клинической практике (Алексеев С. И., 2009; Никонов О. А., 2011) при эквивалентном воздействии раствора щелочи и раствора кислоты в первом случае в большей степени возможен риск летального исхода вследствие гнойно-септических осложнений (медиастинит и т.д.). В проведенном

исследовании ожог пищевода щелочным раствором был локализован вследствие применения специального устройства для доставки, в результате исследовано влияние щелочного раствора на локальный участок стенки пищевода. В работах Ф. З. Сапегинной (2005) участок пищевода, травмированный щелочным раствором, подопытного животного (собаки) был дискредитирован в большей степени (обширнее и глубже) по сравнению с ожогом уксусной кислотой, но в динамике наблюдали одинаковый исход, что также свидетельствует о более гладком течении эзофагита, вызванного щелочным раствором. В исследования ряда специалистов (Баландина И. А., 2007; Рукевич С. Г., 2014) отмечено также восстановление эпителия пищевода после химического ожога органа независимо от химической природы реагента не ранее 1,5 месяцев от перенесенной травмы.

### **3.3. СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ПИЩЕВОДА РАЗЛИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ РЕАГЕНТАМИ**

Исследование оксидатного стресса при химической травме различными по химической природе прижигающими жидкостями выполняли на 30 половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла. Животных разделяли на две группы соответственно химическому реагенту

У экспериментальных животных обеих групп выполняли забор крови на 2, 5, 14, 21, 30, 45-сут с последующим центрифугированием крови при 3000 тыс. оборотов. Полученные образцы сыворотки крови кроликов замораживали при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . В биохимической лаборатории сыворотку размораживали при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  с последующим определением показателей активности ферментов антиоксидантной защиты:

- каталазы;
- церулоплазмина;

- супероксиддисмутазы,

а также определением концентрации продуктов перекисного окисления липидов:

- диеновых конъюгатов;
- триеновых конъюгатов;
- малонового диальдегида.

После химического ожога пищевода прижигающими жидкостями в образцах плазмы крови подопытных животных отмечали выраженные изменения в системе перекисного окисления липидов. Значения показателей ферментов-антиоксидантов закономерно уменьшались, начиная со 2-х сут после нанесения ожоговой травмы и прогрессивно снижались к 21-м и 30-м сут эксперимента. Отмечали повышение уровня каталазы как показателя антиоксидантного статуса при ожоге химическими реагентами начиная со 2-х сут наблюдения (таблица 3.5). В этот временной промежуток уровень каталазы был повышен в 4,5 раза в группе ожогов уксусной кислотой, в то же время в группе ожогов щелочными растворами – в 1,8 раза. Причина данного различия заключалась в высокой резорбции кислоты относительно щелочного раствора из просвета желудка подопытного животного с развитием метаболического ацидоза и, как следствие, – гемолиза эритроцитов. В дальнейшем уровень каталазы снизился до пороговых значений в группе ожога кислотой к 30-м сут исследования, в группе ожогов щелочью – к 21-м сут исследования (рисунок 3.18).

Уровень церулоплазмينا снижался начиная со 2-х сут наблюдения (таблица 3.6), что коррелирует с клиническими наблюдениями [Белова М. В., 2007]. В динамике данный показатель возвращался к нормальному значению к 21-м сут эксперимента в группе химических ожогов раствором щелочи (рисунок 3.19), разница между показателями групп ожогов пищевода щелочными и кислотными растворами на 21-е сут эксперимента составляет 23,2 % при  $p < 0,05$ . К 30-м сут эксперимента уровень церулоплазмينا нормализовался в группе ожогов пищевода кислотами. В остальные временные

промежутки достоверной разницы между значениями церулоплазмина не было выявлено ( $p > 0,05$ ).

Таблица 3.5 – Изменение концентрации каталазы ( $\text{мгН}_2\text{О}_2/\text{мин/г}$ ) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой и едким натром ( $M_e, n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Ожог уксусной кислотой	0,0182	0,08199	0,06552	0,03198	0,030016	0,022834	0,02233
Ожог едким натром	0,0182	0,033	0,028	0,027	0,0191	0,01905	0,0203
Достоверная значимость		$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

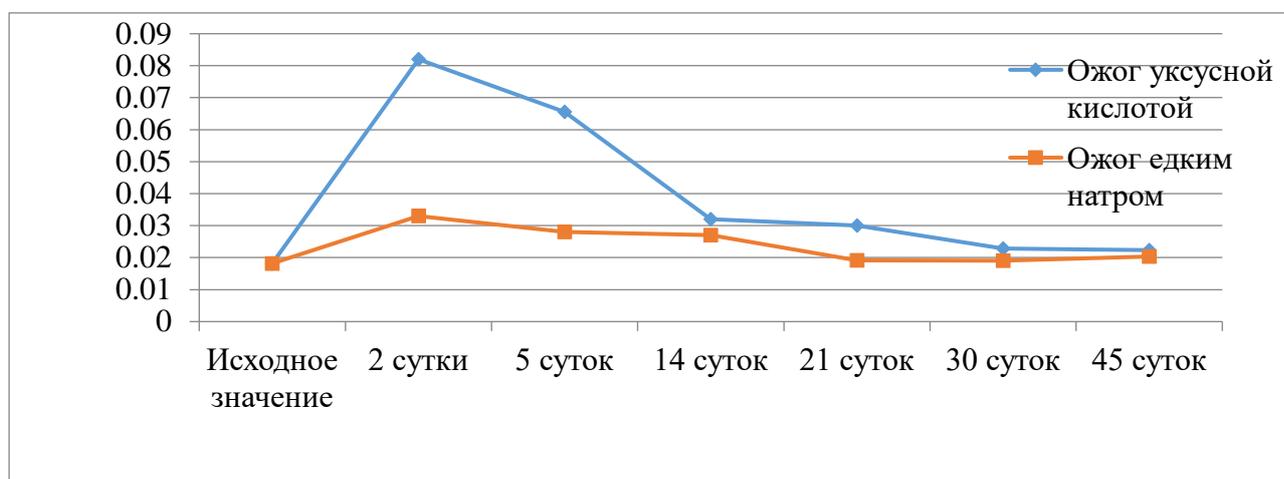


Рисунок 3.18 – Динамика изменения концентрации каталазы ( $\text{мгН}_2\text{О}_2/\text{мин/г}$ ) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой и едким натром,  $n = 30$

Активность супероксиддисмутазы снижалась к 5-м сут эксперимента, достигая своего минимума в обеих группах (таблица 3.7). На 14-е сут эксперимента была отмечена тенденция к восстановлению уровня фермента.

На 21-е сут выявлена дифференциация в скорости восстановления, разница в активности между сравниваемыми группами составила 1,992 усл. ед./мг белка, или 51,9 % при  $p < 0,05$ . На 30-е сут эксперимента уровень фермента в обеих группах достигал исходного значения (рисунок 3.20).

Таблица 3.6 – Изменение концентрации церулоплазмينا (мг/л) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой и едким натром (Me,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Ожог уксусной кислотой	5701,25	5600	2625	4687,5	4332,1	5906,25	5950
Ожог едким натром	5701,25	5065,2	2669,62	4132,53	5332,16	5917,27	5835,37
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

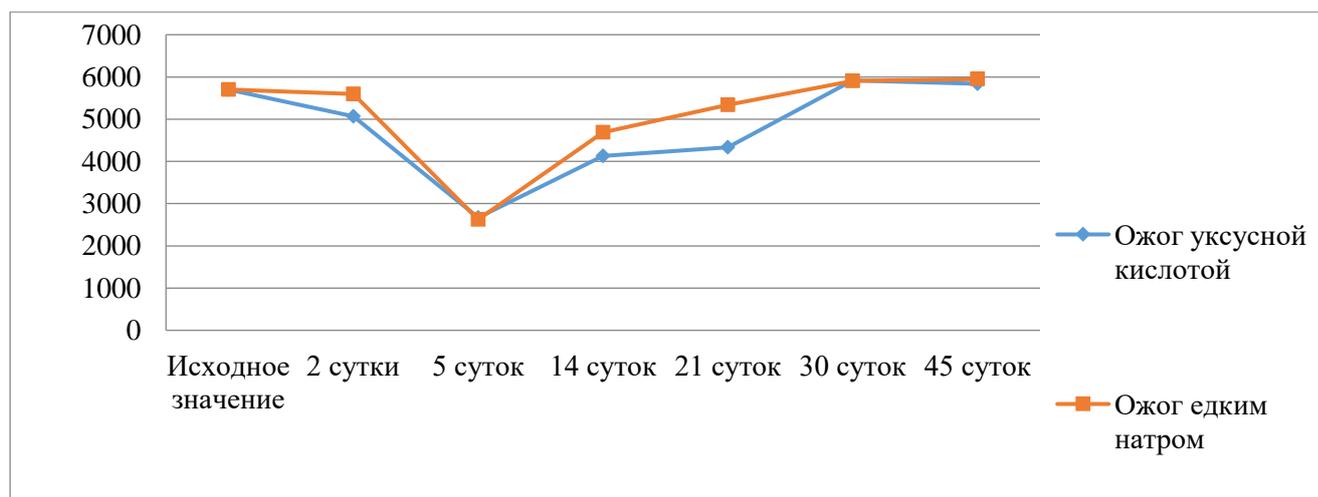


Рисунок 3.19– Динамика изменения концентрации церулоплазмينا (мг/л) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой и едким натром,  $n = 30$

В отличие от ферментов-антиоксидантов в группе прооксидантов были отмечены тенденции к быстрому увеличению значений непосредственно после химической травмы с последующим ростом показателей до 21-х, 30-х сут эксперимента. К 45-м сут эксперимента показатели возвращались к исходным значениям.

Таблица 3.7 – Изменение активности супероксиддисмутазы (усл. ед./мг белка) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой и едким натром (Me,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Ожог уксусной кислотой	6,12	3,3	2,373	3,23075	3,818	5,98	6,72
Ожог едким натром	6,12	2,8	2,1	3,64	5,8	7,6	6
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

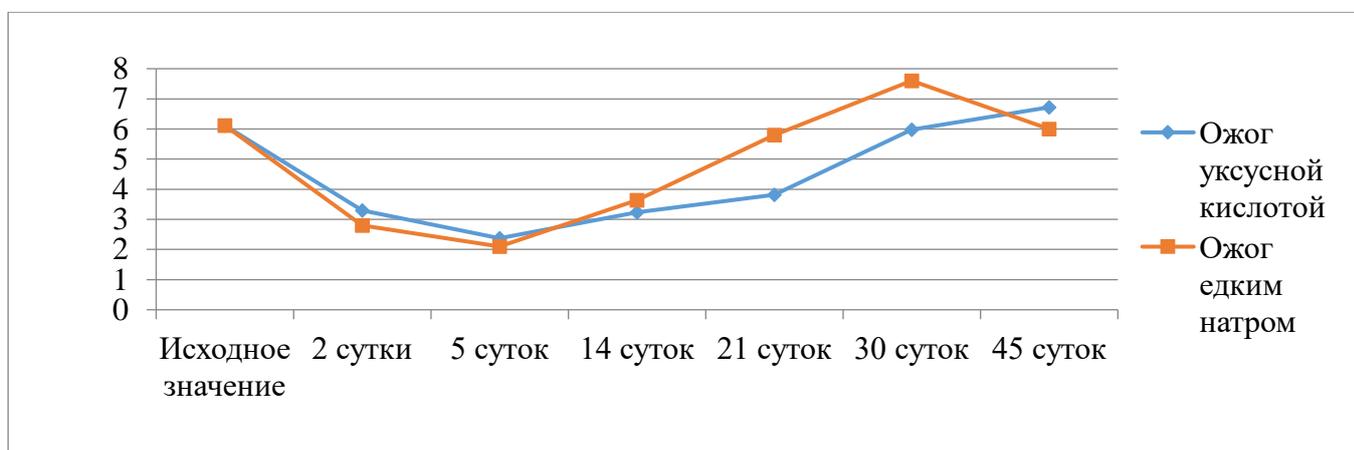


Рисунок 3.20– Динамика изменения активности супероксиддисмутазы (усл. ед./мг белка) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой и едким натром,  $n = 30$

Количество диеновых и триеновых конъюгатов в плазме крови подопытных животных увеличивалось соответственно со 2-х сут от начала

эксперимента с максимальным значением в исследуемых группах на 14-е сут эксперимента (таблица 3.8). В группе ожогов пищевода щелочными растворами имел место быстрый темп регресса на 21-е сут концентрации диеновых (на 53 %) и триеновых (на 39 %) конъюгатов. Нормализация показателей концентрации диеновых и триеновых конъюгатов была отмечена к 45-м суткам эксперимента (рисунок 3.21).

Таблица 3.8 – Изменение концентрации диеновых и триеновых конъюгатов (усл. ед./мг липидов) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой и едким натром (Me, n = 30)

Показатель		Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Ожог уксусной кислотой	ДК	1,6277	5,026	5,641	6,6431	6,4025	4,83	2,3
	ТК	1,7512	4,511	5,104	5,79	6,09	3,612	1,772
Ожог едким натром	ДК	1,6277	3,975	3,96	4,8325	2,561	2,015	1,15
	ТК	1,7512	3,375	3,735	4,245	1,6537	1,8487	2,325
Достоверная значимость			$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

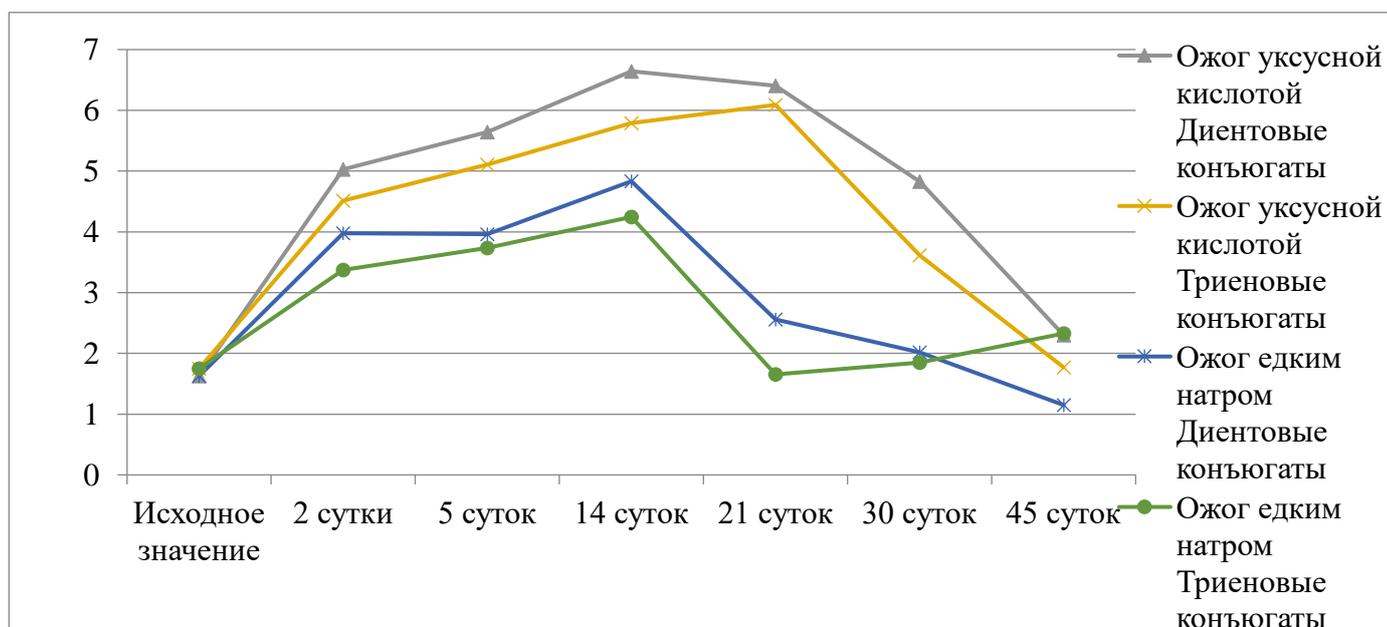


Рисунок 3.21– Динамика изменения концентрации диеновых и триеновых конъюгатов(усл. ед. /мг липидов)в плазме крови кроликов, n = 30 после химического ожога уксусной кислотой и едким натром

Малоновый диальдегид как конечное звено перекисного окисления липидов был повышен со 2-х сут эксперимента с максимальным значением в группе ожогов едким натром (таблица 3.9), что коррелирует с клиническими наблюдениями в работе М. В. Беловой (2007). В дальнейшем данный параметр имел четкую тенденцию к снижению в группе химических ожогов щелочными растворами. В группе ожогов уксусной кислотой отмечалась стабилизация значения параметра до 21-х сут эксперимента. Нормализация показателя отмечена к 45-м суткам эксперимента (рисунок 3.22).

Таблица 3.9 – Изменение концентрации малонового диальдегида (нМоль/г белка) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой и едким натром (Me,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Ожог уксусной кислотой	2,137	6,0575	6,625	6,192	6	3,286	2,109
Ожог едким натром	2,137	5,95	5,3	4,92	4,3	3,2	1,9
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

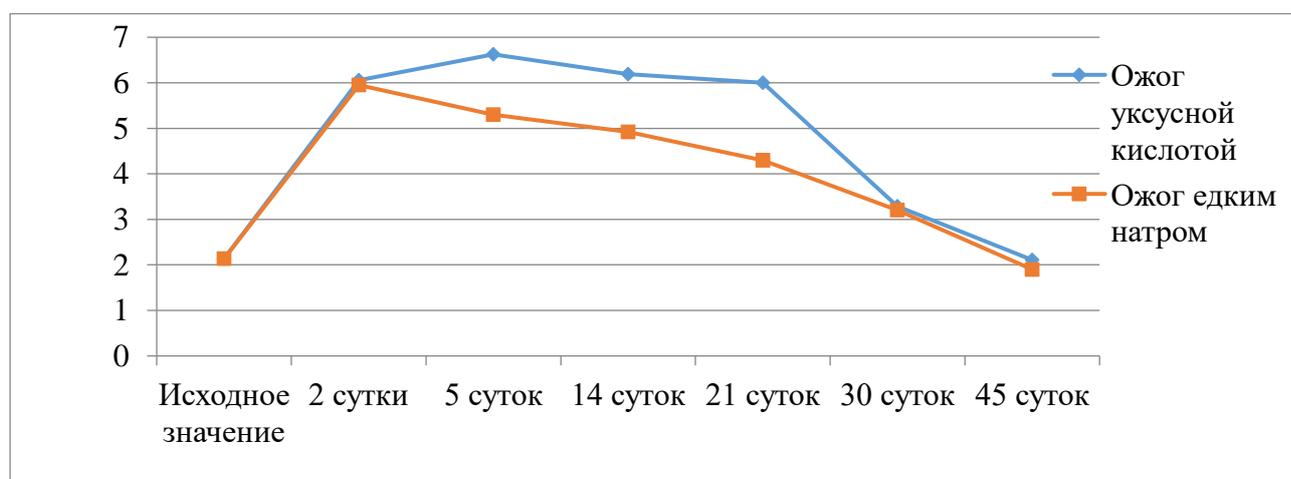


Рисунок 3.22 – Динамика изменения концентрации малонового диальдегида (нМоль/г белка) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой и едким натром,  $n = 30$

Таким образом, при химических ожогах пищевода отмечался ряд закономерностей течения процессов перекисного окисления липидов, обусловленных природой химического реагента. При ожоге щелочными растворами химический реагент в меньшей степени абсорбировался из просвета желудка и тонкой кишки подопытного животного и в меньшей степени вызывал метаболические изменения в системном кровотоке. На 2-е сут эксперимента уровень каталазы в плазме крови кроликов был повышен в 4,5 раза после ожога кислотой, в то же время в группе ожогов щелочными растворами повышение отмечали только в 1,8 раза. Едкий натр, контактируя со стенкой органа, вызывал деструкцию тканей с последующим отторжением некротизированного струпа к 14-м сут. В то же время раствор кислоты оказывал меньшее деструктивное действие на стенку органа, но способствовал затягиванию смен фаз воспаления. В результате снижение концентрации продуктов перекисного окисления липидов и восстановление активности ферментов-антиоксидантов происходило в разные временные сроки в исследуемых группах.

Значения показателей про- и антиоксидантных систем коррелировали с морфологическими данными. Нормализация показателей ферментов антиоксидантной защиты (каталаза, супероксиддисмутаза, церулоплазмин) была отмечена на 21-е сут в группе химических ожогов едким натром и на 30-е сут в группе химических ожогов уксусной кислотой. В клинических наблюдениях Е. А. Лужников (2006) также отмечал наличие выраженного дисбаланса в системе прооксиданты-антиоксиданты уже на 1-е сут наблюдения, но, в отличие от проведенного исследования, было выявлено возрастание концентрации церулоплазмينا после химической травмы пищевода, что свидетельствовало о выраженном некрозе клеток эпителия с выходом значительного количества молекул супероксиддисмутаза в межклеточное пространство.

В экспериментальном исследовании значения показателей прооксидантов (диеновые и триеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) имели тенденцию

к быстрому увеличению значений непосредственно после химической травмы с последующим ростом показателей до 21-х суток эксперимента в группе химических ожогов щелочными растворами и до 30-х сут в группе химических ожогов кислотами. Это подтверждает вывод о замедленной смене фаз воспаления после химического ожога кислотам, в отличие от результатов исследований Л. Г. Антипиной (2007), посвященных постожоговым рубцовым стриктурам пищевода, где было отмечено повышение продуктов перекисного окисления липидов и снижение активности ферментов антиоксидантной системы через несколько месяцев с момента получения ожоговой травмы у больных. В проведенном исследовании отмечали восстановление вышеупомянутого баланса через 3–4 недели от начала эксперимента во всех группах. Данное различие вызвано развитием хронического эзофагита у больных в исследовании Л. Г. Антипиной (2007).

#### **3.4. АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТЕМПОВ РЕГЕНЕРАЦИИ СТЕНКИ ПИЩЕВОДА ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ОРГАНА УКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТИОКСИДАНТОВ**

Создавали ожог пищевода у 30 кроликов породы шиншилла путем экспозиции 46 % раствора уксусной кислоты. В дальнейшем, начиная с 1-х сут и на протяжении последующих 14 дней, кроликам основной группы внутримышечно вводили ЭМГПС в дозировке 5 мг на 1 кг веса животного 3 раза в день. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество физиологического раствора на каждый килограмм веса животного.

При ожоге пищевода уксусной кислотой в обеих исследуемых группах (контрольная и основная группы) с 5-х по 21-е сут наблюдали выраженные воспалительные изменения, характеризующиеся инфильтрацией стенки органа лейкоцитами. При анализе микропрепаратов на 5-е сут был выявлен колликвационный некроз слизистой, собственной пластинки слизистой, подслизистой основы и фокально мышечного слоя, локальная десквамация

эпителия, отек, лейкоцитарная инфильтрация всех слоев стенки в обеих группах. На 5-е сут эксперимента наблюдали максимальное число нейтрофильных лейкоцитов, в среднем 91 клетка в поле зрения в основной группе и 95 клеток в контрольной группе (таблица 3.10, рисунки 3.23, 3.24), отличия статистически не значимы,  $p > 0,05$ . На 14-е сут эксперимента количество лейкоцитов значительно снижалось в обеих группах и составило в контрольной группе 39 клеток в поле зрения, в основной группе – 18 клеток в поле зрения, отличия статистически значимы,  $p < 0,05$ . На 30-е сут в контрольной группе количество лейкоцитов составило 19 клеток в поле зрения, в основной группе выявлены единичные лейкоциты в поле зрения. В остальные временные промежутки лейкоциты в стенке пищевода не были обнаружены.

Таблица 3.10 – Изменение количества лейкоцитов (ед. в поле зрения) в стенке пищевода после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут
Контрольная группа	95	39	20	19
Основная группа	91	18	15	единичные
Достоверная значимость	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$

К 14-м сут эксперимента отмечали отграничение зоны повреждения, выраженную лейкоцитарную инфильтрацию на границе с зоной некроза, обширную зону изъязвления в основной и контрольной группах. Дном язвы являлся мышечный слой с массивными гнойно-некротическими массами (лейкоциты, эритроциты, фибрин). Макропрепараты не имели значимых отличий между собой.

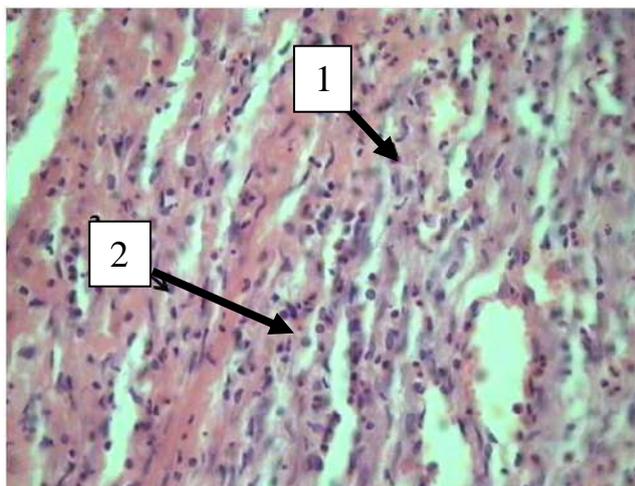


Рисунок 3.23 – Нейтрофильные лейкоциты (1) и лимфоциты (2) в зоне ожога пищевода, 14-е сут. Контрольная группа после ожога пищевода уксусной кислотой (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 400$ )

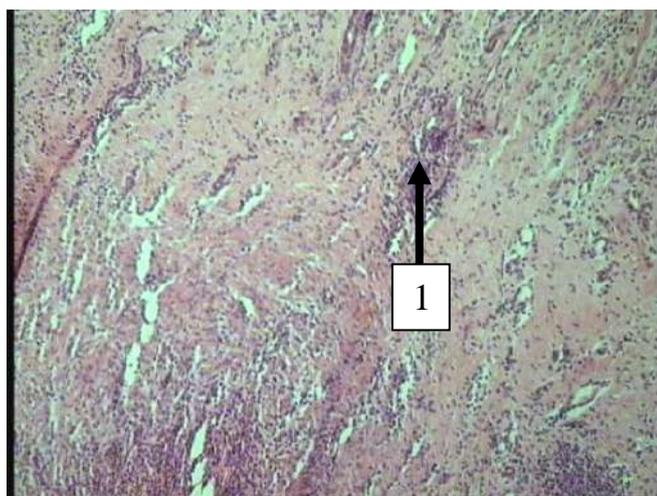


Рисунок 3.24 – Ожог пищевода, 14-е сут: 1 – скопление нейтрофильных лейкоцитов. Основная группа (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

Число лимфоцитов, основных клеток пролиферативной фазы воспаления, в динамике увеличивалось к 21-м сут, максимальное количество составило 32 клетки в поле зрения в основной группе после ожога пищевода уксусной кислотой и 48 клеток в поле зрения в группе контроля (таблица 3.11, рисунок 3.25). В это же время наблюдали начало процесса рубцевания стенки пищевода. В зоне коагуляционного некроза отмечали фибробластическую

реакцию, появление нежной молодой соединительной ткани в обеих группах после ожога пищевода уксусной кислотой.

Таблица 3.11 – Изменение количества лимфоцитов (ед. в поле зрения) в стенке пищевода после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут
Контрольная группа	18	33	48	20
Основная группа	15	38	32	единичные
Достоверная значимость	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

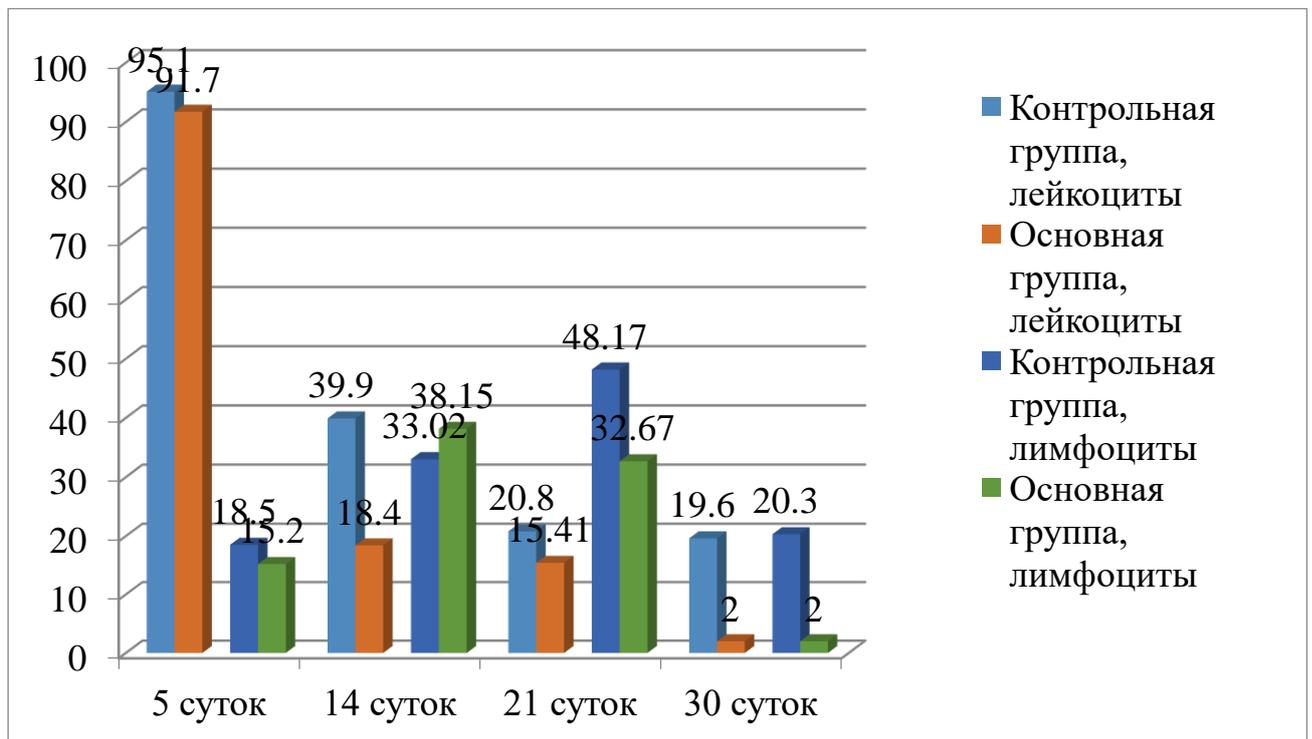


Рисунок 3.25 – Динамика показателей воспаления стенки пищевода в контрольной и основной группах после химического ожога уксусной кислотой. Лейкоциты и лимфоциты (клетки в поле зрения),  $n = 30$

Новообразованные сосуды пищевода определяли с 14-х сут эксперимента, что соответствовало интенсификации пролиферативных процессов в стенке органа. В основной группе данный показатель составил  $1806 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$ . В контрольной группе площадь новообразованных сосудов составила  $528 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$  (рисунок 3.26). Отличия статистически значимы,  $p < 0,05$ . Площадь новообразованных сосудов была максимальна к 30-м сут эксперимента (рисунок 3.27) и составила  $2086 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$  в основной группе и  $2466 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$  в группе сравнения (рисунок 3.28), отличия статистически значимы,  $p < 0,05$  (таблица 3.12). При исследовании макропрепаратов на 30-е сут в контрольной группе наблюдали обширную зону грануляционной ткани, полиморфно-клеточный инфильтрат, состоящий из гистиоцитов, плазмоцитов, лимфоцитов, макрофагов, лейкоцитов, отмечали фокусы плоского эпителия с набуханием и клеточным полиморфизмом.

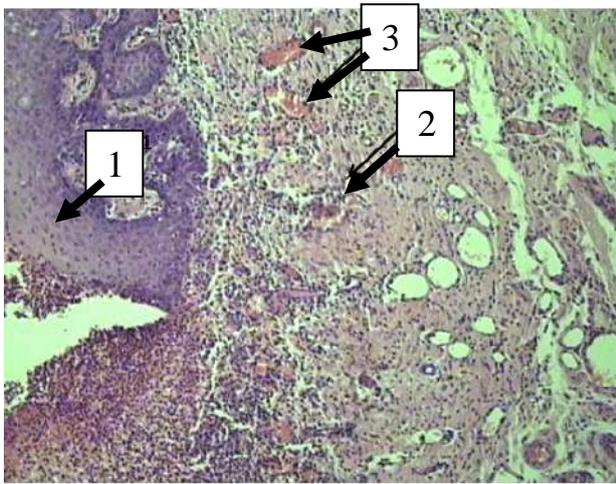


Рисунок 3.26 – Восстановленный эпителий (1) и грануляционная ткань (2) с новообразованными сосудами (3) в зоне ожога пищевода, 30-е сут. Контрольная группа (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

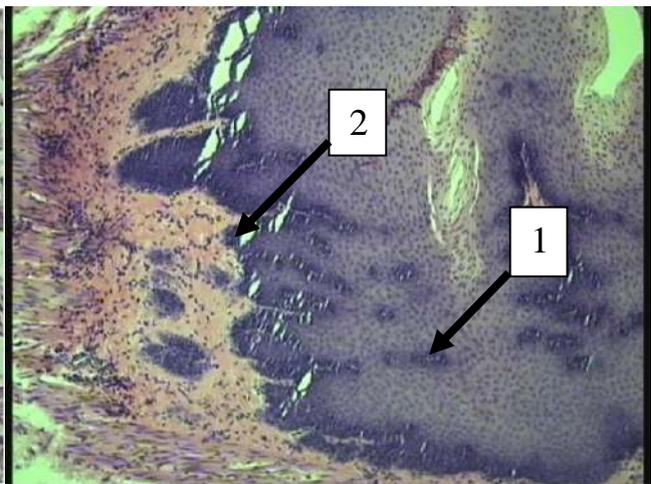


Рисунок 3.27 – Восстановленный эпителий (1) и грануляционная ткань (2), 30-е сут. Основная группа (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

Эпителизация пищевода отмечалась с 30-х сут эксперимента в обеих группах. В основной группе толщина эпителия составила  $95,08 \text{ мкм}$ , в контрольной группе данный показатель составил  $92,95 \text{ мкм}$  (таблица 3.13).

Отличия статистически незначимы,  $p > 0,05$ . При исследовании макропрепаратов на 45-е сут в контрольной группе отмечали на многослойном плоском эпителии участки гиперкератоза, минимальное утолщение мышечного слоя (рисунок 3.29). К этим срокам воспаление купировалось. В основной группе наблюдали восстановленный эпителий без признаков воспаления.

Таблица 3.12 – Площадь новообразованных сосудов ( $\text{мкм}^2/\text{мм}^2$ ) после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	14 сут	21 сут	30 сут
Контрольная группа	528,53	707,78	2466,99
Основная группа	1806,11	1922,17	2086,22
Достоверная значимость	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$

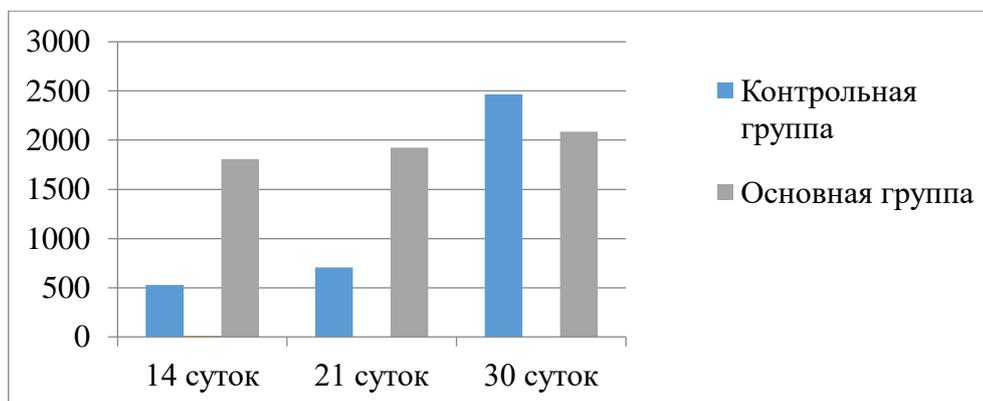


Рисунок 3.28 – Площадь новообразованных сосудов стенки пищевода в динамике в контрольной и основной группах после химического ожога уксусной кислотой,  $\text{мкм}^2/\text{мм}^2$ ,  $n = 30$

На 60-е сут эксперимента толщина эпителия в основной группе составила 237,46 мкм в группе контроля – 202,06 мкм (рисунок 3.30). Отличия статистически незначимы,  $p > 0,05$ . При исследовании макропрепаратов

наблюдали выраженный гиперкератоз, акантоз многослойного плоского эпителия пищевода. Определяли очаги резкого утолщения (рисунок 3.31). В основной группе (рисунок 3.32) наблюдали локальный гиперкератоз многослойного плоского эпителия, фокальный гиалиноз подлежащей соединительной ткани.

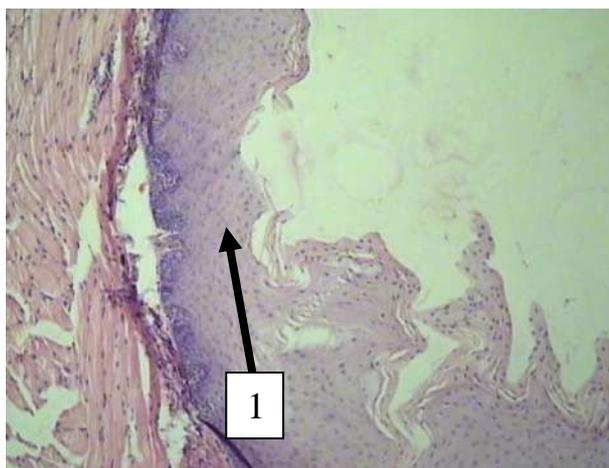


Рисунок 3.29 – Многослойный плоский эпителий (1) с признаками гиперкератоза в зоне ожога пищевода, 45-е сут. Контрольная группа (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ ).

Таблица 3.13 – Толщина эпителия (мкм) после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	30 сут	45 сут	60 сут
Контрольная группа	92,95	185,47	202,06
Основная группа	95,08	162,12	237,46
Достоверная значимость	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

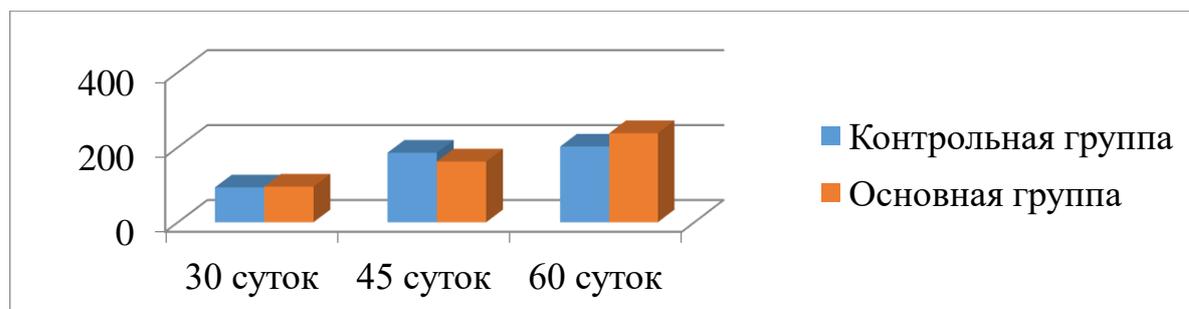


Рисунок 3.30 – Толщина эпителия пищевода в динамике в контрольной и основной группах после химического ожога уксусной кислотой, мкм,  $n = 30$

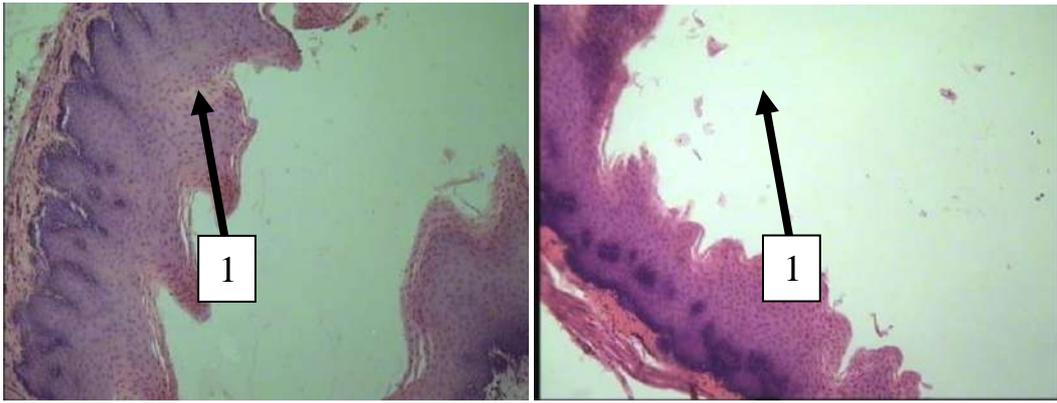


Рисунок 3.31 – Многослойный плоский эпителий (1) с умеренными признаками гиперкератоза в зоне ожога пищевода, 60-е сут. Контрольная группа (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

Рисунок 3.32 – Многослойный плоский эпителий (1) с умеренными признаками гиперкератоза в зоне ожога пищевода, 60-е сут. Основная группа (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

По данным проведенного исследования, введение ЭМГПС улучшало регенерацию в стенке органа после химического ожога пищевода уксусной кислотой. Это достигалось за счет усиления кровоснабжения ожоговой поверхности. Данный факт подтверждало увеличение площади новообразованных сосудов. Этот показатель был больше в 3 раза в основной группе с 14-х сут, чем в группе контроля. На 45-е сут эксперимента новообразованные сосуды не определяли ни в одной группе. Лимфоциты и лейкоциты в стенке пищевода отмечали до 21-х сут в основной группе и до 30-х суток в контрольной, что свидетельствовало об окончании процессов воспаления. Таким образом, ожоговый эзофагит после воздействия растворов кислот при введении ЭМГПС купировался быстрее на 9-е сут, чем без включения препаратов этой группы. Данные результаты коррелирует с клиническими наблюдениями. Так, в исследованиях Т. П. Пинчука (2009) использование антиоксидантной терапии позволило сократить сроки отторжения ожогового струпа (на 44 %), что способствовало ускорению процессов репарации ожоговой раны. При лечении ран, независимо от этиологии альтернирующего агента, включение в терапию антиоксидантов по данным ряда автором, позволяло ускорить темпы регенерации раны и смены

фаз воспаления (Клебанов Г. И., 2006, ГейницА. В., 2008, Ерофеева М. В., 2008, ПинчукТ. П., 2009, Олифирова О. С.,2015).

### **3.5. СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ПИЩЕВОДА УКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИОКСИДАНТОВ**

Создавали ожог пищевода у30 половозрелых кроликов путем экспозиции 46 % раствора уксусной кислоты. На протяжении последующих 14 дней кроликам основной группы внутримышечно вводили ЭМГПС. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество физиологического раствора.

После химического ожога пищевода уксусной кислотой в образцах плазмы крови подопытных животных обеих групп отмечали выраженные изменения в системе перекисного окисления липидов. Значения показателей ферментов антиоксидантов закономерно уменьшались начиная со 2-х сут после нанесения ожоговой травмы, прогрессивно снижались к 21-м сут в основной группе и 30-м сут эксперимента в контрольной группе. Отмечали повышение уровня каталазы начиная со 2-х сут наблюдения (таблица 3.14). В этот временной промежуток уровень каталазы был повышен в 4,5 раза относительно исходного значения в обеих группах, достоверной разницы на 2-е сут эксперимента между контрольной и основной группами не отмечено ( $p>0,05$ ) (рисунок 3.33). В дальнейшем было отмечено более быстрое снижение уровня каталазы в основной группе. На 5-е сут эксперимента активность каталазы в основной группе была на 15,2 % ниже ( $p<0,05$ ), чем в контрольной. К 14-м сут исследования разница равнялась 19,8 % ( $p<0,05$ ). В остальные временные промежутки данные в обеих группах не отличались достоверной разницей ( $p>0,05$ ). В клинических наблюдениях данный феномен косвенно был отмечен. Так, в работах А. В. Говорина (2009) было отражено снижение активности каталазы эритроцитов начиная с 1-х сут наблюдения с постепенным восстановлением содержания фермента.

Таблица 3.14 – Изменение концентрации каталазы ( $\text{мгН}_2\text{О}_2/\text{мин/г}$ ) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах ( $\text{Me}$ ,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	0,0182	0,08199	0,06552	0,03198	0,03001	0,02283	0,02233
Основная группа	0,0182	0,08024	0,05685	0,02667	0,02941	0,02317	0,023
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

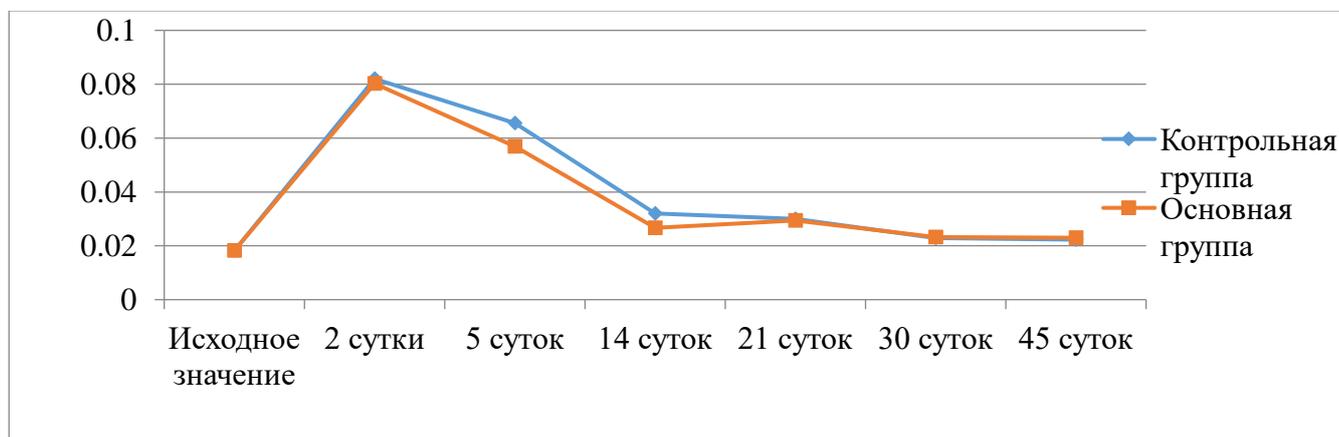


Рисунок 3.33– Динамика изменения концентрации каталазы ( $\text{мгН}_2\text{О}_2/\text{мин/г}$ ) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах ( $\text{Me}$ ,  $n = 30$ )

Уровень церулоплазмينا после химического ожога уксусной кислотой снижался начиная со 2-х сут наблюдения (таблица 3.15). Данный показатель возвращался к нормальному значению к 21-м сут эксперимента в основной группе (рисунок 3.34) и в 30-е сут в контрольной группе, разница между показателями на 21-е сут эксперимента составляет 23 % при  $p < 0,05$ . В остальные временные промежутки достоверной разницы между показателями не выявлено ( $p > 0,05$ ).

Таблица 3.15 – Изменение концентрации церулоплазмينا (мг/л) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 суток	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	5701,25	5065,2	2669,625	4132,531	4332,163	5917,275	5835,375
Основная группа	5701,25	5274,53	3018,733	4542,182	5620,104	6034,817	6010,436
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

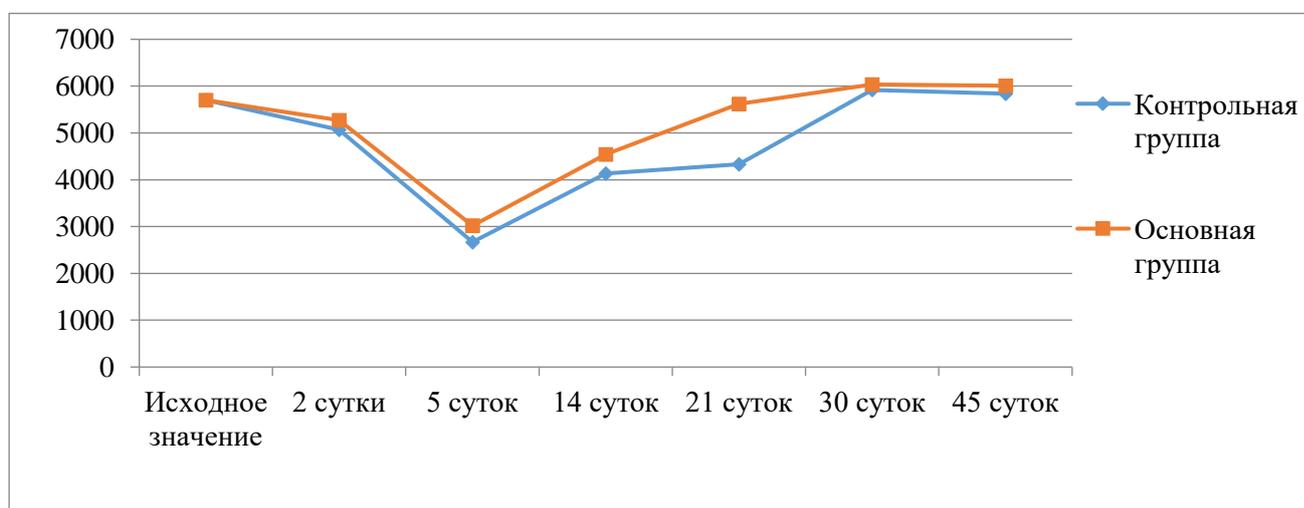


Рисунок 3.34– Динамика изменения концентрации церулоплазмينا (мг/л) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Активность супероксиддисмутазы снижалась к 5-м сут эксперимента, достигая своего минимума в обеих группах (таблица 3.16). С 14-х сут эксперимента отмечена тенденция к восстановлению уровня фермента. На 14-е и 21-е сут эксперимента активность супероксиддисмутазы в основной группе составила на 18 и 17 % соответственно выше относительно группы контроля ( $p < 0,05$ ). На 30-е сут эксперимента уровень фермента в обеих группах достиг исходного уровня (рисунок 3.35).

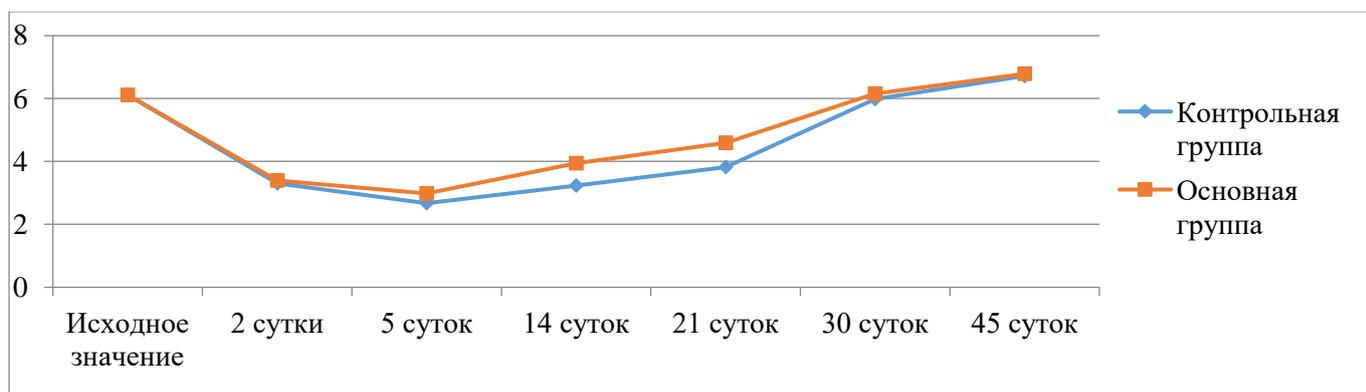


Рисунок 3.35– Динамика изменения активности супероксиддисмутазы (усл. ед. /мг белка) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Ме,  $n = 30$ )

Таблица 3.16 – Изменение активности супероксиддисмутазы (усл. ед./мг белка) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Ме,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	6,12	3,3	2,673	3,23075	3,818	5,98	6,72
Основная группа	6,12	3,399	2,9832	3,94799	4,598	6,1594	6,7872
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

В группе прооксидантов была отмечена тенденция к быстрому увеличению значений сразу после химической травмы с последующим ростом показателей к 14-м сут эксперимента (диеновые конъюгаты) и к 21-м сут эксперимента (триеновые конъюгаты) в контрольных группах (таблица 3.17). На 14-е сут эксперимента концентрация диеновых конъюгатов в основной группе была на 29 %, а триеновых конъюгатов на 40 % меньше, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). На 21-е сут эксперимента разница в концентрации диеновых и триеновых конъюгатов увеличивалась, достигнув 44 и 79 % (увеличение в контрольных группах) ( $p < 0,05$ ). На 30-е сут

отмечалась аналогичная тенденция (рисунок 3.36). К 45-м сут показатели возвращались к исходным значениям.

Таблица 3.17 – Изменение концентрации диеновых и триеновых конъюгатов (усл. ед. /мг липидов) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Ме,  $n = 30$ )

Показатель		Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	ДК	1,6277	5,026	5,641	6,64311	6,4025	4,83	2,3
	ТК	1,75125	4,511	5,104	5,79	6,09	3,612	1,772
Основная группа	ДК	1,6277	5,169	5,246	5,146194	4,4335	2,6235	2,392
	ТК	1,75125	4,739	4,594	4,1238	3,3957	2,7995	2,5296
Достоверная значимость			$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

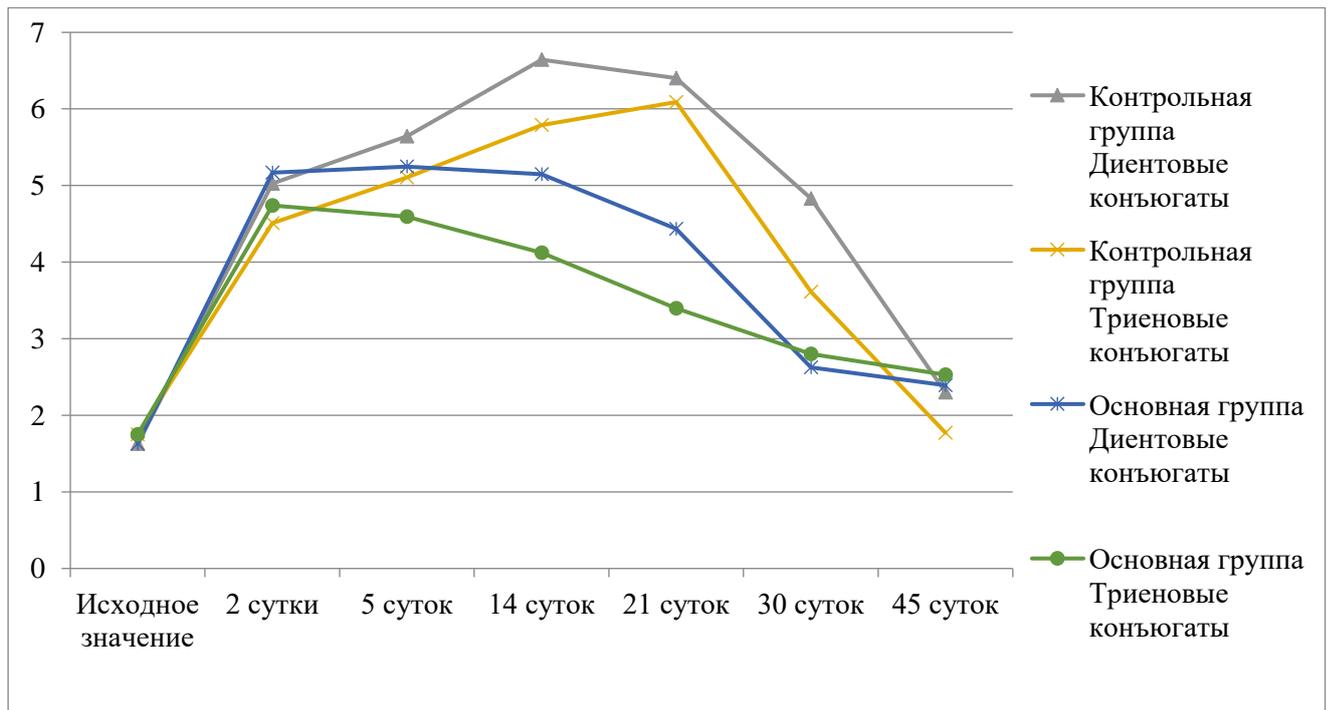


Рисунок 3.36 – Динамика изменения концентрации диеновых и триеновых конъюгатов (усл. ед./мг липидов) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Ме,  $n = 30$ )

Малоновый диальдегид как конечное звено перекисного окисления липидов был повышен со 2-х сут эксперимента с максимальным значением в контрольной группе (таблица 3.18). В дальнейшем данный параметр имел четкую тенденцию к снижению. В контрольной группе отмечалась стабилизация значения параметра до 21-х сут эксперимента. Разница между значением показателя в группах сравнения составила 61 % (больше в контрольной группе) при  $p < 0,05$ . В основной группе начиная с 14-х сут эксперимента отмечалась тенденция к снижению показателя. Нормализация показателя отмечена к 45-м сут эксперимента (рисунок 3.37). В своей работе А. В. Говорин (2009) отмечал подобную тенденцию, но при исследовании концентрации малонового диальдегида отметил стабилизацию значения параметра в контрольной группе до 10-х сут наблюдения.

Таблица 3.18 – Изменение концентрации малонового диальдегида (нМоль/г белка) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	2,137	6,0575	6,625	6,192	6	3,286	2,109
Основная группа	2,137	5,74719	5,976	4,9644	3,72184	2,80076	1,43412
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Таким образом, экспериментальными исследованиями установлено, что использование ЭМГПС при ожоге пищевода растворами кислот способствовало скорейшему снижению показателей прооксидантной системы. Разница между значениями малонового диальдегида на 21-е сут в группах сравнения составила 61 % (больше в контрольной группе) при  $p < 0,05$ . В то же время в основной группе имелась тенденция к нормализации показателей антиоксидантной системы в более ранние сроки относительно контрольной группы. На 14-е и

21-е сут эксперимента активность супероксиддисмутазы в основной группе составила на 18и 17 % соответственно выше относительно группы контроля ( $p < 0,05$ ).

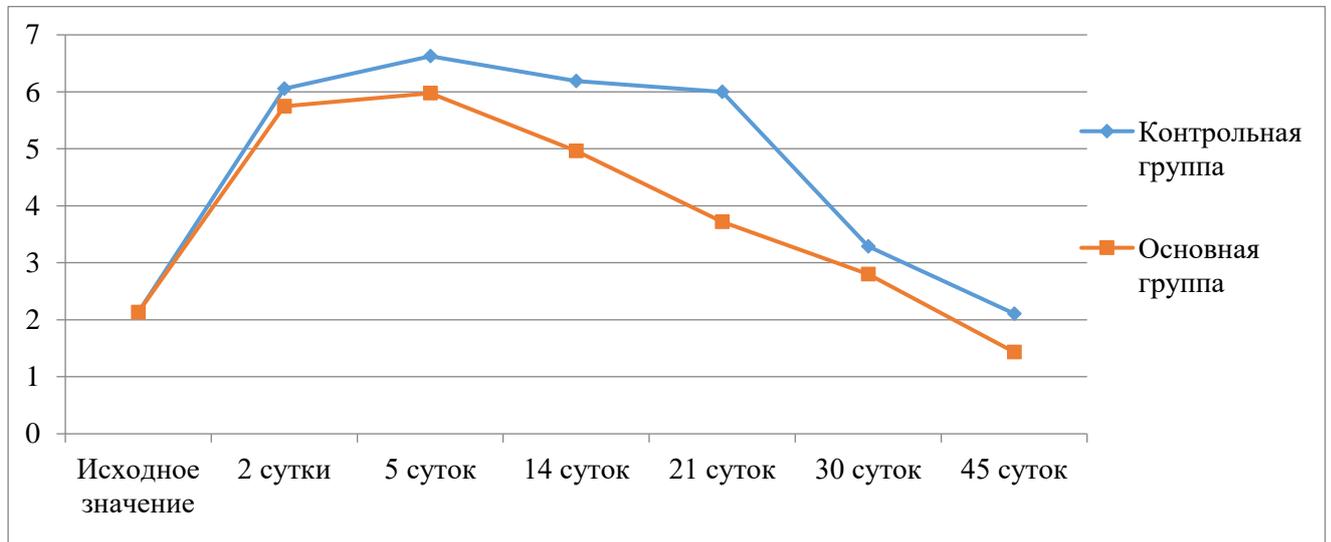


Рисунок 3.37 – Динамика изменения концентрации малонового диальдегида (нМоль/г белка) в плазме крови кроликов после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

В клинических наблюдениях Е. А. Лужников (2006) также отмечал позитивные сдвиги в восстановлении баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты. Но (в отличие от настоящего исследования) данные показатели нормализовались уже на 3-и сут клинических наблюдений при включении в терапию ЭМГПС.

### **3.6. АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТЕМПОВ РЕГЕНЕРАЦИИ СТЕНКИ ПИЩЕВОДА ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ОРГАНА ЕДКИМ НАТРОМ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТИОКСИДАНТОВ**

Создавали ожог пищевода у 30 кроликов путем экспозиции 18,5 % раствора едкого натра. В дальнейшем начиная с 1-х сут и на протяжении последующих 14 дней кроликам основной группы внутримышечно вводили

ЭМГПС в дозировке 5 мг на 1 кг веса животного 3 раза в день. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество физиологического раствора.

Максимальное количество лейкоцитов в образцах пищевода после химического ожога едким натром наблюдали на 5-е сут эксперимента (рисунок 3.38). Количество нейтрофильных лейкоцитов в контрольном препарате составило 10 клеток в поле зрения, в основном образце – 17 клеток (различия статистически значимы,  $p < 0,05$ ) (таблица 3.19). На 21-е сут в контрольной группе количество лейкоцитов составило 5 клеток в поле зрения, в основной группе выявлены единичные лейкоциты в поле зрения (различия статистически значимы,  $p < 0,05$ ). В остальные временные промежутки лейкоциты в стенке пищевода не были обнаружены.

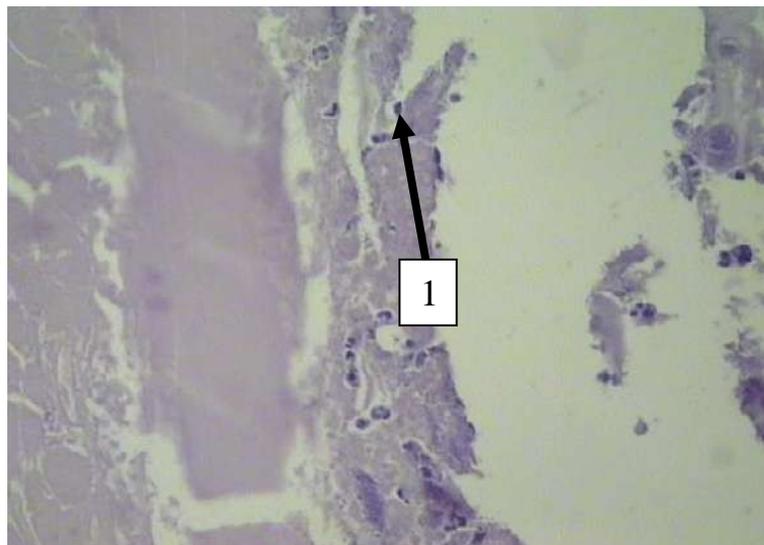


Рисунок 3.38–Нейтрофильные лейкоциты (1) в разрушенной слизистой оболочке, 5-е сут. Химический ожог пищевода едким натром. Контрольная группа (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 400$ )

На 5-е сут эксперимента количество лимфоцитов в контрольной и основной группах имело минимальное значение и составляло 6 и 7 клеток в поле зрения соответственно (различия статистически незначимы,  $p > 0,05$ ). Число лимфоцитов в обеих группах в динамике увеличилось к 21-м сут (рисунок 3.39), максимальное количество составило 9 клеток в поле зрения

в основной группе после ожога пищевода едким натром и 12 клеток в поле зрения в группе контроля (таблица 3.20). Различия между данными образцами статистически не значимы,  $p > 0,05$ .

Таблица 3.19 – Изменение количества лейкоцитов (ед. в поле зрения) в стенке пищевода после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	5 сут	14 сут	21 сут
Контрольная группа	10	8	5
Основная группа	17	8	единичные
Достоверная значимость	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

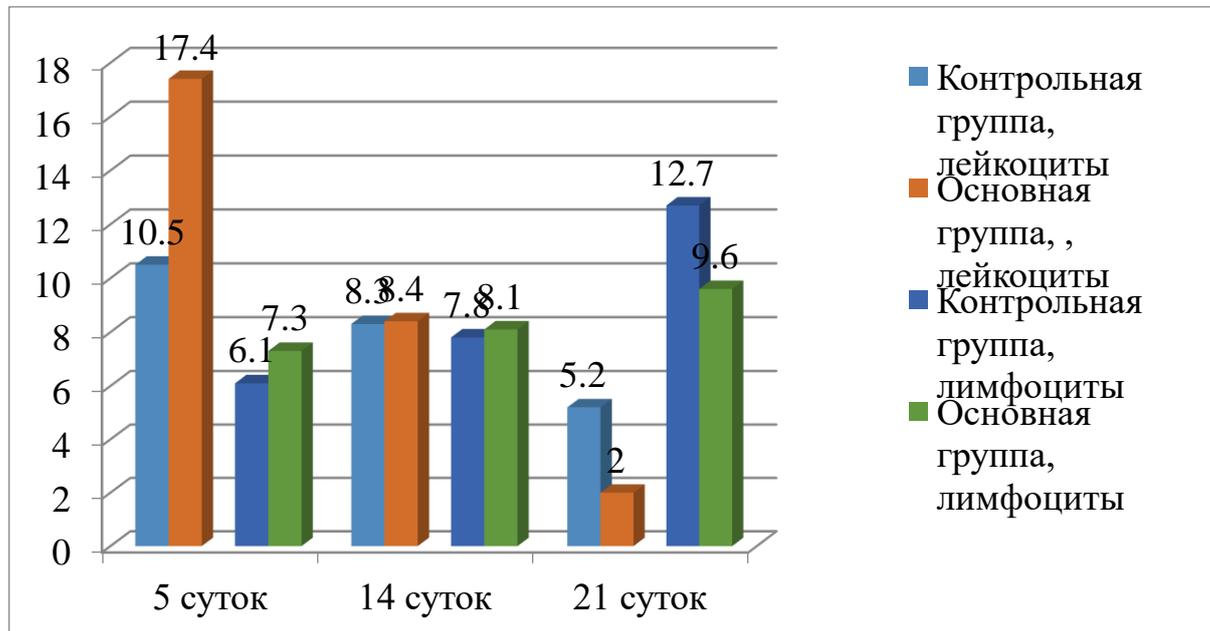


Рисунок 3.39 – Динамика показателей воспаления стенки пищевода в контрольной и основной группах после химического ожога едким натром. Лейкоциты и лимфоциты (клетки в поле зрения),  $n = 30$

Таблица 3.20 – Изменение количества лимфоцитов (ед. в поле зрения) в стенке пищевода после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Ме,  $n = 30$ )

Показатель	5 сут	14 сут	21 сут
Контрольная группа	6	7	12
Основная группа	7	8	9
Достоверная значимость	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$

На 14-е сут эксперимента в обоих образцах сохранялись выраженные некротические изменения, не подвергающиеся регенерации. В стенке пищевода на уровне дефекта появлялись первые сосуды микроциркуляторного русла (рисунок 3.40). В препаратах основной группы площадь кровеносных сосудов в поле зрения составила  $57,6 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$ . В препаратах контрольной группы показатель составил  $53,3 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$ . Различия между данными образцами статистически не значимы,  $p > 0,05$ . К 30-м сут эксперимента площадь новообразованных сосудов была максимальна и составила  $75,6 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$  в контрольной группе и  $78,5 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$  в контрольной группе (таблица 3.21, рисунок 3.41). Различия между данными образцами статистически не значимы,  $p > 0,05$ .

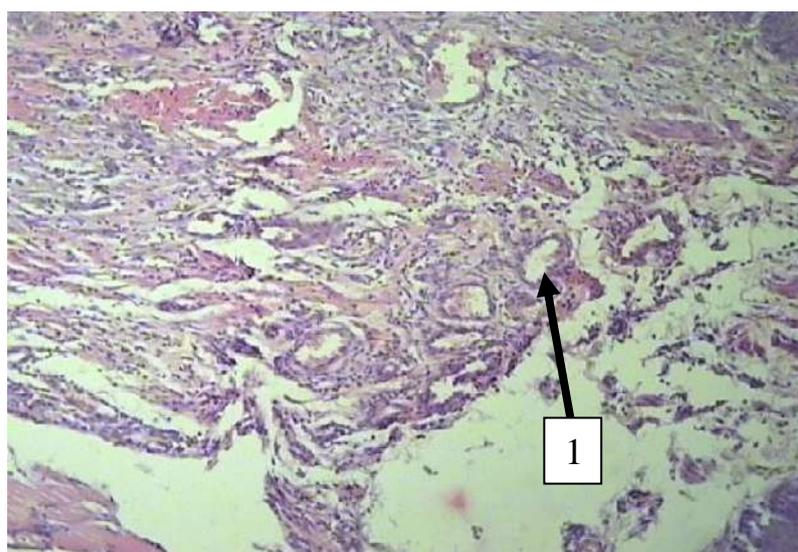


Рисунок 3.40– Новообразованные сосуды (1) в подлежащей соединительной ткани. Контрольная группа. Химический ожог пищевода едким натром, 14-е сут (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

Таблица 3.21– Площадь новообразованных сосудов ( $\text{мкм}^2/\text{мм}^2$ ) после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах ( $M_e, n = 30$ )

Показатель	14 сут	21 сут	30 сут
Контрольная группа	53,3	67,2	75,6
Основная группа	57,6	71,4	78,5
Достоверная значимость	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

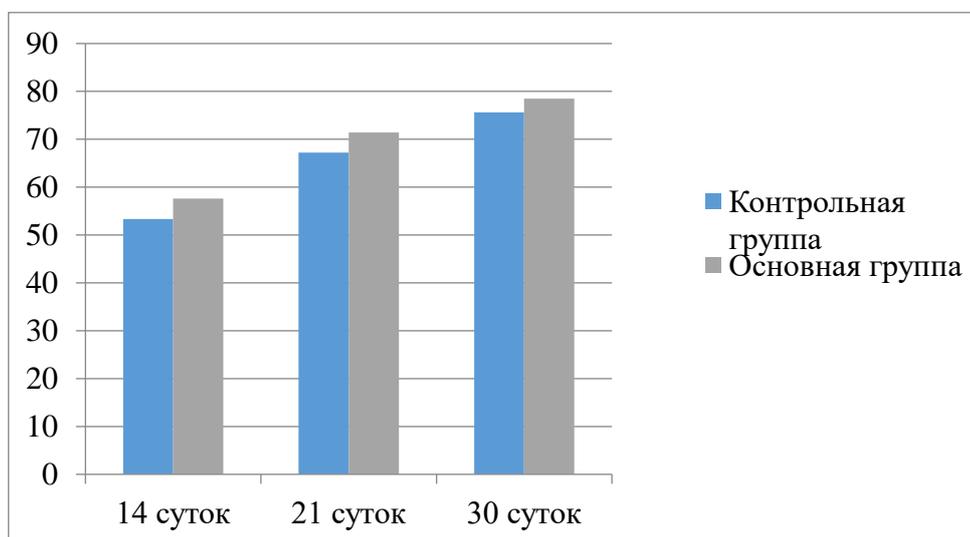


Рисунок 3.41 –Площадь новообразованных сосудов стенки пищевода в динамике в контрольной и основной группах после химического ожога уксусной кислотой,  $\text{мкм}^2/\text{мм}^2, n = 30$

К 30-м сут эксперимента некротизированные участки слизистой оболочки пищевода после химического ожога едким натром начинали замещаться новообразованным многослойным плоским неороговевающим эпителием в обеих группах. Толщина эпителия в этот временной промежуток в контрольной группе составляла 43,5 мкм, в основной – 45,8 мкм. Различия между данными образцами статистически не значимы,  $p > 0,05$  (рисунок 3.42). На 45-е сут эксперимента наряду с эпителизированными участками встречались

зоны дефекта, покрытые фибрином (рисунок 3.43). Толщина эпителия в контрольных и опытных образцах – 54,4 и 53,2 мкм соответственно. На 60-е сут толщина эпителия в контрольной группе достигала 107,7 мкм, в основной группе составила 110,5 мкм (таблица 3.22). Отмечались очаги неравномерного утолщения эпителия пищевода (рисунок 3.44), участки акантоза, гиалиноза.

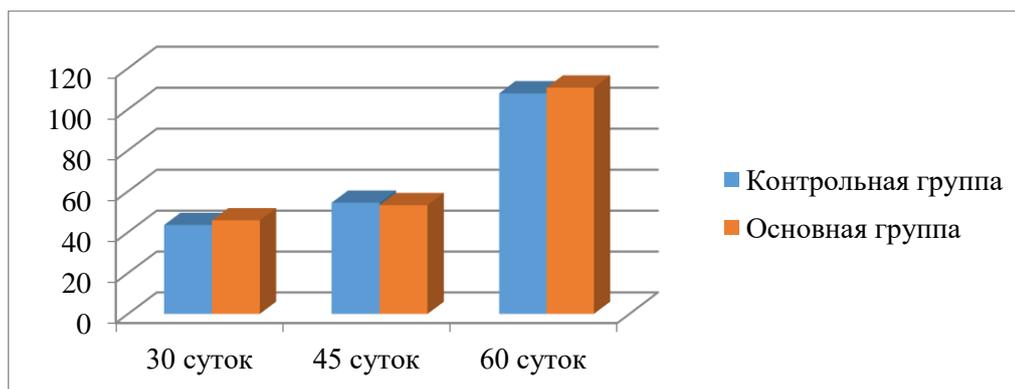


Рисунок 3.42 – Толщина эпителия пищевода в динамике в контрольной и основной группах после химического ожога едким натром, мкм,  $n = 30$

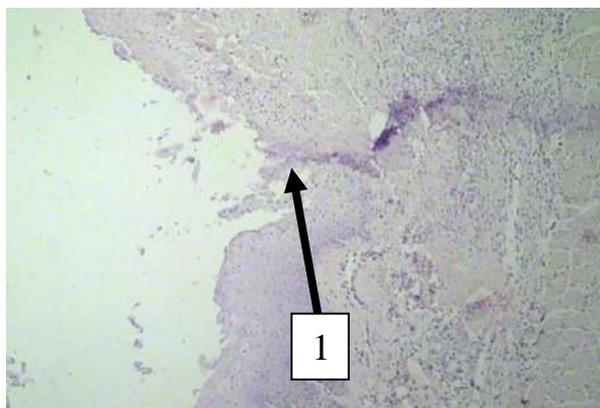


Рисунок 3.43 – Граница эпителиального слоя (1) и дефекта слизистой оболочки. 45-есут Основная группа (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )



Рисунок 3.44 – Неравномерная толщина эпителиального пласта (1), 60-есут. Контрольная группа (окраска гематоксилином-эозином,  $\times 100$ )

Таким образом, достоверных различий в показателях процессов репарации стенки пищевода после химического ожога раствором едкого натра

в промежутки времени с 5-х сут по 60-е сут в контрольной и основной группах выявлено не было ( $p > 0,05$ ). Данные изменения в морфологических показателях стенки пищевода подопытных животных свидетельствуют о незначительном положительном влиянии ЭМГПС на процесс регенерации стенки органа при ожоге едким натром.

Таблица 3.22 – Толщина эпителия (мкм) после химического ожога уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	30 сут	45 сут	60 сут
Контрольная группа	43,5	54,4	107,7
Основная группа	45,8	53,2	110,5
Достоверная значимость	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

### **3.7. СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПОСЛЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ПИЩЕВОДА ЕДКИМ НАТРОМ НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИОКСИДАНТОВ**

Ожог пищевода моделировали у 30 кроликах породы шиншилла путем экспозиции 18,5 % раствора едкого натра. Затем на протяжении последующих 14 дней кроликам основной группы вводили ЭМГПС. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество физиологического раствора.

После химического ожога пищевода раствором едкого натра в крови подопытных животных обеих групп выявляли изменения, свидетельствующие о дисбалансе в системе перекисного окисления липидов. Отмечали повышение уровня каталазы начиная со 2-х сут наблюдения относительно исходного уровня в 1,8 раза (таблица 3.23). На 14-е сут эксперимента в основной группе значение показателя составило 0,0229 мгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/мин/г, что на 15 % меньше, чем

в контрольной ( $p < 0,05$ ). К 21-м сут исследования отмечалась нормализация показателя как в основной группе, так и в группе сравнения (рисунок 3.45). Во все временные промежутки данные в обеих группах не отличаются достоверной разницей ( $p > 0,05$ ).

Таблица 3.23 – Изменение концентрации каталазы ( $\text{мгН}_2\text{О}_2/\text{мин/г}$ ) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах ( $\text{Me}, n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	0,0182	0,033	0,028	0,027	0,0191	0,01905	0,0203
Основная группа	0,0182	0,03503	0,02648	0,0229	0,01852	0,022539	0,023332
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

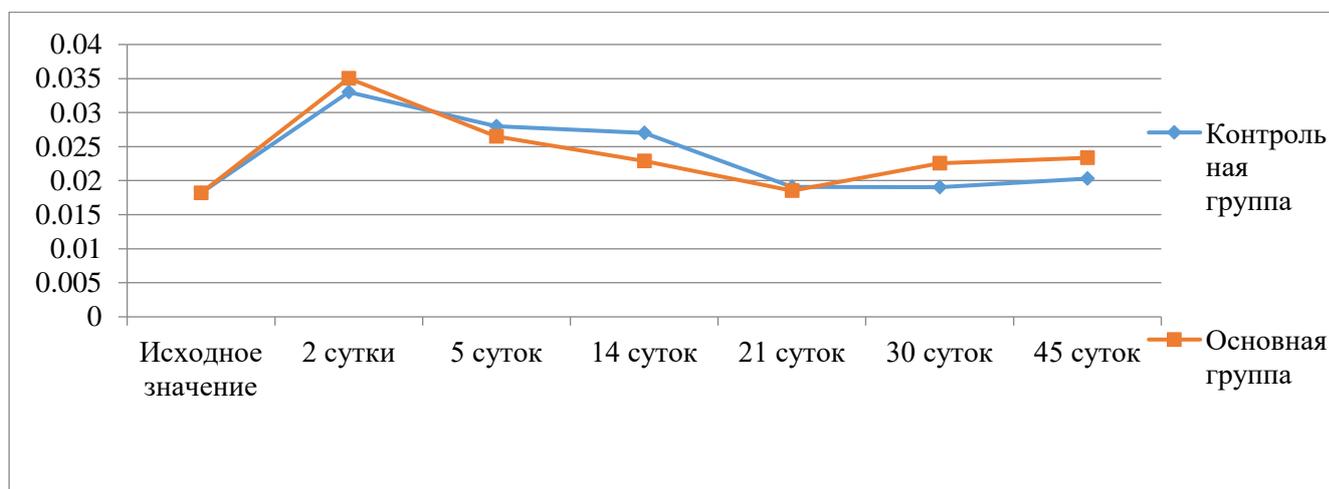


Рисунок 3.45 – Динамика изменения концентрации каталазы ( $\text{мгН}_2\text{О}_2/\text{мин/г}$ ) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах ( $\text{Me}, n = 30$ )

Уровень церулоплазмينا после химического ожога едким натром снижался начиная со 2-х сут наблюдения (таблица 3.24). На 21-е сут

эксперимента в основной и контрольных группах (рисунок 3.46) показатель возвращался к исходному значению. Во все временные промежутки данные в обеих группах не отличались достоверной разницей ( $p > 0,05$ ).

Таблица 3.24 – Изменение концентрации церулоплазмина (мг/л) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	5701,25	5600	2625	4687,5	5337,5	5906,25	5950
Основная группа	5701,25	5886,56	2940	4901,25	5778,75	6247,5	5652,5
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

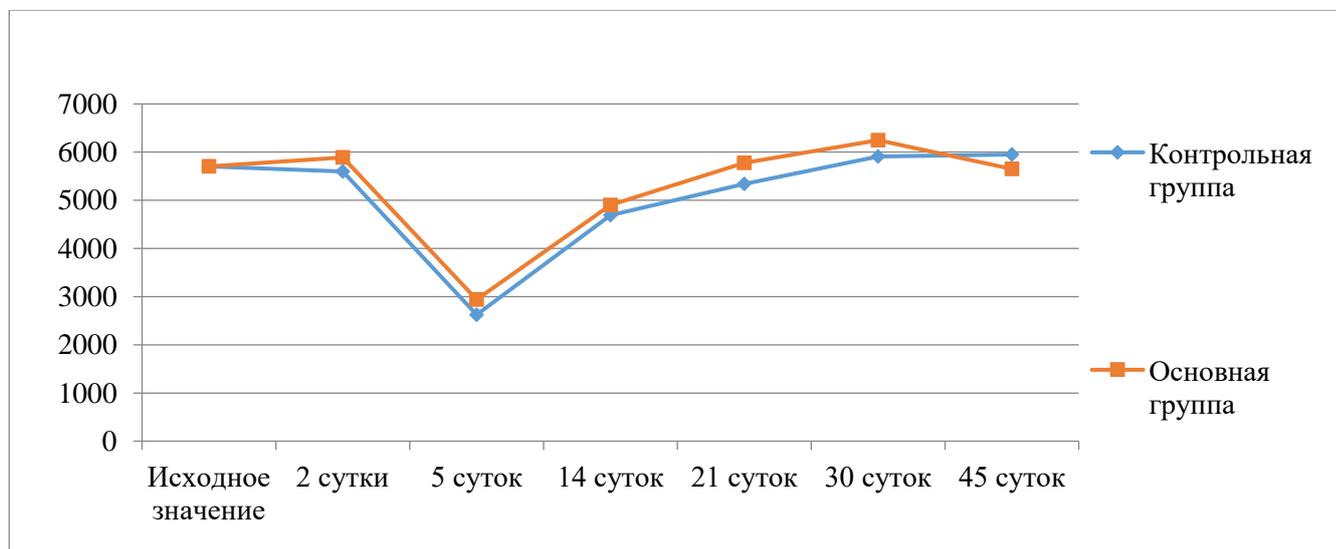


Рисунок 3.46– Динамика изменения концентрации церулоплазмина (мг/л) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Активность фермента супероксиддисмутаза снижалась на 5-е сут эксперимента в обеих группах (таблице 3.25). С 14-х сут эксперимента

отмечена тенденция к восстановлению уровня фермента. В этот временной промежуток в основной группе отмечали на 14 % выше активность фермента (4,22725 усл. ед./мг белка), чем в контрольной группе (3,64 усл. ед./мг белка). На 21-е сут эксперимента уровень фермента в обеих группах достигал исходного уровня (рисунок 3.47).

Таблица 3.25 – Изменение активности супероксиддисмутазы (усл. ед./мг белка) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	6,12	2,8	2,1	3,64	5,8	7,6	6
Основная группа	6,12	2,925	2,32	4,22725	6,1902	7,07	6,12
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

На 2-е сут в группе прооксидантов отмечено увеличение концентрации диеновых и триеновых конъюгатов с последующим ростом показателей к 14-м сут эксперимента в основной и контрольных группах (таблица 3.26). На 14-е сут эксперимента концентрация диеновых конъюгатов отмечалась в основной группе на 9 % меньше, чем в контрольной группе. Тогда же выявлена концентрация триеновых конъюгатов на 12 % меньше, чем в контрольной ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3.48). К 21-м сут показатели вернулись к исходным значениям.

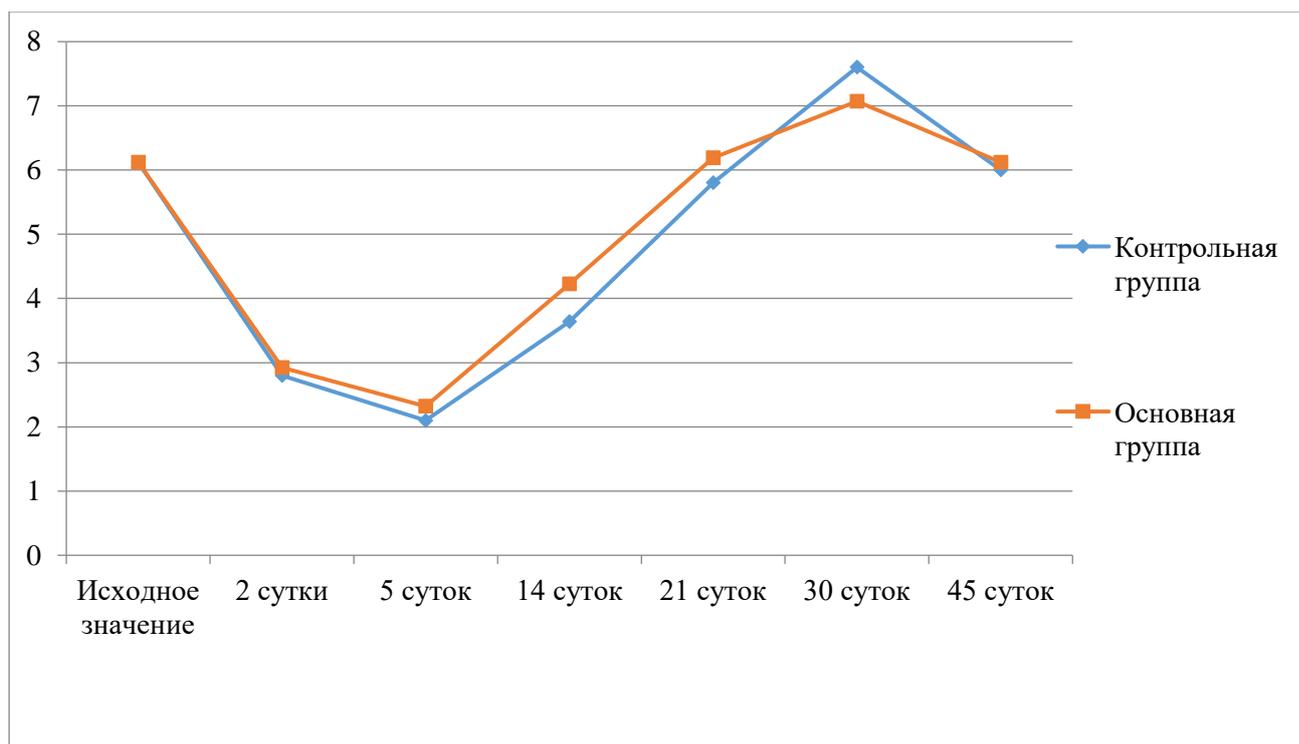


Рисунок 3.47– Динамика изменения активности супероксиддисмутазы (усл. ед. /мг белка) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Таблица 3.26 – Изменение концентрации диеновых конъюгатов и триеновых конъюгатов (усл. ед./мг липидов) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Показатель		Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	ДК	1,6277	3,975	3,96	4,8325	2,561	2,015	1,15
	ТК	1,75125	3,375	3,735	4,245	1,65375	1,84875	2,325
Основная группа	ДК	1,6277	3,7662	3,712	4,35099	2,3296	1,6277	1,52
	ТК	1,75125	3,3487	3,5065	3,73425	1,53953	1,45792	2,11425
Достоверная значимость			$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Малоновый диальдегид был повышен со 2-х сут эксперимента. В дальнейшем концентрация данного фермента имела четкую тенденцию

к снижению. В основной группе отмечалась большая интенсивность нормализации концентрации вещества, чем в контрольной (таблица 3.27). Максимальная разница между значением показателя на 21-е сут эксперимента в группах сравнения составила 21 % (больше в контрольной группе) при  $p < 0,05$ . Нормализация показателя отмечена к 45-м суткам эксперимента (рисунок 3.49).

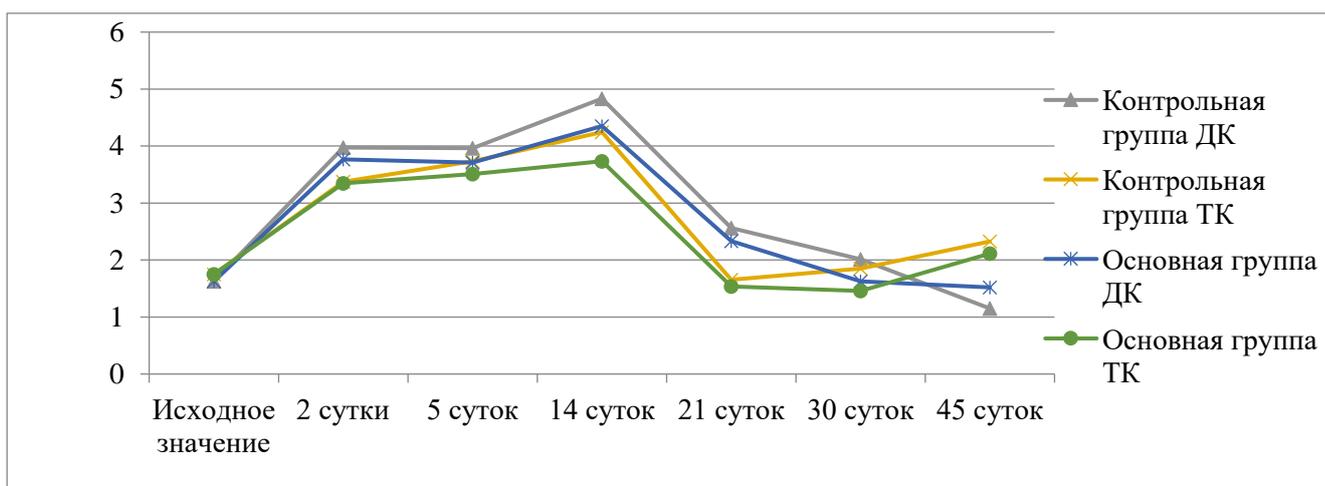


Рисунок 3.48 – Динамика изменения концентрации диеновых и триеновых конъюгатов (усл. ед./мг липидов) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Ме,  $n = 30$ )

Таблица 3.27 – Изменение концентрации малонового диальдегида (нМоль/г белка) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Ме,  $n = 30$ )

Показатель	Исходное значение	2 сут	5 сут	14 сут	21 сут	30 сут	45 сут
Контрольная группа	2,137	5,95	5,3	4,92	4,3	3,2	1,9
Основная группа	2,137	5,587	4,94	4,56	3,397	2,374	1,267
Достоверная значимость		$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

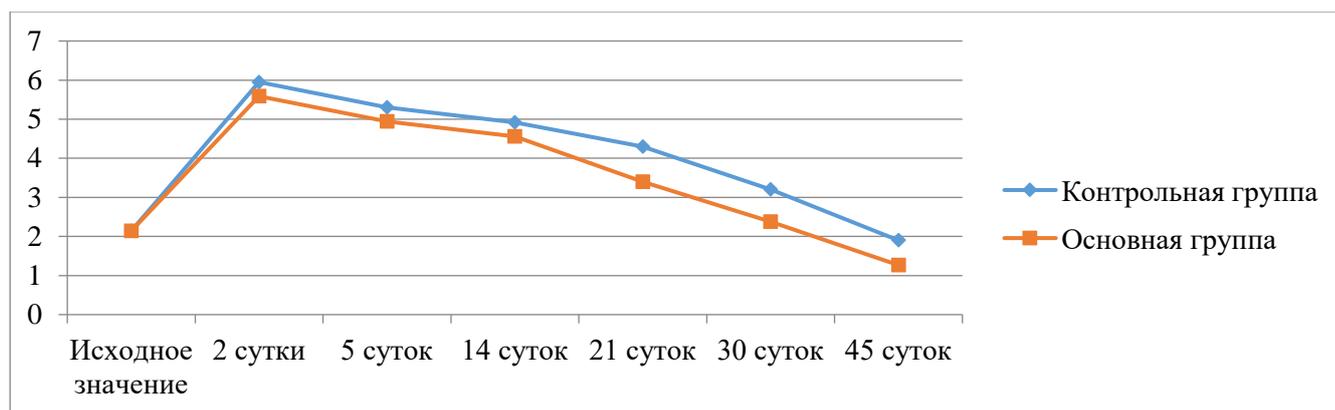


Рисунок 3.49– Динамика изменения концентрации малонового диальдегида (нМоль/г белка) в плазме крови кроликов после химического ожога едким натром в основной и контрольной группах (Me,  $n = 30$ )

Таким образом, были выявлены изменения в количественных характеристиках ферментов и их производных. Данные изменения в антиоксидантных и прооксидантных системах подопытных животных свидетельствовали о незначительном положительном влиянии ЭМГПС на процесс перекисного окисления липидов при ожоге едким натром. Так, на 14-е сут эксперимента концентрацию диеновых конъюгатов выявляли в основной группе только на 9 % меньше, чем в контрольной группе. Концентрация триеновых конъюгатов была на 12 % меньше, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). В этот временной промежуток в основной группе отмечали на 14 % выше активность супероксиддисмутазы (4,22725 усл. ед./мг белка), чем в контрольной группе (3,64 усл. ед./мг белка). На 14-е сут эксперимента в основной группе активность каталазы составила 0,0229 мгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/мин/г, что на 15 % меньше, чем в контрольной ( $p < 0,05$ ).

Данное наблюдение имело отражение и в морфологических изменениях в стенке пищевода кроликов. При морфологическом исследовании тканей пищевода как контрольной, так и основной групп отмечали умеренную нейтрофильную инфильтрацию: количество нейтрофильных лейкоцитов в контрольном препарате составляло 10 клеток в поле зрения, в основном

образце 17 клеток. Максимальное количество лимфоцитов при ожоге щелочью отмечали на 14-е сут в основной группе – 12 и контрольной группе – 9.

Таким образом, воздействие первичного химического альтернирующего фактора (раствора кислоты или щелочи) приводило к некрозу стенки органа с развитием выраженного дисбаланса в системе прооксиданты-антиоксиданты. Данный первичный дисбаланс поддерживался развивающимся ожоговым эзофагитом и являлся неспецифическим процессом относительно химической природы реагента. Так, повышение концентрации продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида, диеновых, триеновых конъюгатов), снижение активности супероксиддисмутазы, концентрации церулоплазмينا, повышение активности каталазы отмечали со 2-х сут с момента ожога пищевода. Значения данных параметров достигали максимума отклонения от нормы на 5-е сут эксперимента, что связано с наиболее выраженными процессами воспаления в данный временной промежуток. При морфологическом исследовании отмечалась дифференциация между повреждением пищевода едким натром и уксусной кислотой. Кислота как слабый электролит не вызывала столь грубых деструктивных изменений в стенке органа, но в то же время в результате резорбции из просвета желудочно-кишечного тракта способствовала усилению процессов перекисного окисления липидов. Активность каталазы к плазме крови кроликов в 2,5 раза выше в группе ожогов пищевода растворами кислот.

Раствор щелочи при воздействии на слизистую оболочку пищевода приводил к некрозу слизистой оболочки органа без образования струпа и развития эзофагита под ним. Образование плотного струпа на стенке пищевода с развитием процессов воспаления имело место при ожоге пищевода уксусным раствором. В результате чего формировался очаг воспаления и, как следствие, источник свободных радикалов. При изучении значений показателей системы прооксиданты-антиоксиданты (концентрации малонового диальдегида, диеновых, триеновых конъюгатов, активности супероксиддисмутазы, концентрации церулоплазмينا, активности каталазы)

отмечали восстановление баланса в данной системе к 21-м сут эксперимента в группе ожогов пищевода растворами щелочи и в основной группе после ожогов уксусной кислотой, независимо от использования препаратов антиоксидантного ряда. В контрольной группе после химического ожога пищевода кислотой подобные явления регистрировали на 30-е сут эксперимента. Явления ожогового эзофагита отмечали до 21-х сут эксперимента в контрольной и основной группах ожога пищевода раствором едкого натра и в основной группе ожога пищевода уксусной кислотой. В контрольной группе после химического ожога пищевода кислотой подобные явления отмечали до 30-х сут эксперимента.

При морфологическом исследовании образцов пищевода подопытных животных молодые новообразованные сосуды выявляли на 14-е сут, площадь сосудов была больше в основных группах по сравнению с контрольными, достигая максимума на 30-е сут исследования. Выраженную разницу между значениями данного показателя в контрольной и основной группах отметили при исследовании ожогов пищевода уксусной кислотой. Так, площадь новообразованных сосудов была больше в основной группе на 14-е сут эксперимента в 3 раза, а на 21-е сут – в 2,5 раза относительно контрольной группы.

Таким образом, при ожоге, нанесенном щелочным раствором, интенсивность и выраженность воспалительных реакций значительно уступают таковым при ожоге, нанесенном кислотой. При повреждении щелочью преобладали некротические и дистрофические процессы, действие ЭМГПС было выражено незначительно. Препарат антиоксидантного ряда способствовал ускорению купирования воспалительной реакции при ожоге уксусной кислотой и не оказывал воздействия на данный процесс при ожоге едким натром. Введение ЭМГПС улучшало регенераторные процессы в стенке пищевода, усиливая кровоснабжение ожоговой поверхности после ожога пищевода кислотой.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В экспериментальной работе, посвященной изучению воздействия ЭМГПС на процессы репарации стенки пищевода после химического ожога растворами кислоты и щелочи, была создана модель химического ожога пищевода различными по химической природе реагентами. С целью изучения воздействия на стенку данного органа кислотных растворов использовали 46 % раствор уксусной кислоты. Изучение химического ожога пищевода щелочным раствором проводили на примере 18,5 % раствора каустической соды. Экспериментальным животным вводили данные химические вещества непосредственно в просвет пищевода. В последующем была выявлена необходимость дифференцированного подхода к моделированию ожога пищевода щелочным раствором и раствором кислоты. При ожоге 46 % раствором уксусной кислоты в меньшей степени имеет значение площадь соприкосновения прижигающей жидкости со стенкой органа без развития осложнений. Все экспериментальные животные выжили до сроков окончания исследования. При моделировании химического ожога 18,5 % раствором едкого натра устройством для доставки, аналогичным зонду при формировании химического ожога пищевода уксусной кислотой, отмечали 100 % гибель экспериментальных животных в течение первой недели эксперимента. Гибель животных была обусловлена развившимися осложнениями химической травмы в виде тотальной гангрены пищевода, перфорации пищевода и гнойного медиастинита. В результате возникла необходимость усовершенствования устройства для доставки реагента, которая заключалась включением в конструкцию аспиратора, изменения конфигурации боковых отверстий. На данное устройство был получен патент РФ на полезную модель № 163272 от 10.07.2016. При продолжении экспериментальной работы на еще одной группе подопытных животных (30 кроликов: 15 особей основной группы, 15 особей группы контроля) данные нововведения позволили нивелировать как местные деструктивные осложнения от химической травмы пищевода, так и негативные

эффекты вследствие резорбции химического реагента. Все экспериментальные животные выжили до сроков окончания исследования.

В дальнейшем начиная с 10-х сут с момента формирования ожога и на протяжении последующих 14 сут, кроликам основных групп вводили внутримышечно ЭМПС в дозировке 5 мг на 1 кг веса животного 3 раза в день. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество физиологического раствора на каждый килограмм веса животного.

Животных основной и контрольной групп выводили из эксперимента на 5, 14, 21, 30, 45 и 60-е сут в соответствии с Конвенцией по защите животных путем передозировки эфира. Выполняли забор образцов пищевода экспериментальных животных. Для гистологического и морфометрического исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозином с последующим морфологическим исследованием образцов с помощью микроскопа фирмы «CarlZeiss» под увеличением от 40 до 400 раз. Посредством программ «Axiovision» и «ImageTool v.3.0» на микрофотографиях проводили подсчет количества нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов, толщины эпителия пищевода, площади новообразованных сосудов микроциркуляторного русла.

У экспериментальных животных основных и контрольных групп выполняли забор крови на 2, 5, 14, 21, 30, 45-е сут с последующим центрифугированием на аппарате ELMi CM-70 при 3000 тыс. оборотов. Полученные образцы сыворотки крови кроликов замораживали при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . В биохимической лаборатории данные образцы сыворотки размораживали при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  с последующим определением концентрации продуктов перекисного окисления липидов: диеновых и триеновых конъюгатов, малонового диальдегида, а также определением показателей активности ферментов антиоксидантной защиты: каталазы, церулоплазмина, супероксиддисмутазы.

При исследовании сывороток крови подопытных животных на 2-е сут эксперимента отмечали неспецифические изменения в системе прооксиданты-

антиоксиданты: повышение продуктов перекисного окисления липидов, снижение ферментов-антиоксидантов.

На 5-е сут эксперимента во всех образцах пищевода экспериментальных животных при гистологическом исследовании отмечали явления постожогового эзофагита. Количество клеток воспаления (лейкоцитов и лимфоцитов) в стенке органа в этот промежуток времени было максимальным. В группе экспериментальных животных после воздействия уксусной кислоты в 9,5 раза больше количество лейкоцитов и в 3 раза больше количество лимфоцитов в полях зрения, чем после ожога пищевода щелочными растворами.

Воздействие первичного химического альтернирующего фактора (раствора кислоты или щелочи) приводило к некрозу стенки органа с развитием выраженного дисбаланса в системе прооксиданты-антиоксиданты. Данный первичный дисбаланс поддерживался развивающимся ожоговым эзофагитом и являлся неспецифическим процессом относительно химической природы реагента. Так, повышение концентрации продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида, диеновых, триеновых конъюгатов), снижение активности супероксиддисмутазы, концентрации церулоплазмينا, повышение активности каталазы отмечали со 2-х сут с момента ожога пищевода.

Раствор щелочи при воздействии на слизистую оболочку пищевода приводил к некрозу слизистой оболочки органа без образования струпа и развития эзофагита под ним. Образование плотного струпа на стенке пищевода с развитием процессов воспаления имело место при ожоге пищевода уксусным раствором. В результате чего формировался очаг воспаления и, как следствие, источник свободных радикалов. В последующем отмечали нарастание концентрации продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови кроликов. Уровень диеновых и триеновых конъюгатов прогрессивно увеличивался к 14-м сут эксперимента в контрольной и основной группах после химического ожога пищевода щелочью и в основной группе после химического ожога кислотой. В контрольной группе подопытных

животных с химической травмой пищевода кислотой концентрация диеновых и триеновых конъюгатов прогрессивно увеличивалась до 21-х сут эксперимента. Уровень малонового диальдегида в данной группе имел склонность к стабилизации значения до 21-х сут. В остальных группах отмечали снижение концентрации, начиная с 5-х сут эксперимента. В результате отмечали восстановление баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты

к 21-м сут эксперимента в группе ожогов пищевода растворами щелочи независимо от использования ЭМГПС и в основной группе после ожогов уксусной кислотой. В контрольной группе после химического ожога пищевода кислотой подобные явления регистрировали на 30-е сут эксперимента.

Явления ожогового эзофагита при исследовании гистологических препаратов отмечали до 21-х сут эксперимента в контрольной и основной группах ожога пищевода раствором едкого натра и в основной группе ожога пищевода уксусной кислотой. В контрольной группе после химического ожога пищевода кислотой подобные явления отмечали до 30-х сут эксперимента.

Процессы репарации стенки пищевода отмечали с 14-х сут эксперимента. Во всех исследуемых группах впервые обнаруживали новообразованные сосуды микроциркуляторного русла, больше в группах после ожога уксусной кислотой, с максимальным значением в основной группе ( $1806,11 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$ ). При динамическом исследовании площадь новообразованных сосудов прогрессивно увеличивалась до 30-х сут во всех исследуемых группах. Максимальное значение данного параметра в этот промежуток времени отмечали в группе контроля после химического ожога уксусной кислотой.

Подобные различия в площади новообразованных сосудов между группами экспериментальных животных с химической травмой пищевода кислотой ( $1806,11 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$  в основной группе и  $528,53 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$  в группе контроля) и щелочью ( $57,6 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$  в основной группе и  $53,3 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$  в группе контроля) обусловлены дифференцированным поражением стенки пищевода разными по химической природе веществами.

Щелочные растворы, в отличие от растворов кислот, проникая вглубь тканей, способствовали развитию колликвационного некроза подслизистой оболочки пищевода, которая в дальнейшем отторгалась вместе с ожоговым струпом. Постожоговые изменения в слизистой и подслизистой оболочках пищевода после химической травмы растворами кислот характеризовались развитием выраженного струпа, приостанавливающего проникновение кислоты вглубь органа, без явлений массивного некроза и соответственно отторжения значительного объема тканей, через которые и «прорастали» вновь образующиеся сосуды. Снижение процессов пролиферации после ожога щелочью, судя по количеству лимфоцитов в зоне ожога, более глубокое проникновение химического реагента в стенку органа приводят к снижению образования соединительной ткани и, как следствие, отражаются на показателе ангиогенеза.

К 30-м сут отмечали стабилизацию в значениях активности ферментов-антиоксидантов и концентрации продуктов перекисного окисления липидов. При гистологическом исследовании образцов пищевода визуализировали вновь образованный эпителий пищевода. Толщина эпителия пищевода была больше в группе с химическим ожогом пищевода кислотой (95,08 мкм в основной группе и 92,95 мкм в группе контроля) в 2 раза относительно группы химического ожога пищевода щелочью (45,8 мкм в основной группе и 43,5 мкм в группе контроля), что закономерно объясняется превалирующими процессами ангиогенеза слизистой оболочки пищевода после ожога 46 % уксусной кислотой.

К 45-м сут значения супероксиддисмутазы, каталазы, церулоплазмينا, диеновых и триеновых конъюгатов, каталазы в основном достигали "доожоговых» значений.

На 60-е сут эксперимента отмечали максимальное значение толщины эпителия пищевода по всех исследуемых группах, больше после химического ожога 46 % уксусной кислотой (237,46 мкм в основной группе и 202,6 мкм в группе контроля), чем после химического ожога 18,5 % раствором едкого

натра (95,08 мкм в основной группе и 92,95 мкм в группе контроля). Данный показатель превалировал в основной группе экспериментальных животных после химического ожога пищевода 46 % уксусной кислотой, что обусловлено положительным воздействием ЭМГПС на процессы репарации стенки пищевода. В группе экспериментальных животных, где химическим веществом выступила щелочь, статистически значимой разницы между толщиной эпителия пищевода в этот временной промежуток не выявили (95,08 мкм в основной группе и 92,95 мкм в группе контроля,  $p > 0,05$ )

В клинической практике Е. А. Лужников (2006) отмечал позитивные сдвиги в системе ПОЛ и восстановлении баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты на 3-и сут после получения химической травмы у больных при включении в терапию ЭМГПС. В исследовании Л. Г. Антипиной (2007), посвященном постожоговым рубцовым стриктурам пищевода, было отмечено повышение продуктов перекисного окисления липидов и снижение активности ферментов антиоксидантной системы через несколько месяцев с момента получения ожога у больных, хотя в проведенном экспериментальном исследовании было обнаружено восстановление баланса прооксидантов-антиоксидантов в течение месяца от момента химической травмы. Данное различие можно объяснить развитием хронического эзофагита у больных.

Таким образом, в эксперименте создана модель локального ожога пищевода 46 % раствором уксусной кислоты и 18,5 % раствором едкого натра. При химическом ожоге пищевода щелочным раствором выявлена необходимость снижения площади соприкосновения прижигающей жидкости со стенкой органа, уменьшения объема раствора едкого натра, остающегося в просвете пищевода. В связи с этим выполнена модификация устройства для доставки химического реагента в виде включения инструмента для аспирации щелочи из просвета пищевода. Результатом явилось отсутствие гибели животных на начальных этапах эксперимента от внеорганных осложнений.

Выявлена дифференциация в темпах регенерации стенки пищевода после

химического ожога кислотой и щелочью. Отмечено замедление смен фаз воспаления после химического ожога уксусной кислотой относительно ожога едким натром на 9-е сут или 15 %. В этот же временной промежуток обнаружено восстановление баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты в вышеперечисленных группах, что свидетельствует о непосредственной связи уровня оксидантного стресса и темпах регенерации стенки пищевода после химического ожога.

Выявлено положительное влияние ЭМГПС на процессы ПОЛ и репарацию стенки пищевода после химического ожога. В группе экспериментальных животных с моделью ожога уксусной кислотой воздействие антиоксиданта приводило к более раннему восстановлению баланса прооксидантов-антиоксидантов (на 9-е сут), что имело отражение в положительных сдвигах в темпах регенерации стенки органа. Смена фаз воспаления проходила аналогично на 9-е сут или на 15 % быстрее в группах животных, получавших ЭМГПС. При оценке воздействия антиоксидантана процессы ПОЛ и регенерацию стенки пищевода после химического ожога раствором едкого натра отмечено незначительное положительное влияние антиоксидантного препарата.

Итак, с учетом проведенного исследования возможно выстроить лечебно-профилактический алгоритм при химическом ожоге пищевода с применением внутрипросветных вмешательств на пищеводе (рис 3.48).

По данным эксперимента, максимальное количество новообразованных сосудов, появление эпителия пищевода и регресс воспалительных изменений и купирование окислительного стресса по результатам биохимического исследования определяли с 30-х сут после химического ожога пищевода раствором кислоты (с 21-х сут при включении в терапию ЭМГПС), с 21-х сут – после химического ожога пищевода раствором щелочи. Этот момент является переходным между экссудативной и пролиферативной фазами воспаления. В данный временной промежуток в стенке пищевода отсутствует гиперпролиферация фиброцитов и, как следствие, отложение коллагеновых

волокон и рубцевание стенки пищевода, а также определяется эпителизация пищевода, что позволяет выполнить внутрисветные дилатирующие вмешательства. Таким образом, в данном случае целесообразно выполнение превентивного бужирования пищевода с целью профилактики развития рубцовой стриктуры пищевода.

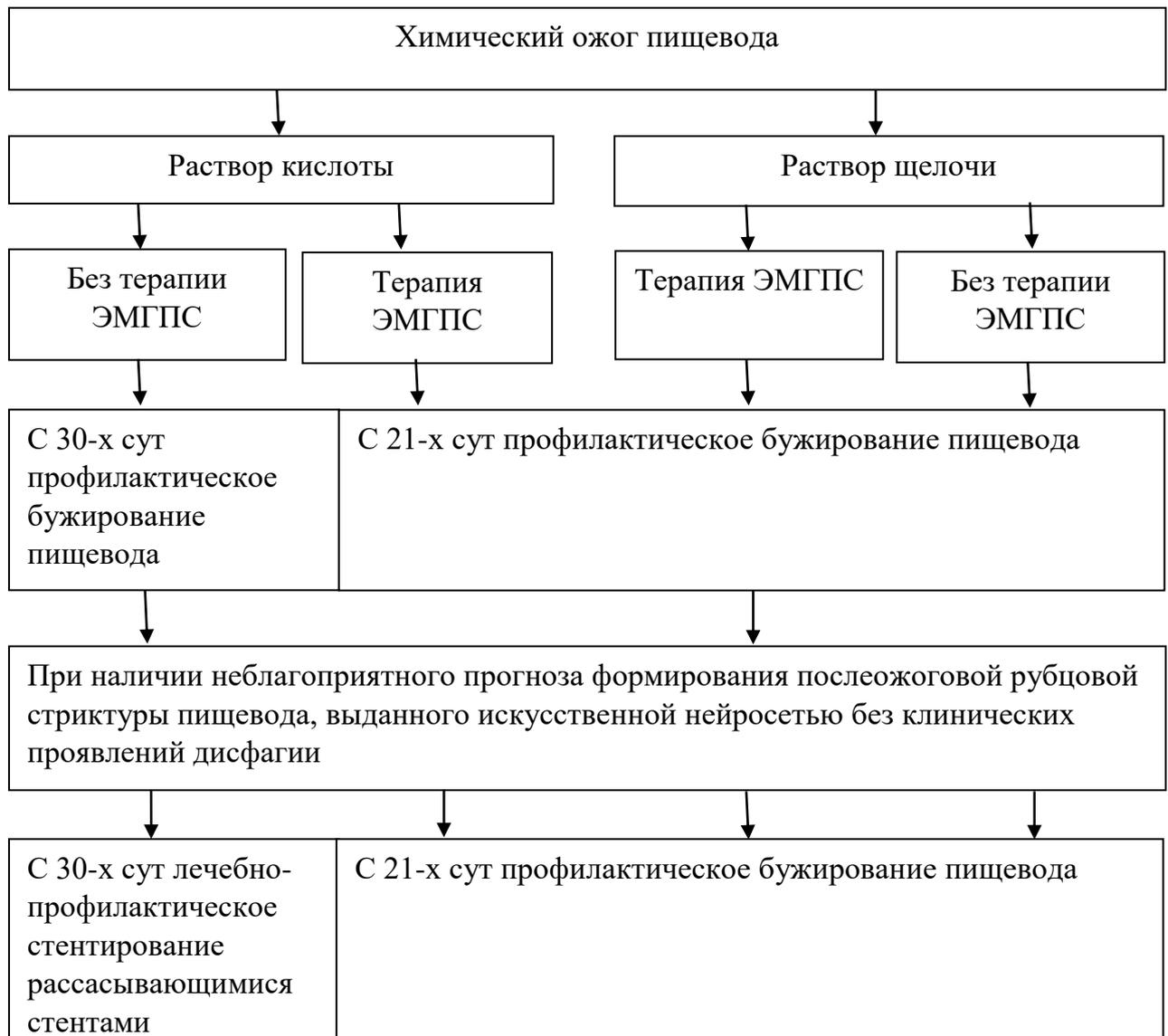


Рисунок 3.50 – Лечебно-профилактический алгоритм при химическом ожоге пищевода раствором кислоты и щелочи

В тот же временной промежуток – с 30-х сут после химического ожога пищевода раствором кислоты кислотой (с 21-х сут при включении в терапию ЭМГПС), с 21-х сут после химического ожога пищевода раствором щелочи – при наличии неблагоприятного прогноза формирования послеожоговой

рубцовой стриктуры пищевода, выданного искусственной нейросетью, без клинических проявлений дисфагии [Богонина О.В., 2013] целесообразно выполнять лечебно-профилактическое стентирование пищевода рассасывающимися стентами из полидиоксанона. В данный временной интервал в стенке пищевода процессы воспаления, а соответственно, инфильтрация лейкоцитарными клетками, минимальны, что предотвращает раннюю резорбцию материала стента.

## ВЫВОДЫ

1. Создана модель устройства для доставки химического реагента с вакуумной составляющей, которая позволила избежать гибели животных на начальных этапах эксперимента от внепищеводных осложнений при моделировании химического ожога раствором щелочи.

2. Темпы регенерации пищевода превалируют в группе химических ожогов щелочным раствором. Сроки воспаления уменьшаются после химического ожога пищевода щелочью на 15 % относительно ожога кислотой ( $p < 0,05$ ). Площадь новообразованных сосудов после химического ожога кислотой в 10 раз больше ( $p < 0,05$ ), чем при ожоге щелочью и, как следствие, отмечается увеличение толщины эпителия – на 60-е сут. Данный показатель в 2 раза больше ( $p < 0,05$ ) в группе животных, получивших ожог пищевода кислотой.

3. Наиболее выраженные сдвиги в системе прооксиданты-антиоксиданты отмечаются сразу после нанесения химической травмы. Темпы регенерации стенки пищевода соответствуют балансу в системе оксиданты-антиоксиданты. Оксидазный стресс нивелируется после купирования воспалительных явлений в стенке органа на 30-е сут после химического ожога раствором кислоты и на 21-е сут после химического ожога раствором щелочи. Различия в показателях ферментов-антиоксидантов и продуктов перекисного окисления липидов на 21-е сут после химического ожога кислотой и щелочью статистически значимы ( $p < 0,05$ ), на 30-е сут статистически значимой разницы не выявлено ( $p > 0,05$ ).

4. Применение этилметилгидроксипиридина сукцината при химическом ожоге пищевода раствором уксусной кислоты ускоряет нормализацию показателей ферментов прооксидантов и антиоксидантов на 15 % ( $p = 0,045$ ). Сроки купирования ожогового эзофагита меньше на 15 % ( $p = 0,038$ ), кровоснабжение ожоговой поверхности, судя по площади ангиогенеза,

интенсивнее в 2,5–3 раза ( $p=0,036$ ). При химическом ожоге пищевода раствором щелочи антиоксиданты оказывают незначительный положительный эффект как на процессы перекисного окисления липидов, так и на темпы регенерации стенки органа.

5. Разработана рациональная тактика ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода в эксперименте, основанная на морфологических данных о различиях в регенерации стенки пищевода в зависимости от вида коррозионного вещества и применения антиоксидантов.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для формирования экспериментального ожога пищевода щелочными растворами целесообразно использовать устройство, имеющее в своем составе вакуум-аспиратор, для удаления химического реагента из просвета пищевода.

С целью ускорения смены фаз воспаления, улучшения процессов репарации стенки пищевода после химического ожога растворами кислот рекомендовано применение этилметилгидроксипиридина сукцината. Применение данного препарата при химическом ожоге пищевода растворами щелочей нецелесообразно ввиду незначительного положительного эффекта.

Рекомендовано применение этилметилгидроксипиридина сукцината при ожоге пищевода растворами кислот в сроки с первых до 30-х сут от момента получения химической травмы.

Целесообразно применение превентивного бужирования пищевода с 30-х сут после химического ожога пищевода раствором кислоты (с 21-х сут при включении в терапию этилметилгидроксипиридина сукцината), с 21-х сут после химического ожога пищевода раствором щелочи. При наличии высокого риска развития стриктуры пищевода показано лечебно-профилактическое стентирование пищевода рассасывающимися стентами из полидиоксанона.

## **КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Результаты экспериментальных исследований различий в регенерации стенки пищевода в зависимости от вида коррозионного вещества и применения этилметилгидроксипиридина сукцината стали основой для определения оптимальных сроков внутрипищеводных вмешательств в клинической практике [Климашевич А. В. и соавт., 2013,2013,2016].

### **Сроки выполнения внутрипищеводных вмешательств:**

Бужирование пищевода – с 30-х сут после химического ожога пищевода раствором кислоты (с 21-х сут при включении в терапию этилметилгидроксипиридина сукцината), с 21-х сут после химического ожога пищевода раствором щелочи.

Превентивное и лечебное стентирование рассасывающимися стентами из полидиоксанона – с 30-х сут после химического ожога пищевода раствором кислоты (с 21-х сут при включении в терапию этилметилгидроксипиридина сукцината), с 21-х сут после химического ожога пищевода раствором щелочи.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Авхименко, М.М. Об острых отравлениях химическими веществами прижигающего действия / М. М. Авхименко, С. В. Трифонов, Н. В. Третьяков, С. С. Трифонова, В. В. Чунтул // Медицина катастроф. – 2009. – № 3. – С. 51–54.
2. Алексеенко, С.И. Неотложная помощь детям с химическими ожогами пищевода / С.И. Алексеенко, В.М. Шайтор, А.И. Сафронова, О.Л. Ежова // Скорая медицинская помощь. – 2009. – Т. 10, № 4. – С. 26–29.
3. Антипина, Л.Г. Состояние перекисного окисления липидов и иммунный статус у больных с послеожоговой стриктурой пищевода / Л. Г. Антипина, Е. В. Сосина // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2007. – Т. 71, № 4. – С. 51–54.
4. Асельдерова, А.Ш. Иммунопротекторный эффект церулоплазмина в остром периоде у больных, перенесших критические состояния различного генеза / А.Ш. Асельдерова // Анестезиология и реаниматология. – 1992. – № 2. – С. 43–45.
5. Баландина, И.А. Выбор оптимального метода лечения послеожоговых стриктур пищевода / И.А. Баландина, В.И. Перепелицын, Ф.З. Сапегина // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2003. – № 2. – С. 41–42.
6. Баландина, И.А. Иммуногистохимическое исследование стенки пищевода у людей зрелого возраста / И.А. Баландина, Ф.З. Сапегина, Н.В. Еремченко, О.В. Пимкина, П. В. Косарева // Морфология. – 2014. – Т. 145, № 3. – С. 28.
7. Баландина, И.А. Морфологическая характеристика пищевода после химического ожога с проведением баллонной дилатации на 30-е сутки / И.А. Баландина, Ф.А. Шилова, Ф.З. Сапегина // Материалы итоговой научно-практической конференции ПГМА. – Пермь, 2003. – С.161–163.
8. Баландина, И.А. Обнаружение антигенов в стенке пищевода у детей грудного возраста / И.А. Баландина, Ф.З. Сапегина, Н.В. Еремченко,

О.В. Пимкина, П. В. Косарева // Морфология. – 2014. – Т. 145, № 3. – С. 28–28а.

9. Баландина, И.А. Особенности процесса репарации пищевода после баллонной дилатации, выполненной в разные сроки с момента химического ожога в эксперименте / И. А. Баландина, Ф. А. Шилова, Ф. З. Сапегина // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2007. – № 1. – С. 18–23.

10. Баландина, И. А. Прогнозирование рубцовых стриктур пищевода и внутрипросветное лечение послеожоговой непроходимости как профилактика их формирования (Клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.27 / Баландина И. А. – Пермь, 2003. – 40 с.

11. Баландина, И.А. Электронно-микроскопические наблюдения после баллонной дилатации рубцовых стриктур в различные периоды ожоговой болезни пищевода / И.А. Баландина, Ф.З. Сапегина // Теория и практика прикладных анатомических исследований в хирургии – 2001 : материалы Всерос. науч.-практ. конф. – СПб., 2001. – С. 72.

12. Барабой, В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В. А. Барабой // Успехи современной биологии и медицины. – 1991. – Т. 3, № 6. – С. 923–931.

13. Барабой, В.А. Перекисное окисление и стресс /В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин. – СПб. : Наука, 1992. – 148 с.

14. Белевич, В.Л. Доброкачественные стенозы пищевода и его анастомозов: состояние проблемы / В. Л. Белевич, Д. В. Овчинников // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2012. – № 1 (37). – С. 309–313.

15. Белова, М.В. Особенности окислительного стресса в остром периоде химической болезни / М. В. Белова, К. К. Ильяшенко, Б. В. Давыдов, С. И. Петров, И. В. Батурова, Ж. Ц. Нимаев, Е. А. Лужников // Токсикологический вестник. – 2007. – № 2. – С. 12–15.

16. Белькова, Т.Ю. Патогенетические аспекты острой химической травмы веществами прижигающего действия (сообщение 1) / Т. Ю. Белькова // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2001. – Т. 28, № 4. – С. 9–13.
17. Беляев, А.Н. Коррекция некоторых показателей гемостаза при регионарном внутрикостном введении мексидола в комплексном лечении осложненных форм диабетической стопы / А. Н. Беляев, А. Н. Родин // Актуальные вопросы диагностики, лечения и реабилитации больных : материалы XVIII Межрегион. науч.-практ. конф. ГБОУ ДПО «Пензенский институт усовершенствования врачей» Минздрава России.–Пенза, 2016. – С. 53–55.
18. Беляев, А.Н. Функциональные и морфологические нарушения печени при остром обтурационном холестазе и их коррекция (экспериментальное исследование) / А. Н. Беляев, С. А. Козлов, С. А. Беляев, С. В. Костин, О. А. Дербеденева // Анналы хирургической гепатологии. – 2014. – Т. 19, № 4. – С. 64–70.
19. Богонина, О.В. Прогнозирование и профилактика рубцовых стриктур пищевода после химических ожогов: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.17 / Богонина О. В.– Саранск, 2013. – 18 с.
20. Борис, А. И. Ожоги и отравления кислотами и щелочами / А. И. Борис // Здравоохранение Беларуси. – 1994. – № 8 – С. 54.
21. Бурлакова, Е.Б. Кинетические особенности токоферолов как антиоксидантов / Е.Б. Бурлакова, С.А. Крашаков, Н. Г. Храпова. – Черноголовка, 1992. – 56 с.
22. Бурлакова, Е.Б. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты / Е.Б. Бурлакова, Н.Г. Храпова // Успехи химии. – 1985. – № 9. – С. 154–155.
23. Вильдяева, М.В. Обоснование эффективности применения препарата антиоксидантного типа действия мексиданта в комплексном лечении ожоговой травмы / М. В. Вильдяева, В. И. Инчина // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-1. – С. 46–50.

24. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы в живых системах / Ю. А. Владимиров, О. А. Азизова, А. И. Деев // Итоги науки и техники. Биофизика. – М., 1991. – Т.29. – С. 250.
25. Власов, А. П. Антиоксиданты в повышении детоксикационной способности организма / А. П. Власов, С. К. Гашимова, С. В. Абрамова, Э. И. Полозова, С. А. Турыгина, О. И. Месиков // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2. – С. 294.
26. Власов, А.П. Влияние перекиси водорода на спектр липидов в перитонеальных макрофагах и их ядрах / А.П. Власов, В. А. Трофимов, О.Н.Аксенова, А.А.Дудко// Современные наукоемкие технологии. – 2004. – № 3. – С. 112.
27. Власов, А.П. Влияние этоксида на некоторые показатели функциональной активности и липидного обмена тромбоцитов при эндотоксикозе / А.П.Власов, Э.И. Начкина, Н.Ю. Лещанкина, В.П.Власова, Е.М. Рычихина // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. 16, № 2. – С. 34–36.
28. Власов, А.П. Мембранодестабилизирующие явления в прогрессировании острого панкреатита и их коррекция / А.П.Власов, С.Г. Анашкин, Т.И.Григорьева, С.В.Катков, В.П.Власова, С.В. Тингаев // Медицинский альманах. – 2012. – № 1. – С. 62–65.
29. Власов, А.П. Обоснование патогенетической терапии системных дистресс-повреждений оксидативного характера / А.П. Власов, Г.В. Порядин, С.Г. Анашкин, И.В. Потянова, С.А. Турыгина // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2013. – № 2. – С. 63–68.
30. Волков, О. И. Стентирование пищевода / О. И. Волков // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2004. – № 4 (18). – С. 18–20.
31. Волков, С.В. Химические ожоги пищевода и желудка (эндоскопическая диагностика и лазеротерапия) / С.В. Волков, А.С. Ермолов, Е. А. Лужников. – М. : Медпрактика, 2005. – 120 с.

32. Воробьева, В.М. Методология разработки лекарственных препаратов для местной терапии ожогов пищевода / В.М.Воробьева, Д.Г. Полухин, Л.А. Крафт, Л.Е. Кудрикова, Ю.Г. Мотин // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 8-1. – С. 128–133.
33. Воробьева, В.М. Морфологическая оценка заживления кожной модели химического ожога под влиянием новых лекарственных композиций / В.М.Воробьева, А.В.Лепилов, Ю.Г.Мотин, А.К.Смирнов, Д.Г. Полухин // Сибирское медицинское обозрение. – 2011. – № 2 (68). – С. 45–48.
34. Воробьева, В.М. Ранозаживляющее действие новых лекарственных составов, предназначенных для лечения ожогов пищевода, в эксперименте / В.М. Воробьева, Д.Г. Полухин, А.В. Лепилов, А.К. Смирнов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, № 2. – С. 31–34.
35. Воскресенская, М.Л. Результаты лечения химических ожогов и постожоговых рубцовых стриктур пищевода (обзор литературы) / М.Л. Воскресенская, А.Н. Плеханов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2015. – № 5 (105). – С. 107–112.
36. Воскресенская, М.Л. Способ моделирования патофизиологического химического ожога пищевода у экспериментальных животных / М.Л. Воскресенская, А.Н. Плеханов, А.Г. Мондодоев, С.В. Цыремпилов, А. А. Торопова // Врач-аспирант. – 2017. – Т. 81, № 2.1. – С. 183–188.
37. Гейниц, А. В. Новый взгляд на некоторые аспекты патогенеза и методы лечения огнестрельных ран / А. В. Гейниц, П. И. Толстых, Е. Ф. Шин, Б. А. Ахмедов, И. Ю. Кулешов, А. С. Плешков, Т. В. Морозова // Лазерная медицина. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 40–46.
38. Глотов, В.А. Ожоговая болезнь пищевода химической этиологии: клиника, патогенез, лечение : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Глотов В. А.– М., 1981. – 39с.

39. Глушков, С.И. Нарушения системы глутатиона и их роль в патогенезе острых интоксикаций ксенобиотиками с различными механизмами токсического действия : автореф. дис. ...д-ра мед. наук / Глушков С. И. – М., 2006. – 28 с.
40. Говорин, А.В. Нарушение процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной системы крови у больных с острым отравлением уксусной кислотой / А.В.Говорин, Е.В.Бойко, Н.А.Соколова, Е.А.Рущкина // Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – № 1. – С. 112–113.
41. Годжелло, Э.А. Отдаленные результаты эндоскопического стентирования саморасправляющимися эндопротезами / Э. А. Годжелло, М. В. Хрусталева, В. Б. Пермяков, Ю. И. Галлингер // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2012. – № 3. – С. 33–40.
42. Годжелло, Э.А. Предупреждение, ранняя диагностика, принципы лечения осложнений эндоскопических операций при доброкачественных стенозирующих заболеваниях пищевода / Э.А. Годжелло, Ю.И. Галлингер // Клиническая эндоскопия. – 2006. – № 2. – С. 2–12.
43. Годжелло, Э.А. Современная концепция эндоскопического лечения рубцовых стриктур пищевода и пищеводных анастомозов / Э. А. Годжелло, Ю. И. Галлингер, М. В. Хрусталева, Е. В. Евдокимова, Ю. А. Ходаковская // Хирургия. – 2013. – № 2. – С. 97–104.
44. Годжелло, Э.А. Современная тактика и результаты 20-летнего опыта эндоскопического лечения рубцовых стенозов пищевода / Э.А. Годжелло, Ю.И. Галлингер // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2007. – № 1. – С. 5–10.
45. Годжелло, Э.А. Эндоскопическое лечение рубцовых стенозов пищевода / Э.А. Годжелло, Ю.И. Галлингер // Эндоскопическая хирургия. – 2000. – Т. 6, № 5. – С. 33–39.
46. ГОСТ 33044 - 2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. - М., 2014.

47. Гусева, Л. В. Применение мексидола в комплексном лечении больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей / Л. В. Гусева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. Приложение 1. Мексидол в клинике и эксперименте. – М., 2006. – С. 108–112.
48. Джумабаев, Э. С. Современные подходы к интенсивной терапии химических ожогов пищевода и профилактике поздних осложнений при острых отравлениях прижигающими химическими веществами / Э. С. Джумабаев, Ш. М. Атаханов, Н. Б. Ходжиматов // Вестник лимфологии. – 2013. – № 2. – С. 21–22.
49. Дмитриев, Е.Г. Доброкачественные стриктуры пищевода и выходного отдела желудка: интервенционное ведение (обзор зарубежной литературы) / Е. Г. Дмитриев, Н. В. Михайлова // Эндоскопия. – 2012. – № 2. – С. 34–40.
50. Дмитриев, Л. Ф. Радикальные состояния и циклические превращения липидов в биологических мембранах : дис. ... д-ра биол. наук / Дмитриев Л. Ф. – М., 1994. – 65 с.
51. Доржиев, Б. Д. Экспериментальная модель химического ожога пищевода и желудка современными агрессивными химическими агентами / Б. Д. Доржиев, М. Л. Тыхенова, К. Д. Пунсуков // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 4 (86), ч. 2. – С. 193–197.
52. Доровских, В.А. Коррекция окислительного стресса цитофлавином при тепловом воздействии на организм / В. А. Доровских, О.Н. Ли, Н.В. Симонова, М.А. Штарберг, В.Ю. Доровских // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 2. – С. 89–93.
53. Ерофеева, М. В. Применение мексиданта в комплексной терапии ожоговой болезни / М. В. Ерофеева, В. И. Инчина, М. Д. Романов // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. 15, № 2. – С. 196–198.

54. Зенков, Н. К. Окислительный стресс. Диагностика, терапия, профилактика / Н. К. Зенков, Е. Б. Меньшикова, С. М. Шергин. – Новосибирск, 1993. – 181 с.
55. Ивашкин, В. Т. Болезни пищевода / В. Т. Ивашкин, Л. С. Трухманов. – М. : Триада-Х, 2000. – С. 122–127.
56. Исламов, Р. А. Методология эксперимента с использованием лабораторных животных / Р. А. Исламов // Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2016. – № 1. – С. 522–525.
57. Кабанова, А. А. Влияние мексибела на процессы перекисного окисления липидов у пациентов с гнойно-воспалительными процессами челюстно-лицевой области / А. А. Кабанова, И. О. Походенько-Чудакова // Рецепт. – 2011. – № 4. – С. 45–51.
58. Каган, В. Е. Ферментные и неферментные системы защиты мембран фоторецепторов от активных форм кислорода и перекисей липидов / В. Е. Каган, В. З. Ланкин, А. А. Шведова, К. Н. Новиков, С. К. Добрина, Л. Б. Братковская, И. Я. Кулиев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1979. – № 8. – С. 164–166.
59. Канюков, В. Н. Репаративная регенерация глазной поверхности при моделировании щелочного ожога в эксперименте / В. Н. Канюков, А. А. Стадников, О. М. Трубина, О. М. Яхина // Практическая медицина. – 2012. – № 4-2 (59). – С. 192–193.
60. Клебанов, Г. И. Антиоксидантная активность ингибиторов свободнорадикальных реакций, используемых в перевязочном материале для лечения ран / Г. И. Клебанов, О. Б. Любицкий, С. Е. Ильина, Е. О. Медушева, В. В. Рыльцев, В. Н. Филатов // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 69–82.
61. Клебанов, Г. И. Антиоксидантная активность сыворотки крови / Г. И. Клебанов, Ю. О. Теселкин, И. В. Бабенкова, О. Б. Любицкий, Ю. А. Владимиров // Вестник Российской академии медицинских наук. – 1999. – № 22. – С. 15–22.

62. Климашевич, А. В. Опасности стентирования доброкачественных постожоговых рубцовых стриктур пищевода / А. В. Климашевич // Всероссийская конференция хирургов, посвященная 90-летию члена-корреспондента АМН СССР, заслуженного деятеля науки РФ и РД, профессора Р. П. Аскерханова. – Махачкала, 2010. – С. 31.
63. Климашевич, А. В. Оптимальные сроки профилактики и лечения послеожоговых рубцовых стриктур пищевода / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина, Р. Э. Кувакова, А. В. Шабров // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 3 (ч. 1). – С. 83–87.
64. Климашевич, А. В. Опыт профилактики формирования и лечения постожоговых рубцовых стриктур пищевода / А. В. Климашевич, О. В. Богонина // IV Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых-медиков. – Казань, 2012. – С. 247–249.
65. Климашевич, А. В. Постожоговые рубцовые стриктуры пищевода: профилактика их формирования, тактика лечения / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2012. – № 1 (21). – С. 52–60.
66. Климашевич, А. В. Профилактика и лечение рубцовых стриктур пищевода / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина, В. В. Антонов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 4-1. – С. 63–68.
67. Климашевич, А. В. Современные методы внутрипросветного лечения и профилактики послеожоговых рубцовых стриктур пищевода / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, А. Н. Митрошин, О. В. Калмин, К. И. Сергацкий, А. В. Шабров // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18, № 2. – С. 291–295.
68. Климашевич, А. В. Современные технологии профилактики и лечения послеожоговых рубцовых стриктур пищевода : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.17 / Климашевич А. В. ; Ульяновский государственный университет. – Ульяновск, 2014.

69. Климашевич, А. В. Способ лечения постожоговых стриктур пищевода методом стентирования / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, В. А. Назаров, О. В. Богонина // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2011. – Т. 1, № 5. – С. 5–10.
70. Климашевич, А. В. Стентирование пищевода биodeградируемыми коллагеновыми протезами / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина // XVIII Межрегиональная научно-практическая конференция памяти академика Н. Н. Бурденко. – Пенза, 2012. – С. 103–104.
71. Климашевич, А. В. Стентирование пищевода при послеожоговых рубцовых стриктурах / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина, А. А. Акимов, А. В. Шабров // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 2. – С. 83–87.
72. Климов, И. А. Острые пероральные отравления уксусной кислотой / И. А. Климов, В. В. Горбаков // Военно-медицинский журнал. – 1991. – №3. – С. 38–41.
73. Козка, А. А. Антиоксиданты и гипербарическая оксигенация в комплексном лечении больных с глубокими ожогами / А. А. Козка, О. С. Олифирова // Практическая медицина. – 2015. – № 6 (91). – С. 112–114.
74. Колб, В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – 2-е изд., перераб. и доп. – Минск : Беларусь, 1982. – 366 с.
75. Колесников, С. И. Изменения микроструктуры почек при отравлении уксусной кислотой / С. И. Колесников, О. Н. Шашкова, В. Г. Изатулин, А. В. Изатулин // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2009. – Т. 88, № 5. – С. 34–37.
76. Кригер, А.Г. Миграция стента пищевода как причина тонкокишечной непроходимости / А. Г. Кригер, И. В. Казаков // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2013. – № 11. – С. 58–60.

77. Лебедев, К. А. Системные представления в спокойном и активном функционировании иммунной системы / К. А. Лебедев, И. Д. Понякина, В. С. Авдеева // Успехи современной биологии. – 1991. – Т. 111, № 2. – С. 299–305.
78. Левандо, В. А. Стрессорные иммунодефициты у человека / В. А. Левандо, Р. С. Суздальский, Г. Н. Кассиль, С. Н. Кузьмин, Б. Б. Першин // Успехи физиологических наук. – 1990. – Т. 21, № 3. – С. 79–97.
79. Легонькова, О.А. Линейные полиэфиры в современной медицине / О. А. Легонькова, Л. Ю. Асанова // Высокотехнологическая медицина. – 2017. – Т. 4, № 1. – С. 16–31.
80. Лисин, А.В. Перспективный шовный материал – полидиоксанон / А. В. Лисин, А. И. Ахмедова, А. Н. Федорчук, Р. Р. Спиридонова // Евразийский союз ученых. – 2015. – № 6-6 (15). – С. 19–21.
81. Литвицкий, П. Ф. Патофизиология. Курс лекций : учеб. пособие / П. Ф. Литвицкий, Н. И. Лосев, В. А. Войнов ; под ред. П. Ф. Литвицкого. – М. : Медицина, 1997. – 752 с.
82. Лужников, Е. А. Клиническая токсикология / Е. А. Лужников. – М. : Медицина, 1999. – 416 с.
83. Лужников, Е. А. Острые отравления: руководство для врачей / Е. А. Лужников, Л. Г. Костомарова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 2000. – 434 с.
84. Лужников, Е. А. Применение препарата «мексидол» в комплексном лечении больных с острыми экзогенными отравлениями / Е. А. Лужников, К. К. Ильяшенко, Т. П. Пинчук, Т. В. Ермохина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Прил. 1. – С. 190–198.
85. Luk'yanova, L. D. Antihypoxic effects of derivative on the eeg power spectra in rats with different susceptibility to oxygen deficiency / L. D. Luk'yanova, A. Yu. Malyshev, S. V. Krapivin // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 1997. – Vol. 124, № 1. – С. 672–676.

86. Луцевич, О. Э. Современный взгляд на патофизиологию и лечение гнойных ран / О. Э. Луцевич, О. Б. Тамразова, А. Ю. Шикунова // Хирургия. – 2011. – №5. – С. 72–77.
87. Малышев, Б.Д. Нарушения процессов перекисного окисления липидов у хирургических больных на этапах лечения / Б. Д. Малышев, А.Ф. Потапов, Б.Е.Трепилец, В. Ю. Шило // Анестезиология и реаниматология. – 1994. – № 6. – С. 53–59.
88. Маркова, И. В. Клиническая токсикология детей и подростков / И. В. Маркова ; под ред. И. В.Марковой, В.В.Афанасьева, Э. К. Цыбулькина. – СПб. : Интермедика, 1999. – 400 с
89. Маркова,И.В. Клиническая токсикология детей и подростков / И.В.Маркова, В.В.Афанасьев, Э.К. Цыбулькин, М.В. Неженцев. – СПб. : Интермедика,1998. – 302 с.
90. Масевич, Ц.Г. Заболевания пищевода / Ц.Г. Масевич // Библиотека врача общей практики. Т. 1. Заболевания органов пищеварения. – СПб., 1995. – Ч. 1. – С. 49–132.
91. Матвеева, Л.В. Оптимизация внутрисветных методов лечения рубцовых стриктур пищевода / Л. В. Матвеева, А. В. Смолькина // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2014. – № 3. – С. 19–24.
92. Матюшин, Б.Н. Определение супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении / Б.Н. Матюшин, А.С. Логинов, В.Д. Ткачев // Лабораторное дело. – 1991. – № 7. – С. 16–19.
93. Меерсон, Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф. З. Меерсон. – М.: Наука, 1981. – 278 с.
94. Меньшикова, Е.Б. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова, В. З. Ланкин, Н.К. Зенков, И. А. Бондарь, Н.Ф. Круговых, В.А. Труфг. – М. : Слово, 2006. – 556 с.
95. Моисеева, И. Я. Влияние димефосфона на состояние перекисного окисления липидов в тканевых структурах желудка и тонкой кишки на модели

стрессового ульцерогенеза / И. Я. Моисеева, О. П. Родина // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2008. – № 3. – С. 36–41.

96. Мумладзе, Р.Б. Значение эзофагеального стентирования в хирургическом лечении больных с заболеваниями пищевода / Р. Б. Мумладзе, Г. М. Чеченин, С. С. Лебедев, Ю. В. Баринов // Анналы хирургии. – 2013. – № 2. – С. 36–42.

97. Муравьев, В.М. Стентирование пищевода и кардии при доброкачественных и злокачественных стенозах / В. М. Муравьев, А. И. Иванов // Поволжский онкологический вестник. – 2010. – № 2. – С. 31–38.

98. Муравьев, В. Ю. Пептические стриктуры пищевода: особенности диагностики и возможности комплексного лечения / В.Ю. Муравьев, А.А. Морошек, М.В. Бурмистров, А.И. Иванов, Е.И. Сигал // Практическая медицина. – 2015. – № 6 (91). – С. 54–61.

99. Никольский, В.И. Новые технологии в лечении постожоговых рубцовых стриктур пищевода / В.И.Никольский, А.В.Климашевич, О.В. Богонина, Р.Э. Кувакова, В.В.Антонов // Медико-физиологические проблемы экологии человека : материалы IV Всерос. конф. с междунар. участием / Ульяновский государственный университет ; под ред. М.В. Балыкина, В.И. Горбунова, В.И. Мидленко, Б.П. Чуракова, Н. А. Карташовой. – Ульяновск, 2011. – С. 115–117.

100. Никольский, В. И. Пат. 134422 Российская Федерация, А61В18/14. Устройство для моделирования локального ожога пищевода у экспериментальных животных / Никольский В. И., Климашевич А. В., Шабров А. В.; заявитель и патентообладатель – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пензенский государственный университет» (ФГБОУ ВПО «ПГУ»). – № 2013123887/14 ; заявл. 24.05.2013 ; опубл. 20.11.2013, Бюл. № 32.

101. Никольский, В.И. Современные методы внутрипросветного лечения и профилактика послеожоговых рубцовых стриктур пищевода /

В. И. Никольский, А.В.Климашевич // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2014. – № 2. – С. 18–26.

102. Никонов, О.А. Лечение химических ожогов пищевода у детей / О.А. Никонов, М.В. Минаев, О. Ю. Афонина // Современные технологии в педиатрии и детской хирургии : материалы VIII Поволжской регион.науч.-практ.конф.педиатров. – Ульяновск, 2011. – С. 161.

103. Нимаев, Ж.Ц. Антиоксидантная терапия в комплексном лечении больных с острыми отравлениями веществами прижигающего действия : автореф. дис. ... канд.мед.наук : 14.01.17 / Нимаев Ж.Ц.; Научно-исследовательский институт скорой помощи. – М., 2009.

104. Олифирова, О. С. Антиоксиданты в лечении ожоговых ран / О. С. Олифирова, А. А. Козка, Е. А. Волосенкова // Амурский медицинский журнал. – 2016. – Т. 1, № 13. – С. 35–39.

105. Олифирова, О. С. Значение антиоксидантов и гипербарической оксигенации в лечении ожоговых ран / О. С. Олифирова, А. А. Козка //Новости хирургии. – 2017. – Т. 25, № 2. – С. 148–154.

106. Охрименко, А. А. Антиоксидант мексидол в патогенетической терапии дисплазии соединительной ткани / А. А. Охрименко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. Приложение 1. Мексидол в клинике и эксперименте. – М., 2006. – С. 131–134.

107. Пинчук, Т. П. Эффективность мексидола при эндоскопическом лечении химического ожога желудка / Т. П. Пинчук, И. Е. Галанкина, К. К. Ильяшенко, Е. И. Ермаченкова // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2009. – № 2. – С. 35–39.

108. Почепень, О. Н. Эффективность применения «цитофлавина» в интенсивной терапии ожогового шока / О. Н. Почепень // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова.– 2009. – № 3. – С. 155–160.

109. Ратнер, Г. Л. Ожоги пищевода и их последствия / Г. Л. Ратнер, В. И. Белоконев. – М.: Медицина, 1982. –С.160.

110. Рукевич, С. Г. Применение Ксимедона в комплексном лечении химических ожогов пищевода и желудка в эксперименте / С. Г. Рукевич, В. В. Паршиков, Л. Б. Снопина, С. Н. Цыбусов, В. Ф. Рассохин, О. П. Тихобразова, Н. Н. Проданец, О. С. Баскина // Современные технологии в медицине. – 2014. – Т. 6, № 1. – С. 28–33.
111. Сапегина, Ф. З. Оптимальные сроки баллонной дилатации при химическом ожоге пищевода (экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Сапегина Ф. З. – М., 2005. – 80 с.
112. Сарманаев, С. Х. Сравнительная оценка течения поражений внутренних органов различными веществами прижигающего действия / С. Х. Сарманаев // Медицина катастроф. – 2009. – № 1. – С. 31–32.
113. Ситницкий, А. Э. Кислородная зависимость кинетики неферментативного перекисного окисления липидов / А. Э. Ситницкий, Е. Н. Волков // Биофизика. – 1989. – № 2. – С. 230–234.
114. Скажутина, Т.В. Результаты лечения пациентов с доброкачественными рубцовыми стенозами пищевода методом бужирования / Т.В. Скажутина, В.Л. Цепелев // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2. – С. 68.
115. Смоляр, А.Н. Осложнения стентирования пищевода / А. Н. Смоляр, Ю. А. Радченко, Г. А. Нефедова, М. М. Абакумов / Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2014. – № 12. – С. 29–35.
116. Соловьев, Н. А. Экспериментально-клиническое исследование действия мексидола при некоторой патологии. Выяснение возможной локализации и механизма действия / Н.А. Соловьев, В.В. Янецов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Прил. 1.
117. Тарасов, А.Н. Возможности современных эндоскопических технологий в лечении доброкачественных рубцовых стриктур пищевода / А. Н. Тарасов, А. П. Ефремов, Е. Р. Олевская, Е. А. Дерябина // Медицинская наука и образование Урала. – 2010. – Т. 11, № 2-2 (62). – С. 97–99.

118. Теселкин, Ю.О. Оценка антиокислительных свойств плазмы крови и фармакологических препаратов хемилюминесцентным методом / Ю. О. Теселкин, И.В. Бабенкова, О.С.Комаров // Антиоксидантные системы организма при экспериментальной и клинической патологии. – Свердловск, 1987. – С. 57–124.
119. Тыхенова, М.Л. Экспериментальная модель химического ожога пищевода и желудка современными прижигающими агентами / М.Л. Тыхенова, С.В. Цыремпилов, Б.Д. Доржиев, А.Н. Плеханов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 4-2 (86). – С. 193–197.
120. Уразаев, Т.Х. Оценка показателей свертывающей системы крови в остром периоде отравления уксусной кислотой / Т. Х. Уразаев // Острые отравления и эндогенные интоксикации : материалы науч.-практ.конф. – Екатеринбург : УГМА, 1998. – С.123–124.
121. Федоров, А.Г. Результаты эндопротезирования верхних отделов пищеварительного тракта саморасширяющимися стентами / А. Г. Федоров, С. В. Давыдова, А. Е. Климов, Н. В. Лебедев // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2013. – № 9. – С. 34–38.
122. Фейгин, Г.А. Роль прогрессирующего некроза, отражающегося на тяжести и результатах лечения химических ожогов пищевода, и его терапия / Г.А. Фейгин, Р.М. Турсунов, А.А. Тогочуев, А.М. Фейгин // Вестник Кыргызско-Российского славянского университета. – 2017. – Т. 17, № 7. – С. 198–203.
123. Хабриев, Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. –С. 832.
124. Царегородцева, С.А. Мексидол в комплексной терапии посттравматических стрессовых расстройств / С. А. Царегородцева, М. Ю. Бондаренко, Е. В. Вахранева, А. Л. Азин // Бюллетень

экспериментальной биологии и медицины. Приложение 1. Мексидол в клинике и эксперименте. – М., 2006. – С. 148–152.

125. Черноусов, А.Ф. Хирургия пищевода / А.Ф. Черноусов, П.М. Богопольский, Ф.С. Курбанов. – М.: Медицина, 2000.

126. Чеснокова, Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободнорадикального окисления в условиях патологии / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М. Н. Бизенкова // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 6. – С. 21–26.

127. Шашкова, О.Н. Поражение печени при отравлении уксусной кислотой и коррекция структурных нарушений органа комплексом препаратов цитопротекторного, антиоксидантного и стресс-лимитирующего действия / О. Н. Шашкова, С. И. Колесников, В. Г. Изатулин, Ю. В. Зобнин // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2009. – № 5. – С. 91–95.

128. Яковлев, Г.М. Резистентность, стресс, регуляция / Г. М. Яковлев, В. С. Новиков, В. Х. Хавинсон. – Л.: Наука, 1990. – 238с.

129. Якушин, Е. А. Опыт лечения ожогов пищевода / Е.А. Якушин, Л.В. Жаренкова // Экстренная помощь и интенсивная терапия в оториноларингологии. Труды 2 Московского мединститута. – 1980. – Т. 151, № 4. – Р. 83–85.

130. Ямпиров, С.С. Изучение уровня импеданса при лечении биологического объекта, получившего ожог / С.С. Ямпиров, Л.Е. Полякова, М.Л. Воскресенская, А.О. Жигжитов // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2017. – № 5. – С. 41–45.

131. Ястребова, Е.В. Коррекция иммунодефицитного состояния при острых экзогенных отравлениях / Е.В. Ястребова, Е.А. Лужников, Г. В. Булава // Актуальные проблемы клинической токсикологии: материалы городской науч.-практ. конф. – М.: НИИ им. И.В. Склифосовского, 1997. – С. 16–18.

132. Aciksari, K. The effect of Beta-aminopropionitrile and prednisolone on the prevention of fibrosis in alkali esophageal burns: an experimental study /

K. Aciksari, H. T. Yanar, G. Hepgul, D. N. Ozucelik, F. Yanar, O. Agcaoglu, M. Eser, G. Tanriverdi, H. Topacoglu, B. M. Ayvaci, H. Dogan, K. Gunay, C. Ertekin, F. Celikmen // *Gastroenterology Research Practice*. – 2013. – Dec 11.

133. Adjepong, M. The role of antioxidant micronutrients in the rate of recovery of burn patients: a systematic review / M. Adjepong, P. Agbenorku, P. Brown, I. Oduro // *Burns Trauma*. – 2016. – Vol. 3, № 4. – P.18.

134. Altavilla, D. Inhibition of Lipid Peroxidation Restores Impaired Vascular Endothelial Growth Factor Expression and Stimulates Wound Health and Angiogenesis in the Genetically Diabetic Mouse / D. Altavilla, A. Saitta, D. Cucinotta, D. M. Gallana, B. Deuderta, M. Colonna, V. Torre, G. Russo, A. Sardelle, G. Urna, G. M. Campo, V. Cavalaari, G. Squadrito, F. Squadrito // *Diabetes*. – 2001. – № 50. – P. 667–674.

135. Antonacci, A. C. Autologous and allogeneic mixed lymphocyte responses following thermal injury in man: the immunomodulatory effects of interleukin-1, interleukin-2 and a prostaglandin inhibitor WJ-18251 / A. C. Antonacci, S. E. Calvamo, L. E. Reaves // *Clinical Immunology and Immunopathology*. – 1984. – Vol. 30, № 2. – P. 304–320.

136. Bakan, V. A corrosive oesophageal burn model in rats: Double-lumen central venous catheter usage / V. Bakan, H. Ciralik, S. Kartal // *African Journal of Paediatric Surgery*. – 2015. – Vol. 12, № 4. – P. 247–250.

137. Bannister, J. Y. Enhanced production of hydroxyl radicals by the xanthine – xanthine oxidase in the presence of lactoferrin / J. Y. Bannister, W. H. Bannister // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1982. – Vol. 01, № 1. – P. 116–120.

138. Bolton, P. M. The effect of major and minor trauma on lymphocyte kinetics in mice / P. M. Bolton, S. M. Kirov, K. J. Donald // *The Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*. – 1979. – Vol. 57, № 5. – P. 479–492.

139. Bratu, L. M. The Use of Redox Expression and Associated Molecular Damage to Evaluate the Inflammatory Response in Critically Ill Patient with Severe Burn /

L. M. Bratu, A. F. Rogobete, D. Sandesc, O. H. Bedreag, S. Tanasescu, R. Nitu, S. E. Popovici, Z. P. Crainiceanu // *Biochemical Genetics*. – 2016. – Vol. 54, № 6. – P. 753–768.

140. Brisbois, E.J. Optimized polymeric film-based nitric oxide delivery inhibits bacterial growth in a mouse burn wound model/ E. J. Brisbois, J. Bayliss, J. Wu, T. C. Major, C. Xi, S. C. Wang, R. H. Bartlett, H. Handa, M. E. Meyerhoff // *Acta Biomater.* – 2014. – Vol.10, № 10. – P. 4136–4142.

141. Cadenas, E. Biochemistry of oxygen toxicity/ E. Cadenas // *Annual Review of Biochemistry*. – 1989. – Vol. 58. – P.79–110.

142. Cao, Y. Segmented biodegradable esophageal stents in a porcine model: preclinical evaluation of degradation, complications and tissue reactions /Y. Cao, Y. Feng, C. Jiao, R. Shi // *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. – 2017. – Vol. 46(6). – P.649–655.

143. Cevik, M. Preliminary study of efficacy of hyaluronic acid on caustic esophageal burns in an experimental rat model/M. Cevik, T. Demir, C. A. Karadag, M. A. Ketani, H. Celik, D. S. Kaplan, M. E. Boleken // *Journal of Pediatric Surgery*. – 2013. – Vol. 48, № 4. – P. 716–723.

144. Chen, L. The Effect of Continuous Sedation Therapy on Immunomodulation, Plasma Levels of Antioxidants, and Indicators of Tissue Repair in Post-Burn Sepsis Patients / L. Chen, K. Meng, W. Su, Y. Fu // *Cell Biochemistry and Biophysics*. – 2015. – Vol. 73, № 2. – P. 473–478.

145. Csontos, C. Effect of N-acetylcysteine treatment on oxidative stress and inflammation after severe burn/ C. Csontos, B. Rezman, V. Foldi, L. Bogar, L. Drenkovics, E. Röth, G. Weber, J. Lantos // *Burns*. – 2012. – Vol. 38, № 3. – P. 428–437.

146. Deniz, M. An effective antioxidant drug on prevention of the necrosis of zone of stasis: N-acetylcysteine/M. Deniz, H. Borman, T. Seyhan, M. Haberal // *Burns*. – 2013. – Vol. 39, № 2. – P. 320–325.

147. Dos Santos, J.S. Caffeic acid phenethyl ester improves burn healing in rats through anti-inflammatory and antioxidant effects/ J. S. Dos Santos, A. Monte-Alto-

Costa // *Journal of Burn Care & Research*. – 2013. – Vol. 34, № 6. – P. 682–688.

148. Dubick, M.A. Ceruloplasmin and Hypoferremia: Studies in Burn and Non-Burn Trauma Patients /M. A. Dubick, J. L. Barr, C. L. Keen, J. L. Atkins // *Antioxidants (Basel)*. – 2015. – Vol. 6, № 4(1). – P. 153–169.

149. El-Ferjani, R. M. In vivo Assessment of Antioxidant and Wound Healing Improvement of a New Schiff Base Derived Co (II) Complex in Rats / R. M. El-Ferjani, M. Ahmad, S. M. Dhiyaaldeen, F. W. Harun, M. Y. Ibrahim, H. Adam, B. MohdYamin, M. M. Al-Obaidi, R.A.Batran // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 13, № 6.

150. Elmas, O. Effect of oral tamoxifen on the healing of corrosive oesophageal burns in an experimental rat model / O. Elmas, M. Cevik, T. Demir, M. A. Ketani // *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. – 2014. – Vol. 19. – № 3. – P. 351–356.

151. Emre, A. Self-expandable metallic stent application for the management of upper gastrointestinal tract disease / A. Emre, M. Sertkaya, S. Akbulut, O. Erbil, N. Yurttutan, İT. Kale, E. Bülbüloğlu // *Turkish Journal of Surgery*. – 2018. – Vol. 34(2). – P. 101–105.

152. Fang, Q. Astaxanthin protects against early burn-wound progression in rats by attenuating oxidative stress-induced inflammation and mitochondria-related apoptosis / Q. Fang, S. Guo, H. Zhou, R. Han, P. Wu, C. Han // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 27, № 7. – P. 41 440.

153. Firat, C.  $\beta$ -Glucan treatment prevents progressive burn ischaemia in the zone of stasis and improves burn healing: an experimental study in rats / C. Firat, E. Samdanci, S. Erbatur, A. H. Aytekin, M. Ak, M. G. Turtay, Y. K. Coban // *Burns*. – 2013. – Vol. 39, № 1. – P. 105–112.

154. Frišman, E. Red cell antioxidant enzymes and prognostic indexes in patients with burns/E. Frišman, O. Rácz, A. Chmelárová // *Burns*. – 2013. – Vol. 39, № 3. – P. 458–464.

155. Galliano, M. Raxofelast, a hydrophilic vitamin E-like antioxidant, stimulates wound healing in genetically diabetic mice/ M. Galliano, V. Torre, B. Deodata, J. M. Campo, M. Colonna, A. Sturiadle, F. Squadrito, V. Cavailari, D. Cicinotta, B. M. Altavilla // *Surgery*. – 2001. – № 129. – P. 467–477.
156. Hart, J. Inflammation: its role in the healing of acute wounds/ J. Hart // *Journal of Wound Care*. – 2002. – Vol. 11, № 6. – P. 205–209.
157. Higaki-Mori, H. Chemical burn caused by excrement after ingestion of kerosene / H. Higaki-Mori, T. Watanabe, M. Shindo, Y. Yoshida, O. Yamamoto // *European Journal of Dermatology*. – 2011. – Vol. 21, № 3. – P. 443.
158. Katzka, D.A. Caustic injury to the esophagus / D. A. Katzka // *Current Treatment Options in Gastroenterology*. – 2001. – № 4. – P. 59–66.
159. Kilincaslan, H. Beneficial effects of methylene blue on the acute phase of corrosive esophageal burn in rats / H. Kilincaslan, H.O. Karatepe, E. Kilic, I. Aydogdu, A. H. Gedik, V. Olgac, M. Kucukkoc // *European Journal of Pediatric Surgery*. – 2015. – Vol. 25, № 3. – P. 299–304.
160. Kilincaslan, H. Protective effect of dimethyl sulfoxide on stricture formation in corrosive esophageal burns in rats / H. Kilincaslan, H. O. Karatepe, F. Sarac, V. Olgac, A. S. Kemik, A. H. Gedik, O. Uysal // *European Journal of Pediatric Surgery*. – 2014. – Vol. 24, № 5. – P. 403–409.
161. Kilincaslan, H. The effects of dimethyl sulfoxide on the acute phase of experimental acid and alkali corrosive esophageal burns/H. Kilincaslan, H. Ozbey, V. Olgac // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. – 2013. – Vol. 17, № 19. – P. 2571–2577.
162. Ku Çu, K. A. Protective effects of ursodeoxycholic acid in experimental corrosive esophagitis injury in rats/ K. A. Ku Çu, N. Topaloglu, S. Yildirim, M. Tekin, M. Erbas, H. A. Kiraz, H. Erdem, A. Özkan // *Annali Italiani Chirurgia*. – 2017. – № 88. – P. 82–86.

163. McDaniel, D. H. Accelerated laser resurfacing wound-healing using a triad of topical antioxidants / D. H. McDaniel, K. Ash, J. Lord, J. Newman, M. Zukowski // *Dermatologic Surgery*. – 1998. – № 24. – P. 661–664.
164. Miyazaki, H. Burn-Evoked Reactive Oxygen Species Immediately After Injury are Crucial to Restore the Neutrophil Function Against Postburn Infection in Mice/H. Miyazaki, M. Kinoshita, S. Ono, S. Seki, D.Saitoh // *Shock*. – 2015. – Vol. 44, № 3. – P.252–257.
165. Mo, J. Wound healing activities of standardized pomegranate rind extract and its major antioxidant ellagic acid in rat dermal wounds/ J. Mo, P. Panichayupakaranant, N. Kaewnopparat, A. Nitiruangjaras, W.Reanmongkol // *Journal of Natural Medicines*. – 2014. – Vol. 68, № 2. – P.377–386.
166. Murata, S. Esophageal perforation by alkalis – a case report with conservative therapy / S. Murata, Y. Morishita, S. Ohawada // *Japan Pharmacology & Therapeutics*. – 1995. – Vol. 43, № 1. – P.113–117.
167. Nassar, M. A. Time-dependent morphological and biochemical changes following cutaneous thermal burn injury and their modulation by copper nicotinate complex: an animal model/M. A. Nassar, H. M. Eldien, H. S. Tawab, T. H. Saleem, H. M. Omar, A. Y. Nassar, M. R. Hussein // *Ultrastructural Pathology*. – 2012. – Vol. 36, № 5. – P. 343–355.
168. Ng, K. Management of hot tar burn using vitamin e ointment containing petroleum and polyoxyethylene sorbitan / K. Ng, D. Dalen, D. Rhine // *Canadian Journal of Emergency Medicine*. – 2013. – Vol. 15, № 5. – P.307–310.
169. Ozbayoglu, A. Effect of polaprezinc on experimental corrosive esophageal burns in rats / A. Ozbayoglu, K. Sonmez, R. Karabulut, Z. Turkyilmaz, A. Poyraz, O. Gulbahar, A. C. Basaklar // *Diseases of the Esophagus*. – 2017. – Vol. 30, № 11. – P. 1–6.
170. Pielesz, A. Active antioxidants in ex-vivo examination of burn wound healing by means of IR and Raman spectroscopies – Preliminary comparative research/ A. Pielesz, D. Biniś, E. Sarna, R. Bobiński, M. Kaweckı, J. Glik, A. Klama-Baryła, D. Kitala, W. Łabuś, J. Paluch, M. Kraut // *Spectrochimica Acta*

Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2017. – Vol.15. – P. 924–930.

171. Pielesz, A. The role of dimethyl sulfoxide (DMSO) in ex-vivo examination of human skin burn injury treatment / A. Pielesz, A. Gawłowski, D. Biniaś, R. Bobiński, M. Kawecki, A. Klama-Baryła, D. Kitala, W. Łabuś, J. Glik, J. Paluch // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2018. – № 196. – P. 344–352.

172. Prior, W.A. Free radicals in autoxidation and in aging / W.A. Prior // *Free radicals in molecular biology, aging, and disease*. – New York, 1984. – P. 13–42.

173. Raetska, Ya. B. Experimental modeling of 1st and 2nd degrees alkali esophageal burn in immature rats / Ya. B. Raetska, T. V. Ischuk, O. I. Dzhus // *Systematic Biology*. – 2014. – Vol. 6, № 1. – P. 39–44.

174. Raposio, E. Evaluation of plasma oxidative stress, with or without antioxidant supplementation, in superficial partial thickness burn patients: a pilot study / E. Raposio, M. P. Grieco, E. Caleffi // *Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery*. – 2017. – № 2. – P. 1–6.

175. Rehou, S. Antioxidant and Trace Element Supplementation Reduce the Inflammatory Response in Critically Ill Burn Patients / S. Rehou, S. Shahrokhi, R. Natanson, M. Stanojic, M. G. Jeschke // *Journal of Burn Care & Research*. – 2017. – Vol. 39, № 1. – P. 1–9.

176. Rizzo, J.A. Vitamin C in Burn Resuscitation / J. A. Rizzo, M. P. Rowan, I. R. Driscoll, K. K. Chung, B. C. Friedman // *Critical Care Clinics*. – 2016. – Vol. 32, № 4. – P. 539–546.

177. Robustelli, U. Management of corrosive injuries of the upper gastrointestinal tract. Our experience in 58 patients / U. Robustelli, R. Bellotti, F. Scardi, M. Fortunato Armellino, A. De Masi, A. L. Forner, E. Riccio, F. Manguso // *Giornale Di Chirurgia*. – 2011. – Vol. 32, № 4. – P. 88–93.

178. Sarsozen, B. The effects of vitamins E and C on fracture healing in rats / B. Sarsozen, K. Durak, G. Dincer, O. F. Bilgen // *Journal of International Medical Research*. – 2002. – № 30. – P. 309–323.
179. Sato, H. Regulating migration of esophageal stents – management using a Sengstaken-Blakemore tube: A case report and review of literature/ H. Sato, K. Ishida, S. Sasaki, M. Kojika, S. Endo, Y. Inoue, A. Sasaki // *World Journal of Gastroenterology*. – 2018.– Vol. 24(28).– P.3192–3197.
180. Schubert, D. Stents for Postoperative Upper Gastrointestinal Leaks // *Intervention and Therapy Gastrointestinal Endoscopy*. – 2010. – Vol 27. – P. 185–197.
181. Senturk, E. Comparison of mitomycin-c and heparin affects in experimental corrosive esophagitis on rats/ E. Senturk // *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. – 2011. – № 75. – P. 785–789.
182. Shukla, A. Depletion of reduced glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant defense enzymes in healing cutaneous wounds / A. Shukla, A. M. Rasik, G. K. Patnaik // *Free Radical Research*. – 1997. – Vol. 26. – P. 93–101.
183. Silveira, P. C. Iontophoresis with gold nanoparticles improves mitochondrial activity and oxidative stress markers of burn wounds/ P. C. Silveira, M. Venâncio, P. S. Souza, E. G. Victor, F. de Souza Notoya, C. S. Paganini, E. L. Streck, L. da Silva, R. A. Pinho, M. M. Paula // *Materials Science and Engineering: C, Materials for Biological Applications*. – 2014. – Vol. 44. – P. 380–385.
184. Stanizzi, A. Topical use of  $\alpha$ -tocopherol acetate in delayed wound healing/ A. Stanizzi, M. Bottoni, M. Torresetti, A. Campanati, G. Di Benedetto // *International Wound Journal*. – 2015. – Vol. 12, № 6. – P. 746–747.
185. Sun, Y. X. Effect of 200 mEq/L Na<sup>+</sup> hypertonic saline resuscitation on systemic inflammatory response and oxidative stress in severely burned rats / Y. X. Sun, X. S. Wu, Z. Gao, F. Wang, S. Liu, X. L. Chen // *Journal of Surgical Research*. – 2013. – Vol. 185, № 2. – P. 477–484.

186. Wang, C. Z. Topically applied metal chelator reduces thermal injury progression in a rat model of brass comb burn/ C. Z. Wang, A. El Ayadi, J. Goswami, C. C. Finnerty, R. Mifflin, L. Sousse, P. Enkhbaatar, J. Papaconstantinou, D. N. Herndon, N. H. Ansari // *Burns*. – 2015. – Vol. 41, № 8. – P. 1775–1787.

187. Yamamoto, Y.  $\gamma$ -tocopherol nebulization decreases oxidative stress, arginase activity, and collagen deposition after burn and smoke inhalation in the ovine model/ Y. Yamamoto, L. E. Sousse, P. Enkhbaatar, E.R. Kraft, D.J. Deyo, C. L. Wright, A. Taylor, M. G. Traber, R. A. Cox, H. K. Hawkins, S. W. Rehberg, L. D. Traber, D. N. Herndon, D. L. Traber // *Shock*. – 2012. – Vol. 38, № 6. – P. 671–676.

188. Zhan, R. X. Biologic effect of nitric oxide on human epidermal stem cells in vitro / R. X. Zhan, W. Sun, Z. H. Yao, Y. Y. Cui, S. S. Yang, J. L. Tan, J. Y. Zhou, Y. Wang, J. J. Yang, X. R. Zhang, X. H. Hu, J. Wu, G. X. Luo // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. – 2012. – Vol. 28, № 2. – P. 125–129.

189. Zhi, L. The characteristics and correlation between the ischemia-reperfusion and changes of redox status in the early stage of severe burns/ L. Zhi, X. Hu, J. Xu, C. Yu, H. Shao, X. Pan, H. Hu, C. Han // *American Journal of Emergency Medicine*. – 2015. – Vol. 33, № 3. – P. 338–343.

190. Zhou, C. Protective effect of crocetin against burn-induced intestinal injury/ C. Zhou, W. Bai, Q. Chen, Z. Xu, X. Zhu, A. Wen, X. Yang // *Journal of Surgical Research*. – 2015. – Vol. 198, № 1. – P. 99–107.

191. Карвалл, Х. Ф. Ожоги у детей : пер. с англ. / Х. Ф. Карвалл, Д. Х. Парке. – М. : Медицина, 1990. – 198 с.