

На правах рукописи

СОЗИНОВ
ВАСИЛИЙ АРКАДЬЕВИЧ



**ТОКСИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ МОРСКОЙ БУРОЙ
ВОДОРОСЛИ (*Laminaria saccharina*)
ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ЖИВОТНЫХ**

16.00.04 - Ветеринарная фармакология с токсикологией

16.00.05 - Ветеринарная хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Троицк - 2005

Работа выполнена в ФГОУ ВПО "Вятская государственная сельскохозяйственная академия"

Научные консультанты:

доктор ветеринарных наук,
профессор Ермолин
Александр Васильевич;

доктор ветеринарных наук,
профессор Молоканов
Владимир Алексеевич

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук,
профессор Герунова
Людмила Карповна

доктор ветеринарных наук,
Грибовский
Юрий Геннадьевич

доктор ветеринарных наук,
профессор Ермолаев
Валерий Аркадьевич

Ведущая организация: ГУ Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства северо-востока им. Н. В. Рудницкого

Защита состоится "2" марта 2005 г. в "10" часов на заседании диссертационного совета Д. 220. 066. 01 при Уральской государственной академии ветеринарной медицины по адресу: 457100, г. Троицк, Челябинская область, ул. Гагарина, 13, тел.: 2-64-75, 2-53-84

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО Уральской государственной академии ветеринарной медицины.

Автореферат разослан "18" января 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Прокофьева Т. В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Высокая заболеваемость и гибель сельскохозяйственных животных в значительной степени препятствует росту отечественного производства животноводческой продукции. Поэтому улучшение ветеринарного обслуживания животноводства, разработка наиболее эффективных методов и средств лечения широко распространенных заболеваний сельскохозяйственных животных является актуальной научной задачей.

Мировой опыт борьбы с заболеваниями животных показал, что основная роль при этом отводится лекарственной терапии и профилактике, позволяющей значительно снизить наносимый экономический ущерб (М.И. Немченко, 1984; Б.М. Анохин, 1985 и др.). В настоящее время имеет важное значение поиск новых, эффективных, экономически и технически простых способов комплексного лечения животных.

Многие страны, особенно те, что имеют выход к морям, проявляют повышенный интерес к исследованиям водорослей (V.G. Allen et al., 2001; J.H. Fike et al., 2001; A. Jimenez-Escrig et al., 2001; J.L. Montgomery et al., 2001; K.E. Saker et al., 2001 и др.). Большая работа в области альгологических исследований проводится и в нашей стране (А.В. Подкорытова с соавт., 1988; Н.М. Аминина с соавт., 1991; Т.А. Михайлова, 2000; Т.С. Пельтихина, 2000; Л.Ф. Андросова 2000, 2001; С.А. Артюхова с соавт., 2001; Г.А. Белякова, 2001; В.В. Жариков, 2001; Т.В. Мамаева, 2001; А.Л. Кириллов, 2002 и др.).

Результаты этих исследований предполагают более интенсивное использование водорослей, а также изыскание новых полезных морских растений, которые могут иметь важное промышленное значение.

Омывающие нашу страну моря весьма богаты как животным, так и растительным миром. В морях, окружающих территорию Российской Федерации, произрастает большое количество различных видов водорослей. Наибольшие их скопления отмечают в акватории Тихого океана, а также в бассейнах Баренцева и Белого морей (В.Е. Васьковский, 1998; Г. А. Белякова, 2001 и др.).

Водоросли играют колоссальную роль в общем круговороте веществ. В состав морской бурой водоросли входят многие биологические компоненты: белки, углеводы, липиды, органические кислоты, макро- и микроэлементы, витамины, аминокислоты и др. (Г.С. Авхутская, 1993; Н.М. Аминина, 1994; В.Н. Зеленков с соавт., 2000; и др.). Морские водоросли нашли широкое применение в пищевой промышленности при изготовлении лечебно-профилактических продуктов питания (В.К. Гамов с соавт., 1995; Л.И. Пучкова с соавт., 1996, 1999; О.И. Иванова в соавт., 2000; Е.А. Ковалева, 2000; Е.И. Лихачева с соавт., 2001 и др.); в гуманитарной медицине при лечении ряда заболеваний (В.Ю. Ведутов с соавт., 1998; Т.А. Гвозденко с соавт., 1999; и др.), в качестве энтеросорбентов для выведения радионуклеидов (В.П. Корзун с соавт., 1989 и др.), при изготовлении ряда лекарственных препаратов (М.Д. Машковский, 1988; С.Я. Якубович с соавт., 1988 и др.); в животноводстве - в

качестве кормовых добавок к рационам (М.М. Надыров с соавт., 1990; Л.Ф. Андросова, 2000 и др.).

В тоже время, данных о применении препаратов из морской бурой водоросли в ветеринарной медицине, в частности при хирургической патологии, содержится недостаточно.

Экстракты являются побочными продуктами в технологической цепи переработки бурых водорослей и, в основном, не используются (суммарная фракция липидов - до 10 тонн в месяц). В связи с этим научное обоснование возможности применения в ветеринарии, как самих экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina*, так и лекарственных препаратов на их основе является актуальной проблемой.

Цель и задачи исследований. Основной целью наших исследований являлось изучение токсико-фармакологических характеристик экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina*, экспериментального обоснования их применения в ветеринарной практике и создания лекарственных препаратов на их основе.

Указанная цель исследований обусловила необходимость разрешения следующих задач:

1. Изучить физико-химические свойства экстрактов морской бурой водоросли.
2. Определить их острую, хроническую токсичность и кумулятивные свойства.
3. Выявить эмбриотоксическое и тератогенное действие, и их влияние на постнатальное развитие.
4. Изучить местнораздражающие, алергизирующие, регенеративные, репаративные и бактериостатические свойства экстрактов морской бурой водоросли.
5. Дать клиническую оценку терапевтической эффективности экстрактов морской бурой водоросли, и изготовленного на их основе препарата - "Ламинол-М", при хирургической патологии у животных.

Научная новизна работы. Посредством разносторонних исследований впервые проведены токсико-фармакологические исследования экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* и изготовленного на их основе препарата "Ламинол-М", показана их малая токсичность, высокая терапевтическая эффективность при различной хирургической патологии и возможность использования в ветеринарной практике.

Доказано, что изучаемые экстракты оказывают положительное влияние на морфо-биохимический статус крови, активизируют энергетический обмен, метаболические и ферментативные процессы, тем самым проявляя выраженное стимулирующее влияние на регенеративные процессы в ранах, а также противовоспалительное действие.

Изучены фармакологические свойства препарата "Ламинол-М" при лечении ран, ожогов, поражений кожи, пролежней и другой хирургической патологии.

Практическое значение работы. Апробированы и внедрены методы лечения ран и другой хирургической патологии с использованием экстрактов морской бурой водоросли и созданного на их основе препарата "Ламинол-М" в моно-и комплексной терапии.

Разработан пакет нормативно-технической документации на изготовление препарата "Ламинол-М" (ТУ 9321-002-10932064-94), утверждены Временные наставления по его применению в ветеринарной хирургии (Департамент ветеринарии МСХиП РФ, 1994), предложен способ лечения хирургической патологии препаратом "Ламинол-М" (приоритетная справка № 2004119058 от 23.06.04 г. на выдачу патента РФ на изобретение). Выпуск препарата "Ламинол-М" осваивается на базе ЗАО "Научно-производственный холдинг Фармакс".

Кроме того, разработана нормативно-техническая документация на изготовление из экстрактов морской бурой водоросли препарата "Альгацин", проходящего широкие производственные испытания при акушерской патологии у животных, на который также получена приоритетная справка № 2004119059 от 23.06.04 г. на выдачу патента РФ на изобретение.

Результаты диссертационной работы используются в педагогическом процессе (чтении лекций и проведении лабораторных и практических занятий) Вятской государственной сельскохозяйственной академии по курсу общей и частной хирургии (раздел "Лечение ран", "Кожная патология") и фармакологии (раздел "Препараты растительного происхождения"), при подготовке студентов по специальности 310800 - "Ветеринария"; в педагогическом процессе Оренбургского ГАУ по курсу общей и частной хирургии, при подготовке студентов 3-5 курсов (очной и заочной формы обучения).

Некоторые положения, вытекающие из материалов диссертации, включены в книги, учебные пособия и информационные листки:

Кирюткин Г. В., Тимофеев Б. А., Созинов В. А. Справочник ветеринарных препаратов. Киров: Кировская обл. типография, 1997. - 598 с;

Варганов А. И., Созинов В. А., Чупраков В. Г. Лекарственные средства в ветеринарной акушерско-гинекологической практике. Киров: ГИПП "Вятка", 2003. - 560 с. (книга рекомендована УМО высших учебных заведений Российской Федерации по образованию в области зоотехнии и ветеринарии в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по специальности 310800 "Ветеринария" (№ 06-1174 от 19.12.02 г.);

Созинов В. А., Ермолина С. А. Современные лекарственные средства для лечения кошек и собак. М.: АКВАРИУМ ПРИНТ, 2004. - 496 с.

Созинов В. А., Ермолина С. А. Влияние препарата "Ламинол-М" на течение раневого процесса у кроликов // ЦНТИ. - Киров, 1999. - № 80-99. - 2 с.;

Созинов В. А., Ермолина С. А. Влияние препарата "Ламинол-М" на течение раневого процесса у овец // ЦНТИ. - Киров, 1999. - № 58-99 - 2 с;

Созинов В. А., Ермолина С. А. Определение токсичности препарата "Ламинол-М" // ЦНТИ. - Киров, 1999. - № 91-99 - 2 с..

Апробация работы. Результаты исследований доложены и обсуждены на: Международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы ветеринарной медицины, животноводства, товароведения, общественная и подготовки кадров на Южном Урале на рубеже веков", Троицк, 2000 г.; Международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных", Троицк, 2000 г.; I международной конференции "Современные вопросы ветеринарной медицины и биологии", Уфа, 2000 г.; Научно-производственной конференции по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии, Казань, 2001; IV международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных", Троицк, 2001 г.; Научно-практической конференции "Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных", Киров, 2001; Международной конференции ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященной 125-летию Н.А. Сохотинского, Казань, 2001; Всероссийской научно-практической конференции "Диагностика, профилактика и лечение болезней животных", Киров, 2002, 2003, 2004; Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию УГАВМ, "Актуальные вопросы ветеринарной хирургии", Троицк, 2004; XVI Международной научно-практической конференции "Новые фармакологические средства в ветеринарии", Санкт-Петербург, 2004; Сибирской междунар. науч.-практ. конф. "Актуальные вопросы ветеринарной медицины", Новосибирск, 2004.

Публикации. Основные положения диссертационной работы изложены в 38 печатных работах. Данные по препаратам "Ламинол-М" и "Альгацин" вошли в Справочник ветеринарных препаратов (Киров, 1997), в Справочник лекарственных средств в ветеринарной акушерско-гинекологической практике (Киров, 2003) и в книгу "Современные лекарственные средства для лечения кошек и собак" (Москва, 2004).

На защиту выносятся следующие положения:

физико-химические и токсикологические свойства экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina*;
динамика морфологических, биохимических и иммунологических показателей крови при экспериментальных ранах и ожогах у различных животных с использованием изучаемых экстрактов;
влияние экстрактов морской бурой водоросли на регенеративные процессы в ранах;
результаты клинического испытания экстрактов морской бурой водоросли и препарата "Ламинол-М" в моно- и комплексной терапии при хирургической патологии у животных.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 301 странице машинописного текста, иллюстрирована 72 таблицами и 29 диаграммами, состоит из введения, обзора литературы, описания собственных исследований (экспериментальная часть включает 13 разделов), обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений, списка литературы и

приложений. Список литературы включает 343 источника, из них 46 зарубежных авторов.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал и методы исследований

В работе обобщены результаты научных исследований, проведенных в период с 1989 по 2004 гг. Тема диссертационной работы является разделом плана научно-исследовательской работы ФГОУ ВПО Вятская ГСХА (регистрационный № 01.200.201263).

Материалом наших исследований являлись экстракт из морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* на 50%-ном этаноле, липидный концентрат отфильтрованный и полученный на их основе препарат "Ламинол-М"; кровь и сыворотка крови от подопытных животных; отпечатки и биоптанты ран (последние получали путем биопсии поверхности ран). Объектом наших исследований служили лабораторные: белые мыши (345), белые крысы (243), морские свинки (39), кролики (38); домашние - собаки (30), кошки (10) и сельскохозяйственные - лошади и коровы (по 9 голов) животные. Клинические и научно-производственные испытания проведены на 1363 различных животных.

Предварительные исследования по стандартизации экстрактов, изучению динамики морфо-биохимического статуса крови и раневого процесса у различных видов животных проведены в ВГНКИ ветеринарных препаратов, Кировской областной хозрасчетной производственной ветеринарной лаборатории, на кафедре хирургии и акушерства Вятской ГСХА, а также на базе ОПХ "Манихино" Московской области.

Научно-производственные опыты по клиническому испытанию экстрактов и препарата "Ламинол-М" при различной хирургической патологии проведены в Кировском государственном цирке, ветеринарных клиниках Вятской ГСХА, "Айболит", "Аксон", "Ветсервис" (г. Киров) на животных различных видов. В выполнении отдельных фрагментов работы участвовали сотрудники указанных организаций.

При постановке экспериментов использовали стандартные токсикологические, фармакологические, клинические, гематологические, микробиологические, морфологические, иммунологические и другие методы исследований.

В соответствии с поставленными задачами на первом этапе наших исследований были изучены физико-химические свойства экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* по стандартным методикам, в полном соответствии с указаниями, приведенными в части II "Общие методы физико-химического, химического и биологического исследования" Государственной Фармакопеи СССР (10 издание, 1964).

Первичные фармакологические и токсикологические исследования экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* проводили согласно "Требованиям к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ" (1976), "Методическим указаниям по определению

токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве" (1991), а также с учетом имеющихся по этому вопросу других руководств.

Изучение острой токсичности экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* проводили по методу Кербера на белых мышах. Экспериментальное определение LD_{50} экстрактов осуществляли в два этапа: ориентировочного и развернутого. Первый обязательный в любом случае: в нем на небольшом числе животных получили необходимую предварительную информацию о диапазоне доз, близких к среднесмертельной. Разброс доз в этих исследованиях колебался от 0,1 до 1,0 мл. Далее в развернутом опыте испытывали 5 различных доз, близких к LD_0 и LD_{100} . Интервал между испытываемыми дозами был постоянным. Опыты повторяли 3-4 раза.

Выявление кумулятивных свойств экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* проводили на белых крысах. В основу метода их выявления был взят тест субхронической токсичности (Лим с соавт.). В опыте было использовано 38 животных (по 19 на каждый исследуемый экстракт). Наблюдения за животными проводили в течение 28 дней. При этом учитывали: общее состояние животного, характер и степень активности, координацию движений; реакцию животных на ориентировку, тактильные и болевые раздражители; наличие тремора, судорог, параличей и других признаков. Вычисление коэффициента кумуляции проводили по формуле Ю. С. Кагана, В. В. Станкевича (1964).

Изучение хронического токсического действия экстрактов проводили на трех группах белых крыс (90 голов). Каждая группа животных включала 15 самок и 15 самцов. Экстракты животным вводили перорально в дозах 1/10 от LD_{50} ; экстракт на 50%-ном этаноле - 2,1 мл/кг массы тела и липидный концентрат отфильтрованный - 3,0 мл/кг массы тела в 3 мл дистиллированной воды ежедневно в течение 3-х месяцев. Животным контрольной группы перорально вводили дистиллированную воду в том же объеме. Предварительно до введения экстрактов и на фоне их дачи через 30, 60 и 90 дней определяли массу животных, исследовали периферическую кровь (эритроциты, гемоглобин, лейкоциты, лейкограмму). В конце периода наблюдения под легким эфирным наркозом из каждой группы умерщвляли (декапитацией) по 6 животных для проведения патоморфологических исследований. В крови определяли общий белок, содержание глюкозы и изменения активности трансаминаз. Внутренние органы изолировали от окружающих тканей, взвешивали, вычисляли их относительную массу и в дальнейшем подвергали исследованию.

Изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* проводили согласно "Методическим указаниям по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияние их на репродуктивную функцию" (1986). Экстракты вводили самкам белых крыс ежедневно внутривагинально (15 голов) на протяжении всей беременности в дозах 1/10 LD_{50} , а также при ежедневном накожном нанесении (15 голов). Для определения наиболее чувствительных к препаратам сроков беременности учитывали пред- и постимплантационную гибель плодов.

Эмбриотоксическое действие и тератогенную активность изучали на плодах белых крыс. Плоды взвешивали, определяли их кранио-каудальные размеры. После внешнего осмотра половину от числа взятых плодов фиксировали в жидкости Буэна для последующего изучения внутренних органов, остальные заливали 96-градусным спиртом для последующего изучения их скелета. Внутренние органы исследовали по методике Вильсона (Wilson), а изучение скелета осуществляли по методике Доусона (Dawson), модифицированных в институте экспериментальной медицины АМН СССР.

Влияние экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* на постнатальное развитие изучали на родившихся крысятах. Учитывали процент гибели плодов и молодняка в каждой группе, массу животных, а также показатели общего развития - время обрастания шерстью, время открытия ушей и глаз, у самок - открытие вагины.

Изучение раздражающих свойств экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* на слизистую оболочку глаза и на кожу осуществляли по методам В. В. Гацура (1974); Б. И. Любимова, М. И. Миронова (1988) на лабораторных животных (крысы, морские свинки, кролики). Местное раздражающее действие на слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки испытуемых экстрактов при пероральном введении изучали на белых крысах. Ульцерогенность оценивали по числу животных с язвами.

Кожно-резорбтивное действие экстрактов определяли в опытах на кошках по методике П. Т. Кан с соавт. (1971). За день до опыта у кошек в области спины, с обеих сторон от позвоночника, выстригали шерсть на участках кожи 8x8 см. Затем животным первой группы наносили с одной стороны экстракт на 50%-ном этаноле, животным второй группы - 10%-ный масляный концентрат, а с другой стороны животным обеих групп наносили вазелиновое масло (в качестве контроля). Препараты наносили в дозе 1 капли. После чего кошкам внутривенно вводили 1%-ный раствор трипановой сини на физиологическом растворе в дозе 1 мл/кг массы тела животного для учета раздражающего действия соединения. За животными вели наблюдения в течение двух недель, ежедневно отмечали их общее состояние (поведение, нарушение координации движений, наличие судорог, температуру тела, частоту пульса, дыхание) и изменения на коже.

Аллергизирующее действие экстрактов морской бурой водоросли изучали на 30 морских свинках. Белые участки кожного покрова депилировали (удаляли шерстный покров на площади 2x2 см) и в течение 20 суток наносили испытуемый экстракт в дозе 1/10 от LD_{50} . Через 21 сутки на интактный участок противоположной стороны наносили препарат в разрешающей дозе (LD_0 для экстракта на 50%-ном этаноле - 16,2 мл/кг; для липидного концентрата отфильтрованного - 25 мл/кг). Контрольной группе животных применяли вазелиновое масло. В ходе опыта животных взвешивали, измеряли температуру тела, определяли степень покраснения кожи, в крови определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, подсчитывали лейкоцитарную формулу. Для выявления аллергической реакции замедленного типа ставили РСАП в цитратной крови по Флексу. Положительной считали пробу, в которой

агломерация (склеивание) лейкоцитов превышала контрольные данные не менее чем на 30% (Б.И. Любимов, М.И. Миронов, 1988).

Определение бактериостатической активности экстрактов морской бурой водоросли производили методом серийных разведений в жидкой питательной среде (МПБ) и методом разведений в плотной питательной среде (МПА) на культурах: *E. coli* в концентрации (1 млн. микробных тел на 1 см³). Смесь, состоящую из 4 см³ физиологического раствора, 0,5 см³ культуры и 0,5 см³ испытуемого экстракта инкубировали 2 часа в термостате при 22°C. Посев производили на мясопептонный агар с добавлением 1% глюкозы в чашки Петри; мясопептонный бульон и агар в пробирке.

О характере влияния изучаемых экстрактов на организм животных на фоне раневого процесса судили по клиническим показателям, морфо-биохимическому статусу крови и общей неспецифической резистентности.

Клиническое обследование животных проводили по общепринятым в практике ветеринарной медицины схемам.

В цельной крови определяли: количество эритроцитов и лейкоцитов в счетной камере Горяева; содержание гемоглобина - гемоглобин-цианидным методом; величину гематокрита - с использованием микроцентрифуги МЦГ-8; скорость оседания эритроцитов (СОЭ) - микрометодом Панченкова; лейкограмму - после приготовления и окраски мазков азур-эозином по Романовскому-Гимза; показатели кислотно-щелочного состояния крови определяли на газоанализаторе "Азив-2", согласно инструкции к его применению.

В сыворотке крови животных исследовали: содержание общего белка - с помощью рефрактометра РЛ-2; уровень глюкозы - колориметрически по цветной реакции с ортотолуидином; лактата и ЛДГ, по методикам, изложенным в руководствах В. Г. Колб, В. С. Камышников (1982) и И. П. Кондрахин с соавт. (1985).

Состояние факторов неспецифической (гуморальной) резистентности при действии испытуемых экстрактов учитывали по бактерицидной активности сыворотки крови, которую определяли фотоэлектроколориметрическим методом с суточной культурой тест-микроба *E. coli* штамм № 0817 (непатогенный штамм) и по активности лизоцима в сыворотке крови, которую определяли фотоэлектроколориметрическим методом с суточной культурой *Micrococcus lysodecicus* (И.Ф. Храбустовский с соавт., 1974).

Изучение регенеративной и репаративной активности экстрактов проводили на белых беспородных крысах, кроликах, собаках и овцах на моделях лоскутной кожно-мышечной раны и термического ожога. Лоскутные кожно-мышечные раны животным наносили скальпелем или ножницами без соблюдения правил асептики и антисептики, в результате чего раны самостоятельно загрязнялись микрофлорой. Моделирование термических ожогов проводили на белых крысах путем нанесения на кожу спины кипящей воды (100°C), с экспозицией 10 секунд.

В опытах на крысах животным опытных групп ежедневно (до полного заживления) на рану наносили испытуемые экстракты морской бурой

водоросли (0,2 мл), в контроле - раны оставались без обработки. В опытах на собаках и овцах испытуемые экстракты наносили на рану с 3-го дня после нанесения травмы. В контрольных группах животных - раны обрабатывали физиологическим раствором натрия хлорида. В опытах на кроликах в сравнительном аспекте оценивали репаративное действие изучаемых экстрактов с мазью Вишневского.

Планиметрические исследования раневых поверхностей осуществляли по методу Л. Н. Поповой и К. М. Фенчина (1979), а цитологический анализ раневых отпечатков - по общепринятым методам.

Для гистологических исследований проводили биопсию тканей на 1, 3, 5, 10 и 15 сутки течения раневого процесса. Для этого на расстоянии 1 см от углов раны и из ее середины иссекали кусочки тканей и фиксировали их в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Заливку материала проводили через целлоидин. Серийные целлоидиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином (Г.А. Меркулов, 1961).

Клиническое проявление раневого процесса у различных животных и влияние на его течение экстрактов морской бурой водоросли оценивали по общему состоянию животных, местной температуре кожи (в околораневой зоне), а также по гематологическим показателям.

Оценку воздействия экстрактов морской бурой водоросли на метаболические процессы раневой поверхности проводили по показателям АТФ; АДФ; АМФ; ЛДГ; МДГ с помощью набора специальных реагентов в лаборатории стандартизации и сертификации химиотерапевтических препаратов ВГНКИ.

Бактериологическое исследование раневого содержимого проводили путем посева на обычные и специальные питательные среды: мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), солевой агар, среду Эндо, среду Кит-Тароцци. Выделенные культуры микробов изучали по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам по общепринятым методикам.

Видовую принадлежность микробов устанавливали с помощью определителя бактерий Берги (1980).

Лечебную эффективность препарата "Ламинол-М" при хирургической патологии (раны, экземы, дерматиты, ожоги, обморожения и т. д.) испытывали на 1363 различных видах животных. Препарат "Ламинол-М" применяли по различным схемам, в зависимости от вида хирургической патологии и стадии процесса, как отдельно, так и в сочетании с другими препаратами.

Статистическую обработку полученных цифровых данных проводили методом, описанным Г. Ф. Лакиным. Вычисляли: среднюю арифметическую ($\bar{M}$); статистическую ошибку средней арифметической (τ); достоверность разницы между средними арифметическими двух вариационных рядов по критерию достоверности (P) и таблице Стьюдента-Фишера. Разницу между двумя величинами считали достоверной при уровне вероятности $P=0,05$ ($P<0,05$). Итоговые показатели количественных данных вычисляли с помощью макрофункций описательной статистики пакета статистического анализа Microsoft® Excel 2000 на компьютере.

Результаты собственных исследований.

Физико-химические свойства экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria Saccharine*

Испытуемые экстракты являются побочными продуктами в технологической цепи переработки морской бурой водоросли *Laminaria saccharina*, данные по их идентификации отсутствовали. Поэтому на первом этапе был проведен их физико-химический анализ.

Установлено, что они имеют следующие физико-химические показатели:

- удельный вес препарата составляет: у экстракта на 50%-ном этаноле - $0,8674 \pm 0,002$; у липидного концентрата отфильтрованного - $1,0549 \pm 0,003$;
- температура затвердевания: у экстракта на 50%-ном этаноле - $12,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$; у липидного концентрата отфильтрованного - $16,1 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$;
- кислотное число: у экстракта на 50%-ном этаноле - $18,056 \pm 0,58$; у липидного концентрата отфильтрованного - $19,016 \pm 0,58$;
- число омыления: у экстракта на 50%-ном этаноле - $86,546 \pm 0,65$; у липидного концентрата отфильтрованного - $98,561 \pm 0,38$;
- эфирное число: у экстракта на 50%-ном этаноле - $78,356$; у липидного концентрата отфильтрованного - $92,672$;
- йодное число: у экстракта на 50%-ном этаноле - $54,16 \pm 1,06$; у липидного концентрата отфильтрованного - $63,31 \pm 1,18$;
- число Рейхерта-Мейссля: у экстракта на 50%-ном этаноле - $6,86 \pm 0,86$; у липидного концентрата отфильтрованного - $4,38 \pm 0,63$;
- зольность - $0,3-0,5\%$.

Оценка токсичности экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina*

Как известно, все лекарственные средства, рекомендуемые для применения в практике ветеринарной медицины, должны быть детально изучены с точки зрения их безопасности. С учетом этого первичное фармакологическое и токсикологическое исследование экстрактов проводили согласно "Методическим указаниям по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве" (1991).

Острая токсичность

После введения экстрактов в токсических дозах, превышающих LD_{50} (экстракт на 50% этаноле - $0,45$ мл и липидный концентрат отфильтрованный - $0,65$ мл), через 10-15 минут у животных наблюдали: резкое возбуждение (животные бегали по клетке), саливацию, шерстный покров был взъерошен, сердечный ритм учащен, у животных отмечали одышку. Через 20-30 минут возбуждение сменялось угнетением: мыши забивались в угол, переставали двигаться, как бы "застывали" на месте, не реагировали на внешние раздражители, угнетение прогрессировало, и наступала смерть. Гибель мышей от летальных доз экстрактов наступала в первые часы после введения.

Параметры острой токсичности отражены в табл. 1.

1. Параметры острой токсичности экстрактов *Laminaria saccharina*

Показатели	Экстракт на 50% этаноле	Липидный концентрат отфильтрованный
LD ₀ , мл/кг	16,2±1,03	25,0±1,77
LD ₅₀ , мл/кг	21,2±0,41	30,3±1,42
LD ₁₀₀ , мл/кг	27,0±0,71	35,0±2,50
LD ₁₆ , мл/кг	17,9±0,88	26,6±1,79
LD ₈₄ , мл/кг	25,3±0,63	33,4±2,31
Коэффициент варибельности смертельных доз	1,4±0,06	1,3±0,05

Величина максимально переносимой дозы (LD₀), средней токсичной дозы (LD₅₀) и абсолютно смертельной дозы (LD₁₀₀) экстрактов составили соответственно следующие значения: для экстракта на 50% этаноле - LD₀ = 16,2 мл/кг, LD₅₀ = 21,2 мл/кг, LD₁₀₀ = 27,0 мл/кг; для липидного концентрата отфильтрованного - LD₀ = 25,0 мл/кг, LD₅₀ = 30,3 мл/кг, LD₁₀₀ = 35,0 мл/кг.

Коэффициент варибельности, смертельных доз экстрактов для белых мышей при пероральном применении в наших опытах составил: для экстракта на 50% этаноле - 1,4±0,06; для липидного концентрата отфильтрованного - 1,3±0,05.

Согласно принятой классификации экстракты морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* относятся к 3-му классу токсичности.

Кумулятивные свойства

Одним из важнейших этапов токсикологической оценки является выявление кумулятивных свойств фармакологических препаратов, так как процесс кумуляции соединений в организме составляет одну из основ потенциальной опасности хронического отравления. Ежедневное пероральное введение белым мышам в возрастающих дозах экстрактов морской бурой водоросли показало, что минимальной суммарной дозой, при которой отмечали гибель животных, являлась доза: для экстракта морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле - 84,9 мл/кг массы тела и липидного концентрата отфильтрованного - 131,0 мл/кг массы тела. Дальнейшее увеличение суммарной дозы приводило к продолжению гибели белых мышей.

В результате проведенных исследований было отмечено, что гибель белых мышей не носила массовый характер, поскольку за период наблюдения погибло 3 белые мыши в опыте с экстрактом морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле и 2 белые мыши в опыте с липидным концентратом отфильтрованным. Среднесмертельная доза при многократном введении составила: для экстракта морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле - 84,9 мл/кг массы тела и для липидного концентрата отфильтрованного - 131,0 мл/кг массы тела.

Индекс (коэффициент) кумуляции для экстракта морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле составил - 4,0, а для липидного концентрата отфильтрованного - 4,3. Следовательно, экстракты морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* обладают слабыми кумулятивными свойствами.

Хроническая токсичность

Ежедневное пероральное введение белым крысам экстрактов в дозе 1/10 от LD₅₀ в течение 3-х месяцев не приводило к гибели животных. Уже через 1 месяц масса самцов и самок в опытных группах была достоверно больше, чем у контрольных животных. В дальнейшем эта тенденция сохранилась и к концу периода наблюдения, где разница в живой массе самцов и самок по отношению к контрольным животным составила: в опыте с экстрактом морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле - на 20,2 г (P<0,01) и 15,2 г (P<0,01), а в опыте с липидным концентратом отфильтрованным - на 19,2 г (P<0,01) и 16,9 г (P<0,001) соответственно.

К концу периода наблюдения у животных опытных групп наблюдали достоверное увеличение количества эритроцитов и гемоглобина в крови: в опыте с экстрактом морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле - на $0,47 \times 10^{12}/л$ и 12,9 г/л, а с липидным концентратом отфильтрованным - на $0,68 \times 10^{12}/л$ и 12,1 г/л (P<0,05) соответственно по сравнению с контролем.

Содержание лейкоцитов в крови и показатели лейкограммы у опытных и контрольных животных существенно не изменялись и носили недостоверный характер.

Достоверное увеличение количества эритроцитов и содержания в крови гемоглобина под влиянием экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* свидетельствуют об их стимулирующем влиянии на органы кроветворения.

Показатели общего белка и глюкозы в сыворотке крови у опытной группы по сравнению с контролем имели тенденцию к возрастанию, однако эти результаты носили недостоверный характер.

Данные об активности ферментов переаминирования в сыворотке крови отражены на рис. 1.

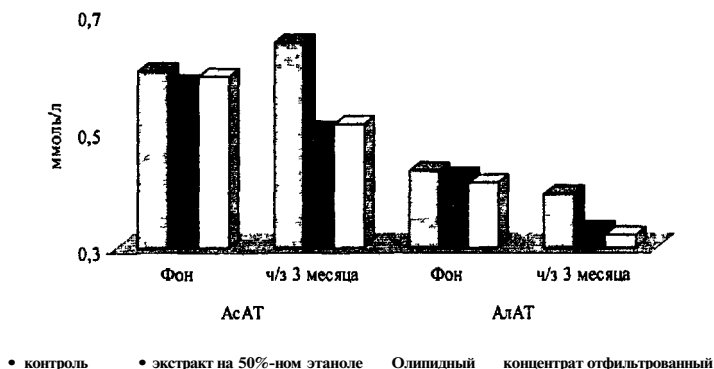


Рис. 1. Активность АсАТ и АлАТ в сыворотке крови крыс

У опытных животных по сравнению с контролем активность как АсАТ, так и АлАТ сыворотки крови за период наблюдения имела более выраженную

тенденцию к их снижению, что свидетельствует о стабилизирующем влиянии экстрактов морской бурой водоросли на клеточные мембраны печеночной, мышечной и других тканей.

Морфометрическими исследованиями установлено достоверное увеличение, как массы тела опытных животных, так и отдельных внутренних органов (сердце, печень, селезенка, почки) по отношению к животным контрольной группы. Патоморфологические исследования показали, что макроструктура внутренних органов при длительном воздействии экстрактов оставалась без заметных изменений и соответствовала макроструктуре внутренних органов животных контрольной группы.

Проведенные исследования дают основания полагать, что длительное применение экстрактов морской бурой водоросли не только не вызывают токсического действия на органы подопытных животных, а напротив, стимулируют их рост и развитие.

Эмбриотоксическое, тератогенное действие и влияние на постнатальное развитие

Исследования по изучению эмбриотоксической и тератогенной активности экстрактов морской бурой водоросли проводили на самках белых крыс (30 голов) при ежедневном внутрижелудочном их введении и нанесении на кожу в дозе 1/10 от LD₅₀ на протяжении всей беременности. Для определения наиболее чувствительных к препаратам сроков беременности учитывали пред- и постимплантационную гибель плодов.

Результаты исследований показали, что репродуктивная функция крыс, как в контрольной, так и в опытных группах (в независимости от сроков введения экстрактов) были практически одинаковы. Следует отметить, что во всех опытных группах наблюдали незначительное снижение общей эмбриональной смертности (от 1,05% до 2,45%), снижение предимплантационной гибели эмбрионов (от 0,79% до 2,10%) и постимплантационной гибели плодов при применении экстракта на 50%-ном этаноле (от 0,40% до 1,84%). Однако эти результаты носили недостоверный характер.

Экстракты морской бурой водоросли практически не изменяли соотношение между самцами и самками и их размерами. У плодов подопытных групп визуальным осмотром не выявлено дефектов развития кожных покровов, аномалий развития лицевого, мозгового отделов черепа и конечностей. У всех плодов топография и конфигурация органов грудной и брюшной полостей были обычными.

При исследовании скелетной системы эмбрионов (всего просмотрено 150 эмбрионов, по 30 от каждой группы) не установлено изменений в характере ossификации черепа, скелета и конечностей, форме и пространственном расположении костей, а также в числе закладок метакарпальных и метатарзальных костей.

При накожном нанесении экстрактов в период всей беременности также не отмечено каких-либо существенных отклонений вышеуказанных показателей.

Таким образом, на основании проведенных экспериментов, можно сделать вывод, что экстракты морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* при внутрижелудочном их введении и накожном применении не оказывают отрицательного влияния на репродуктивную функцию крыс и развитие эмбрионов.

О постнатальном развитии потомства судили по массе (путем взвешивания 1 раз в неделю до пятимесячного возраста) и показателям их физического развития (время обрастания шерстью, открытия ушей и глаз, а у самок - открытие вагины).

Результаты опытов показали, что экстракты морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* не оказывают влияния на течение и продолжительность беременности. У контрольных крыс беременность продолжалась 22-23 дня, а у опытных самок 23 дня.

У животных контрольной и опытных групп не было замечено достоверной разницы в численности помета и массе всего приплода. Гибели животных во время проведения опыта не наблюдали. Клиническое состояние животных опытных групп соответствовало физиологическим нормам. Двигательная активность крысят, матери которых различными путями получали экстракты морской бурой водоросли во время всей беременности, и крысят контрольной группы, не отличались друг от друга. Уши у крысят во всех группах открывались на 2-3 день жизни, с 7 дня крысята начали обрастать шерстью, между 17-18 днями у них открылись глаза, вагина у самок открылась к 58 дню.

Динамика массы тела крысят опытных групп в период постнатального развития не отличалась от таковой у контрольных животных на протяжении всего периода изучения.

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии у экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* токсического влияния на постнатальное развитие.

***Местноераздражающее, кожно-резорбтивное,
аллергизирующее и сенсibiliзирующее действие***

Изучение раздражающего действия экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* проводили на лабораторных животных путем воздействия на конъюнктиву, слизистую оболочку желудка, двенадцатиперстной кишки и на кожу.

Результаты исследований показали, что после нанесения испытуемых экстрактов на слизистую оболочку глаза животные опытных групп были беспокойны (потирали лапками глаза), блефароспазм продолжался 18-20 минут, отмечали незначительное слезотечение и гиперемию век в течение 1 часа. Признаки раздражения слизистой оболочки глаза постепенно проходили в течение 2-х часов.

Таким образом, местное раздражающее действие экстрактов морской бурой водоросли на слизистую глаз при однократном воздействии проявляется в короткий период времени (в течение 1 часа) и выражено слабо.

Пероральное введение экстрактов морской бурой водоросли в дозе 1/10 от максимально переносимой и пятикратно ее превышающей не вызывало изменений состояния слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, что подтверждено после вскрытия макроструктурным исследованием.

При втирании экстрактов морской бурой водоросли лабораторным животным в неповрежденную кожу однократно и многократно в дозе 0,2 мл/кг массы тела животного (опытная группа) и мази Вишневского в той же дозе (контроль) не вызывало изменений состояния кожного покрова и поведения животных.

Результаты изучения кожно-резорбтивного действия на кошках показали, что изучаемые экстракты на протяжении всего периода наблюдений не изменяли цвета опытных участков и не вызывали изменений в общем состоянии животных.

Изучение аллергизирующего и сенсибилизирующего действия изучаемых экстрактов показало, что длительное их нанесение на кожу морским свинкам не вызывало ее покраснения, изменений в содержании в крови эритроцитов и отрицательной реакции специфической агломерации лейкоцитов.

Таким образом, изучаемые экстракты не оказывают раздражающего действия на кожу, как при однократном, так и при многократном их нанесении, не обладают кожно-резорбтивным, аллергизирующим и сенсибилизирующим свойствами.

Фармакологические свойства экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina*

Содержание в экстрактах морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* различных природных компонентов (глицеридов, фосфолипидов, гликолипидов, каротиноидов, флавоноидов, аминокислот, липидов и других компонентов) определяет широкий спектр их лечебного действия. С учетом этого было решено провести испытания по выявлению бактериостатических и репаративных свойств изучаемых экстрактов.

Бактериостатическая эффективность экстрактов

При изучении микрофлоры содержимого экссудата путем посева его взвеси в изотоническом растворе хлорида натрия на чашки Петри с мясопептонным агаром после суточной экспозиции их в термостате (37°C) и последующего бактериологического исследования обнаруживали стафилококки, стрептококки, кишечную палочку, протей, анаэробы и другие микробы.

В опытах с культурой *E. coli* установлено, что изучаемые экстракты задерживают рост и развитие микробов, как в нативном виде, так и в разведении 1:10.

Репаративные свойства экстрактов

Опыты на крысах

При экспериментально воспроизведенных лоскутных ранах и нанесении на раневую поверхность изучаемых экстрактов установлено, что их полное

заживление наступало: при применении экстракта морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле - на $18,2 \pm 0,2$ день, а липидного концентрата отфильтрованного - на $19,2 \pm 0,4$ день (табл. 2).

2. Динамика заживление лоскутных ран у крыс (n=5)

Сроки исследования	Контроль	Экстракты морской бурой водоросли	
		на 50%-ном этаноле	липидный концентрат отфильтрованный
Исходные данные, мм ²	22,60±0,75	22,40±0,99	21,80±0,42
Через 5 дней, мм ²	20,80±0,51	18,52±0,94	18,95±0,65
Индекс Поповой (ΔS), %	1,59	3,46	2,53
Через 10 дней, мм ²	17,86±0,67	12,92±0,77*	15,02±0,86
Индекс Поповой (ΔS), %	1,41	3,02	2,07
Через 15 дней, мм ²	7,87±0,70	3,05±0,55**	3,96±0,40**
Индекс Поповой (ΔS), %	3,73	5,09	4,91

Примечания: * - P<0,05; ** - P<0,01

У контрольных животных (без всякой обработки) заживление происходило в среднем на $27,4 \pm 0,2$ день.

В дальнейшей серии опытов было проведено изучение скорости заживления термических ожогов под влиянием экстрактов морской бурой водоросли (табл. 3).

3. Динамика заживление термических ожогов у крыс (n=5)

Сроки исследования	Контроль	Экстракты морской бурой водоросли	
		на 50%-ном этаноле	липидный концентрат отфильтрованный
Исходные данные, мм ²	21,20±0,95	20,35±0,96	20,71±0,93
Через 5 дней, мм ²	19,87±0,95	16,87±0,99	18,33±0,95
Индекс Поповой (ΔS), %	1,25	3,42	2,30
Через 10 дней, мм ²	16,20±0,73	12,24±0,80	14,10±0,74
Индекс Поповой (ΔS), %	1,85	2,74	2,31
Через 15 дней, мм ²	7,80±0,72	2,74±0,47**	3,85±0,38*
Индекс Поповой (ΔS), %	3,46	5,17	4,85

Примечания: * - P<0,05; ** - P<0,01

Полное заживление термических ожогов в случае применения экстракта морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле наступило на $16,8 \pm 0,2$ день, а липидного концентрата отфильтрованного - на $18,8 \pm 0,4$ день; у контрольных животных заживление ожоговых ран произошло на $28,8 \pm 0,2$ день.

Таким образом, проведенные исследования показали, что экстракты морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* стимулируют репаративную регенерацию кожи при лоскутных ранах и термических ожогах.

Опыты на кроликах и собаках

Для оценки влияния экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* на динамику раневого процесса при лоскутных ранах учитывали общее состояние животного (аппетит, общая температура тела, частота пульса и дыхания), изменения местной температуры окolorаневой поверхности, картину крови (количество эритроцитов, лейкоцитов, содержание гемоглобина,

лейкоцитарная формула), бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови, изменение площади поверхности раны.

Через сутки после нанесения травм у животных подопытных групп наблюдали некоторое угнетение, понижение аппетита, животные щадили больную конечность.

Динамика изменения температурных показателей, как в контрольной группе, так и в опытных группах была аналогична. Через сутки после нанесения травм отмечали повышение, как местной, так и общей температуры, достигавшей максимальных величин к 3 дню наблюдений. После начала применения препаратов (на 3 день после нанесения травм) у животных опытных групп была отмечена тенденция к более быстрому выравниванию температурных показателей с исходными данными (к 10-15 дню наблюдения), в то время в контрольной группе животных они нормализовались только к 20-24 дню.

Аналогичные изменения прослеживались со стороны частоты пульса и дыхания.

В течение 3 дней после нанесения травм у подопытных животных в крови отмечали незначительное снижение содержания гемоглобина и количества эритроцитов. Через трое суток после начала применения изучаемых экстрактов показатели содержания гемоглобина и эритроцитов у опытных животных нормализовались. В тоже время, в контрольных группах (где применяли изотонический раствор натрия хлорида или мазь Вишневского) нормализация этих показателей происходила на 15-20 сутки.

Начиная с первого дня, после повреждения у подопытных животных в крови отмечался выраженный лейкоцитоз, достигавший максимальных величин к третьему дню наблюдений. После применения изучаемых экстрактов отмечена более выраженная тенденция к снижению содержания лейкоцитов в крови. Нормализация их показателей наступала к 10-15 суткам, в то время как в контроле - к 20-24 дню наблюдения.

Анализ лейкограммы показал, что после нанесения травм у животных отмечалась нейтрофилия со сдвигом ядра влево (за счет возрастания процентного содержания юных и палочкоядерных форм). Применение изучаемых экстрактов нормализовало показатели лейкограммы к 10-15 суткам, а в контроле - к 15-20 дню наблюдений.

Клинико-морфологические исследования заживления ран у животных показали, что характерным для них является выраженность регенеративных процессов на всех стадиях раневого процесса и более быстрое заживление ран, обработанных испытуемыми препаратами по сравнению с ранами контрольной группы животных.

Таким образом, изучаемые экстракты оказывают стимулирующее влияние на регенеративные процессы в ране, что клинически проявляется уменьшением площади ее поверхности, сокращением сроков биологического очищения раны и формирования грануляционной ткани.

Для раскрытия механизмов развития раневого процесса у собак были проведены исследования по оценке гуморальных показателей естественной резистентности: бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови.

В контрольной группе животных через сутки после нанесения травм бактерицидная и лизоцимная активность снижалась, достигая минимальных значений к 6 дню наблюдения, а затем постепенно нарастала (рис. 2, 3). В опытных группах уже на третьи сутки после применения изучаемых экстрактов бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови имела выраженную тенденцию к увеличению, достигая исходных показателей к концу периода наблюдений.

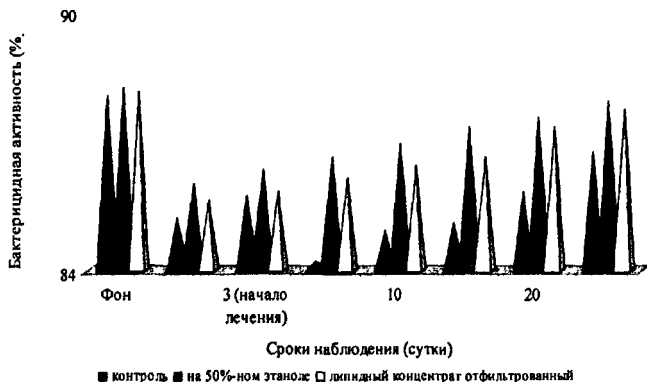


Рис. 2. Бактерицидная активность сыворотки крови собак

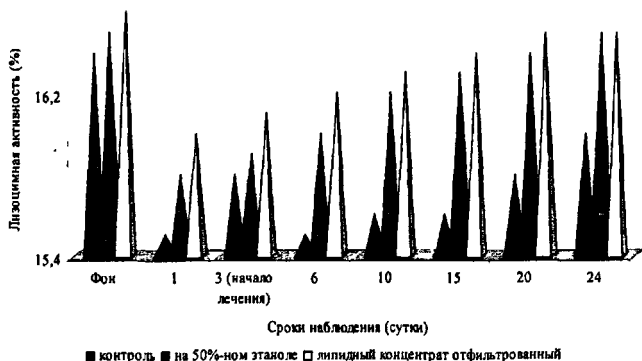


Рис. 3. Лизоцимная активность сыворотки крови собак

Стимулирующее действие репаративных свойств изучаемых экстрактов подтверждают данные исследований мазков-отпечатков. В процессе наблюдения за течением раневого процесса была отмечена зависимость между физико-химическими свойствами раневого экссудата и цитологической картиной. С уменьшением кислой реакции среды наблюдали появление в

раневых отпечатках фагоцитов и макрофагов (у животных контрольной группы с 10-15 дня наблюдения). К 15 суткам наблюдения морфологически дегенеративные и некротические изменения пораженных тканей уменьшались, появлялись признаки активного, но незавершенного фагоцитоза, количество инфильтрата уменьшалось, появлялась незначительная пролиферация крупных одноядерных клеток (полибластов, макрофагов).

У опытных животных, раны которых обрабатывали испытуемыми экстрактами, улучшение цитологической картины происходило на 4-6 дней раньше, чем у животных в контрольной группе. Последнее выражалось уменьшением количества микрофлоры, появлением или увеличением количества полибластов и макрофагов, уменьшением количества дегенерированных клеток, наличием большого количества фагоцитированных микроорганизмов. С 6-х суток наблюдения у животных опытных групп, кроме альтеративных явлений уже возникали процессы пролиферативного характера, что выражалось уменьшением воспалительного отека, а также пролиферацией лимфоцитов и плазматических клеток. В раневых отпечатках отмечали активный фагоцитоз со стороны нейтрофильных лейкоцитов.

При гистологическом исследовании биоптантов установлено, что в ранах, обработанных испытуемыми экстрактами морской бурой водоросли, толщина фибробластического и созревающего слоев грануляционной ткани была больше, чем в ранах животных контрольной группы. В толщине остальных слоев грануляционной ткани опытных и контрольных ран существенной разницы не отмечали. Содержание волокнистых структур в поверхностных и глубоких слоях грануляционной ткани у животных опытных групп было значительно больше, чем в тех же слоях у контрольной группы. Это указывает на то, что формирование грануляционной ткани в ранах, обработанных экстрактами морской бурой водоросли, происходит значительно быстрее, чем в ранах животных контрольной группы.

Таким образом, экстракты морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* обладают выраженными репаративными свойствами, которые выражаются в нормализации сосудистой реакции, купировании гнойного воспаления, усилении процессов пролиферации (ускорении очищения раны) и дифференцировки клеток (ускорении формирования грануляционной ткани), что в конечном результате сокращает сроки эпителизации инфицированных кожно-мышечных ран.

Опыты на овцах

Для раскрытия механизма действия изучаемых экстрактов на динамику метаболических и ферментативных процессов при лоскутных ранах были проведены опыты на овцах.

Известно, что образование продуктов распада, наблюдаемое в ране, нуждается в последующем выведении конечных и промежуточных продуктов обмена из организма. Проявлениями этих нарушений являются повышение вязкости крови, уменьшение объема циркулирующей крови, явления дегидратации. Важными показателями, характеризующими отмеченные

изменения являются концентрация общего белка в сыворотке крови и величина гематокрита.

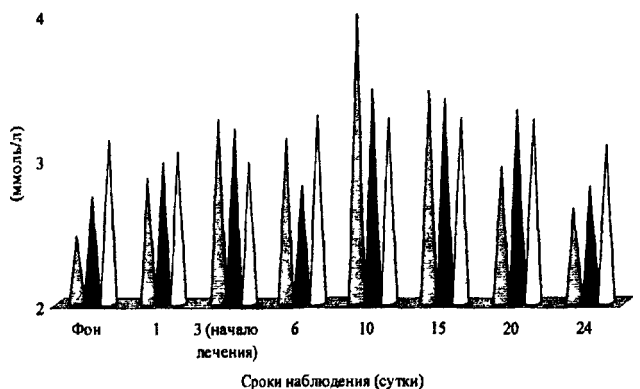
Через сутки после нанесения травм у животных всех групп в крови отмечали незначительное повышение содержания общего белка (на 2,4-4,1 г/л). В дальнейшем показатели содержания общего белка продолжали увеличиваться и к 6 дню наблюдений достигли максимальных значений. В последующие дни шло постепенное снижение содержания общего белка в крови. На 12 день показатели содержания общего белка у животных опытных групп были близки к исходным данным. У животных контрольной группы содержание общего белка достигли исходных показателей лишь на 24-й день наблюдения.

Начиная с первого по 6 день после повреждения, у животных всех групп в крови отмечали нарастание величины гематокрита. В последующие дни величина гематокрита постепенно снижалась, достигая исходных значений к концу периода наблюдений. Однако в опытных группах изменения величины гематокрита была более рельефно выражена.

Анализ полученных результатов позволил выявить следующее. Несмотря на некоторое увеличение уровня белка, величина гематокрита указывает на то, что во всех сериях экспериментов отмечается наличие гипопротемии. Эти явления наиболее резко выражены в крови овец с необработанными ранами, а наименьшие изменения отмечены у овец, раны которых обрабатывали липидным концентратом отфильтрованным.

Таким образом, динамика изменений содержания общего белка и величины гематокрита в крови свидетельствуют о том, что испытываемые препараты способствуют нормализации белкового обмена в организме.

Проведенными исследованиями выявлено, что способ обработки раны оказывает существенное воздействие на динамику содержания глюкозы и молочной кислоты в крови. Во всех сериях экспериментов было отмечено наличие гипергликемии и гиперлактацидемии (рис. 4, 5).



• контроль • экстракт на 50%-ном этаноле • липидный концентрат отфильтрованный

Рис. 4. Динамика содержания глюкозы в сыворотке крови овец

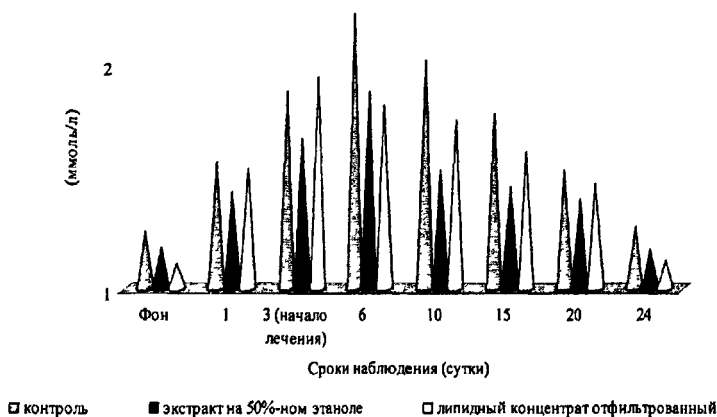


Рис. 5. Динамика содержания молочной кислоты в сыворотке крови овец

Эти явления наиболее резко выражены в крови животных с необработанными ранами. Гипергликемия у животных в этой группе достигает наибольшей величины на 10 сутки, и более чем в 1,6 раза превосходит исходный уровень. Содержание молочной кислоты было максимальным на 5 сутки, и также почти в 2 раза превосходило исходный фон. Применяемые экстракты способствовали нормализации нарушенных звеньев углеводного обмена в более короткие сроки.

Одним из ключевых ферментов, участвующим в катализации окисления молочной кислоты в пируват, является лактатдегидрогеназа. Определение активности этого фермента в крови имеет важное диагностическое значение в установлении степени энергетического обеспечения поврежденных органов и тканей (рис. 6).

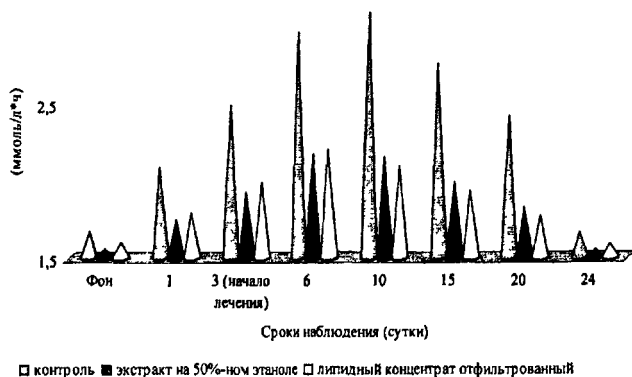


Рис. 6. Активность ЛДГ в сыворотке крови у овец на фоне применения экстрактов морской бурой водоросли

Установлено, что, начиная с первого дня после ранения, у животных во всех группах в крови отмечали увеличение показателей активности ЛДГ, которая была особенно высокой на 6 сутки наблюдения. Применение испытуемых экстрактов приводило к нормализации активности ЛДГ уже через трое суток после начала лечения ими, а восстановление ее показателей до исходных величин наступало на 20 сутки. В то же время, в контрольной группе активность ЛДГ восстанавливалась лишь к концу периода наблюдений (рис. 6).

Кисотно-щелочное равновесие определяется постоянством pH крови и других внеклеточных и внутриклеточных жидкостей организма и имеет важное клиническое значение, так как характеризует состояние окислительно-восстановительных, дыхательных и метаболических процессов, происходящих в организме. Наши эксперименты показали, что наличие раны вызывает значительные изменения кислотно-щелочного равновесия.

Так, на 10 сутки у овец контрольной группы, показатели концентрации водородных ионов снизились с $7,47 \pm 0,06$ до $7,38 \pm 0,03$; показатель буферных оснований - снизился с $42,4 \pm 2,69$ до $23,9 \pm 2,08$ ммоль/л. Одновременно отмечали снижение истинных бикарбонатов, парциального давления кислорода и увеличение парциального давления угольной кислоты. Установленная динамика свидетельствует о существенных изменениях в кислотно-щелочном равновесии и развитии ацидоза в крови.

В опытных группах отмечали более выраженную тенденцию к нормализации показателей, характеризующих кислотно-щелочное равновесие. Полное их восстановление наступало на 20-24 сутки, а в контроле к этому сроку показатели кислотно-щелочного равновесия еще значительно отличались от исходных данных.

В проведенных нами исследованиях нарушения кислотно-щелочного равновесия у животных проявлялись в виде ацидоза, протекавшего без изменения pH крови и носившего компенсированный и метаболический (наблюдался дефицит анионов HCO_3^- , уменьшение парциального давления угольной кислоты, сдвиг буферных оснований происходил в зону отрицательных значений) характер.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что изучаемые экстракты оказывают благоприятное воздействие на протекание метаболических процессов, способствуя улучшению оксигенации мышечной ткани, активизации аэробных реакций, и, следовательно, заживлению ран.

У животных подопытных групп показатели уровня АТФ в исходном состоянии были примерно одинаковыми. После нанесения травмы уровень АТФ имел выраженную тенденцию к уменьшению. Так, у животных контрольной группы к 10 суткам его снижение превышало в 2,6 раза исходные данные. В дальнейшем отмечали постепенное восстановление уровня АТФ. Однако даже к концу периода наблюдений он оставался сниженным на 18,6%. После начала применения испытуемых экстрактов (на 3 сутки) в обеих опытных группах отмечали выраженную динамику нарастания уровня АТФ в мышечной ткани. К концу периода наблюдений показатели уровня АТФ достигали значений близких к исходным данным (рис. 7).

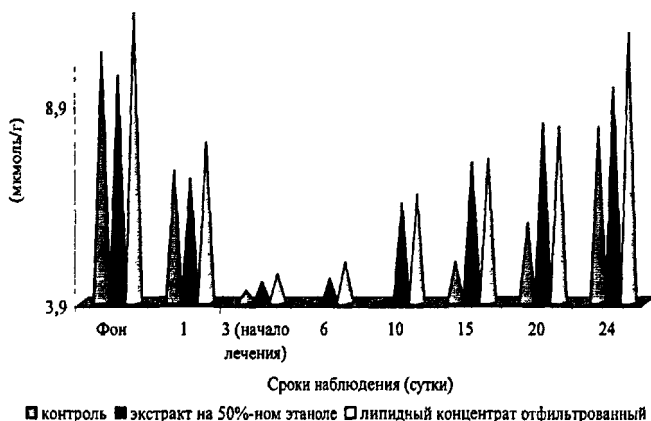


Рис. 7. Динамика содержания АТФ в мышечной ткани ран у овец на фоне применения экстрактов из морской бурой водоросли

Изучение изменения содержания АДФ в мышечной ткани раны показали, что в контрольной группе уже через 3 суток уровень АДФ почти в 1,5 раза превосходил исходный, а к 10 суткам наблюдения он был максимально высоким, за счет снижения содержания АТФ. К концу эксперимента показатели уровня АДФ были близки к исходным данным.

После начала применения испытуемых экстрактов в обеих опытных группах отмечали тенденцию снижения уровня АДФ в мышечной ткани. Так, после применения экстракта на 50%-ном этаноле, показатель уровня АДФ по сравнению с контролем снизился на 23,2%, а липидного концентрата отфильтрованного - на 39,5%. К концу опыта показатели АДФ у животных опытных групп несколько превышали данные контрольных животных.

Исследование уровня АМФ (монофосфата) дополняет картину динамики изменения АТФ и АДФ, и вполне согласуется с нею.

Так, у животных контрольной группы в мышечной ткани, начиная с 3 дня наблюдения, отмечали достоверное увеличение уровня АМФ. Наиболее высокий его уровень был на 10 сутки (в 3,4 раза от исходных данных). К концу периода наблюдений уровень АМФ у животных контрольной группы еще не достигал исходных показателей, оставаясь выше на 20%.

После начала применения испытуемых экстрактов в обеих опытных группах отмечали снижение уровня АМФ в мышечной ткани, который к 15-20 суткам достигал исходных данных.

Следовательно, применение испытуемых экстрактов уменьшает период, за счет которого мышечная ткань существует в основном за счет аэробных процессов, стимулирует возрастание оксигенации мышечной ткани, что выражается в усилении процессов окислительного фосфорилирования.

Такая направленность метаболических процессов подтверждается изучением активности лактатдегидрогеназы - фермента гликолиза и активности малатдегидрогеназы - фермента цикла Кребса (трикарбоновых кислот).

После нанесения травм в мышечной ткани ран происходит увеличение активности ЛДГ. Наибольшее возрастание ее активности наблюдали в мышечной ткани раневой поверхности у животных контрольной группы на 10 сутки (в 11,76 раза). В дальнейшем отмечали постепенную нормализацию показателей активности ЛДГ, но до конца периода наблюдения ее активность в ранах животных этой группы была выше уровня исходных показателей (на 53,1%).

В опытных группах активность этого гликолитического фермента в мышечной ткани претерпевала аналогичные с контрольной группой животных изменения, однако они носили менее выраженный характер, и к концу периода наблюдения ее активность приблизилась к исходным данным.

После нанесения травм в мышечной ткани ран происходит снижение активности малатдегидрогеназы. Наибольшее снижение активности МДГ наблюдали в мышечной ткани раневой поверхности у животных контрольной группы на 10 сутки (на 62,2%). В дальнейшем отмечали постепенное увеличение показателей ее активности, но до конца периода наблюдения она была ниже уровня исходных величин (на 25,6%).

В опытных группах животных активность этого фермента цикла Кребса в мышечной ткани претерпевала аналогичные с контрольной группой животных изменения, но они носили менее выраженный характер. К концу периода наблюдения снижение активности МДГ в ранах животных опытных групп составляла 7-14,7%.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что испытуемые экстракты из морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* обладают выраженным стимулирующим действием на энергетические и метаболические процессы в ране.

Результаты производственных испытаний экстрактов морской бурой водоросли и препарата "Ламинол-М"

Для производственных испытаний был предложен препарат на основе морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* - "Ламинол-М", представляющий собой суммарную фракцию липидов и других жирорастворимых веществ. Препарат "Ламинол-М" выпускается согласно ТУ 9321-002-10932064-94.

Результаты проведенных выше исследований нашли свое подтверждение при клинических испытаниях на животных с различной хирургической патологией.

При оказании первой помощи раненому животному, свежую рану и ее окружность обрабатывали экстрактом морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле и накладывали давящую повязку. Лечение свежих ран в первой и второй фазах раневого процесса осуществляли на фоне патогенетической терапии с последующим применением экстракта на 50%-ном этаноле и

препарата "Ламинол-М". При осложнении ран инфекцией и значительной гнойно-резорбтивной лихорадке дополнительно применяли комплекс противосептической терапии.

Лечение ран осуществляли по закрытому и открытому методу. Закрытый метод лечения ран заключался в наложении защитных отсасывающих асептических или антисептических повязок. Показанием к его применению являлись операционные (242 случая), свежие случайные раны (36 случаев), а также гнойные раны, подвергнутые антисептической обработке (60 случаев). При асептических операционных ранах или после полного иссечения свежих ран накладывали клеевую защитную или бинтовую антисептическую повязку. В других случаях, когда рана заживала с нагноением, накладывали на рану стерильные марлевые салфетки (пропитанные экстрактом морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле) и вату. Такая повязка, активно всасывала экссудат, создавала для раны покой и предупреждала развитие гнойно-резорбтивной лихорадки. Ежедневно перевязывали раны только в случаях прогрессирующего развития раневой инфекции, при обильном отделении гноя. Во избежание мацерации кожи окружность раны смазывали препаратом "Ламинол-М".

При открытом методе лечения ран швы и повязки не применяли (30 случаев). Прямым показанием к его применению являлись раны в первой фазе раневого процесса с признаками анаэробной инфекции, а во второй фазе - раны, заполненные гидремичными грануляциями.

Лечение ран с применением дренажей (18 случаев) применяли в первой фазе при глубоких свежих, воспалившихся и осложненных инфекцией ранах, содержащих значительное количество мертвых тканей, а также при затрудненном оттоке раневого экссудата из ниш и карманов. Для дренирования использовали марлевые дренажи, которые пропитывали препаратом "Ламинол-М". Вводили и меняли дренажи при соблюдении правил асептики и антисептики. По мере выполнения ниш, карманов и уменьшения выделения гноя дренирование прекращали.

Бездренажное лечение ран применяли при неглубоких ранах, а при глубоких - после создания хорошего стока гнойному экссудату путем вскрытия карманов и рассечения перемычек, затрудняющих ему свободный выход.

Лечение асептических операционных ран (242 случая) сводилось к наложению швов и клеевой антисептической повязки, пропитанной препаратом "Ламинол-М".

Лечение ран, заживающих под струпом (12 случаев). Образованию струпа способствовала обработка ран экстрактами на 50%-ном этаноле. Струп сохраняли до конца заживления. Чтобы струп не растрескивался и был достаточно эластичным, его смазывали препаратом "Ламинол-М".

Лечение гнойных ран в первой фазе (62 случая) было комплексным, направленным, прежде всего на профилактику инфекции и освобождение раны от мертвых тканей путем сочетанного применения химической, физической и биологической антисептики до и после хирургической обработки ран. При этом устраняли ниши, карманы, удаляли мертвые ткани по типу частичного

иссечения. При необходимости рану рассекали до нужных размеров. После иссечения и остановки кровотечения рану дренировали (применяли дренажи с препаратом "Ламинол-М" или экстрактом на 50%-ном этаноле). Экстракт морской бурой водоросли использовали до появления грануляций. В целях профилактики инфекции внутримышечно вводили антибиотики. Во второй фазе раневого процесса применяли препарат "Ламинол-М".

Гнойную рану обрабатывали с обязательным проведением местной и общей антибиотико- и сульфаниламидотерапии и другими лечебными процедурами, входящими в противосептическую и симптоматическую терапию.

При лечении длительно незаживающих ран (12 случаев) в первой фазе раневого процесса применяли противомикробную и патогенетическую терапию, проводили в полном объеме хирургическую обработку, дренирование с экстрактом морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле и препаратом "Ламинол-М". Лечение во второй фазе раневого процесса было комплексным, направленным на устранение причин, обязательным было использование новокаиновой терапии. При наличии гидремичных грануляций применяли открытый метод лечения экстрактом на 50%-ном этаноле. При атонических грануляциях на рану накладывали повязку с препаратом "Ламинол-М". Стимуляция эпителизации осуществлялась за счет активизации клеток базального слоя эпидермиса.

Установлено, что использованный нами препарат "Ламинол-М" обладает ярко выраженными репаративными свойствами, которые проявляются в ускорении очищения раны и ускорении формирования грануляционной ткани. Особенно ярко репаративные свойства препарата "Ламинол-М" были выражены при использовании его на свежих ранах после хирургического вмешательства (242 случая). Раны, как правило, заживали по первичному натяжению, без нагноения, с быстрым, надежным образованием кооптации и сращением краев раны, которые заживали в среднем к 6-8 дню после операции.

В лечебно-диагностическом центре "Ветсервис" испытали лечебную эффективность экстракта на 50%-ном этаноле и препарата "Ламинол-М" на двух собаках с пролежнями. У одной пролежни наблюдались в области правого маклока, а у другой - в области правого скакательного сустава. При лечении пролежней применяли короткий новокаиновый блок с антибиотиками, а кожу пораженного участка обрабатывали 1-2 раза в день экстрактом на 50%-ном этаноле, а затем препаратом "Ламинол-М". В результате применения данной схемы лечения заживление наступало уже к 10-15 дню. Шерсть на пораженных участках восстанавливалась к 21-24 дню.

За период клинических испытаний было пролечено 296 животных с различными формами экземы. Лечение проводили с учетом стадийности развития, клинического проявления экзематозного процесса и состояния больного животного, которое было комплексным и включало средства общего и местного воздействия. Для проведения местных лечебных процедур с экзематозной зоны и вокруг нее кожу очищали, волосы выстригали, а поверхность обрабатывали экстрактом на 50%-ном этаноле. В последующем на

фоне короткой новокаиновой блокады использовали экстракт на 50%-ном этаноле и препарат "Ламинол-М" в зависимости от стадийности и тяжести экзематозного процесса.

На различных стадиях экземы (эритемы, образования пузырьков, пустул, везикул и мокнущего экзематозного процесса) применяли экстракт на 50%-ном этаноле, обладающим уплотняющим и ограничивающим экссудацию свойством. В стадии уменьшения экссудативных явлений, а также в хронических случаях использовали препарат "Ламинол-М".

, Во всех случаях примените экстракта морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле и препарата "Ламинол-М" оказывало положительное действие, что выражалось в купировании острого процесса (в течение 7-10 дней) и полном восстановлении кожных покровов (через 15-21 день после начала лечения).

В 34 случаях были диагностированы различные дерматиты: травматический (12 случаев), околораневой (9 случаев), паразитарный (чесотка - 6 случаев), инфекционный (трихофития - 3 случая; гнойный - 4 случая).

При лечении остро протекающих асептических травматических и околораневых дерматитов зону поражения обрабатывали экстрактом на 50%-ном этаноле, а затем применяли защитные повязки с препаратом "Ламинол-М". При хроническом асептическом травматическом дерматите также применяли препарат "Ламинол-М" и новокаиновые блокады. При лечении паразитарного дерматита животным назначали соответствующее противопаразитарное лечение, после чего местно зону поражения обрабатывали экстрактом на 50%-ном этаноле, и применяли защитные повязки с препаратом "Ламинол-М". При гнойном дерматите и трихофитии лечение было комплексным. После удаления волосяного покрова область поражения тщательно мыли, затем обрабатывали экстрактом на 50%-ном этаноле. Такие обработки повторяли 2-3 раза через день, а затем применяли повязки с препаратом "Ламинол-М". Общее лечение включало охранительную и противомикробную терапию, а также специфическое лечение.

Во всех случаях лечения дерматитов на фоне местного применения экстракта на 50%-ном этаноле и препарата "Ламинол-М" заболевание обычно протекало без особых осложнений, и через 10-15 дней кожный покров полностью восстанавливался, а волосной - через 18-23 дня.

При лечении термических ожогов у собак (ожог первой и второй степени - по 2 случая), область ожога и прилегающие к ней участки здоровой кожи тщательно очищали от механических загрязнений, кожу по окружности ожога и всю его поверхность обрабатывали экстрактом на 50%-ном этаноле. На обнаженных от пузырей местах образовывалась плотная корка, которая создавала покой ране, предохраняла ее от вторичной инфекции и давала благоприятное течение эпителизации. По завершении секвестрации омертвевших тканей назначали препарат "Ламинол-М". Тщательная обработка обожженной поверхности при ожогах второй степени обеспечивала первичное заживление и исключала дополнительное лечение. Выздоровление животных наступало через 20-21 день от начала лечения.

При лечении отморожений (5 случаев), после первичного туалета пораженной поверхности кожи накладывали повязки с экстрактом на 50%-ном этаноле. После удаления пузырей и некротизированных тканей лечение было направлено на создание условий развития грануляции и ускорения эпителизации. Хорошие результаты в этих случаях достигали наложением на пораженные участки повязки с препаратом "Ламинол-М". Выздоровление животных в результате лечения их экстрактом на 50%-ном этаноле и препаратом "Ламинол-М" наступало через 20-24 дня.

При лечении папиллом, располагающихся на коже (26 случаев) и слизистых оболочках (3 случая), применяли препарат "Ламинол-М", путем аппликации ежедневно и через день. В результате наблюдали самопроизвольное отпадение папиллом через 7-10 дней.

Заболевания кожи ушной раковины и наружного слухового прохода диагностировали у 306 животных, из них: с картиной острого воспаления - у 289, а хронического - 17 животных.

При лечении отитов выстригали волосы, наружный слуховой проход и ушную раковину тщательно очищали от загрязнений и экссудата. Воспаленную кожу смазывали препаратом "Ламинол-М". Язвенные поверхности смазывали экстрактом морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле. Кроме этого применяли короткий новокаиновый блок ушных нервов с антибиотиками (через сутки).

На фоне применения новокаиновой терапии с антибиотиками использование экстракта на 50%-ном этаноле и препарата "Ламинол-М" давали положительный результат. В случаях острого воспаления процесс купировался уже на 5-7 день от начала лечения, в случаях хронического воспаления - в течение 10-14 дней.

При лечении травматических миозитов (25 случаев) применяли массаж и повязки с экстрактом на 50%-ном этаноле. При лечении гнойного миозита (6 случаев) местно широко, вдоль мышцы, вскрывали абсцессы и флегмонозные очаги (экономно иссекали некротизированные ткани, не затрагивая демаркационный вал), а затем дренировали вскрытые полости марлей, пропитанной препаратом "Ламинол-М", одновременно назначали антибиотикотерапию. Применение экстракта на 50%-ном этаноле и препарата "Ламинол-М" позволило добиться выздоровления животных к 15-21 дню.

При лечении ушибов суставов (12 случаев) в первые сутки применяли давящую повязку и холод на больной сустав, затем назначали массаж и компрессы с экстрактом на 50%-ном этаноле. При лечении ушибов с явлением гемартроза с целью профилактики развития инфекции, снятия болевой реакции применяли новокаиновые блокады, внутримышечно назначали антибиотики в течение нескольких дней в зависимости от состояния больного. Выздоровление животных на фоне применения экстракта на 50%-ном этаноле наступало уже через 7-10 дней после начала лечения.

При растяжении суставов (8 случаев) животным на пораженный сустав накладывали давящую повязку и холодные компрессы в течение суток, применяли новокаиновую блокаду в месте максимальной болезненности (10-15

мл 1%-ного раствора новокаина). На 3-4-й день назначали согревающие компрессы с экстрактом на 50%-ном этаноле, массаж, втирание препарата "Ламинол-М" с последующим теплым укутыванием. Через 2 недели животное обычно выздоравливало.

Ранения суставов диагностировали у 5 животных. При свежих проникающих ранениях производили механическую очистку кожи вокруг раны и накладывали марлевую повязку с экстрактом на 50%-ном этаноле. Если припухлость тканей в области раны не увеличивалась, повязка не промокала, то ее снимали только на 6-7 сутки. При ухудшении общего состояния повязку меняли через 2-3 суток и проводили антибиотикотерапию.

При свежей широко зияющей ране вокруг нее удаляли волосы, рану обрабатывали экстрактом на 50%-ном этаноле, проводили инфльтрационную или проводниковую анестезию соответствующим раствором новокаина, тщательно осматривали рану, удаляли разможенные ткани, промывали сустав антисептическими растворами. Рану обильно припудривали антибиотиками или другими антисептическими порошками и на капсулу и кожу накладывали швы из кетгута. В полость сустава вводили гидрокортизон, антибиотики с 1%-ным раствором новокаина. Сустав покрывали салфеткой, смоченной экстрактом морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле и накладывали марлевую повязку. Для профилактики нагноения в суставе в течение первых 2-3 дней применяли антибиотикотерапию, новокаиновые блокады. Применение экстракта на 50%-ном этаноле и препарата "Ламинол-М" позволяло добиваться выздоровления животных через 10-15 дней с момента начала лечения.

При лечении острого серозного синовита (12 случаев) на сустав накладывали на 1-2 суток давящую повязку и холод, после чего выполняли циркулярную новокаиновую блокаду. При скоплении большого количества экссудата с соблюдением правил асептики производили пункцию сустава, отсасывали экссудат, а в полость вводили антибиотики на 1%-ном растворе новокаина. Для лучшего рассасывания экссудата применяли согревающие компрессы с экстрактом на 50%-ном этаноле, массаж с препаратом "Ламинол-М".

В хронических случаях (8 животных) кроме перечисленного лечения дополнительно в полость сустава вводили лидазу на 0,5%-ном растворе новокаина с гидрокортизоном через 3-5 дней. Выздоровление животных на фоне выбранной тактики лечения наступало: в случаях острого серозного синовита - за 7-10 дней, а хронического - через 10-17 дней.

При лечении гнойных синовитов и артритов (9 случаев) проводили комплексное лечение (при котором сочетали местные и общие лечебные мероприятия). Местное лечение включало тщательную ревизию и хирургическую обработку раны, пункцию сустава с эвакуацией гнойного экссудата и промыванием полости сустава антисептическими растворами с последующим введением антибиотиков на 1%-ном растворе новокаина. Лечебные пункции и промывание сустава проводили ежедневно до прекращения образования и скопления воспалительного экссудата. Одновременно проводили противосептическую терапию, циркулярные

новокаиновые блокады с антибиотиками. Раненую поверхность и полость раны обильно припудривали антисептическими порошками, дренировали и накладывали всасывающую повязку с экстрактом на 50%-ном этаноле. Эти лечебные манипуляции проводили ежедневно до появления грануляций. Затем применяли дренажи, пропитанные препаратом "Ламинол-М". С улучшением процесса и общего состояния животному назначали: массаж, повязки с препаратом "Ламинол-М". Применение экстракта на 50%-ном этаноле и препарата "Ламинол-М" позволяло добиться выздоровления животных к 10-14 дню.

Ревматический артрит (20 случаев). Лечение ревматических артритов было комплексным. Животным предоставляли сбалансированные по питательным веществам корма. Внутривенно вводили 0,5%-ный раствор новокаина в дозе 1 мл/кг массы тела. Внутрь назначали препараты салициловой кислоты. На область пораженных суставов применяли препарат "Ламинол-М" с последующим теплым укутыванием сустава. Улучшение состояния животного наступало уже через 5-7 дней от начала лечения.

При лечении острого серозного тендовагинита (12 случаев) в первые сутки применяли холод и давящую повязку. При накоплении в полости сухожильного влагалища серозного экссудата производили пункцию, отсасывали экссудат и в полость вводили 10-20 мл 1%-ного раствора новокаина с антибиотиками и гидрокортизоном. Затем применяли согревающие компрессы с экстрактом на 50%-ном этаноле, в последующем в область сухожильного влагалища втирали препарат "Ламинол-М". Применяемое лечение позволило добиться полного выздоровления животного через 10-12 дней.

При лечении гнойных тендовагинитов (9 случаев) в начале делали пункцию сухожильного влагалища, отсасывали гнойный экссудат и промывали полость раствором фурацилина и вводили в нее 500-600 тыс. ЕД пенициллина на 0,5%-ном растворе новокаина. На область поражения накладывали всасывающую повязку с экстрактом на 50%-ном этаноле. Параллельно с этим внутримышечно назначали антибиотики. Указанное лечение проводили в течение 3-5 дней. В результате такого лечения воспалительный процесс в сухожильном влагалище прекратился и животное через 14 дней выздоровело.

При лечении острых асептических бурситов (15 случаев) в первые сутки на область поражения применяли холод и давящую повязку, затем на 3 сутки тепловые процедуры - компрессы с экстрактом на 50%-ном этаноле. Животные выздоравливали через 7-10 дней. При лечении гнойных процессов (13 случаев) вскрывали полость бурсы, удаляли гнойный экссудат введением антисептических жидкостей. После этого в полость бурсы вводили марлевый дренаж, пропитанный препаратом "Ламинол-М", и накладывали отсасывающую повязку. Дренаж меняли через 3-4 дня. Одновременно назначали общую антибиотикотерапию. Указанный метод лечения позволил добиться выздоровления животных спустя 16-20 дней.

У собак с воспалением параанальных желез (72 случая) промывали гнойную полость антисептическими растворами, после чего в нее вводили экстракт на 50%-ном этаноле. Процедуры повторяли ежедневно, наружно

назначали препарат "Ламинол-М". Добавочно применяли короткий новокаиновый блок с антибиотиками. Выбранный способ лечения позволял купировать воспалительный процесс в течение 7-15 дней.

При наличии alopecий у животных (93 случая) втирание препарата "Ламинол-М" в пораженный участок кожи оказывало ростостимулирующее влияние на волосяной покров. Шерсть у животных начинала заметно отрастать в среднем уже через 3 дня после начала применения препарата.

Таким образом, результаты клинических испытаний позволяют рекомендовать препарат "Ламинол-М" для широкого внедрения в ветеринарную практику при различной хирургической патологии.

ВЫВОДЫ

1. Физико-химические показатели экстракта морской бурой водоросли *Laminaria Saccharina* на 50%-ном этаноле имеют следующие параметры: удельный вес - $0,8674 \pm 0,002$; температура затвердевания - $12,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$; кислотное число - $18,056 \pm 0,58$; число омыления - $86,546 \pm 0,65$; эфирное число - $78,356$; йодное число - $54,16 \pm 1,06$; число Рейхерта-Мейссля - $6,86 \pm 0,86$; зольность - $0,3-0,5\%$, а липидного концентрата отфильтрованного - $1,0549 \pm 0,003$; $16,1 \pm 0,4$; $19,01610,58$; $98,651 \pm 0,38$; $92,672$; $63,3111,18$; $4,3810,63$; $0,3-0,5$ соответственно.

2. Величина LD_{50} экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria Saccharina* на 50%-ном этаноле при однократном пероральном введении составила - $0,20$ мл/кг, липидного концентрата отфильтрованного - $0,30$ мл/кг, коэффициент вариабельности смертельных доз: $1,41 \pm 0,06$ и $1,26 \pm 0,05$ соответственно. Согласно ГОСТ 12.1.007-76, указанные экстракты морской бурой водоросли *Laminaria Saccharina* относятся к 3-му классу токсичности.

3. При многократном пероральном введении LD_{50} для экстракта морской бурой водоросли на 50%-ном этаноле равна $84,89$ мл/кг, а для липидного концентрата отфильтрованного - $131,0$ мл/кг массы тела. Индекс кумуляции составил $4,01$ и $4,32$ соответственно, что указывает на слабые кумулятивные свойства экстрактов.

4. Длительное применение указанных экстрактов как при внутреннем введении, так и при накожном нанесении не вызывало признаков эмбриотоксичности, тератогенности и отрицательного влияния на постнатальное развитие плодов.

5. Экстракты морской бурой водоросли *Laminaria Saccharina* как при однократном, так и многократном воздействии на слизистые оболочки и кожу не оказывали местное раздражающее, ulcerогенное и аллергическое действие.

6. Изучаемые экстракты обладают бактериостатической эффективностью, задерживая рост и развитие микроорганизмов, как в нативном виде, так и в разведении $1:10$.

7. Метаболические процессы при экспериментально созданных ранах на фоне применения изучаемых экстрактов характеризовались: нормализацией содержания в крови общего белка, глюкозы, молочной кислоты, активности лактатдегидрогеназы, показателей буферных свойств, снижением величины гематокрита, что клинически проявлялось выраженным противовоспалительным и противоотечным действиями.

8. Изучаемые экстракты оказывают стимулирующее действие на неспецифические факторы гуморального звена иммунитета (повышают бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови).

9. Биохимические процессы в ранах характеризовались: нормализацией содержания макроэргических соединений (АТФ, АДФ, АМФ), гликолитических процессов (активность лактат- и малатдегидрогеназы).

10. Экстракты морской бурой водоросли *Laminaria Saccharina* стимулируют репаративную регенерацию кожи при лоскутных ранах и термических ожогах за счет нормализации сосудистой реакции, усиления процессов пролиферации, дифференцировки клеток и сокращения сроков эпителизации кожно-мышечных ран.

11. Применение препарата "Ламинол-М", полученного из изучаемых экстрактов, в форме раствора или мази в отдельности или в комплексном лечении различной хирургической патологии оказывало выраженный терапевтический эффект, сопровождавшийся сокращением сроков лечения.

12. Огромная сырьевая база, ее доступность, экологическая безопасность и высокая фармакологическая активность экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* позволяют рекомендовать их к применению с лечебной и профилактической целями в ветеринарной практике, а также для создания других лекарственных форм.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Экстракты морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* и созданный на их основе препарат "Ламинол-М", рекомендуются к применению, согласно Временного наставления, утвержденного Департаментом ветеринарии РФ: для лечения ран, экзем различного происхождения, дерматитов, ожогов, обморожений, папилломатозов, отитов, миозитов, артритов, тендовагинитов, бурситов, парапроктитов, алопеций, пролежней. Разработан способ лечения хирургической патологии препаратом "Ламинол-М" (приоритетная справка № 2004119058 от 23.06.04 г. на выдачу патента РФ на изобретение).

Результаты исследования предлагается использовать в учебном процессе: при чтении лекций или проведении лабораторных занятий со студентами по фармакологии (раздел "Препараты растительного происхождения"), хирургии (раздел "Лечение ран", "Кожная патология") при подготовке студентов по специальности 310800 - "Ветеринария".

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экстракты морской бурой водоросли *Laminaria saccharina* и созданный на их основе препарат "Ламинол-М" используется в практической работе ветеринарных врачей в Кировском государственном цирке, ветеринарных клиниках "Центр" и "Аксон" г. Кирова.

Результаты диссертационной работы используются в педагогическом процессе (чтении лекций и проведении лабораторных и практических занятий) Вятской государственной сельскохозяйственной академии по курсу общей и частной хирургии (раздел "Лечение ран", "Кожная патология") и фармакологии (раздел "Препараты растительного происхождения"); в педагогическом процессе Оренбургского ГАУ по курсу общей и частной хирургии, при подготовке студентов 3-5 курсов (очной и заочной формы обучения).

Выпуск препарата "Ламинол-М" осваивается на базе ЗАО "Научно-производственный холдинг Фармакс".

Некоторые положения, вытекающие из материалов диссертации, включены в учебное пособие: Варганов А. И., Созинов В. А., Чупраков В. Г. "Лекарственные средства в ветеринарной акушерско-гинекологической практике". Киров: ГИПП "Вятка", 2003. - 560 с. (книга рекомендована учебно-методическим объединением высших учебных заведений Российской Федерации по образованию в области зоотехнии и ветеринарии в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по специальности 310800 "Ветеринария" (№ 06-1174 от 19.12.02 г.).

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. ТУ 9321-002-10932064-94. Ламинол-М (для ветеринарии) / Созинов В. А., Ермолина С. А., Тимофеев Б. А., Кирюткин Г. В. // Утв. Департаментом ветеринарии МСХ и прод. РФ, М, 1994. - 9 с.
2. Кирюткин Г. В., Тимофеев Б. А., Созинов В. А. Справочник ветеринарных препаратов. Кировская обл. типография. - 1997. - 598 с;
3. Созинов В. А., Ермолина С. А. Влияние препарата "Ламинол-М" на течение раневого процесса у овец // ЦНТИ. - Киров, 1999. - № 58-99 - 2 с;
4. Созинов В. А., Ермолина С. А. Влияние препарата "Ламинол-М" на течение раневого процесса у кроликов // ЦНТИ. - Киров, 1999. - № 80-99. - 2 с;
5. Созинов В. А., Ермолина С. А. Определение токсичности препарата "Ламинол-М" // ЦНТИ. - Киров, 1999. - № 91-99 - 2 с.
6. Ермолин А. В., Созинов В. А., Ермолина С. А. Изучение острой токсичности препарата "Ламинол-М" // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, животноводства, товароведения, обществознания и подготовки кадров на Южном Урале на рубеже веков: Материалы междунар. науч.-практ. конф. - Троицк, 2000. - Ч. 1. - С. 34-35.
7. Ермолин А. В., Созинов В. А., Ермолина С. А. Изучение раздражающих свойств препарата "Ламинол-М" // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, животноводства, товароведения, обществознания и подготовки

- кадров на Южном Урале на рубеже веков: Материалы междунар. науч.-практ. конф. - Троицк, 2000. - Ч. 1. - С. 35-36.
8. Ермолин А. В., Созинов В. А., Ермолина С. А. Изучение репаративных свойств препарата "Ламинол-М" // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, животноводства, товароведения, общественности и подготовки кадров на Южном Урале на рубеже веков: Материалы междунар. науч.-практ. конф. - Троицк, 2000. - Ч. 1. - С. 91-93.
 9. Созинов В. А., Ермолина С. А. Изучение репаративных свойств препарата, "Ламинол-М" (опыты на собаках) // Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных: Материалы междунар. науч.-практ. конф. - Троицк, 2000. - В. 3. - С. 50-53.
 10. Созинов В. А., Ермолина С. А., Соболев В. А. Применение препарата "Ламинол-М" при лечении ран у цирковых животных // Современные вопросы ветеринарной медицины и биологии. / Сб. науч. тр. по материалам I междунар. конф. - Уфа, 2000. - С. 274-275.
 - П. Ермолин А. В., Созинов В. А., Ермолина С. А. Изучение острой токсичности препарата "Ламинол-М" / Аграрная наука Евро-Северо-Востока. - Киров, 2000. - № 2 - С. 96-98.
 12. Созинов В. А. Изучение репаративных свойств экстрактов морских бурых водорослей рода *Laminaria Saccharina* (опыты на собаках) // Аграрная наука Северо-востока Европейской части России на рубеже тысячелетий - состояние и перспективы / Сб. науч. тр. к 70-летию ВГСХА. - Киров, 2000. - Т. 4 - С. 63-66.
 13. Созинов В. А. Клиническое проявление раневого процесса и влияние на его течение экстрактов морских бурых водорослей рода *Laminaria Saccharina* (опыты на овцах) // Аграрная наука Северо-востока Европейской части России на рубеже тысячелетий - состояние и перспективы / Сб. науч. тр. к 70-летию ВГСХА. - Киров, 2000. - Т. 4 - С. 66-71.
 14. Созинов В. А., Ермолина С. А. Клиническое проявление раневого процесса и влияние на его течение препарата "Ламинол-М" (опыты на овцах) // Аграрная наука Северо-востока Европейской части России на рубеже тысячелетий - состояние и перспективы / Сб. науч. тр. к 70-летию ВГСХА. - Киров, 2000 - Т. 4 - С. 71-74.
 15. Созинов В. А., Ермолина С. А. Изучение физико-химических свойств препарата "Ламинол-М" // Аграрная наука Северо-востока Европейской части России на рубеже тысячелетий - состояние и перспективы / Сб. науч. тр. к 70-летию ВГСХА. - Киров, 2000 - Т. 4 - С. 74-78.
 16. Созинов В. А., Ермолина С. А. Изучение раздражающих свойств экстрактов морских бурых водорослей рода *Laminaria Saccharina* (опыты на лабораторных животных) // Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных: Материалы IV междунар. науч.-практ. конф. - Троицк, 2001. - С. 85-87.
 17. Созинов В. А., Ермолина С. А. Репаративные свойства экстрактов морских бурых водорослей рода *Laminaria Saccharina* (опыты на кроликах) //

- Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных: Материалы IV междунар. науч.-практ. конф. - Троицк, 2001. - С. 87-88.
18. Созинов В. А., Ермолина С. А. Изучение острой токсичности экстрактов морских бурых водорослей рода *Laminaria Saccharina* (опыты на лабораторных животных) / Материалы Междунар. конф. Ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященной 125-летию Н.А. Сощественского - Казань, 2001. - С. 91 -93.
 19. Созинов В. А., Ермолина С. А. Сравнительная характеристика репаративных свойств экстрактов морских бурых водорослей рода *Laminaria Saccharina* и линимента бальзамического Вишневого / Материалы Междунар. конф. Ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященной 125-летию Н. А. Сощественского - Казань, 2001. - С. 93-95.
 20. Созинов В. А., Ермолина С. А., Злобина Т. Ю., Дресвянников А. Б., Чапайкин Н. А. Лечение животных препаратом "Ламинол-М" / Материалы науч.-производ. конф. по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии -Казань, 2001.- Ч.2. - С. 105-106.
 21. Созинов В. А., Ермолина С. А., Чупраков В. Г., Юхтина Е. В. Использование препарата "Ламинол-М" при лечении животных // "Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных": Материалы науч.-практ. конф. - Киров, 2001. - С. 52-54.
 22. Созинов В. А., Ермолина С. А., Копылов С. Н., Пеньков В. Н. Применение препарата "Ламинол-М" при лечении животных // "Диагностика, профилактика и лечение болезней животных": Материалы Всерос. науч.-практ. конф. - Киров, 2002. - С. 81-82.
 23. Варганов А. И., Созинов В. А., Чупраков В. Г. Лекарственные средства в ветеринарной акушерско-гинекологической практике. Киров, ГИПП "Вятка".-2003.-560 с.
 24. Созинов В. А. Параметры острой токсичности экстрактов морских бурых водорослей *Laminaria Saccharina* (опыты на лабораторных животных) // "Диагностика, профилактика и лечение болезней животных": Материалы Всерос. науч.-практ. конф. - Киров, 2003. - С. 72-76.
 25. Созинов В. А. Лечебная эффективность препарата "Ламинол-М" у животных с хирургической патологией // "Актуальные вопросы ветеринарной хирургии" / Тр. междунар. науч.-практ. конф., посвященной 75-летию УГАВМ. - Троицк, 2004. - С. 152-154.
 26. Созинов В. А. Аллергизирующее и сенсибилизирующее действие экстрактов морских бурых водорослей *Laminaria Saccharina* // "Актуальные вопросы ветеринарной хирургии" / Тр. междунар. науч.-практ. конф., посвященной 75-летию УГАВМ. -Троицк, 2004. - С. 154-156.
 27. Созинов В. А. Кожно-резорбтивное действие экстрактов морских бурых водорослей *Laminaria Saccharina* (опыты на лабораторных животных) // "Актуальные вопросы ветеринарной хирургии" / Тр. междунар. науч.-практ. конф., посвященной 75-летию УГАВМ. - Троицк, 2004. - С. 156.

28. Созинов В. А. Биохимические показатели крови при длительном применении экстрактов морских бурых водорослей *Laminaria Saccharina* // "Актуальные вопросы ветеринарной медицины" / Материалы Сибирской междунар. науч.-практ. конф. - Новосибирск, 2004. - С. 385-388.
29. Созинов В. А., Ермолина С. А., Ермолин А. В. Применение ламинала-М при лечении животных // "Ветеринария" - М., 2004. - № 5. - С. 45-46.
30. Созинов В. А., Ермолина С. А., Ермолин А. В. Эффективность альгацина при эндометрите коров // "Ветеринария" - М., 2004. - № 6. - С. 40-41.
31. Созинов В. А. Влияние экстрактов *Laminaria saccharina* на показатели кислотно-щелочного равновесия крови при ранах у овец // "Вестник Саратовского ГАУ" - Саратов, 2004. - № 4. - С. 38-39.
32. Созинов В. А. Влияние экстрактов *Laminaria saccharina* на содержание макроэргических соединений в мышечной ткани при ранах у овец // "Вестник Саратовского ГАУ" - Саратов, 2004. - № 4. - С. 39-40.
33. Заявка № 2004119058 от 23.06.04 г. "Препарат для лечения хирургической патологии у животных - Ламинал-М" / В. А. Созинов, С. А. Ермолина (приоритетная справка от 23.06.04 г. на выдачу патента РФ на изобретение).
34. Заявка № 2004119059 от 23.06.04 г. "Препарат для лечения и профилактики эндометритов у коров - Альгацин" / В. А. Созинов, С. А. Ермолина (приоритетная справка от 23.06.04 г. на выдачу патента РФ на изобретение).
35. Созинов В. А. Патоморфологическая картина при длительном применении экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria Saccharina* / Созинов В. А.; ФГОУ ВПО Вятская ГСХА. - Киров, 2004. - 7 с. - Деп. в ВНИИЭСХ ЦИИТЭИ АПК 14.07.04, № 45 ВС-2004.
36. Созинов В. А. Хроническая токсичность экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria Saccharina* / Созинов В. А.; ФГОУ ВПО Вятская ГСХА. - Киров, 2004. - 10 с. - Деп. в ВНИИЭСХ ЦИИТЭИ АПК 14.07.04, № 46 ВС-2004.
37. Созинов В. А. Кумулятивные свойства экстрактов морской бурой водоросли *Laminaria Saccharina* / Созинов В. А.; ФГОУ ВПО Вятская ГСХА. - Киров, 2004. - 5 с. - Деп. в ВНИИЭСХ ЦИИТЭИ АПК 14.07.04, № 47 ВС-2004.
38. Созинов В. А., Ермолина С. А. Современные лекарственные средства для лечения кошек и собак. М.: АКВАРИУМ ПРИНТ, 2004. - 496 с.

На правах рукописи

Созинов Василий Аркадьевич

**ТОКСИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ЭКСТРАКТОВ МОРСКОЙ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ (*Laminaria*
saccharine) ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ЖИВОТНЫХ**

16.00.04 - Ветеринарная фармакология с токсикологией

16.00.05 - Ветеринарная хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук

Троицк 2005

Сдано в набор 10.12.04 г. Подписано к печати 14.12.04 г.

Формат 60x84/16 Печать офсетная. Усл. печ. л. 2,0

Тираж 75 экз. Заказ № 283

Гарнитура "Time New Roman"

Отпечатано в типографии УГАВМ. Лицензия № 021252
457100, Челябинская область, г. Троицк, ул. Гагарина, 13.

BT.

1864

16 FEB 2005