

«УТВЕРЖДАЮ»
Первый заместитель председателя
Комитета по здравоохранению
Администрации Санкт-Петербурга


Жолобов В.Е.
« 06 » _____ 2012 г.

Электрофорез препарата ферменкол в лечении рубцов кожи в дерматологии и хирургии

Методические рекомендации

Санкт-Петербург
2012

КОМИТЕТ ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ ПРАВИТЕЛЬСТВА САНКТ-ПЕТЕРБУРГА
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.И.МЕЧНИКОВА» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОГЛАСОВАНО Главный физиотерапевт Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга профессор <i>Кирыанова</i> В.В.Кирыанова « 06 » <i>07</i> 2009 г.	УТВЕРЖДАЮ Первый заместитель председателя Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга  Е.В.Жолобов « 07 » 2009 г.
--	--

Рецензенты:

Заведующая кафедрой реабилитологии ФПКиПП ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия» Минздравсоцразвития России
д.м.н., профессор *Г.А. Суслова*

Заместитель главного врача по восстановительному лечению
СПб ГУЗ Городская больница №23 г. Санкт-Петербурга
д.м.н., профессор *Т.А.Скоромец*

Список принятых сокращений

ВМ — внеклеточный матрикс
ФБ — фибробласт
НР — нормотрофический рубец
ГР — гипертрофический рубец
КР — келоидный рубец

Электрофорез препарата ферменкол в лечении рубцов кожи в дерматологии и хирургии: Методические рекомендации. — СПб.: ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова — 2012 — 20 с.

В новых методических рекомендациях представлены разработанные авторами и внедренные в лечебную практику методики лечения больных с рубцами кожи в дерматологии и хирургии, а также в медицинской косметологии. Эти методики могут быть использованы в лечебно-профилактических учреждениях амбулаторного и стационарного типа. Новая медицинская технология предназначена для врачей физиотерапевтов, дерматологов, косметологов, хирургов.

УДК 615.84:616.833:613.81(07)

Методические рекомендации разработаны сотрудниками кафедры физиотерапии и медицинской реабилитации Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И.Мечникова профессором В.В.Кирыановой, доцентом А.В.Максимовым.

1. ВВЕДЕНИЕ

Рубцы кожи возникают в результате ожогов, травм, хирургических операций. Рубцы обычно не вызывают болей или иных неприятных субъективных ощущений. Основные жалобы пациентов носят не медицинский, а эстетический характер — изменение внешнего облика и сопутствующие проблемы, связанные с нарушением социального и личного статуса. Возникновение грубых рубцов часто приводит к нарушению качества жизни, к развитию нервно-психических расстройств, вплоть до случаев тяжелой депрессии, развитию постоянной нетрудоспособности. Профилактика развития патологических рубцов кожи (при хирургических вмешательствах) и лечение (коррекция) рубцов представляют собой важную медико-социальную проблему.

В настоящее время известно несколько классификаций рубцов кожи, часть из которых повторяют друг друга. В большинстве классификаций выделяются следующие категории рубцов:

1. По объему новообразованной соединительной рубцовой ткани:
 - атрофические
 - нормотрофические
 - гипертрофические
 - келоидные
2. По активности роста:
 - стабильные
 - активные (растущие)
3. По давности возникновения рубцовой ткани:
 - молодые
 - старые

Настоящая новая медицинская технология имеет отношение к проблеме лечения (коррекции) гипертрофических и келоидных рубцов кожи при помощи ферментного препарата Ферменкол®.

Основным компонентом гипертрофических (ГР) и келоидных рубцов (КР) кожи является избыточное основное вещество соединительной ткани (внеклеточный матрикс), главным образом патологический, избыточный коллаген. Внеклеточный матрикс (ВМ) представляет собой соединительнотканную матрицу, содержащую многочисленные полипептиды

и полисахариды, которые вырабатываются фибробластами и образуют упорядоченную сеть. Резорбция патологического ВМ и патологического коллагена в области повреждения тканей является приоритетной задачей профилактики и коррекции рубцов. Применение препаратов, обладающих коллагенолитической активностью, целесообразно для профилактики развития и коррекции рубцов кожи.

Коллаген является основным компонентом соединительной ткани. Он составляет до 30% общего количества белка организма взрослого человека, что составляет 6% его массы. Коллагеновые волокна в нормальной коже имеют вид пучков, расположенных в различных направлениях. В сосочковом слое дермы пучки коллагена тонкие и редкие, они ориентированы преимущественно нормально к поверхности эпидермиса. В сетчатом слое пучки коллагена толстые и разнонаправленные. Коллагеновые волокна состоят из фибрилл, которые различимы только при электронной микроскопии. Фибриллы коллагена состоят из вытянутых и соединенных между собой «торец в торец» молекул тропоколлагена.

Синтез нового и деградация старого коллагена в коже осуществляется фибробластами. На рибосомах этих клеток происходит сборка новых молекул коллагена, а в фагосомах — разрушение фагоцитированных старых молекул путем гидролиза с участием внутриклеточных ферментов коллагеназ. Коллагеназная активность обнаружена не только в фибробластах (ФБ), но и в других клетках мезенхимального происхождения (нейтрофилы, макрофаги).

ФБ неповрежденной кожи и ФБ кожи рубцов различаются по своей природе. В дерме неповрежденной кожи постоянно имеются «резидентные» клетки фибробластного ряда, находящиеся на различных стадиях развития (ФБ, фиброциты, фиброкласты), которые осуществляют синтез нового и деградацию старого коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса. После ранений, травм и оперативных вмешательств в дерму из крови рекрутируются новые, так называемые «раневые» ФБ, которые также называются короткоживущими ФБ или миофибробластами. «Раневые» ФБ отличаются от «резидентных» экспрессией в цитоплазме молекул гладкомышечного α -актина. Травматическое повреждение тканей приводит к проникновению в зону повреждения нерезидентных ФБ за счет механизмов положительного хемотаксиса, который обусловлен выделением медиаторов тканевого повреждения. Нерезидентные «раневые» ФБ вырабатывают избыточный внеклеточный коллагеновый матрикс рубцов.

Оптимальным исходом ранений, травм, операций является образование нормотрофического рубца, который выглядит как тонкая и бледная полоска соединительной ткани, не имеющая пигментации, не выступающая над поверхностью кожи. Нормотрофический рубец (НР) не имеет тенденции к росту и не воспринимается пациентом как косметический дефект. Такой результат репарации не всегда возможен даже после косметических операций. При нормальном заживлении раны спустя 3-5 недель после повреждения кожи (травмы, операции) волокна раневого коллагена имеют линейное направление.

Общим признаком, объединяющим келоидные и гипертрофические рубцы кожи, является наличие избыточного ВМ, имеющего большой объем, и выступающего над поверхностью кожи. Гипертрофические рубцы (ГР) представляют собой массивные образования, выступающие над поверхностью кожи, различающиеся по размеру, цвету и консистенции, в зависимости от локализации, срока после травмы, особенностей лечения, индивидуальных особенностей организма. Направление коллагеновых волокон в ГР не линейное, а кольцевое и вихревое, при этом из волокон периодически формируются узлы, в которых коллаген уложен более плотно. Для ГР характерна повышенная васкуляризация, обилие новообразованных сосудов микроциркуляторного русла и богатый состав мезенхимальных клеток всех типов (в основном ФБ). В прогрессирующих келоидных рубцах ФБ еще больше, функциональная активность этих клеток заметно выше, повышено содержание клеток других видов (плазмциты, лимфоциты), изменен состав ВМ (высокое содержание белка, кислых мукополисахаридов).

ГР в своем развитии проходят несколько стадий:

- Первая — стадия экстенсивного роста. В области рубца усиливается местное кровообращение и микроциркуляция, происходит пролиферация ФБ, которые вырабатывают основное вещество рубцовой ткани. Стадия экстенсивного роста сменяется второй стадией равновесного развития рубца («плато»).
- Проллиферация ФБ замедляется, уменьшается выработка рубцового коллагена, площадь рубца больше не растет. В отделенные сроки происходит частичное или полное расщепление избыточного внеклеточного коллагена в результате активации тканевых ферментов металлопротеиназ. Рубец уменьшается, становится плоским и опускается до уровня здоровой кожи. В некоторых случаях происходит истончение кожи с образованием атрофического рубца.

- В результате такого развития ГР в поздние сроки после операции или травмы может превратиться в атрофический. Тактика лечения (коррекции) ГР различается в зависимости от стадии его развития.

КР — это опухолеподобное плотное разрастание соединительной ткани. КР часто распространяются за пределы области первичного повреждения. Для келоидов характерен более интенсивный и продолжительный рост, при этом самопроизвольная регрессия не происходит в течение длительного времени. Типичной жалобой больных является нестерпимый зуд. КР трудно поддаются лечению и имеют тенденцию к рецидивам. В растущих келоидных рубцах количество фибробластов больше, чем в ГР, их функциональная активность значительно выше. Имеются также различия между ГР и КР по содержанию других видов мезенхимальных клеток (плазматических, лимфоцитов), по составу ВМ (белок, кислые мукополисахариды).

Общей основой ГР и КР кожи является избыточный ВМ, главным образом, коллаген. Применение препаратов, обладающих коллагенолитической активностью, целесообразно для профилактики развития и коррекции рубцов кожи.

Коллагенолитические протеазы расщепляют тройную спираль молекулы коллагена. Средство Ферменкол® представляет собой природный комплекс изоферментов коллагеназы с молекулярной массой от 23 до 36 кДа. Комплекс проявляет не только коллагенолитическую, но и общую протеолитическую активность. Это означает, что действие ферментного комплекса не ограничено только гидролизом тройной спирали нативного коллагена, происходит разрушение фрагментов коллагена, вплоть до отдельных аминокислот.

Ферменкол® представляет собой гетерогенный полипептидный ферментный препарат, состоящий из спектра изоферментов коллагеназ гидробионтов. Входящие в Ферменкол® коллагенолитические протеазы имеют молекулярные массы 36 кДа, 35 (I) кДа, 35 (II) кДа, 32 кДа, 28 кДа, 25 (I) кДа, 25 (II) кДа, 25 (III) кДа, 23 кДа. Тяжелые молекулы коллагена метаболически устойчивы и расщепляются только специфическими коллагеназами — ферментами, способными расщеплять 3-х спиральную молекулу тропоколлагена I, II и III типа.

Гидролитическая активность изоферментов препарата Ферменкол® выражена в наибольшей степени в отношении избыточного коллагена рубцовой ткани. Действие ферментного комплекса обеспечивается гидролизом тройной спирали нативного коллагена, затем крупные фраг-

менты коллагеновых молекул подвергаются дальнейшему расщеплению до олигопептидов и аминокислот. Ферментативный гидролиз проходит все этапы, что отличает действие Ферменкола® от других коллагеназ. Препарат Ферменкол® проявляет наибольшую ферментативную активность по отношению к характерным для КР и ГР разветвленным молекулам патологического коллагена с узловой и вихревой укладкой полипептидной цепи и меньшую активность в отношении фибрилл нормального коллагена, присущего здоровой соединительной ткани. Резорбция рубца при применении Ферменкола® связана с разрушением избыточного патологического коллагена. Вместе с тем, полипептиды, входящие в его состав обладают не только коллагенолитической, но и общей протеолитической и гликолитической активностью. Таким образом, препарат оказывает комплексное воздействие на все компоненты патологического рубца.

Коллагеназы из гидробактерий, в отличие от ферментативных препаратов коллагенолитического действия, получаемых из традиционного источника — условно патогенных микроорганизмов *Clostridium* sp., не содержат токсичных примесей.

Коллагенолитический препарат Ферменкол® выпускается в виде 2 готовых к применению лечебных форм:

1. набор для энзимной коррекции
2. гель

Первая из двух лечебных форм представляет собой лиофилизированный порошок (4 мг во флаконе). Порошок перед применением необходимо растворить в кондиционированном растворителе — препарате Солактин®.

Состав растворителя Солактин® (с указанием конечной концентрации компонентов):

- калий лимонно-кислый однозамещенный дигидрат – 0,35%;
- калия гидроксид – 0,15%;
- кальция хлорид – 0,10%;
- эуксил – 0,10%.

Ионный и молекулярный состав растворителя Солактин® обеспечивает стабилизацию многокомпонентного полипептидного препарата Ферменкол® в водной фазе, ингибирует перекрестный гидролиз полипептидов, угнетает пролиферацию бактерий. Солактин® предназначен

для приготовления раствора Ферменкола® для проведения лечебного электрофореза.

С целью разработки методики лечебного электрофореза нами изучена подвижность в электрическом поле полипептидов препарата, полученного из порошка Ферменкол®, определено значение кислотности поддерживающей среды, при котором наблюдается наименьшая подвижность в электрическом поле составляющих препарат полипептидов, выявлено значение кислотности поддерживающей среды, при котором подвижность в электрическом поле составляющих препарат полипептидов максимальна. На основе полученных данных разработана и апробирована в клинических условиях методика лечебного электрофореза водного раствора препарата (порошка) Ферменкол®.

Вторая лечебная форма — гель, в который входит комплекс коллагеназ Ферменкол®. Основа геля состоит из глицерина, глицерил полиакрилата, диазолинидил мочевины, метилпарабена, пропилпарабена, пропиленгликоля и воды. Гель предназначен для местного применения в виде аппликаций. Гель имеет водную основу.

Гель представляет собой прозрачную массу, выпускается в тубах по 30 г. В 1 грамме геля содержится 0,1 мг активного вещества.

С целью разработки методики лечебного электрофореза на предварительном этапе исследования нами изучена электропроводность геля Ферменкол®.

Основной этап исследования предусматривал выявление подвижности в электрическом поле полипептидов, входящих в состав геля, определение значения рН, при котором подвижность полипептидов в электрическом поле минимальна, выявление значения рН, при котором подвижность полипептидов в электрическом поле максимальна. На основе полученных данных разработана и апробирована в клинических условиях методика лечебного электрофореза геля Ферменкол®.

Известно 3 возможных способа лечения препаратом Ферменкол®, применяемых на основании эмпирического опыта:

- аппликации
- лечебный электрофорез постоянным электрическим током
- лечебный фонофорез высокочастотным ультразвуком

При аппликациях лекарственные и биологически активные вещества поступают в покровы тела путем диффузии. Диффузией обеспечивается поступление в эпидермис и в верхние слои дермы ферментативных составляющих препарата Ферменкол® по градиенту концентрации.

Интенсивность диффузии усиливается при локальном повышении температуры кожи, при повышении концентрации препарата, после обезжиривания кожи и после мацерации рогового слоя эпидермиса (влажный компресс), а также при сочетанном применении аппликации и гальванического тока.

Аппликации используются для лечения рубцов, имеющих небольшую толщину, а также в терапии угревой сыпи (*acne vulgaris*). Этот способ весьма удобен в практике амбулаторного лечения, так как не требует от пациента частого посещения лечебного учреждения. Однако путем простой диффузии ферменты поступают в кожное депо неглубоко и в недостаточном количестве.

Для аппликаций применяется Ферменкол® гель, а для обработки кожи в области рубца перед аппликацией — подходящее косметическое средство для очистки кожи. Предварительная обработка очищающим средством позволяет удалить с поверхности кожи липидную мантию, влагу и поверхностный роговой слой эпидермиса. Это способствует диффузии ферментов через базальную мембрану эпидермиса. Кожа подсушивается ватным или марлевым тампоном и на нее наносится тонкий слой геля. Нанесенный на кожу препарат втирается в нее шпателем.

Аппликации геля Ферменкол® на область рубцов проводятся дважды в сутки. Продолжительность курса аппликаций зависит от вида рубца и от особенностей обратного клинического развития рубцового процесса.

При лечебном электрофорезе механизм введения лекарственных веществ электрогенный, то есть их перемещение в электрическом поле и введение в покровы тела должно происходить по градиенту электрического потенциала. Электрогенное введение повышает доставку лечебных и биологически активных веществ в область патологического очага (в том числе рубца) на 1-2 порядка по сравнению с пассивной диффузией. Следует подчеркнуть, что применительно к препарату Ферменкол® электрогенный механизм введения в организм до настоящего времени являлся гипотетическим. Лабораторные исследования, подтверждающие перемещение компонентов препарата Ферменкол® в электрическом поле, не проводились. Клинические исследования не выполнялись.

Известна эмпирическая практика сочетанного применения раствора порошка Ферменкол® в препарате Солактин® с воздействием постоянного непрерывного электрического тока. Такую методику до настоящего времени было принято называть лечебным электрофорезом Ферменкола®. При этом препарат Ферменкол® наносится на подэлектродную про-

кладку электрода, присоединенного к терапевтическому разъему аппарата гальванизации, включается электрическое напряжение. Это имитирует процедуру лечебного электрофореза. Длительные катамнестические наблюдения указывают на то, что результаты лечения рубцов кожи повышаются при воздействии препаратом Ферменкол® в сочетании с постоянным непрерывным током. Указанные наблюдения можно аргументированно объяснить тем, что физическое воздействие постоянным током (гальванизация) всегда вызывает усиление проницаемости кожного барьера для веществ экзогенного происхождения, повышает интенсивность простой диффузии веществ, в том числе полипептидов, через эпителиальные покровы. Усиление диффузии веществ через покровы тела при воздействии на них гальваническим током не следует приравнять к электрогенному переносу веществ, то есть к лечебному электрофорезу.

Задачей настоящей работы явилось теоретическое обоснование метода лечебного электрофореза препарата Ферменкол®, клиническое подтверждение и обоснование, а также практическая разработка методики лечебного электрофореза.

Лечебный электрофорез возможен только применительно к веществам, которые растворимы в электропроводных средах (вода, спирт в смеси с водой), к таковым относятся раствор лиофильно высушенного порошка Ферменкол®, растворенного в препарате Солактин®, и гель Ферменкол®.

Нами научно обоснована возможность лечебного электрофореза 2 лечебных форм препарата Ферменкол®:

- лиофильно высушенного порошка Ферменкол®, растворенного в препарате Солактин®
- геля Ферменкол®

Результатом явилась разработка практических методик лечебного электрофореза.

При лечебном фонофорезе поступление в организм лекарственных веществ осуществляется за счет механических сил акустического поля. Биофизической основой лечебного фонофореза является возможность перемещения лекарственных частиц по градиенту акустического давления (постоянного и переменного). Применительно к гетерогенному полипептидному препарату Ферменкол® указанный механизм введения не получил научного подтверждения и продолжает оставаться гипотетическим. Лабораторные исследования, подтверждающие перемещение молекул в акустическом поле, не проводились. Не изучена устойчивость

полипептидных молекул препарата Ферменкол® к потенциальному разрушающему воздействию механических полей высокой частоты.

Между тем, известно, что воздействие механической энергии акустического диапазона на покровы тела повышает интенсивность простой диффузии через покровы тела, вследствие усиления местного кровообращения и микроциркуляции. Этот феномен может влиять на повышение интенсивности введения препарата Ферменкол® в кожу при сочетанном воздействии аппликаций и ультразвука по сравнению с простой диффузией

Теоретически возможно использование для лечебного фонофореза всех лечебных форм препарата Ферменкол®. Однако в задачи проведенной работы не входило научное исследование и обоснование возможности фонофореза препарата.

2. МАТЕРИАЛЫ НИР

Цели проведенной НИР:

- Обоснование возможности введения полипептидов из раствора препарата лиофильно высушенного порошка Ферменкол® в организм человека при помощи постоянных токов.
- Обоснование возможности введения полипептидов из препарата гель Ферменкол® в организм человека при помощи постоянных токов.
- Разработка методики лечебного электрофореза гальваническим током полипептидов из раствора препарата лиофильно высушенного порошка Ферменкол®.
- Разработка методики лечебного электрофореза гальваническим током полипептидов из препарата гель Ферменкол®.

Для достижения указанных целей необходимо было решить следующие задачи:

1. Определить электропроводность лечебных форм препарата Ферменкол®.
 - 1.1 Раствора препарата Ферменкол® в растворителе Солактин®.
 - 1.2 Препарата Ферменкол® в виде геля.
2. Изучить закономерности электрофореза полипептидов препарата Ферменкол® в виде раствора лиофильно высушенного порошка в растворителе Солактин®.

- 2.1 Оценить подвижность в электрическом поле полипептидов раствора по показателю электрогенного массопереноса.
- 2.2 Определить условную «изоэлектрическую точку» полипептидов раствора Ферменкол® по показателю минимального массопереноса полипептидов.
- 2.3 Подобрать оптимальное значение рН растворителя, обеспечивающего максимальный массоперенос полипептидов раствора.
3. Изучить закономерности электрофореза полипептидов препарата Ферменкол® в виде геля.
 - 3.1 Оценить подвижность в электрическом поле полипептидов геля по показателю электрогенного массопереноса полипептидов.
 - 3.2 Определить условную «изоэлектрическую точку» полипептидов геля Ферменкол® по показателю минимального массопереноса полипептидов.
 - 3.3 Подобрать оптимальное значение рН геля, обеспечивающего максимальный массоперенос препарата.

Предварительный этап исследования:

1. На предварительном этапе исследования определялась электропроводность раствора препарата Ферменкол® в растворителе Солактин®, а также электропроводность препарата Ферменкол® в виде геля. Использовался капиллярный тест определения электропроводности.
 - 1.1 Для определения электропроводности раствора препарата Ферменкол® в растворителе Солактин® капилляр диаметром 3 мм наполнялся рабочим раствором препарата Ферменкол® в растворителе Солактин®, запаивался парафином с обеих апертур, в апертурах капилляра фиксировались игольчатые электроды. К разъемам игольчатых электродов присоединялись разъемы терапевтических токоподводов аппарата для гальванизации Поток-1. На электроды подавалось электрическое напряжение плавным вращением потенциометра. Диапазон силы тока — до 50 мА. При выведении потенциометра по часовой стрелке до половины амплитуды вращения его ручки миллиамперметр регистрировал силу тока 50 мА.

Таким образом электропроводность раствора препарата Ферменкол® в растворителе Солактин® была подтверждена.

1.2 Для определения электропроводности препарата Ферменкол® в виде геля капилляр диаметром 3 мм наполнялся гелем Ферменкол®, запаивался парафином с обеих апертур, в апертурах капилляра фиксировались игольчатые электроды. К разъемам игольчатых электродов присоединялись разъемы терапевтических токоподводов аппарата для гальванизации Поток-1. На электроды подавалось электрическое напряжение плавным вращением потенциометра. Диапазон силы тока — до 50 мА. При выведении потенциометра по часовой стрелке до половины амплитуды вращения его ручки миллиамперметр регистрировал силу тока 50 мА.

Таким образом электропроводность геля препарата Ферменкол® была подтверждена.

Основной этап исследования:

2. На основном этапе исследования изучали подвижность в электрическом поле 2 лечебных форм препарата Ферменкол®. Оценивали подвижность в электрическом поле полипептидов препарата Ферменкол® по показателю электрогенного массопереноса полипептидов.

2.1 Препарат в виде раствора в растворителе Солактин®.

В основных пробах изучали электрофоретическую подвижность препарата Ферменкол® ($U=500W$), а в контрольных пробах изучали диффузию полипептидов препарата ($U=0W$) в камерной установке для аналитического электрофореза. Для получения раствора использовался штатный растворитель Солактин® при значениях рН растворителя 4.2, 4.6, 5.0, 5.4, 5.8, 6.2, 6.6, 7.0, 7.4, 7.8, 8.2, 8.6, 9.0.

Состав растворителя Солактин®: калий лимонно-кислый однозамещенный дигидрат — 0,35%; калия гидроксид — 0,15%; кальция хлорид — 0,10%; эуксил — 0,10%. Молекулы эуксила электрически нейтральны и не перемещаются в электрическом поле. Слабый солевой состав обеспечивает стабильность раствора, ионы Ca^{++} препятствуют перекрестному гидролизу полипептидных протеаз.

Подкисление растворителя осуществляется при помощи 0,1 N раствора HCl, а подщелачивание при помощи 0,1 N раствора NaOH. Определение рН растворителя осуществляется при по-

мощи рН-метра или универсальной индикаторной бумаги с высокой чувствительностью. Время экспозиции в основных пробах (электрофорез) и контрольных пробах (диффузия) 300 мин.

Концентрацию полипептидов в пробах определяли микрореакцией Lowry O.H. (*) в модификации Малахова М.Я.

В результате проведенных исследований установлено, что минимальный массоперенос полипептидов препарата Ферменкол® (условная изоэлектрическая точка) имеет место при рН 7.8. При данном значении кислотности среды различия в концентрации полипептидов в приемной камере в основных и контрольных пробах были минимальными.

Оптимальная полярность активного электрода положительная (в пробах с рН менее 7.8 массоперенос препарата был выше, чем в сопоставимых пробах с рН более 7.8).

Наибольшая эффективность электрофореза имеет место при слабокислой реакции среды, причем максимальный массоперенос вещества наблюдался при рН 5.4-5.8.

Таким образом, лабораторный этап наших исследований показал, что наименьший массоперенос полипептидов раствора препарата Ферменкол® (условная «изоэлектрическая точка») находится в слабощелочной зоне и соответствует величине рН 7.8, наибольший массоперенос имеет место при слабокислой реакции раствора (рН 5.4-5.8). Полярность активного электрода — анод.

При повышении значения рН от 7.8 до 8.6 наблюдалось умеренное повышение массопереноса полипептидов, который был менее выраженным, чем при слабокислом значении рН. Полярность активного электрода — катод.

Полученные результаты позволяют говорить о возможности одновременного биполярного введения полипептидов препарата Ферменкол® — с анода (при слабокислой реакции среды) и с катода (при слабощелочной реакции растворителя).

2.2 Препарат в виде геля.

В основных пробах изучали электрофоретическую подвижность геля Ферменкол® ($U=500W$), а в контрольных пробах изучали диффузию полипептидов препарата ($U=0W$) в камерной установке для аналитического электрофореза. рН геля до-

водили до значений 4.2, 4.6, 5.0, 5.4, 5.8, 6.2, 6.6, при помощи 0,1 N раствора HCl, и до значений 7.4, 7.8, 8.2, 8.6, 9.0 при помощи 0,1 N раствора NaOH. Определение pH водной основы геля осуществлялось при помощи универсальной индикаторной бумаги высокой чувствительности. Время экспозиции в основных пробах (электрофорез) и контрольных пробах (диффузия) 300 мин.

Концентрацию полипептидов в пробах определяли микрореакцией Lowry O.H. (*) в модификации Малахова М.Я.

В результате проведенных исследований установлено, что минимальный массоперенос полипептидов геля Ферменкол® (условная изоэлектрическая точка) имеет место при pH 7.8-8.2. При таких значениях кислотности геля различия в концентрации полипептидов в приемной камере в основных и контрольных пробах были минимальными.

Оптимальная полярность активного электрода положительная (в пробах с pH менее 7.8 массоперенос препарата был выше, чем в сопоставимых пробах с pH более 8.2).

Наибольшая эффективность электрофореза имеет место при слабокислой реакции среды, причем максимальный массоперенос вещества наблюдался при pH 5.4.

Таким образом, лабораторный этап наших исследований показал, что наименьший массоперенос полипептидов препарата Ферменкол® в виде геля (условная «изоэлектрическая точка»), так же как и у раствора Ферменкол®, полученного из лиофильно высушенного порошка, находится в слабощелочной зоне и соответствует величине pH 7.8, наибольший массоперенос имеет место при значении pH геля 5.4, а оптимальная полярность активного электрода — анод.

При повышении значения pH геля от 7.8 до 8.6 наблюдалось, так же как и при исследовании раствора, умеренное повышение массопереноса полипептидов, который был менее выраженным, чем при слабокислом значении pH. Полярность активного электрода — катод.

Полученные результаты позволяют говорить о возможности одновременного биполярного введения полипептидов препарата Ферменкол® — с анода (при слабокислой реакции среды) и с катода (при слабощелочной реакции растворителя).

3. МЕТОДИКИ ЛЕЧЕНИЯ

Методики лечебного электрофореза. Исходя из полученных результатов, нами разработаны методики лечебного электрофореза препарата Ферменкол®.

Дозирование раствора препарата Ферменкол®. В ампуле препарата Ферменкол® содержится лиофильно высушенный порошок в количестве 4 мг. Препарат растворяется в специальном растворителе Солактин®. Количество препарата, применяемое в методике лечебного электрофореза невелико и его конечная концентрация низкая. Это обусловлено тем, что ферменты оказывают коллагенолитическое воздействие в ничтожно малых дозах.

При ГР, возраст которых не превышает 4-5 месяцев, применяются малые количества и низкие концентрации препарата — 0,1-0,2 мг/мл. Коллагеновые волокна ГР обычно имеют вихревую конфигурацию распределения, плотность их укладки невысокая, что обеспечивает возможность быстрого и равномерного пропитывания ферментом рубцов и спаек. Рубцы с вихревой конфигурацией коллагена имеют плотные узлы в ткани рубца. Объем рубцовой ткани в результате лечения быстро уменьшается.

В грубых рубцах давнего происхождения нередко коллаген, помимо вихревой конфигурации формирует очаги узловой конфигурации. В этих узлах волокна коллагена располагаются более плотно. Узлы коллагена имеют разный калибр и находятся на различной глубине (в верхних и глубоких слоях дермы). Подобные рубцы труднее инфильтрировать раствором коллагеназы. Ферменты воздействуют только на поверхностную часть такого узла. В ходе лечения наблюдается постепенное уменьшение размеров рубца. Поэтому при лечении более старых и плотных рубцов целесообразно увеличить концентрацию препарата (до 0,5 мг/мл и более). Более высокие концентрации необходимы для лечения КР и плотных ГР с плотной (узловой) укладкой коллагена.

Коллагенолитическая терапия характеризуется поздними и отдаленными эффектами. Пациенту следует настойчиво разъяснить (особенно при наличии рубцов с узловой формой укладки коллагена) причины необходимости длительного применения электрофореза коллагенолитических протеаз.

Расчет необходимого объема раствора следующий. На 1 см² рубца для проведения процедуры требуется приблизительно 0,5 мл раствора Ферменкол®, что составляет от 0,05 до 0,25 мг. Раствор препарата Фер-

менкол® с выбранной концентрацией ферментов наносится на лекарственную прокладку, состоящую из 4-6 слоев марли или фильтровальной бумаги.

Лечебным электродом является анод, электродная прокладка катода смачивается проточной водой или физиологическим раствором. Плотность тока — не более 0,2 мА/см² при локализации рубца на туловище или конечностях и не более 0,05 мА/см² при локализации рубца на лице.

Дозирование геля препарата Ферменкол®. Дозирование геля осуществляется исходя из конечной концентрации в нём коллагеназ. При ГР с вихревой укладкой нитей коллагена требуется 0,5 г геля (0,05 мг коллагеназ) на 1 см² поверхности рубца. Для лечения КР и плотных ГР с плотной (узловой) укладкой коллагена требуется большее количество геля — до 2 г геля на 1 см² поверхности рубца.

Перед проведением процедуры кожу в области рубца распаривают с целью мацерации рогового слоя эпидермиса для повышения резорбтивной способности. Гель наносится на рубец и поверхность кожи по периметру и втирается шпателем. Спустя 15–20 мин. значительная часть геля всасывается в кожу, на терапевтическое поле помещают гидрофильную прокладку, смоченную проточной водой, подкисленной до значения рН 5.4-5.8.

Лечебным электродом является анод. Плотность тока — не более 0,1 мА/см² при локализации рубца на туловище или конечностях и не более 0,05 мА/см² при локализации рубца на лице.

Продолжительность процедуры при применении раствора и при применении геля составляет от 15 до 30 мин., постепенно увеличиваясь к 5-й процедуре.

Длительность курса лечебного электрофореза Ферменкола® при недавно возникших ГР — 10-15 процедур, проводимых через день или 4 раза в неделю. При КР и давно существующих ГР курсовая доза может быть повышена до 20 процедур. **Повторные курсы** проводятся не ранее, чем через 2 месяца.

Методика №1

При использовании раствора из лиофильно высушенного порошка содержимое флакона (4 мг порошка) растворяется в штатном растворителе Солактин® до конечной концентрации 0,1-0,5 мг/мл. Конечная концентрация препарата Ферменкол® в растворителе Солактин® подби-

рается исходя из свойств рубца (степень гипертрофии рубцовой ткани, давность возникновения, активность развития). Раствор наносится на лекарственную прокладку, состоящую из 4-6 слоев марли или фильтровальной бумаги (0,5 мл на 1 см² прокладки), которая помещается под гидрофильную прокладку лечебного электрода-анода. Электрод-катод размещается по поперечной, поперечно-диагональной или продольной методике.

При использовании геля на область рубца и окружающую по периметру здоровую кожу после резорбции нанесенного на неё геля Ферменкол® размещается влажная гидрофильная прокладка лечебного электрода-анода, смоченная проточной водой, подкисленной до значения рН 5.4-5.8.

Методика №2

Для повышения эффективности электрофореза (увеличения количества введенного в покровы тела препарата Ферменкол®) в раствор с выбранной концентрацией с рН 5.4-5.8 может добавляться растворитель димексид до конечной концентрации 20%.

Электрофорез гальваническим током проводится при значении плотности тока до 0,1-0,15 мА/см² (при воздействии на тело) или до 0,05-0,06 мА/см² (при воздействии на лицо и шею). Необходимая сила тока вычисляется по площади гидрофильной прокладки, которая больше электродной пластины — выступает на 1-1,5 см по ее периметру путем умножения величины плотности тока на площадь прокладки электрода. Однако истинным критерием при дозировании силы тока является возникновение у пациента ожидаемых субъективных ощущений приятного равномерного покалывания и жжения под электродами, которые раньше возникают и наиболее выражены под отрицательным электродом (катодом).

Неприятных или болевых ощущений у пациента под электродами возникать не должно. При их возникновении следует проверить равномерность прилегания электрода к телу пациента. Силу тока увеличивают плавно вращением ручки потенциометра (аппарат «Поток-1») или ручки регулятора силы тока (аппарат «Элфор-проф»). По окончании процедуры силу тока плавно понижают до нуля, после чего лечебные электроды снимают с поверхности тела пациента.

Техника биполярного электрофореза гальваническим током принципиально отличается тем, что действующее начало — препарат

Ферменкол® вводится с обоих электродов, при этом раствор препарата Ферменкол®, наносимый на лекарственную прокладку катода предварительно подщелачивается до значения рН 8.2-8.6.

4. ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ МЕТОДА

Показания для применения метода:

- Гипертрофические рубцы
- Келоидные рубцы

Противопоказания для применения метода:

- Общие противопоказания к физиотерапии
- Наличие расчесов и иных свежих повреждений поверхности кожи в области рубцов
- Индивидуальная непереносимость постоянного тока

5. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ

Для осуществления новой медицинской технологии применяются аппараты физиотерапевтические для гальванизации и электрофореза, разрешенные к применению в РФ.

6. ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ И СПОСОБЫ ИХ УСТРАНЕНИЯ

При разработке и клинических испытаниях новой медицинской технологии «Электрофорез препарата ферменкол в лечении рубцов кожи в дерматологии и хирургии» осложнений и побочных эффектов у испытуемых выявлено не было.

7. ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДА

В 2011 г. было выполнено лечение предлагаемым методом 22 больных с рубцами кожи. Лечение проводилось по методикам, описанным в разделе 3. По окончании курса лечения все больные отмечали значительное субъективное уменьшение выраженности патологических симптомов: уменьшение площади и толщины рубцов, значительное уменьшение или ликвидацию болей, зуда, парестезий в области рубцов, улучшение качества жизни. Объективное планиметрическое исследование подтвердило достоверное уменьшение площади рубцов.

Лечение рубцов, спаек и иных избыточных разрастаний соединительной ткани требует применения комплексной терапии, включающей локальные аппликации коллагенолитических лекарственных или биологически активных препаратов, в частности препарата Ферменкол®. При локальных аппликациях препарат поступает в кожу (слизистые оболочки) путем диффузии. Применение новой медицинской технологии — лечебного электрофореза препарата Ферменкол® позволяет существенно повысить поступление препарата в кожу (слизистые оболочки) за счет механизма электрогенного переноса. Это повышает эффективность введения в ткани покровов тела ферментов, входящих в его состав, усиливает резорбцию соединительной ткани рубцов.

Список литературы

1. *Сосин И.Н., Тондий Л.Д.* Клиническая физиотерапия: Справочное пособие для практического врача. — Киев : Здоровья, 1996. — 522 с.
2. Физиотерапия и курортология / Под. ред. В.М. Боголюбова. Книга I. — М.: БИНОМ, 2008. — 408 с., ил.
3. *Gillert O., Rulffs W., Boegelein K.* *Elektrotherapie.* — Munchen: Pflaum Verlag, 1995. — 312 s.
4. *Senn E.* *Elektrotherapie.* — Stuttgart; New York: Geog Thime Verlag, 1990. — 292 s.
5. *Карпова Т.Н.* Электро- и ультрафонофорез ферменкола в коррекции рубцов кожи. Автореферат дисс. к.м.н. Санкт-Петербург, 2009. — 19 с.
6. *Кирьянова В.В.* Гальванизация и лекарственный электрофорез. // Нефармацевтическая медицина. — 2005. №1 — 9 с.
7. *Малахов М.Я.* Метод регистрации эндогенной интоксикации. Пособие для врачей. — 1995.
8. *Улащик В.С.* Теория и практика лекарственного электрофореза. — Минск: Беларусь. — 1976 г. — 207 с.
9. *Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L.* et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol.Chem.* — 1951. — Vol. 193. — P.265-275.