

УДК 615.355.276:547

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МАЗЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ ФЕРМЕНТ КОЛЛАГЕНАЗУ, НА ТЕРМИЧЕСКИЙ ОЖОГ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Иванкова Ю.О., ²Абисалова И.Л., ³Локарев А.В.¹ГБОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия»

Минздравсоцразвития России, Пятигорск, e-mail: julia_iv@bk.ru;

²ГБОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия»

Минздравсоцразвития России, Пятигорск, e-mail: iraabi@yandex.ru;

³ООО «МедЛинФарм», Москва, e-mail: mlff@compot.ru

Проведена морфологическая оценка воздействия оригинальных мазевых композиций, содержащих протеолитический фермент – коллагеназу на степень регенерации термического ожога кожи в течение 10 суток. Фермент наносили на раны, используя мазевые основы олеогель и карбопол. Критерием оценки регенерации служили следующие гистологические показатели: степень отторжения струпа над регенерирующей поверхностью кожи, полнота эпителизации раневой поверхности, степень зрелости сформировавшейся грануляционной ткани по соотношению клеточных и волокнистых элементов. Установлено, что олеогель с коллагеназой более эффективен, чем гель на карбополе и препарат сравнения «Солкосерил-гель». Установлена выраженность регенерации по группам и показана ее четкая последовательность в виде распределительного ряда- олеогель > карбопол > солкосерил > контроль, что свидетельствует об определённой зависимости между составом лекарственной формы и фармацевтическим эффектом.

Ключевые слова: термический ожог, коллагеназа, регенерация, карбопол, олеогель

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF EFFICIENCY OF THE OINTMENTS CONTAINING ENZYME THE COLLAGENASE ON THE THERMAL BURN IN EXPERIMENT

¹Ivankova Y.O., ²Abisalova I.L., ³Lokarev A.V.¹GBOU VPO «Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy», Minzdravsootsrazvitiya Russia,
Pyatigorsk, e-mail: iraabi@yandex.ru;²GBOU VPO «Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy», Minzdravsootsrazvitiya Russia,
Pyatigorsk, e-mail: iraabi@yandex.ru;³LLC «MedLinFarm», Moscow, e-mail: mlff@compot.ru

Morphological assessment of the impact of the original ointment formulations containing proteolytic enzymes – collagenase on the degree of recovery of thermal burns of the skin within 10 days. The enzyme was applied to the wound, using the ointment bases oleogel and carbopol. Criteria for assessing recovery following histological parameters were: the degree of rejection of scab over regenerating the skin, full of epithelialization of the wound surface, the degree of maturity of the granulation tissue formed by the ratio of cellular and fibrous elements. Found that oleogel with collagenase was more effective than the gel on the comparator drug and Carbopol (Solcoseryl gel). Installed on the severity of the regeneration group and it shows a clear sequence in the form of a number of distribution-oleogel > carbopol > Solcoseryl > control, indicating a definite relationship between the composition of the dosage form and pharmaceutical effect.

Keywords: thermal burns, collagenase, regeneration, carbopol, oleogel

Коллагеназа – протеолитический фермент, особенностью действия которой является способность лизировать (разрушение и отделение) некротические ткани, тем самым способствовать ферментативному очищению раны. Кроме того, коллагеназа стимулирует процесс грануляции (очистка раны от гнойно-некротических масс, уменьшение и исчезновение отёков, подавление бактериальной агрессии) и не угнетает эпителизацию (восстановление кожного покрова или формирование рубца, окончательное заживление раны). Коллагеназа не оказывает протеолитического (разъедание, растворение) действия на неповрежденный эпителий, грануляционную, жировую и мышечные ткани.

Материалы и методы исследования

Для исследования использовали мягкие лекарственные формы- мази в качестве основы при приготовления которых, использовали карбопол – 940 и оливковое масло с аэросилом. Препарат сравнения – гель «Солкосерил», который применяется для лечения термических ожогов.

Исследуемые мази получали по традиционной технологии. Мазь на гидрофильной основе – карбополе-940 готовили введением коллагеназы в основу, представляющую собой 1% гель, в виде раствора. Мазь по типу олеогель готовили: коллагеназу вводили в масло в виде суспензии и уплотняли аэросилом до образования мазевой консистенции [4].

Эксперименты по ранозаживляющему действию мазей, содержащих фермент коллагеназу, на термические ожоги проводили на белых крысах- самцах линии «Wistar», массой 180–220 г, которые содержались в стандартных условиях вивария при естественном

освещении. В опыте участвовали 4 группы животных по 10 особей в каждой: 1 группа – контрольная, препараты не наносили, 2 группа – леченные препаратом сравнения «Солкосерил-гель», 3 группа – леченные мазью, содержащей коллагеназу на основе олеогель, 4 группа – леченные мазью, содержащей коллагеназу на основе карбопол. Термический ожог моделировали аппликацией электронагревательного элемента диаметром 10 мм, при температуре 100°C, в течение 15 с на предварительно депилированный участок кожи в области спины. Исследуемые мазевые лекарственные формы наносили ежедневно с помощью стерильных шпателей, начиная с 3-х суток после инфицирования и формирования гнойно-некротических ран. Изучение гистологических срезов проводили с использованием светового микроскопа ЛОМО при увеличениях объективов х8, х40 и х90 и окуляре К7* в проходящем свете. Для морфометрических измерений использовали окуляр – микрометр со стандартной шкалой. Снимки срезов производили на компьютерном микроскопе при увеличении х160 и х360. Срезы готовили общепринятым методом заливки в парафиновые блоки, срезы ткани кожи окрашивали гематоксилин-эозином. Забор биоматериала проводили на 10-е сутки [1, 2].

Результаты исследования и их обсуждения

В контрольной группе на срезах кожи в области ожогового повреждения на 3-е сутки от нанесения ожога на дне пораженной поверхности определяется некроз тканей кожи, захватывающий все слои эпидермиса и две трети толщины дермы. Это по принятой классификации соответствует 3А степени ожога. Поверхность ожоговой

раны покрыта струпом, состоящим из некротизированных элементов эпидермиса и дермы, пропитанных фибриновым экссудатом. Наблюдается умеренная нейтрофильная инфильтрация. Элементы придатков кожи (сальные железы и волосяные фолликулы) полностью отсутствуют (разрушены). На рис. 1 зона поверхности ожоговой раны представлена бесструктурной эозинофильной массой инфильтрированной лейкоцитами [3].

На 10-е сутки в данной группе эпителизация раневой поверхности завершена не полностью. В центральных участках ожога сохраняется сформировавшийся струп, который прорастает регенерирующий эпителий в виде надвигающегося вала. Подлежащая грануляционная ткань не зрелая с преобладанием клеточных элементов соединительной ткани – фибробластов (рис. 2).

В группе животных, получавших в качестве лечения мазь с коллагеназой на основе с олеогелем, на 10 сутки от моделирования ожога произошла полная эпителизация ожоговой поверхности, струп полностью десквамирован (рис. 3). При большем увеличении (х360) видно, что в сформировавшемся регенерате грануляционной ткани преобладают волокнистые структуры над клеточными элементами – фибробластами (рис. 4), что указывает на высокую степень зрелости грануляционной ткани.

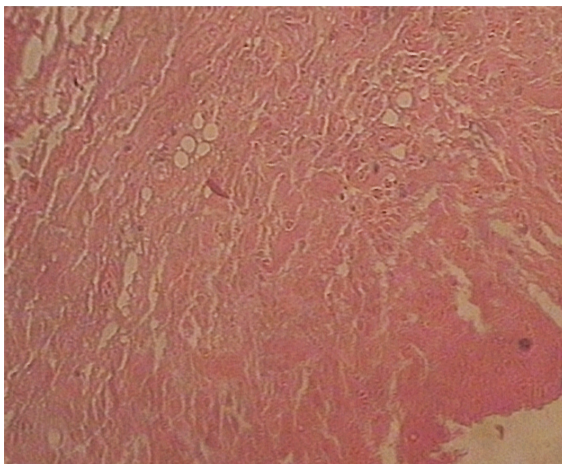


Рис. 1

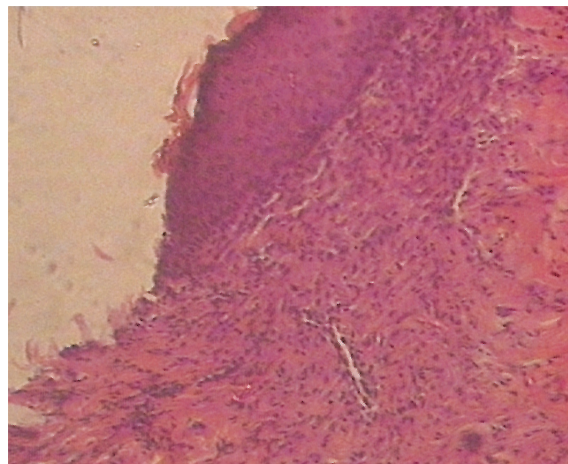


Рис. 2

В группе животных, получавших в качестве лечения коллагеназу на основе с карбополом, на 10 сутки от нанесения ожога гистологическая картина примерно, соответствует вышеописанной. Произошло полное восстановление эпидермиса, произрастающего от краев ожоговой поверхно-

сти. Однако частично сохранился струп на отдельных участках (рис. 5), подсчет количества клеточных элементов на стандартной единице площади среза показал более высокое содержание клеточных элементов в грануляционной ткани, чем в предыдущей группе (рис. 6).

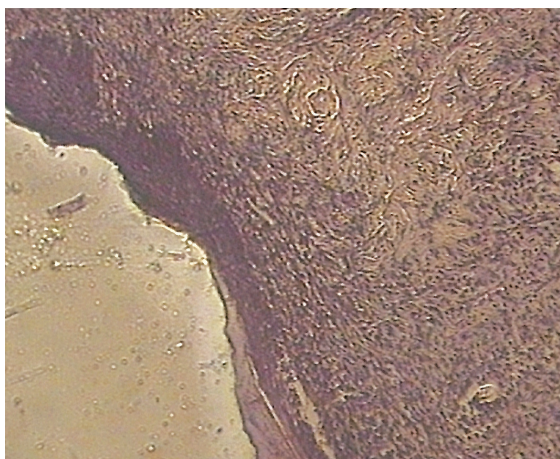


Рис. 3. (ув.х160)

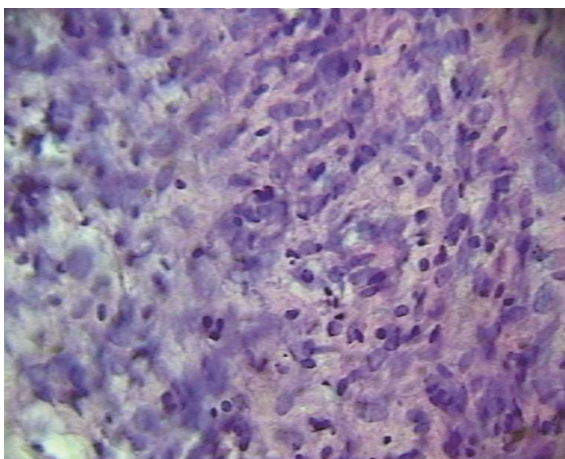


Рис. 4 (ув.х360)

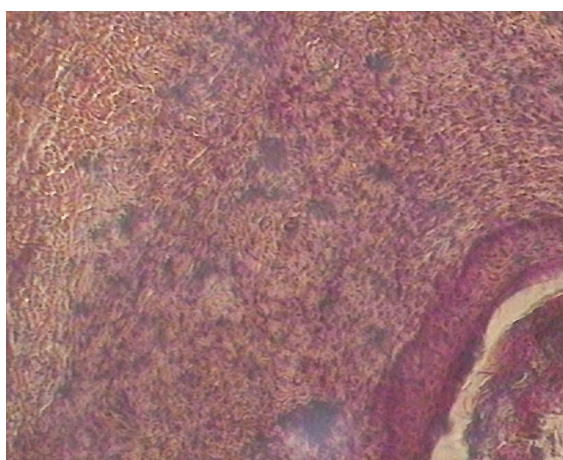


Рис. 5 (ув.х160)

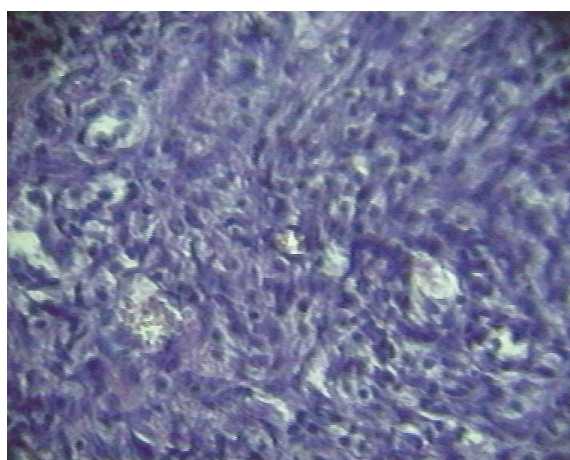


Рис. 6 (ув.х360)

В группе животных, получавших в качестве лечения солкосерил-гель, на 10 сутки от нанесения ожога гистологическая картина по выраженности регенераторных процессов (отслоение струпа, отек тканей, степень зрелости грануляционной ткани) уступает группам, леченным мазями, содержащими коллагеназу на основах с олеогелем и карбополом. Эпителизация ожоговой поверхности практически завершена, однако в центральных зонах ожога сохранились небольшие элементы струпа, под который прорастает регенерирующий слой эпидермиса (рис. 7). В грануляционной ткани преобладают клеточные элементы над волокнистыми (рис. 8) [5].

Заключение

Поскольку при нанесении термического повреждения на кожу животных сформировался ожог 3А степени с разрушением кожи до 2/3 сетчатого слоя и некрозом всех эле-

ментов придатков кожи, заживление ожоговой поверхности проходило вторичным натяжением с образованием грануляционной ткани и регенерирующего эпидермиса от краев раны. Критерием оценки регенерации служили следующие гистологические показатели: степень отторжения струпа над регенерирующей поверхностью кожи, полнота эпителизации раневой поверхности, степень зрелости сформировавшейся грануляционной ткани по соотношению клеточных и волокнистых элементов [3, 5]. Исходя из вышеописанного, выраженность регенерации по группам распределялась следующим образом: олеогель > карбопол > солкосерил > контроль (без лечения). По-видимому, мазевые основы олеогель и карбопол, размягчая струп, ускоряют его отторжение. Это повышает биодоступность коллагеназы и способствует усиленной наружной оксигенации регенерирующей грануляционной ткани, что в целом ускоряет её созревание.

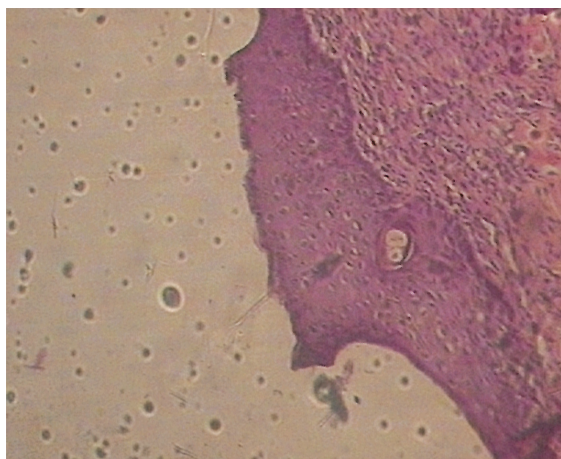


Рис. 7

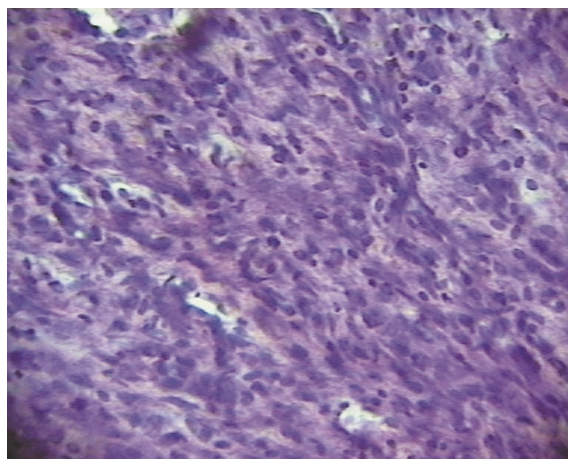


Рис. 8

Список литературы

1. Венгерович Н.Г. Патогенетическое обоснование применения биоактивных наноматериалов при раневом процессе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2011. – 22 с.
2. Маркович Н.А. Морфологическая оценка воздействия коллагеназы камчатского краба *Paralithodes camtschatica* на термический ожог в эксперименте // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1996. – Т.122, №7. – С. 97–100.
3. Улумбеков Э.Г. Гистология: учеб. для студ. мед. вузов / Э.Г. Улумбеков, Ю.А. Чебышев. – М.: ГОЭТАР-МЕД, 2001. – 960 с.
4. Фармацевтическая технология. Твёрдые лекарственные формы / К.В. Алексеев, С.А. Кедик, Е.В. Бlynская, Е.Е. Лазарева, Н.А. Уваров, В.К. Алексеев, Н.В. Тихонова; под ред. проф. С.А. Кедика. – М., 2011. – 662 с.
5. Хем, А. Гистология: пер. с англ. / А. Хем, Д. Кормак. – М.: Мир, 1983. – 246 с.

References

1. Vengerovich, N.G. Patogeneticheskoe obosnovanie primeneniya bioaktivnyh nanomaterialov pri ranevom processe: Avtoref. dis. kand. med. nauk / N.G. Vengerovich. Sankt-Peterburg, 2011. 22 p.

2. Markovich, N.A. Morfologicheskaya ocenka vozdeistviya kollagenazy kamchatskogo kraba *Paralithodes camtschatica* na termicheskii ozhog v eksperimente // Byulleten' eksperimental'noi biologii i mediciny. 1996. T.122, no.7, pp. 97–100.

3. Ulumbekov, E.G. Gistologiya: ucheb. dlya stud. med. vuzov / E.G. Ulumbekov, Yu.A. Chebyshev. M.: GOETAR-MED, 2001. 960 p.

4. Farmaceuticheskaya tehnologiya. Tverdye lekarstvennye formy pod red. prof. S.A. Kedika // Alekseev K. V., Kedik S.A., Blynskaya E.V., Lazareva E.E., Uvarov N.A., Alekseev V.K., Tihonova N.V. M., 2011. 662 p.

5. Hem, A. Gistologiya: per. s angl / A. Hem, D. Kormak. M.: Mir, 1983. 246 p.

Рецензенты:

Молчанов Г.И., д.ф.н., профессор кафедры «Социально-гуманитарные науки» филиала СКФУ, г. Пятигорск;

Андреева И.Н., д.ф.н., профессор кафедры «Туризм», ГОУ ВПО «Южно-Российский государственный университет экономики и сервиса» (Пятигорский филиал), г. Пятигорск.

Работа поступила в редакцию 24.08.2012.