

Влияние мази «Биофлорин» на морфогенез асептических кожных язв

Л.В.Яковлева, Ю.Б.Ларьяновская, О.В.Ткачева

Национальный фармацевтический университет, центральная научно-исследовательская лаборатория
Харьков, Украина

Морфологическая оценка влияния новой мази «Биофлорин» на заживление асептических кожных язв у крыс показала, что исследуемый препарат в сравнении с аналогом — мазью «Альгофин» проявил более выраженное ранозаживляющее действие, что позволяет рекомендовать его в клинической практике для лечения поверхностных ран кожи в первой и второй фазах раневого процесса.

Ключевые слова: альтерация, кожная язва, грануляция, мазь «Биофлорин», морфология.

ВВЕДЕНИЕ

Создание ранозаживляющих препаратов на основе природного сырья является одним из перспективных направлений современной фармакологии. Фитотерапия традиционно используется во всех развитых странах мира не только в народной, но и в научной медицине. К важным особенностям фитопрепаратов относят их комплексный характер действия, который определяется поликомпонентным составом биологически активных веществ. Поэтому они незаменимы при патологических состояниях, которые сопровождаются воспалительными процессами: альтерацией и экссудацией тканей, нагноением, интоксикацией.

Ценным источником биологически активных веществ природного происхождения является кора дуба, которую получают из широко произрастающего в Украине и России лекарственного растения — дуба обыкновенного и дуба скального семейства буковых (*Fagaceae*). Известно, что в коре дуба содержится около 10-20% дубильных веществ, 1,6% галловой и эллаговой кислот, 13-14% пентозанов, 6%

пектинов, кверцетин, сахар кверцит, углевод левулин, крахмал, слизь, флобафен [1]. Дубильные вещества представлены в основном галлотанинами — 10-20% и 0,4% составляют катехиновые танины [4, 7]. Широкий спектр фармакологической активности дубильных веществ: антимикробная, антиэкссудативная, мембраностабилизирующая, антиоксидантная, вяжущая — обусловил выделение из коры дуба экстракта коры дуба (ЭКД) и исследования спектра его фармакологической активности. Выявленная ранее антимикробная, антиэкссудативная, мембраностабилизирующая активность субстанции ЭКД, ее безвредность при токсикологических исследованиях явились предпосылкой для разработки и фармакологического изучения новой ранозаживляющей мази. Новая мазь, получившая название «Биофлорин», содержит в своем составе ЭКД, масло касторовое, масло кориандра, масло чайного дерева, полиэтиленоксидную мазевую основу. Поскольку основным действующим компонентом мази «Биофлорин» является ЭКД, стандартизацию мази «Биофлорин» проводят по содержанию полифенольных соединений в препарате в пересчете на танин.

Комплексная антимикробная, противовоспалительная и ранозаживляющая фармакологическая активность мази «Биофлорин» обусловила возможность изучения влияния препарата на заживление ран различного генеза на I и II фазах раневого процесса. По результатам доклинического изучения на моделях линейных резаных ран, асептической ожоговой травмы, контактного скипидарного дерматита лечебный эффект мази «Биофлорин» превысил эффективность препарата сравнения — мази «Альгофин», о чем свидетельствовала положительная динамика планиметрических, гематологических, биохимических и морфологических показателей. Результаты микробиологических исследований выявили чувствительность

ТАБЛИЦА 1

Полуколичественная оценка процесса заживления асептических кожных язв, баллы

Признаки	Период наблюдения, дни	Группа эксперимента, n=6		
		Контрольная патология	Мазь «Биофлорин»	Мазь «Альгофин»
Выраженность поверхностного лейкоцитарно-деструктивного слоя	6-й	2,25	0,75*/**	1,50
	11-й	1,75	1,00*/**	0,50
	15-й	1,25	0,50	0,75
	Сумма	5,25	2,25	2,75
Уровень зрелости грануляционно-фиброзной ткани	6-й	1,60	2,30*	2,00*
	11-й	1,65	2,50*/**	2,00
	15-й	2,00	2,85*	2,50
	Сумма	5,25	7,65	6,50
Скорость роста эпителия	6-й	0,20	1,05*	0,75*
	11-й	0,50	1,05	0,70
	15-й	0,50	1,80*	1,50*
	Сумма	1,20	3,90	2,95

Примечания: * — достоверность различий в сравнении с контрольной патологией $p < 0,05$; ** — достоверность различий в сравнении с препаратом сравнения $p < 0,05$.

к мази «Биофлорин» возбудителей: *P.mirabilis*, *S.aureus*, *S.mitis*, *K.pneumoniae*, *B.subtilis*, *E.coli*, *Paeruginosa*. Поскольку пусковым фактором воспалительного процесса является альтерация, целесообразным явилось изучение антиальтеративного действия препарата на модели асептической кожной язвы у крыс, вызванной подкожным введением 9% раствора уксусной кислоты [3].

Целью работы явилась морфологическая оценка динамики заживления асептических кожных язв под влиянием мази «Биофлорин» в сравнении с аналогом по фармакологическому действию и по составу природных компонентов — мазью «Альгофин».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфоструктуру асептических кожных язв у крыс, вызванных подкожным введением 0,9% раствора уксусной кислоты, изучали на 6-й, 11-й и 15-й дни после самопроизвольного вскрытия язвы. Лечение мазями начинали со дня вскрытия язвы. Для гистологического исследования иссекали участок язвенного дефекта вместе с прилегающими к нему областями «здоровой» кожи. Весь тканевой материал для светоптического исследования готовили по стандартным, принятым в морфологии методикам. Срезы для обзорной микроскопии окрашивали гематоксилином и эозином [5]. Полуколичественную оценку процесса заживления проводили по трем признакам: выраженности поверхностного лейкоцитарно-деструктивного слоя, уровня зрелости грануляционно-фиброзной ткани и скорости роста эпителия. Для оценки

использовали шкалу, согласно которой 0 баллов — отсутствие признака, 0,5 балла — очень слабый признак, 1 балл — слабый признак, 2 балла — умеренный признак, 3 балла — выраженный признак. Статистическую обработку полученных результатов проводили по методам непараметрического аналога однофакторного дисперсионного анализа (метод Крускала — Уоллиса) и Манна — Уитни [6]. Просмотр микропрепаратов проводили под микроскопом Micros 400, фотоснимки получали с помощью цифрового фотоаппарата COOLPIX Nikon-4500, обрабатывали на компьютере Pentium 2,4 GHz с помощью программы Nikon View 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали проведенные исследования, у интактных крыс кожный биоптат соответствовал норме (рис. 1а). Подкожное введение 0,9% раствора уксусной кислоты вызывало у крыс глубокие язвы, которые самопроизвольно вскрылись на 6-й день эксперимента. Микроскопически на 6-й день после самопроизвольного вскрытия у всех крыс из группы контрольной патологии определяли открытый дефект кожи, в котором различали сукровично-некротичную корочку, верхний лейкоцитарно-детритный и более глубоко лежащий грануляционно-фиброзный слой. Новообразованная ткань в дефекте (в зависимости от локализации относительно его дна) имела разную степень зрелости, в среднем соответствовавшую 1,6 балла (табл. 1). Признаки эпителизации поверхности дефекта либо отсутствовали, либо были очень слабыми (0,2 балла). В погранич-

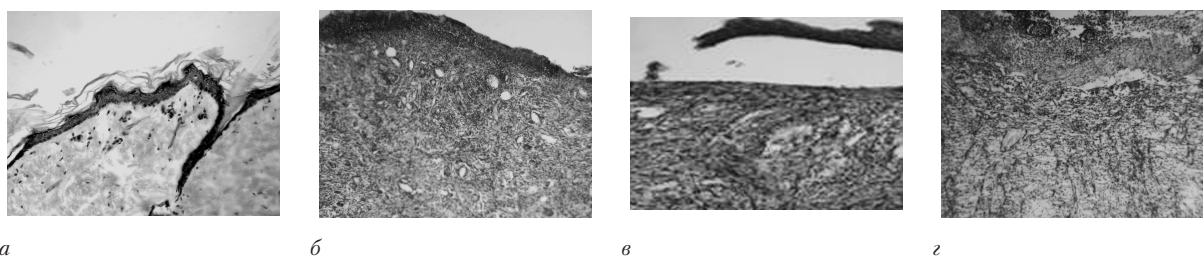


Рис. 1. Микрофотографии морфологической картины биоптата: а — кожа интактной крысы; б — контрольная патология на 6-й день после самопроизвольного вскрытия: грануляционная ткань умеренной зрелости с очагами нагноения; в — лечение мазью «Биофлорин»: эпителиальный клин прикрывает грануляцию с выраженной пролиферацией фибробластов; г — лечение мазью «Альгофин»: выраженный некротично-деструктивный поверхностный слой, грануляционная ткань богата клетками и сосудами. Гематоксилин-эозин. х 100.

ных с дефектом участках кожи, а также в подлежащей к дефекту мышечной ткани имели место воспалительные изменения разной степени выраженности (вплоть до флегмонозного), деструкция структурных элементов (рис. 1б).

Применение в течение 6 дней мази «Биофлорин» способствовало уменьшению размера дефекта у 60% животных. Хорошо прослеживалась контракция. В отличие от контрольной патологии, деструктивная зона в дефекте в достаточной мере сужена. В грануляционно-фиброзной ткани, заполнившей дефект, более выражена фиброзная составляющая (2,3 балла). Прогрессировали процессы эпителизации, снижена воспалительная реакция в пограничных и подлежащих к дефекту зонах (рис. 1в).

Препарат сравнения — мазь «Альгофин» — после 6 дней лечения в меньшей степени влиял на интенсивность очищения поверхностных зон дефекта от некротично-деструктивных остатков. В новообразованной ткани превалировала грануляционная составляющая (2,0 балла). Скорость эпителизации дефекта не превышала 0,75 балла (табл. 1). В пограничных к дефекту участках кожи и подлежащей к нему подкожно-жировой ткани сохранялась или ва-

рибировала в значительных пределах воспалительная реакция. Контракция была умеренная (рис. 1г).

На 11-й день после вскрытия язвы размер кожного дефекта у крыс в группе контрольной патологии оставался достаточно большим и глубоким. Контракция слабая. Дефект не очищен от поверхностных некротических остатков. В грануляционно-фиброзной ткани в 50% случаев отсутствовало четкое разделение зон, степень зрелости и скорость эпителизации ткани оставались практически на прежнем уровне и соответствовали 1,65 и 0,5 балла (табл. 1), сохранялись явления воспаления в подлежащих ко дну дефекта тканях (рис. 2а).

Через 11 дней применения мази «Биофлорин» наблюдали значительное очищение поверхности дефекта от некротических масс, сокращение его размеров сравнительно с контрольной патологией, полное исчезновение воспалительных проявлений в подлежащей к дефекту подкожно-жировой и мышечной ткани у подавляющего большинства животных. Краевые и донные зоны дефекта имели выраженный волокнистый характер. Контракция была хорошо выражена. В то же время темпы эпителиза-

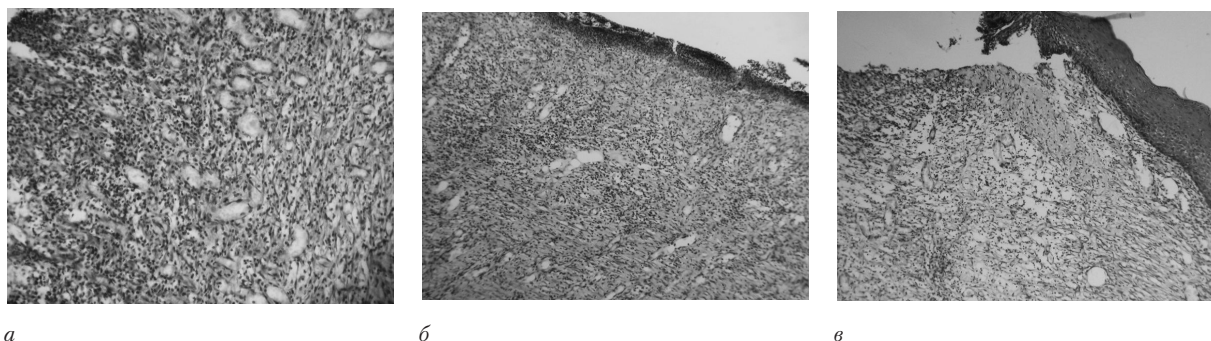


Рис. 2. Микрофотографии морфологической картины биоптата: а — контрольная патология на 11-й день после самопроизвольного вскрытия: весьма умеренная по степени зрелости грануляционная ткань; б — лечение мазью «Биофлорин»: грануляционно-фиброзная ткань центральной зоны дефекта без выраженных темпов реорганизации; в — лечение мазью «Альгофин»: умеренная краевая эпителизация, грануляционно-фиброзная ткань центральной зоны дефекта умеренной зрелости. Гематоксилин-эозин. х 100.



Рис. 3. Микрофотографии морфологической картины биоптата: а — контрольная патология на 15-й день после самопроизвольного вскрытия язвы: грануляционно-фиброзная ткань с различными по степени зрелости зонами; б — лечение мазью «Биофлорин»: эпителизация поверхности дефекта, степень зрелости новообразованной ткани варьирует; в — лечение мазью «Альгофин»: поверхность дефекта неэпителизована, грануляционная ткань в верхней зоне незрелого типа. Гематоксилин-эозин. х 100.

ции поверхности оставшегося дефекта и реорганизация грануляции в нем были умеренными (соответственно 1,05 и 2,5 балла) (рис. 2б).

Эффект воздействия препарата сравнения — мази «Альгофин» — на 11-й день применения способствовал значительному улучшению состояния язвенного дефекта у 30% животных. У остальных животных в дефекте имел место поверхностно-деструктивный слой, замедленный темп эпителизации поверхности, сохранены воспалительные проявления в подлежащей к дефекту подкожно-жировой и мышечной ткани (рис. 2в). Контракция была умеренная. В среднем по группе уровень зрелости новообразованной ткани соответствовал 2 баллам, а скорость эпителизации — 0,75 балла (табл. 1).

На 15-й день после самопроизвольного вскрытия язвенный дефект у крыс из группы контрольной патологии, несмотря на определенное уменьшение размера (благодаря усилению контракции), был заполнен грануляциями, степень зрелости которых была еще умеренной — 2 балла (рис. 3а). Темпы эпителизации поверхности оставались слабыми — 0,5 балла (табл. 1).

В этот же период у большинства крыс, леченных мазью «Биофлорин», значительно увеличивалась эпителизация поверхности дефекта (1,8 балла), а сам дефект заметно был уменьшен по глубине (рис. 3б). Четко прослеживалась контракция. Относительно незрелой оставалась только самая центральная зона дефекта. В среднем по группе новообразованная ткань оценивалась в 2,85 балла (табл. 1).

В состоянии кожных дефектов после 15 дней лечения мазью «Альгофин» была отмечена значительная вариабельность. Соответс-

твенно степень зрелости грануляционно-фиброзной ткани, заполнившей дефект у разных крыс, а также скорость эпителизации поверхности дефекта были очень разными (рис. 3в). В целом по группе они составляли 2,5 и 1,5 балла соответственно (табл. 1).

Таким образом, анализ всех полученных результатов позволил сделать следующие обобщения. Спустя 6, 11 и 15 дней после самопроизвольного вскрытия подкожных укусно-кислых язв в группе контрольной патологии активного спонтанного заживления не происходило. Мази «Биофлорин» и «Альгофин» оказывали положительное влияние на процесс заживления язвенных дефектов у крыс. Под влиянием мази «Биофлорин» у крыс уровень зрелости грануляционно-фиброзной ткани, заполнившей дефект, во все сроки наблюдения был достоверно большим по сравнению с контрольной патологией (в среднем на 45,7%), а на 11-й день наблюдения достоверно превышал уровень препарата сравнения мази «Альгофин». В целом уровень зрелости грануляций после лечения мазью «Биофлорин» в 1,25 раза выше, чем после лечения мазью «Альгофин».

Очевидно, наличие более зрелых грануляций увеличивало силу контракции [2], в результате в значительной мере сокращался язвенный дефект. Наличие в дефекте более зрелой грануляционной ткани оказывало стимулирующее влияние на рост эпителия, скорость роста которого достоверно превышала контрольный показатель на 6-й и 15-й дни эксперимента. Под влиянием мази «Биофлорин» быстрее очищалась язва от гнойно-некротического детрита (в 2,33 раза), а скорость очищения достоверно превышала скорость контрольной патологии

и препарата сравнения на 6-й и 11-й дни исследования.

Под влиянием мази «Альгофин» перечисленные выше аналогичные показатели также улучшились. В то же время уровень зрелости грануляционно-фиброзной ткани достоверно отличался от контрольного уровня только на 6-й день эксперимента и в среднем превышал этот показатель в контроле только на 23%. Скорость эпителизации достоверно увеличилась по отношению к контрольной патологии в первый и последний дни тестирования (в целом в 2,45 раза).

Таким образом, по влиянию на динамику морфологических показателей активность мази «Биофлорин» проявила тенденцию к превосхождению активности референс-препарата.

ВЫВОДЫ

1. Мазь «Биофлорин» проявила выраженное ранозаживляющее действие на модели асептической кожной язвы у крыс.

2. По влиянию на динамику морфологических показателей мазь «Биофлорин» превысила активность препарата сравнения — мази «Альгофин».

ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / Под ред. П.С.Чичикова. — М.: Картография, 1983. — 340 с.
2. Воспаление: Руководство для врачей / Под ред. В.В.Серова, В.С.Паукова. — М.: Медицина, 1995. — 640 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації. За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. — Київ, 2001. — С. 139-152.
4. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Під ред. А.М.Гродзинського. К.: Голов. ред. УРЕ, 1989. — 554 с.
5. Меркулов Г.А. Курс палогогистологической техники. — М.: Медицина, Ленинградское отд-е, 1969. — 424 с.
6. Салимов Р.М. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов / В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2000. — С. 349-454.
7. Herbal Drugs and Phytopharmaceutics / Edited and translated from the second German edition by Norman Grainger Bisset. Stuttgart: Medpharm. 1994. — 566 p.

Л.В.Яковлева, Ю.Б.Лар'яновська, О.В.Ткачова. Вплив мазі «Біофлорин» на морфогенез асептичних шкірних виразок. Харків, Україна.

Ключові слова: альтерація, шкірна виразка, грануляція, мазь «Біофлорин», морфологія.

Морфологічна оцінка впливу нової мазі «Біофлорин» на загоєння асептичних шкірних виразок у щурів показала, що досліджуваний препарат у порівнянні з аналогом — маззю «Альгофін» проявив більш виразну ранозагоєвальну дію, що дозволяє рекомендувати його в клінічній практиці для лікування поверхневих ран шкіри в першій та другій фазах ранового процесу.

L. V. Yakovleva, Yu. B. Laryanovskaya, O. V. Tkacheva. Influence of unguentum Bioflorin on morphogenesis of aseptics skin ulcers. Kharkiv, Ukraine.

Key words: alteration, skin ulcer, granulation, ointment «Bioflorin», morphology.

The lead morphological estimation of influence of new unguent «Bioflorin» on healing aseptics skin ulcers at rats has shown, that the researched preparation in comparison with analogue — unguent «Algofin» has shown more expressed reparation action that allows to recommend it in clinical practice of treatment of superficial wounds of a leather in the first and second phases inflammatory process.

Надійшла до редакції 16.02.2009 р.