

Л. П. ЛЕЖНЕВА¹, А. М. ТЕМИРБУЛАТОВА², Э. Ф. СТЕПАНОВА¹, Д. В. ВЕСЕЛОВА³

ДИНАМИКА РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МАЗЬЮ С СУХИМ ЭКСТРАКТОМ ЛАПЧАТКИ

¹Кафедра фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии и ²кафедра биологии и физиологии с курсами биохимии и микробиологии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, пр. Калинина, 11, г. Пятигорск, Россия, 357532.

³Кафедра общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, ул. Седина, 4, Россия, г. Краснодар, 350063.

АННОТАЦИЯ

Цель. Оценка влияния мази с сухим экстрактом лапчатки на динамику процесса заживления полнослойной кожной раны.

Материалы и методы. Оценка ранозаживляющей активности предлагаемой лекарственной формы проводили на белых крысах линии Вистар.

Критерием оценки эффективности ранозаживляющего средства являлись результаты макроскопических исследований (площадь раневого дефекта, состояние струпа, наличие кровоизлияния под ним, степень выраженности воспалительных процессов в подлежащих тканях, включая глубоко расположенные тканевые структуры, вплоть до мышечных элементов) и результаты гистологического изучения. В процессе эксперимента животные были разделены на 4 группы: основная (лечение мазью с лапчатки экстрактом сухим), контрольная № 1 (лечение мазевой основой), контрольная № 2 (без лечения), контрольная № 3 (лечение препаратом «Хлорофиллипт»).

Результаты. Результаты проведенных макроскопических и гистологических исследований позволили заключить, что процесс ранозаживления при лечении мазью с лапчатки экстрактом сухим имел ряд особенностей. Предлагаемая лекарственная форма усиливала регенерацию многослойного плоского эпителия, ускоряла созревание грануляционной ткани, устраняла воспалительные явления, инфильтрацию уже в первые дни лечения, что привело к значительному сокращению сроков заживления при её применении (15-18 дней). У животных контрольных групп № 1 и № 2 описанные процессы происходили значительно медленнее, а воспалительная инфильтрация сохранялась почти на протяжении всего срока эксперимента. Заживление раневой поверхности отмечалось на 27-30-й день. Много общего отмечено в механизме и сроках ранозаживления при лечении мазью с лапчатки экстрактом сухим и препаратом сравнения «Хлорофиллипт».

Заключение. Мазь с сухим экстрактом лапчатки значительно ускоряет процесс заживления полнослойных кожных ран.

Ключевые слова: мазь, сухой экстракт лапчатки, гистологические исследования, ранозаживление, кожная рана

Для цитирования: Лежнева Л.П., Темирбулатова А.М., Степанова Э.Ф., Веселова Д.В. Динамика ранозаживления при лечении мазью с сухим экстрактом лапчатки. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2018; 25(6): 105-109. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-6-105-109

For citation: Lezhneva L.P., Temirbulatova A.M., Stepanova E.F., Veselova D.V. The dynamics of wound healing in the treatment with the ointment with a dry extract of potentilla. *Kubanskiy nauchnyj medicinskiy vestnik*. 2018; 25(6): 105-109. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-6-105-109

L. P. LEZHNEVA¹, A. M. TEMIRBULATOVA², E. F. STEPANOVA¹, D. V. VESELOVA³

THE DYNAMICS OF WOUND HEALING IN THE TREATMENT WITH THE OINTMENT WITH A DRY EXTRACT OF POTENTILLA

¹Department of pharmaceutical technology with the course of medical biotechnology and ²department of biology and physiology with courses in biochemistry and microbiology Medical Pharmaceutical Institute of Pyatigorsk branch of the Medical State University of Volgograd, Kalinina str., 11, Pyatigorsk, Russia, 357532.

³Department of public health and history of medicine of the Kuban state medical University of Minzdrav of Russia, Sedina str., 4, Krasnodar, 350063.

ABSTRACT

Aim. The study was designed for the evaluation of the effect of ointments with dry extracts of potentilla on the dynamics of the healing process of full-thickness skin wounds.

Materials and methods. The wound healing activity estimation of the proposed dosage form was conducted on white Wistar rats. The results of macroscopic studies (the area of the wound defect, the state of the scab, the presence of hemorrhage beneath it, the degree of inflammatory processes in the underlying tissues, including deeply located tissue structures, up to the muscle elements) and the results of histological examination were the criterion for evaluating the effectiveness of the wound healing agent. In the course of the experiment, the animals were divided into 4 groups: the main group (treatment with the ointment with a dry extract of potentilla), control group No. 1 (treatment with the ointment base), control group No. 2 (without treatment), and control group No. 3 (treatment with the «Chlorophyllipt» drug.

Results. The results of the macroscopic and histological studies made it possible to conclude that the wound healing process in the treatment with the ointment with a dry extract of potentilla had a number of features. The proposed dosage form enhanced the regeneration of the multilayered squamous epithelium, accelerated the maturation of the granulation tissue, and eliminated the inflammation and infiltration in the first days of treatment, which led to a significant reduction in the healing time when it was applied (15-18 days). In the animals of the control groups No. 1 and No. 2, the described processes occurred much more slowly, and inflammatory infiltration persisted almost throughout the entire experiment. The wound surface was healed on the 27-30th day. A lot of common features were noted in the mechanism and timing of wound healing in the treatment with the ointment with a dry extract of potentilla and a reference preparation – «Chlorophyllipt».

Conclusion. The ointment with a dry extract of potentilla significantly speeds up the healing process of full-thickness skin wounds.

Keywords: ointment, dry extract of potentilla, histological studies, wound healing, cutaneous wound

Введение

В российском здравоохранении большое внимание уделяется поиску новых высокоэффективных препаратов для лечения ран различного происхождения. Особый интерес в этом плане представляют изучение богатейшей флоры нашей страны и обоснование опыта народной медицины. Объектом нашего исследования выступила лапчатка прямая, корневища и корни которой содержат не менее 6% дубильных веществ. Нами была разработана технологическая схема получения лапчатки экстракта сухого, включающего не менее 25% дубильных соединений. Учитывая регенерирующие и антимикробные свойства указанных веществ, проведены биофармацевтические исследования по определению состава и технологии мази для лечения ран. Предложена лекарственная форма, содержащая: лапчатки экстракт сухой – 6 г; ПЭО-400 – 35 г; карбопол – 3 г; нипагин – 0,3 г; воду очищенную – до 100 г.

Цель исследования: состояла в оценке влияния мази с сухим экстрактом лапчатки на динамику процесса ранозаживления.

Материалы и методы

Оценку ранозаживляющей активности предлагаемой лекарственной формы проводили на белых крысах линии Вистар – самцах весом 200-250 г в количестве 40 особей. Полнослойную кожную рану воспроизводили через два дня после эпиляции шерсти животных с помощью специального устройства, представляющего собой щипцы с насадкой, обеспечивающей получение раневых дефектов с одинаковой первоначальной площадью – $400 \pm 0,6$ мм². В качестве средства для наркоза применяли внутримышечную инъекцию золетила. Площадь экспериментальной раны измеряли с размером используемых в исследованиях животных.

Критерием оценки эффективности препарата как ранозаживляющего средства являлись результаты макроскопических исследований (площадь

раневого дефекта, состояние струпа, наличие кровоизлияния под ним, степень выраженности воспалительных процессов в подлежащих тканях, включая глубоко расположенные тканевые структуры, вплоть до мышечных элементов) и гистологического изучения [1, 2].

Для проведения гистологических исследований животных забивали декапитацией. Вырезали участки кожи, содержащие раневой дефект, и прилегающую неповрежденную кожу вместе с подкожной клетчаткой. Кусочки кожи фиксировали двумя способами: в 10%-ном растворе формалина и в фиксаторе Шабадаша. Проводили обезвоживание в спиртах восходящей концентрации и заключали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином, по Шиффу, по Ван-Гизону.

Макроскопические и гистологические исследования проводили через каждые три дня с начала эксперимента и до заживления.

Результаты и обсуждение

В процессе эксперимента животные были разделены на четыре группы: основная (лечение мазью с сухим экстрактом лапчатки), контрольная № 1 (лечение мазевой основой), контрольная № 2 (без лечения), контрольная № 3 (лечение растительным препаратом «Хлорофиллипт», обладающим антимикробным и ранозаживляющим действием) [3, 4].

Учитывая, что исследуемая мазь представляет собой недозированную лекарственную форму на основе фитопрепарата, ее наносили ежедневно на поверхность раневого дефекта толстым слоем с помощью стерильной пластмассовой лопаточки.

Определение площади раневой поверхности также проводили ежедневно с помощью специального устройства, представляющего собой пластиковую линейку с ручкой.

На рисунке 1 отражена динамика ранозаживления при лечении мазью с сухим экстрактом лапчатки.

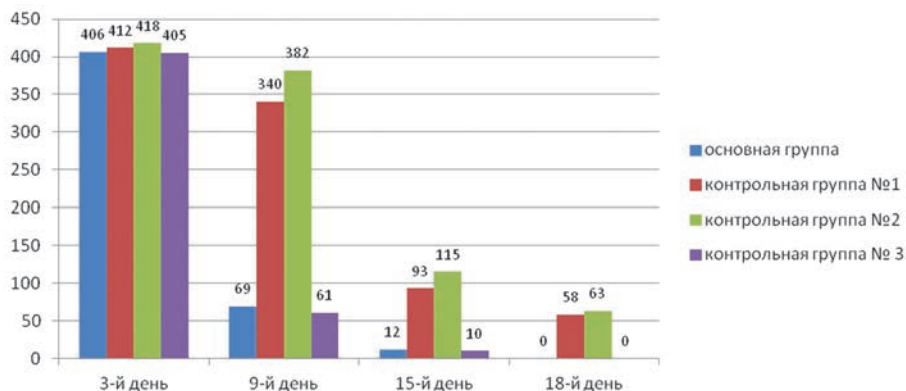


Рис. 1. Динамика ранозаживления при лечении мазью с сухим экстрактом лапчатки.

Fig. 1. The dynamics of wound healing in the treatment with the ointment with a dry extract of potentilla.

Третий день лечения

Макрокартинка. Во всех четырех группах животных наблюдали увеличение площади раневого дефекта в сравнении с первоначальной. В основной группе площадь раны составляла $406 \pm 0,5$ мм², струп был эластичный, при незначительном физическом воздействии отделялся, а под ним наблюдали незначительное кровоизлияние. В контрольной группе № 1 площадь раны $412 \pm 0,6$ мм². Струп более плотный, участок поврежденной ткани менее подвижный, отмечено уплотнение мышечной ткани, а при пальпации появились гнойные массы. В контрольной группе № 2 площадь раны $418 \pm 0,6$ мм², наблюдали жесткий струп, в глубоких тканях (включая мышцы) кровоизлияние и скопление гнойных масс. В контрольной группе № 3 площадь раневого дефекта $405 \pm 0,5$ мм². Струп мягкий, легко отторгающийся.

Гистологические исследования. В основной группе животных по периферии наблюдали рост многослойного плоского эпителия. Грануляционная ткань, образующая дно раневого дефекта, была разрыхлена, богата кровеносными элементами, отдельные из которых резко расширены и полнокровны [5]. В молодой грануляционной ткани обнаруживались фибробласты. Отмечена слабая воспалительная инфильтрация (рис. 2).



Рис. 2. Дно раневого дефекта в основной группе животных.

Fig. 2. The bottom of the wound defect in the main group of animals.

В контрольной группе № 1 раневой дефект был покрыт струпом, состоящим из фибринозных масс. На границе с грануляционной тканью отмечалась лейкоцитарная (нейтрофильная и сегментоядерная) инфильтрация. В подлежащих тканях наблюдали расширенные полнокровные сосуды, в глубоких участках дна раны были выражены отек и разрыхление.

В контрольной группе № 2 струп представлен резко утолщенной гомогенной, слабоструктурной массой с наличием осколков ядерных субстанций. В глубоких слоях на границе с демаркационной зоной велико количество клеточных элементов и нейтрофильных лейкоцитов, многие из которых в состоянии распада. Отмечен резко выраженный отек до мышечных элементов.

В контрольной группе № 3 на отдельных участках раневой поверхности наблюдали интенсивный рост многослойного плоского эпителия под струпом. Отмечено формирование молодой грануляционной ткани.

Девятый день лечения

Макрокартинка. В основной группе животных раневой дефект занимал площадь $69 \pm 0,4$ мм². Струп частично отделен, под ним обнаруживалась розовая поверхность с мелкими очаговыми кровоизлияниями. В контрольной группе № 1 раневая поверхность сохраняла большой размер – $340 \pm 0,6$ мм². Струп спаян с подлежащими тканями, а при отделении отмечено значительное кровоизлияние. В контрольной группе № 2 раневой дефект площадью $382 \pm 0,6$ мм² был покрыт плотным струпом. По краю отмечена валикообразная приподнятость. В контрольной группе № 3 рана имела площадь $61 \pm 0,3$ мм² и была частично покрыта тонким струпом [6].

Гистологические исследования. В основной группе отчетливо прослеживался процесс эпителизации. Многослойный плоский эпителий по краю раны утолщен. Без четкой границы он истончался и в виде узкой полоски проникал под струп. Под эпителием выражена зрелая грануляционная ткань, богатая кровеносными сосудами. Коллагеновые волокна умеренно разрыхлены (рис. 3).

В контрольной группе № 1 участок эпителизации значительно меньше, чем в основной группе. Грануляционная ткань резко васкуляризирована,



Рис. 3. Раневой дефект покрыт пластом многослойного плоского эпителия. Дно раны сформировано зрелой грануляционной тканью.

Fig. 3. The wound defect is covered with a layer of multilayered squamous epithelium. The bottom of the wound is formed by a mature granulation tissue.

среди ее элементов преобладали фибробласты и расширенные сосуды капиллярного типа.

В контрольной группе № 2 отмечен слабый процесс эпителизации. Молодая грануляционная ткань насыщена полнокровными сосудами, лимфо-лейкоцитарными элементами. В глубоких участках дна раны выражена воспалительная инфильтрация.

В контрольной группе № 3 происходил активный процесс эпидермизации. Концы эпителиальных клиньев смыкались и сливались в многослойный клеточный пласт. Прослеживалась зрелая грануляционная ткань.

Пятнадцатый день лечения

Макрокартинка. В основной группе на месте раневой травмы отмечен вытянутый рубец размером $12 \pm 0,3$ мм. Поверхность розовая, по периферии наблюдался рост волос (восстановление шерстистости). В контрольной группе № 1 струп был сохранен на площади $93 \pm 0,4$ мм², под ним отмечалось кровоизлияние. В контрольной группе № 2 площадь раневого дефекта составляла $115 \pm 0,6$ мм². При отделении струпа рана кровоточила. В контрольной группе № 3 на месте раны прослеживался рубец размером $10 \pm 0,3$ мм. Отмечено начало восстановления шерстистости.

Гистологические исследования. В основной группе животных на месте раневого дефекта наблюдали эпидермальный пласт, а под ним грубоволокнистую соединительную ткань. В глубоких участках ткани выявлялись многочисленные фокусы формирования волосяных фолликулов, которые представлены концентрически расположенными клетками с крупными ядрами (рис. 4).

В контрольной группе № 1 под струпом определялась резко васкуляризованная, созревающая грануляционная ткань, содержащая лимфоидные клетки, фибробласты. Сосуды расширены, ориентация их вертикальная.

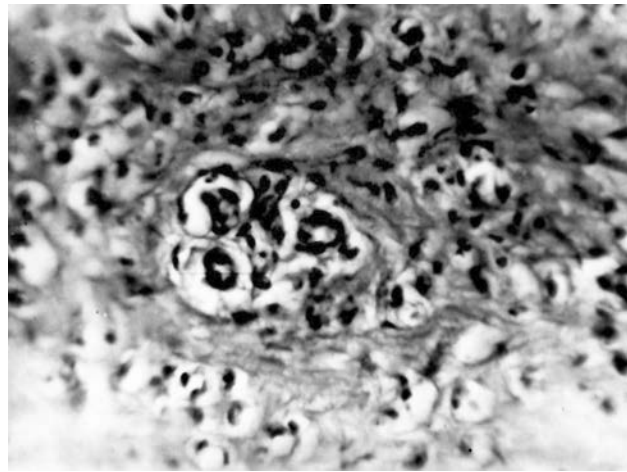


Рис. 4. В основной группе отмечено формирование волосяных фолликулов.

Fig. 4. The formation of hair follicles was noted in the main group.

В контрольной группе № 2 по краю раневого дефекта выявлено резкое утолщение многочисленного эпителия с явлением кератинизации.

Грануляционная ткань молодая, разрыхленная, отечная. Волокнистые структуры очень тонкие, с фибропластическими клетками.

В контрольной группе № 3 эпидермальный пласт представлен несколькими слоями клеток. Соединительная ткань зрелая, со значительным количеством сформированных сосудов. Отмечено формирование волосяных фолликулов.

Восемнадцатый день лечения

Макрокартинка. В основной группе животных раневой дефект не определялся. На его месте отмечено восстановление шерстистости. В контрольной группе № 1 раневая поверхность составляла $58 \pm 0,4$ мм², присутствовало кровоизлияние. В контрольной группе № 2 рана имела площадь $63 \pm 0,4$ мм². В контрольной группе № 3 раневой дефект не определялся.

Гистологические исследования. В основной группе на месте раневой поверхности отчетливо выражены эпидермизация и восстановление элементов собственно кожи (волосяные фолликулы, сальные железы). Дерма образована плотно расположенными коллагеновыми волокнами (рис. 5).

В контрольной группе № 1 процесс эпидермизации выражен слабо. Отмечена резко васкуляризованная грануляционная ткань. В более глубоких слоях она грубоволокнистая, с умеренным количеством фибробластов.

В контрольной группе № 2 раневая поверхность покрыта тонким эпидермальным слоем. Разрыхленная, отечная грануляционная ткань в стадии созревания.

В контрольной группе № 3 прослеживался сплошной эпидермальный пласт. Отмечена базальная мембрана, подтверждающая восстановление функциональной взаимосвязи между эпидермисом и тканевыми элементами собственно

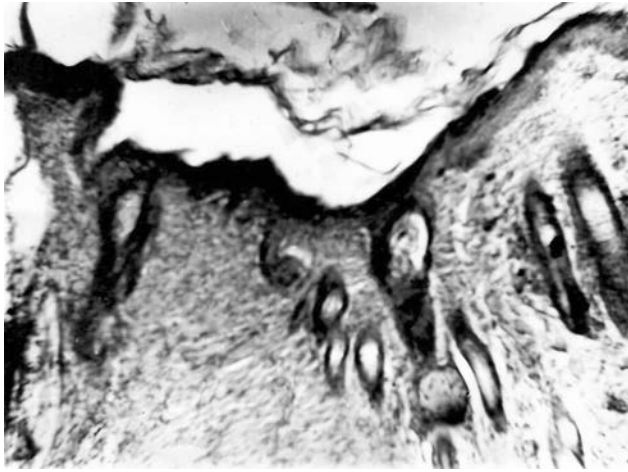


Рис. 5. Основная группа животных. Эпителизация раневого дефекта. Восстановление шерстистости.

Fig. 5. The main group of animals. Epithelization of the wound defect. Restoration of wooliness.

кожи. Соединительная ткань зрелая. Над поверхностью видны стержни волос [8, 7].

Заклучение

Результаты проведенных макроскопических и гистологических исследований позволили заключить, что процесс восстановления раневого дефекта при лечении мазью с лапчатки экстрактом сухим имел ряд особенностей.

Предлагаемая лекарственная форма усиливала регенерацию многослойного плоского эпителия, ускоряла созревание грануляционной ткани, устраняла воспалительные явления, инфильтрацию уже в первые дни лечения, что привело к значительному сокращению сроков заживления при ее применении (15-18 дней). У животных контрольных групп № 1 и № 2 (лечение мазевой основой и без лечения) описанные процессы происходили значительно медленнее, а воспалительная инфильтрация сохранялась почти на протяжении всего срока эксперимента. Заживление раневой поверхности отмечалось на 27-30-й день. Много общего отмечено в механизме и сроках ранозаживления при лечении мазью с лапчатки экстрактом сухим и препаратом сравнения «Хлорофиллипт».

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гужва Н.Н., Пшуков Ю. Г., Колпак А. М., Домунян А. М., Ващенко Г. Н. *Изучение антимикробной активности суммарных субстанций астрагалов эспарцетного и нутового*. Материалы 49-й регион. конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров Пятигор. фармац. ин-та. Пятигорск; 1994. 164 с. [Guzhva N.N., Pshukov Yu.G., Kolpak A.M., Domunyan A.M., Vashchenko G.N. *Izuchenie antimikrobnj aktivnosti summarnykh substancij astragalov ehsparcetnogo i nutovogo*. Materialy 49-j re-

gion, konf. po farmacii, farmakologii i podgotovke kadrov Pyatigor. farmac. in-ta. Pyatigorsk. 1994: 164. (In Russ.).]

2. Лежнева Л.П., Хаджиева З.Д., Темирбулатова А.М. Технологический поиск оптимальной композиции геля на основе фитокомплексов крапивы двудомной. *Науч. вестн. Белгородского гос. университета. Медицина. Фармация*. Март. 2017; 5 (37): 129-133. [Lezhneva L.P., Hadzhieva Z.D., Temirbulatova A.M. *Tekhnologicheskij poisk optimal'noj kompozicii gelya na osnove fitokompleksov krapivy dvudomnoj*. *Nauch.vedom. Belgorodskogo gos. universiteta. Medicina. Farmaciya*. Mart. 2017; 5 (37): 129-133. (In Russ.).]

3. Лежнева Л.П., Темирбулатова А.М. Биофармацевтические исследования по установлению концентрации фитокомплексов в составе наружных лекарственных форм. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. Пятигорский медико-фармацевтический институт*. Пятигорск. 2015; 69: 133-135. [Lezhneva L.P., Temirbulatova A.M. *Biofarmaceuticheskie issledovaniya po ustanovleniyu koncentracii fitokompleksov v sostave naruzhnykh lekarstvennyh form*. *Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmacevticheskij institut*. Pyatigorsk. 2015; 69: 133-135. (In Russ.).]

4. Луцевич О.Э., Тамразова О.Б., Шикунова А.Ю., Плешков А.С., Исмаилов Г.И.-О.,

5. Воротилов Ю.В., Толстых П.И. Современный взгляд на патофизиологию и лечение гнойных ран. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2011; 5: 72-77. [Lutsevich O. E., Tamrazova O.B., Shikunova A.Yu., Pleshkov A.S., Ismailov G.I.-O., Vorotilov V.Yu., Tolstykh P.I. *Sovremennyy vzglyad na patofiziologiyu i lechenie gnojnyh ran*. *Hirurgiya. Zhurnal im. N. I. Pirogova*. 2011; 5: 72-77. (In Russ.).]

6. Жукова О.В., Потехаев Н.Н., Стенько А.Г., Бурдина А.А. Патогенез и гистоморфологические особенности рубцовых изменений кожи. *Клиническая дерматология и венерология*. 2009; 3: 4-9. [Zhukova O.V., Potekhaev N.N., Stenko A.G., Burdina A.A. *Pathogenesis and histomorphological characteristics of cicatricial lesions of the skin*. *Clinical dermatology and venerology*. 2009; 3: 4-9. (In Russ., English abstract)].

7. Шафранов В.В., Короткий Н.Г., Таганов А.В., Борхунова Е.Н. Келоидные и гипертрофические рубцы: клинко-морфологические параллели. *Детская хирургия*. 1998; 4: 30-34. [Shafranov V.V., Korotkiy N.G., Taganov A.V., Borkhunova E.N. *Keloidnye i gipertroficheskie rubtsy: kliniko-morfologicheskie paralleli*. *Detskaya khirurgiya*, 1998; 4: 30-34. (In Russ.).]

8. Кузин М.И., Костюченко Б.М. *Раны и раневая инфекция. Руководство для врачей*. М., 1990. 688 с. [Kuzin M.I., Kostyuchenok B.M. *Rany i ranevaya infektsiya. Rukovodstvo dlya vrachej*. 1990: 688. (In Russ.).]

9. Гармаев Б.-Ц.Н., Хитрихеев В.Е., Бальхаев М.И., Николаева И.Г. Мягкие формы *Pentaphylloides fruticosa L.* при раневом повреждении у белых крыс. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; 5: 11. [Garmaev B.-Ts.N., Khitrikheev V.E., Baljhaev M.I., Nikolaeva I.G. *Soft forms of Pentaphylloides fruticosa L. in wound injuries in white rats*. *Modern problems of science and education*. 2016; 5: 11. (In Russ., English abstract)].

Поступила / Received 17.10.2018

Принята в печать / Accepted 22.11.2018

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Веселова Дарья Валерьевна; тел.: 8(918) 957-06-70; e-mail: d_veselova@mail.ru;

Россия, 350002, г. Краснодар, пер. Константиновский, 24.

Corresponding author: Daria V. Veselova; tel.: 8(918) 957-06-70; e-mail: d_veselova@mail.ru; 24, Konstantinovskiy str., Krasnodar, Russia, 350002.