

УДК 616-001,17 + 616,5+ 616-091,8

ДЕЙСТВИЕ МАЗИ ДЕРМАФЕН НА РЕГЕНЕРАТОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ КОЖИ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТЕРМИЧЕСКОГО ОЖОГА

Булоян С.А.

*Научно технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА, Ереван,
e-mail: sonabuloyan@gmail.com*

Исследованы и выявлены регенеративные свойства новой лекарственной мази «Дермафен» при экспериментальном термическом ожоге. Установлено, что Дермафен, в состав которого входят как активное вещество 5 % 6-(1-фенилциклопентил-1- карбамида) натриевая соль полусинтетического пенициллина (фетциллин) и известное в медицине болеутоляющее средство анестезин, обладает выраженной регенеративной активностью. При местных ожогах II – III степени при обработке пораженного участка «Дермафеном» в кратчайшие сроки происходит полное восстановление всех клеточных элементов эпидермальной и дермальной тканей, вплоть до полного восстановления волосяного покрова кожи у белых крыс. Макрофотографические, планиметрические и гистологические данные доказывают, что своей регенеративной активностью «Дермафен» намного опережает применяющийся в медицинской практике противоожоговую мазь «Левомеколь».

Ключевые слова: термический ожог, кожа, мази, регенерация, патогистология

THE ACTION OF OINTMENT «DERMAFEN» ON REGENERATION PROCESSES OF SKIN AFTER THERMAL BURN IN RATS

Bulojan S.A.

*Scientific technological center of organic and pharmaceutical chemistry NAS RA, Yerevan,
e-mail: sonabuloyan@gmail.com*

The regenerative properties of the new medical ointment «Dermafen» are revealed and studied. It is established that Dermafen contained as an active substance 5 % of 6-(1- phenylcyclopentyl -1- carbamide)-sodium salt of semi-synthetic penicillin (fetsilin) and well-known in medicine anesthetic benzocaine, has a pronounced regenerative activity. The results of histological and planimetric studies showed, that compared with Levomekol application of Dermafen after II-III degree burn significantly improved regenerative processes in the skin leading to full reepithelialization and recovery of dermal layer with hair follicles and other glands in the shortest time.

Keywords: thermal burns, skin, ointments, regeneration, histopathology

Известно, что все виды ожогов имеют одну общую закономерность оздоровления, то-есть воспалительным реакциям следуют регенеративные процессы с окончанием организации и эпителизации дермальной ткани.

Из многих применяемых в медицине лекарственных средств не все соответствуют данным требованиям, что приводит к необходимости оказания комплексного подхода к лечению ожогов и разных кожных поражений.

С момента ожога, вследствие раздражения рецепторов кожи и последующего непрерывного потока афферентных импульсов, в болезненный процесс вовлекается центральная нервная система (ЦНС). Из обожженных тканей в кровь всасываются продукты распада. Ткани теряют воду и белки, способствуя истощению органов, иногда приводя организм к смерти [2].

Доказано также, что в коже хорошо развиты процессы репаративной регенерации, где важную роль играют процессы миграции и митотического деления эпидермальных и дермальных клеток [3]. В другой

стадии раневого процесса – регенерации и отторжения струпа, процессы направлены на создание благоприятных условий для созревания грануляционной ткани [4].

Таким образом, можно заключить, что ожоговая травма из себя представляет особо сложный процесс, где для заживления раны включены различные механизмы, такие как коагуляция, воспаление, формирование грануляционной ткани, накопление коллагена, эпителизация, сокращение раны, ремоделирование и др. [8].

Цель исследования

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования явилось изучение морфофункционального состояния эпидермальной и дермальной ткани белых крыс, ее репаративной возможности при термических ожогах и апробация в аналогичных условиях мази «Дермафен» качестве нового противоожогового, ранозаживляющего средства. Имея виду специфичность ожоговых поражений, в состав лекарственной мази, как болеутоляющее средство входит также известный местноанестезирующий

препарат анестезин (5 %). Получаемое лекарственное средство апробировано под названием «Дермафен».

Как стереотип в данном эксперименте использован известный в медицинской практике противоожоговый лекарственный крем «Левомеколь».

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводились на белых беспородных крысах линии Вистар обоих полов массой 180-200, соответственно правилам содержания и обращения с животными, изложенными в Директивах Европейского Сообщества (86/609/ЕС). Все группы животных содержались в одном помещении, на едином пищевом рационе.

Задачей настоящего исследования являлось установить особенности влияния «Дермафен» на течение и динамику фазового развития ожоговой раны в различных сроках эксперимента (1, 3, 7, 15 и 21 день).

Экспериментальные животные подразделяли на следующие группы.

1. контрольная группа – (термический ожог без лечения).

2. подопытная группа – термический ожог – ежедневное смазывание на поверхности раны известной мази **Левомеколь (5 %)**.

3. подопытная группа – термический ожог – ежедневное смазывание на поверхности раны мази **Дермафен (5 %)**. В каждую группу входили по 8 белых крыс.

После анестезии подопытных крыс внутрибрюшинным введением нембутала (40 мг/кг), с поверхности тазобедренной части был удален волосяной покров. Термический ожог кожи осуществляли прибором, состоявшим из сверхточного электронного терморегулятора с металлическим стержнем. Ожоги наносили в течении 5-6 секунд, при $70 \pm 5^\circ\text{C}$. В результате животные получали термические ожоги II-III степени.

В соответствующие сроки производились макрофотографические съемки и макроскопические наблюдения. Планиметрическое измерение площади раны проводили по программе AxioVision LE 4.8.2 SP3. Процент пораженной области определяли по формуле:

$$\text{Процент раны} = \frac{\text{площадь раны на данный день}}{\text{площадь раны на 1-ый день}} \times 100\% [9]$$

Для гистологических исследований на 3, 7, 15 и 21-ые дни эксперимента, после эвтаназии, из ран животных брали образцы кожной ткани, фиксировали в 10% растворе формалина и готовили парафиновые блоки. Для оценки общеморфологического состояния кожной ткани полученные микротомные срезы окрашивали по методу гематоксилин-эозин по ван Гизону [7].

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ макрофотографических картин показал, что на 3-ий день термического ожога у всех групп ожоговые раны имели четкие границы и хорошо сформированный раневой струп.

Макроскопически на 15-ый день, после термического ожога у контрольных животных на месте поражения сохраняется толстый струп (рис. 1, а), у опытных животных, обработанных мазью Левомеколь с периферии раны развиваются процессы грануляции эпидермальной ткани с отторжением струпа (рис. 1, б), а под действием Дермафена отмечается маленький участок поражения со вторичным струпом, вокруг которого хорошо сформирован волосяной покров эпидермиса (рис. 1, в).

На 21-день у экспериментальных животных происходит полное заживление ожоговой раны пораженной площади обработанной мазью Дермафен и восстановление волосяного покрова (рис. 2, в), опережая регенерационные процессы предыдущих групп (рис. 2, а, б).

Несмотря на макроскопическую идентичность ожоговых ран, при определении площади раневой поверхности эпидермиса выяснилось, что после 3 суток термического ожога, группа «лечившаяся» Дермафеном, по сравнению с контрольной и группой «лечившейся» Левомеколем отмечается некоторое уменьшение площади ожоговой раны, что составляет $5.53 \pm 1.39 \text{ см}^2$, против 5.61 ± 0.27 и $5.93 \pm 1.07 \text{ см}^2$ соответственно, а на 21-й день на фоне действия Дермафена раневая площадь количественно составляла 0.028 см^2 , при 0.72 см^2 у Левомеколя и 1.04 см^2 у контрольной группы (таблица).

Планиметрические исследования также показывают, что под действием Дермафена репаративная активность проявляется уже в первые дни после термического ожога. Эти показатели намного опережают данные полученные у групп контроля и Левомеколя, что составляет на 11,52% при 1,06% и 2,79% у контрольных и «лечившихся» Левомеколем соответственно. На 15-ый день после термического ожога, по сравнению с контрольной группой (45.5%) и группой обработанной Левомеколем (25,44%), под действием Дермафена площадь раневой поверхности намного уменьшается, составляя 16.3%. На 21-ый день репаративный процесс почти полностью завершается (0.45%), а у групп контроля и Левомеколя площадь раневой поверхности сохраняется на 18.34% и 11.8% соответственно (рис. 3).



Рис. 1. Макрофотографические картины ран на 15-ый день после ожога:
а) Контроль; б) Левомеколь; в) Дермафен



Рис. 2. Макрофотографические картины ран на 21-ый день после ожога:
а) Контроль; б) Левомеколь; в) Дермафен

Показатели величин площади (см²) ожоговых ран животных в эксперименте

Подопытные группы	Дни после ожога					
	1	3	7	10	15	21
Контроль	5.67 ± 0,66	5.61 ± 0,27	4.79 ± 0,81	3.97 ± 0.1	2.58 ± 1,05	1.04 ± 0,01
Левомеколь	6.1 ± 0,73	5.93 ± 1,07	4.07 ± 0,99	3.68 ± 1,11	1.61 ± 0,15	0.72 ± 0,03***
Дермафен	6.25 ± 0,72	5.53 ± 1,39	3.57 ± 0,95	1.59 ± 0,64	1.02 ± 0,64	0.028 ± 0,05***

Пр и м е ч а н и е . Средняя величина ± SD, *** $p < 0.001$ по сравнению контрольной группой.

Таким образом, полученные макрофотографические и планиметрические данные доказывают о ярко выраженных репаративных свойствах мази Дермафен.

Гистоморфологические исследования показали, что на третий день после термического воздействия, у всех групп наблюдается идентичная гистологическая картина. Гистоструктура эпидермальной ткани нарушена. Выявлены глубокие деструктивные и дистрофические процессы во всех слоях дермы животных. Инфильтративные процессы сопровождаются многочисленными очагами коагуляционных, тотальных и субтотальных некрозов. Концевая часть, а также выводной проток потовых желез разрушены. Волосной фолликул опустошен, а собственный волос отсутствует. Коагуляционный некроз охватывает как сосочковые, так и сетчатые слои дермальной ткани (рис. 4, а, б).

Под действием Дермафена отмечаются процессы миграции форменных элементов подобных фибробластам, но в этих ситуациях также доминируют обширные очаги коагуляционного некроза (рис. 4, в).

Гистоструктура эпидермальной ткани особенно на фоне влияния Дермафена полностью восстанавливаются на 21-ый день после термического ожога, тогда как у контрольных животных и у группы «лечившихся» Левомеколем патологические процессы продолжают.

Так, в контрольной группе часто выявляются деструктивные и дистрофические участки эпидермальной ткани. В базальном слое продолжают воспалительные реакции в виде инфильтраций. Наряду с разрушением эпидермиса, выявляются очаги некротического характера. Сосуды расширены, с явлением стаза и тромбоза. Вместе с тем отмечаются дифференциации и фор-

мирование волосяных фолликул и сальных желез, которые в основном опустошены, в них полностью отсутствует железистый

эпителий и близлежащие соединительные ткани. В участках поражения отмечается отслоение эпидермиса от дермы (рис. 5, а).

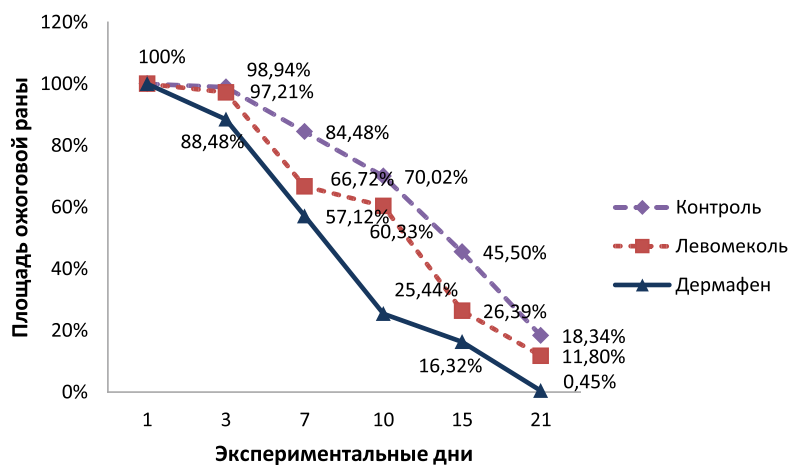


Рис. 3. Динамика регенерации ожоговой раны у белых крыс в эксперименте (%)

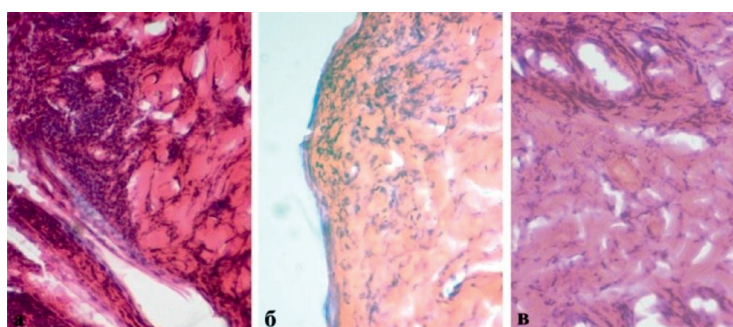


Рис. 4. Микрофотографические картины кожной ткани белых крыс на 3-ий день после ожога: а) Контроль – инфильтрация, коагуляционный некроз эпидермальной ткани, волосной канал разрушен; б) Левомеколь – инфильтрация, коагуляционный некроз; в) Дермафен – очаги некротических процессов, незначительное восстановление структурных элементов эпидермальной ткани. Окр. гематоксиллин – эозин.ок.10, об.25

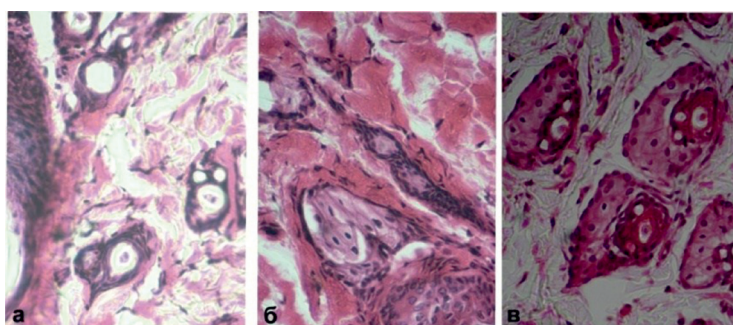


Рис. 5. Микрофотографические картины кожной ткани белых крыс на 21-ый день после ожога: а) контроль – отслоение эпидермиса от дермы, деструктивные и дистрофические участки эпидермальной ткани. В базальном слое эпидермиса – явления инфильтрации, частичная дифференциация волосяных фолликул и сальных желез; б) Левомеколь -патологическое нарушение в виде околососудистой инфильтрации, хаотично расположенные фибробласты и нейтрофилы в дерме; в) Дермафен – полное формирование волосяных фолликулов и сальных желез, наличие коллагеновых волокон в дерме. Окр. гематоксиллин – эозин, ок.10, об.25

Под влиянием Левомеколя, по сравнению с контролем, гистоструктура дермальной ткани сравнительно восстанавливается, хотя здесь тоже регистрируется некоторое патологическое нарушение в виде околососудистой инфильтрации, с наличием хаотично расположенных фибробластов и нейтрофилов, как в базальном, так и сосочковом и сетчатом слоях дермы (рис. 5, б).

В подопытной группе после ежедневной однократной обработки мазью Дермафен полностью завершены репаративные процессы эпидермальной ткани, приводя к восстановлению всех структур, характерных нормальным кожным тканям. Хорошо сформированы волосные фолликулы и сальные железы. Деструктивные и дистрофические процессы достигают минимума. Количество клеточных элементов, форма и структура эпидермоцитов достигают нормы. Наряду с уменьшением количества фибробластов, в дермальной ткани формируются коллагеновые волокна (рис. 5, в).

Заключение

Резюмируя вышеуказанное, можно уверенно заключить, что под действием мази Дермафен подавляется влияние таких факторов, свойственных ожоговой болезни, которые способствуют развитию тех или иных патологических процессов. Регенерационное свойство Демафена, в состав которого входит как активное соединение 5% 6-(1-фенилциклопентил-1-карбамида) натриевая соль полусинтетического пенициллина (**фециллин**), тесно связано с его антибактериальной [5] и противовоспалительной [6] активностью, подавляющую развитие патогенной микрофлоры раневой поверхности, а также активизирующую направленность воспалительных реакций в участках ожоговой раны, начиная с алтерации и кончая репаративными процессами, приводя к восстановлению всех слоев эпидермиса и дермы белых крыс [1].

Особенность этой мази заключается также в том, что она не имеет побочных эффектов, не вызывает аллергических реакций и в ходе лечения ожоговых ран не требуется применение других препаратов и антибиотиков.

Список литературы

1. Гаспарян Г.В. и авторы – Патент № 2526 А РА – 2011 г.
2. Гублер Е.В., Хребтович В.И., Суббота А.Г. Термические ожоги и ожоговая болезнь. – М. Медицина, 1973. – С. 380.
3. Данилов Р.К., Графова Г.Я., Хилова Ю.К. Морфофункциональные особенности регенерации кожи крыс после огнестрельного повреждения // Морфология, 1998. – Том 113, №3 – С. 41.
4. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция. – Москва: «Медицина» – 1990.
5. Мнджоян А. Л. и др. Способ получения 1-фенил-(о, м, п-алкоксифенил)-циклопентил-1-пенициллинов // А.С. СССР № 459076 – 1974.
6. Мнджоян Ш.Л. и др. Лечение воспалительных болезней // Патент №389 РА – 1997.
7. Семченко В.В., Баришникова С.А., Ноздрин В.И., Артемьев В.Н. Гистологическая техника // Омск. – 2006. – 279 с.
8. Ceren Alemdaroglu, Zelihagul Degim, et al An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor // Burns №32 – 2006. – P. 319–327.
9. Seyed Jalal Hosseinimehr et al Effect of Aloe Cream versus Silver Sulfadiazine for Healing Burn Wounds in Rats // Acta Dermatovenereol Croat MEDICAL RESEARCH. – 2010. – vol.18(1). – P. 2–7.