

УДК 615.1

В.Е. Хитрихеев¹, Б.-Ц.Н. Гармаев², М.И. Бальхаев¹, Л.В. Хибхенов³,
С.П. Ханхасыков³, И.Г. Николаева²

ВЛИЯНИЕ МЯГКИХ ГОТОВЫХ ФОРМ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* L., НА ТЕЧЕНИЕ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА

¹ ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет», Улан-Удэ, Россия

² ФГБНУ «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, Улан-Удэ, Россия

³ ФГБОУ ВО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия им. В.Р. Филиппова»,
Улан-Удэ, Россия

Проведено исследование влияния на течение раневого процесса линимента, полученного на основе побегов Пятилистика кустарникового с использованием аппарата NanoDeBee 30, и готовой формы, произведённой по аптечной технологии (мазь). Результаты показали высокий ранозаживляющий эффект линимента побегов Пятилистика кустарникового, в сравнении с готовой формой, созданной по аптечной технологии. Оценка результатов проведена гистологическим исследованием.

Ключевые слова: побеги Пятилистика кустарникового, линимент и мазь, раневой процесс

INFLUENCE OF SOFT FINISHED PHARMAPRODUCTS BASED ON *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* L. ON THE COURSE OF WOUND PROCESS

V.E. Khitrikheev¹, B.-Ts.N. Garmayev², M.I. Balkhaev¹, L.V. Khibkhenov³,
S.P. Khankhasykov³, I.G. Nikolaeva²

¹ Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

² Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia

³ Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Philippov, Ulan-Ude, Russia

The aim of the work was to estimate a wound-healing effect of soft drug products from the *Pentaphylloides fruticosus* L. shoots on the model of planar skin-fascial wound. The liniment was developed with the use of the NanoDeBee 30 device and the ointment was developed with the use of pharmaceutical technology. Experiments were carried out on white male Wistar rats. The skin injury was simulated by inflicting planar wounds 2.0 × 2.0 cm in size. The 5%-liniment and 5% ointment from *P. fruticosus* were put on the wounds of the first and second experimental groups respectively. In the third group the wounds were treated with glycerin-vaseline ointment. Biopsy of the wound surface was taken on the 7th, 14th and 21st day. Histological preparations were studied using standard methods. Cell elements of the first group animals were displayed as fibroblasts and fibrocytes; it was noted high level of collagen organization that testified the effective staging of the wound process in this case. The amount of fibrocytes and fibroblasts and ratio between juvenile and mature forms of collagen-producing cells vary in the first and second groups. Biopsy material obtained from the animals of the third group only on the 21st day corresponded to the picture observed in animals of the 1st group on the 14th day. The findings of the study verify that the use of the product obtained on NanoDeBee device provides the earlier forming of the scar as compared with the ointment developed using pharmaceutical technology.

Key words: *Pentaphylloides fruticosus* L. sprouts, liniment, ointment, wound process

В последние годы благодаря достижениям научно-технического прогресса появились перспективы создания эффективных лекарственных препаратов на основе лекарственных растений с использованием технологий, обеспечивающих максимальное извлечение действующих веществ. Одним из источников получения высококачественного средства является *Pentaphylloides fruticosus* L., имеющий обширный ареал, неприхотливый к условиям среды (растение-мезофит, холодоустойчиво и способно произрастать в условиях вечной мерзлоты). Благодаря насыщенности биологически активными веществами, прежде всего флавоноидами, танинами, полисахаридами, углеводами, аминокислотами, сапонинами тритерпеноидной группы и другими веществами, извлечения из побегов Пятилистика кустарникового активно используются в традиционной медицине как кровоостанавливающее, противовоспалительное, антибактериальное, гипогликемическое, регенерирующее, обезболивающее средство [2]. Широкий спектр фармакологических эффектов указанного сырья

предопределил целесообразность использования линимента на его основе, изготовленного как по инновационной, так и по аптечной технологии, для лечения раневого процесса.

Цель исследования: определить ранозаживляющее влияние мягких готовых форм из побегов Пятилистика кустарникового на модели плоскостной кожно-фасциальной раны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили в соответствии с требованиями приказа № 267 МЗ РФ (19.06.2003) на белых крысах-самцах линии Wistar массой 200–250 г, у которых после предварительной подготовки производили раневое повреждение кожи путём нанесения плоскостных ран размерами 2,0 × 2,0 см. Протокол исследования одобрен комиссией по этике при Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН (заключение № 17 от 09.07.2015). По принципу аналогов было сформировано 3 группы животных, находившихся в равноценных условиях

кормления и содержания в виварии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН. Оптимальное содержание экстракта в мягких формах установлено в предварительных опытах.

Животным 1-й группы на раны накладывали 5%-й линимент экстракта побегов Пятилистника кустарникового, полученный на аппарате NanoDeVee 30. Указанное средство в дозе 100 мг наносили на раневой дефект 1 раз в сутки в течение 14 дней. Животным 2-й опытной группы применяли препарат сравнения – 5%-ю мазь на основе экстракта побегов Пятилистника кустарникового, произведённую по аптечной технологии, в аналогичной дозе и схеме. В 3-й (контрольной) группе обработка ран осуществлялась в аналогичном режиме глицерин-вазелиновой мазью в соотношении 2 : 3 (основа мягких форм) в дозе 100 мг.

Для исследований использовали биоптаты с зоны ран, взятые на 7-е, 14-е и 21-е сутки. Полученный материал фиксировали в 10%-м водном растворе нейтрального формалина. Срезы толщиной 5–7 мкм готовили на санном микротоме с последующей окраской гематоксилином и эозином. Для выявления коллагеновых волокон срезы окрашивали по Ван-Гизону [1]. Гистологические препараты изучали с использованием микроскопа МБИ-3. Обращали внимание на строение эпителия, сосочкового слоя, дермы, характер формирования сосудов и волосяных фолликулов. Количество клеточных элементов в рубцующейся ткани подсчитывали, используя окулярную сетку. Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel 2007. Различия в сравнении данных опытных групп с контролем считали значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У животных первой и второй группы на 7-е сутки наблюдения неповреждённый участок тканей, расположенный рядом с раной, имел обычное гистологическое строение, характеризующееся правильным расположением клеток, стромы, сосудов. В пограничной зоне на этот срок в непосредственной близости от раны видны многочисленные капилляры, которые в зависимости от плоскости сечения имели округлую, овальную или вытянутую форму. В области раны наблюдали значительные разрастания неправильно расположенных пучков коллагеновых волокон, веретенообразных клеток фиброцитов. Следует отметить увеличение вновь образованных капилляров по направлению к поверхности раны. Отчётливо визуализируется активная эпителизация раны, происходящая путём нарастания эпителия на раневую поверхность со стороны сохранившихся клеток с краёв раны. Данная картина соответствует классическому пути заживления поверхностной раны (в данном случае плоскостной) [9]. Следует отметить, что митозы эпителиальных клеток в области краёв ран ещё малочисленны, их значительно больше в стороне от краёв раневого дефекта. Эпителиальный пласт, покрывающий дефект кожи, состоял из 5–6 слоёв клеток, волоконца имели менее плотную структуру, чем на неповреждённом участке. Сосочки эпидермиса

крупнее, чем в зоне без повреждений, неправильной формы. По контурам сосочкового слоя были расположены базальные клетки. Необходимо указать, что чёткость стратификации эпидермиса у крыс первой и второй групп выражена значительно лучше, чем в контрольной группе. Дерма в первой группе состояла из формирующих коллагеновых волокон и аморфного вещества, что свидетельствует о начале активной фазы регенерации [6]. Микроскопически определяется чёткое отграничение дермы от эпидермиса базальной мембраной, в ней отчётливо заметны кровеносные сосуды. Дерма без резкой границы переходит в подкожную жировую клетчатку. В регенератах на этот период опыта наблюдали производные элементы кожи – волосяные фолликулы и сальные железы. Дерма содержала большое количество артериол и венул, причём количество сосудистых элементов в 1-й группе превосходило число артериол и венул во 2-й и особенно в контрольной группе. Сочетание в данный период времени процесса контракции раны с интенсивной эпителизацией дефекта подтверждает наиболее эффективное действие линимента на течение раневого процесса.

Через 14 суток эксперимента клеточные элементы в ране у животных 1-й группы были представлены в основном фибробластами и фиброцитами. Фибробласты дифференцируются как крупные клетки, чаще вытянутой формы, фиброциты имели более округлую форму. Уровень организации коллагена так же высок – сформированные пучки коллагена расположены параллельно и косо направлены к поверхности, они переплетаются друг с другом главным образом в горизонтальной плоскости. Данная картина свидетельствует об эффективной стадийности раневого процесса в данном случае [8], причём между данными в 1-й и 2-й группах на указанный срок опыта уже имеются определённые отличия. Об этом свидетельствуют подсчёты клеточных элементов и сосудов (табл. 1). Количество фиброцитов и фибробластов, а также соотношения молодых и зрелых форм коллаген-продуцирующих клеток в 1-й группе вкупе с высокой степенью васкуляризации свидетельствуют о высоких темпах регенеративных процессов. В дерме количество венул относительно одинаковое в 1-й и 2-й группах животных, но число артериол максимально высокое в 1-й группе, значительно меньшее – во 2-й группе, в контрольной группе меньше в 3 раза.

Течение раневого процесса у крыс контрольной группы характеризовалось замедленными темпами регенеративных процессов. На 21-е сутки эксперимента гистологический статус имел следующий вид: эпителиальный пласт, закрывающий раневой дефект, лишь на эти сроки состоял из 5–6 слоёв, которые были расположены неравномерно, имелись утолщённые участки, дифференциация эпидермиса на слои была слабо выражена, сосочки базального слоя имели неправильную форму. Дерма состояла из формирующихся коллагеновых волокон с имеющимися участками переплетения, их формирование более выражено ближе к краю дефекта. Необходимо отметить, что в этой группе не наблюдаются производные элементов кожи (волосяные фолликулы и сальные железы).

Показатели состояния рубцующейся ткани при применении мягких форм из побегов
Пятилистника кустарникового при раневом повреждении кожи у крыс

Показатель	Группы животных		
	1-я группа (линимент), 14-е сутки (n = 8)	2-я группа (мазь), 14-е сутки (n = 8)	3-я группа (основа), 14-е сутки (n = 8)
Фибробласты	48,8 ± 0,85*	42,7 ± 0,54*	37,2 ± 1,14
Фibroциты	114,5 ± 0,65*	112,3 ± 0,62*	90,1 ± 1,11
Венулы	52,1 ± 0,90*	43,4 ± 0,32	46,3 ± 0,65
Артериолы	69,2 ± 0,71*	46,3 ± 0,65*	23,3 ± 1,12

Примечание: * – различия, по сравнению с контролем, статистически значимы при $p < 0,05$; n – количество животных в группе.

Таким образом, линимент экстракта Пятилистника кустарникового, полученный на аппарате NanoDeVee 30, оказывает выраженное регенерирующее воздействие, по сравнению с эффектом мази, приготовленной по аптечной технологии. Благодаря обеспечению высокой биодоступности биологически активных веществ, преимущественно флавоноидов, дубильных веществ, аминокислот и других соединений, с ранних сроков наблюдается активация регенерационного процесса [10]. Очевидно, указанные биологически активные вещества, подавляя свободнорадикальные реакции в поврежденной зоне, активируют метаболизм, стимулируют заживление раны, что согласуется с данными Ю.Н. Кошевенко [2] и М.И. Кузина с соавт. [3].

ВЫВОДЫ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение готовой формы, полученной на аппарате NanoDeVee 30, обеспечивает наиболее ранее формирование рубца, по сравнению с мазью, произведенной по аптечной технологии. Биоптат, полученный у животных 3-й (контрольной) группы, только на 21-е сутки эксперимента соответствовал картине, близкой к наблюдаемой у животных 1-й группы на 14-й день. Несомненная эффективность линимента с частицами, близкими к наноформе, обуславливает ускоренное заживление раневого дефекта, что делает данную готовую форму перспективной для применения в качестве эффективного ранозаживляющего средства в клинике.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Жукова О.В., Потекаев Н.Н., Стенько А.Г., Бурдина А.А. Патогенез и гистоморфологические особенности рубцовых изменений кожи // Клиническая дерматология и венерология. – 2009. – № 3. – С. 4–9.
Zhukova OV, Potekaev NN, Stenko AG, Burdin AA (2009). Pathogenesis and histomorphological features of scar skin injuries [Patogenez i gistomorfologicheskie osobennosti rubtsovykh izmeneniy kozhi]. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*, (3), 4-9.
2. Кошевенко Ю.Н. Кожа человека. – М., 2008. – С. 227–315.

Koshevenko YN (2008). Human skin [*Kozha cheloveka*], 227-315.

3. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция. Руководство для врачей. – М., 1990. – 688 с.

Kuzin MI, Kostyuchenok BM (1990). Wounds and wound infection. Manual for physicians [Rany i ranevaya infektsiya. *Rukovodstvo dlya vrachey*], 688.

4. Луцевич О.Э., Тамразова О.Б., Шикунова А.Ю., Плешков А.С., Исмаилов Г.И.-О., Воротилов Ю.В., Толстых П.И. Современный взгляд на патофизиологию и лечение гнойных ран // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2011. – № 5. – С. 72–77.

Lutsevich OE, Tamrazova OB, Shikunova AY, Pleshkov AS, Ismailov GIO, Vorotilov YV, Tolstykh PI. (2011). Modern view on the pathophysiology and treatment of purulent wounds [Sovremennyy vzglyad na patofiziologiyu i lechenie gnoynykh ran]. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*, (5), 72-77.

5. Меркулов Г.В. Курс патогистологической техники. – М.: Медицина, 1969. – 424 с.

Merkulov GV (1969). Course of histopathological technique [Kurs patogistologicheskoy tekhniki], 424.

6. Николаева И.Г., Хобракова В.Б., Арьяева М.М. Пятилистник кустарниковый. – Улан-Удэ, 2001. – 110 с.

Nikolaeva IG, Khobrakova VB, Aryayeva MM (2001). *Pentaphylloides fruticosa* L. [Pyatolistnik kustarnikovyy], 110.

7. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М., 2006. – 256 с.

Sergienko VI, Bondarev IB (2006). Mathematical statistics in clinical trials [Matematicheskaya statistika v klinicheskikh issledovaniyakh], 256.

8. Шафранов В.В., Короткий Н.Г., Таганов А.В., Борхунова Е.Н. Келоидные и гипертрофические рубцы: клинико-морфологические параллели // Детская хир. – 1998. – № 4. – С. 30–34.

Shafranov VV, Korotkiy NG, Taganov AV, Borkhunova EN (1998). Keloids and hypertrophic scars: clinical and morphological parallels [Keloidnye i gipertroficheskie rubtsy: kliniko-morfologicheskie paralleli]. *Detskaya khirurgiya*, (4), 30-34.

9. Adzick NS, Longaker MN (1992). Scarless fetal healing. Therapeutic implication. *Ann. Surg.*, 21 (1), 3-7.

10. Lorenz HP, Adzick NS (1993). Scarless skin wound repair in the fetus. *West J. Med.*, 159 (3), 350-355.

Сведения об авторах
Information about the authors

Хитрихеев Владимир Евгеньевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии, директор медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (670002, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская, 36а; тел.: 8 (3012) 45-84-02)

Khitrkheev Vladimir Evgenyevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Hospital Surgery, Dean of the Medical Faculty of Buryat State University (670002, Ulan-Ude, Oktyabrskaya str., 36a; tel.: +7 (3012) 45-84-02)

Гармаев Бато-Цырен Нимаевич – аспирант ФГБНУ «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (e-mail: garmaev.bato@mail.ru)

Garmaev Bato-Tsyren Nimaevich – Postgraduate of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: garmaev.bato@mail.ru)

Бальхаев Михаил Илларионович – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет»

Balkhaev Mikhail Illarionovich – Candidate of Medical Sciences, Senior Teacher of the Department of Hospital Surgery of Medical Faculty of Buryat State University

Хибхенов Лопсондоржо Владимирович – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры анатомии, физиологии и фармакологии ветеринарного факультета ФГБОУ ВО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия им. В.Р. Филиппова» (670024, г. Улан-Удэ, ул. Пушкина, 8; e-mail: anatomy_dep@bgsha.ru)

Khikhenov Lopsondorzho Vladimirovich – Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Anatomy, Physiology and Pharmacology of the Veterinary Faculty of Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Philippov (670024, Ulan-Ude, Pushkin str., 8; e-mail: anatomy_dep@bgsha.ru)

Ханхасыков Сергей Павлович – доктор ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, микробиологии и патоморфологии ветеринарного факультета ФГБОУ ВО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия им. В.Р. Филиппова»

Khankhasykov Sergey Pavlovich – Doctor of Veterinary Sciences, Assistant Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise, Microbiology and Pathologic Morphology of the Veterinary Faculty of Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Philippov

Николаева Ирина Геннадьевна – доктор фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований ФГБНУ «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (тел.: 8 (3012) 43-34-63; e-mail: i-nik@mail.ru)

Nikolaeva Irina Gennadyevna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Medical and Biological Researches of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (tel.: +7 (3012) 43-34-63; e-mail: i-nik@mail.ru)