

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕЧЕНИЯ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФИЦИРОВАННОЙ РАНЫ ГЕЛЕМ НА ОСНОВЕ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ПРОЗАННИКА КРАПЧАТОГО

Бубенчикова В.Н.<sup>1</sup>, Малютина А.Ю.<sup>1</sup>, Затолокина М.А.<sup>1</sup>, Григорьян А.Ю.<sup>1</sup>,  
Новикова Л.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет», Курск, Россия (305041, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3), e-mail: nastya.kgmu@mail.ru

Проведено гистологическое исследование ранозаживляющей активности 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого. В качестве контроля использовали модель инфицированной раны без лечения и серия, где лечение проводилось 5%-ной натрий карбоксиметилцеллюлозой. О течении раневого процесса судили посредством изучения микропрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином. Эксперимент показал, что использование 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого уменьшает воспалительные изменения, активизирует макрофагальную реакцию, восстанавливает нарушенные межклеточные взаимодействия, усиливает ангиогенез, пролиферацию и дифференцировку фибробластов, синтез и секрецию коллагена, процессы фибриллогенеза, созревание и ремоделирование грануляционной ткани и эпителизацию раны.

Ключевые слова: *Achyrophorus maculatus* L., лечение ран, густой экстракт.

## THE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC OF THE CURRENT OF THE WOUND PROCESS AT TREATMENT OF THE EXPERIMENTAL INFECTED WOUND BY GEL WITH THE *ACHYROPHORUS MACULATUS* L. DENSE EXTRACT

Bubenchikova V.N.<sup>1</sup>, Malyutina A.Y.<sup>1</sup>, Zatolokina M.A.<sup>1</sup>, Grigoryan A.Y.<sup>1</sup>, Novikova L.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kursk State Medical University, Kursk, Russia (305041, Kursk, Karl Marx str., 3), e-mail: nastya.kgmu@mail.ru

Histological investigation of wound healing activity of the 15% gel with *Achyrophorus maculatus* L. herb dense extract has been conducted. As a control, were a model of the infected wounds without treatment and the series, which were treated by 5% sodium carboxymethylcellulose. During the wound healing process was evaluated by histological analysis of by staining with hematoxylin and eosin. The experiment showed that using of the 15% gel with *Achyrophorus maculatus* L. herb dense extract reduces inflammatory changes, activates macrophage reaction, restores the cell-cell interactions, enhances angiogenesis, proliferation and differentiation of fibroblasts, the synthesis and secretion of collagen fibrillogenesis processes, maturation and remodeling of granulation tissue and its epithelization.

Key words: *Achyrophorus maculatus* L., healing of wounds, dense extract.

### Введение

Мягкие лекарственные формы незаменимы при лечении и профилактике дерматологических заболеваний в целом и терапии раневых процессов различной этиологии в частности. Интерес к ним особенно возрос в последние годы, когда началось развитие нового направления – фитодерматологии. Разработка лекарственных средств на основе растительного сырья является перспективным направлением современного фармацевтического производства. Это обуславливается, прежде всего, эффективностью и мягким действием фитопрепаратов. Низкая токсичность позволяет без риска побочных явлений использовать их в длительной терапии. Включение препаратов растительного происхождения в мази и гели в качестве биодобавок или основных действующих

компонентов объясняется не только их терапевтической эффективностью, но и благоприятным воздействием на структуру кожи и организм в целом: способностью ускорять клеточную регенерации, глубоко проникать в подкожную клетчатку, регулируя водно-солевой баланс, активизировать ферментные системы, нормализовать гормональный и общий обмен [4; 6; 7].

Перспективным источником получения высокоэффективных лекарственных препаратов на его основе является прозанник крапчатый (*Achyrophorus maculatus* L.) – многолетнее травянистое растение семейства астровые (Asteraceae), распространенное преимущественно в европейской части России и в южных районах Сибири [10]. В народной медицине прозанник крапчатый применяют как противовоспалительное, антисептическое, ранозаживляющее, противоопухолевое средство, а также при болезнях кожи [5; 8].

**Целью данного исследования** явилось морфологическое изучение репаративных процессов в кожной ране при использовании гелей различных составов.

### **Материалы и методы**

Экспериментальное исследование *in vivo* было выполнено на 54 белых крысах-самцах линии Wistar, массой  $180,0 \pm 20,0$  г, прошедших карантин в виварии ГБОУ ВПО «КГМУ». Все животные содержались в одинаковых условиях на стандартном пищевом рационе.

Экспериментальным животным под эфирным наркозом моделировали инфицированную рану, для чего на выбритом от шерсти участке спины иссекали кожу с подкожно-жировой клетчаткой размером 15x15 мм. Для стандартизации условий лечения, предупреждения деформации раны, а также для предупреждения высыхания, загрязнения раневой поверхности и укусов другими животными над раной подшивали к коже «Устройство для защиты ран» [3].

Животные были разделены на 3 серии по 18 в каждой, из которых контрольной была серия без лечения. В контрольной серии животным производилась только ежедневная обработка раны 3%-ным раствором перекиси водорода. В первой серии сравнения ежедневно производилась обработка раны 3%-ным раствором перекиси водорода и наложение марлевой салфетки с 5%-ным гелем натрий карбоксиметилцеллюлозы. Во второй серии - ежедневно производилась обработка раны 3%-ным раствором перекиси водорода и наложение марлевой салфетки с 15%-ным гелем на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого. перевязки экспериментальным животным во всех сериях производили один раз в день, ежедневно в течение 10 суток [2].

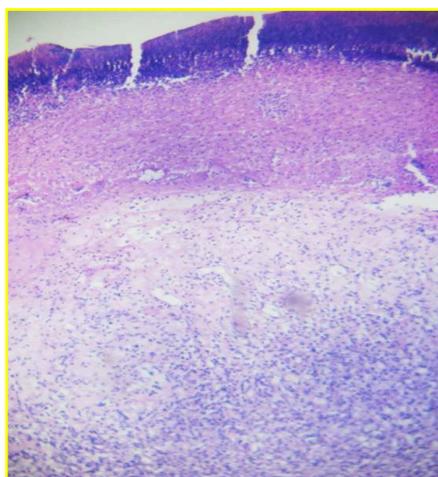
Гистологическое изучение раневых биоптатов производили на третьи, седьмые и десятые сутки от начала лечения. Животных выводили из эксперимента путем передозировки эфирного наркоза. Забор материала осуществляли путем иссечения участка мягких тканей

дна и прилежащего края раны. Взятый материал сразу фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина с последующей проводкой по восходящим спиртам и заливкой в парафин по стандартной методике. Затем изготавливали гистологические срезы толщиной 5-7 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином [2; 9].

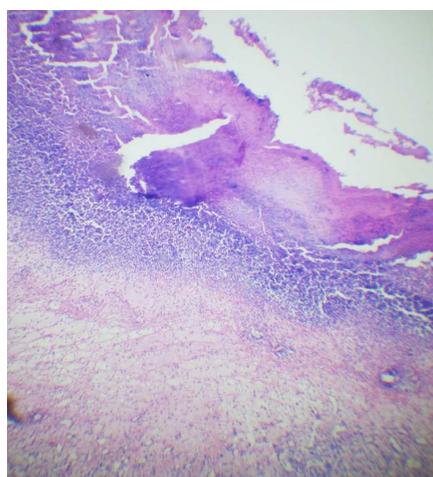
Полученные данные обрабатывали статистически посредством электронных таблиц Microsoft Excel и «Биостатистика»: вычисляли средние арифметические, стандартное отклонение. Нормальность распределения признаков определяли по критерию Шапиро-Уилка. Обработку результатов проводили с использованием непараметрических критериев для множественных выборок Крускала-Уоллиса и Ньюмена-Кейлса. При уровне значимости  $p < 0,05$  выявленные различия считались статистически значимыми [1].

### Результаты и их обсуждение

В результате проведенного экспериментального исследования были получены следующие данные: в гистологических препаратах кожи и подлежащих тканей были выявлены выраженные некробиотические и дистрофические изменения, отек и вакуолярная дегенерация соединительной ткани, паретические изменения и тромбоз сосудов, обширные очаги кровоизлияний с формированием рассеянных, очаговых или диффузных, воспалительных инфильтратов (рис. 1, 2).



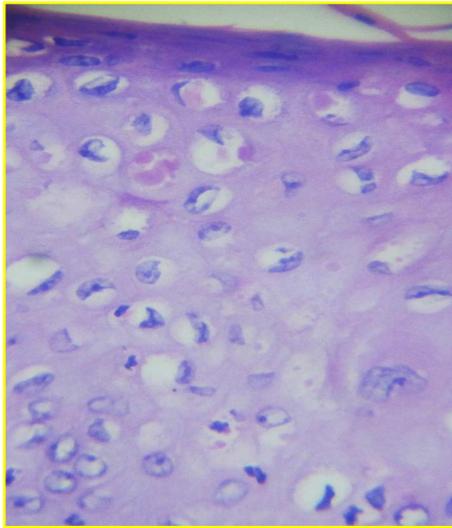
**Рис. 1.** Некробиотические и дистрофические изменения слоев кожи на третьи сутки эксперимента с использованием 5%-ной NaKMЦ. Окр. Г+Э. Увел. x90.



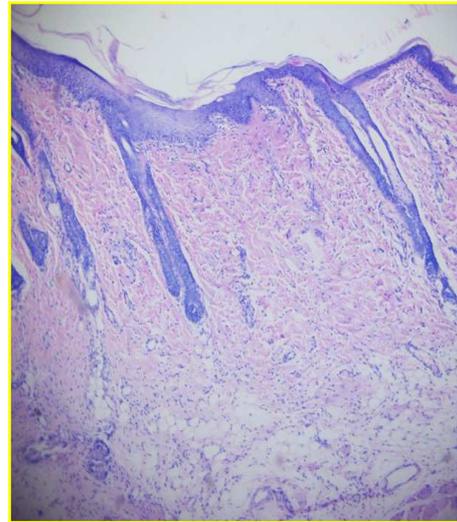
**Рис. 2.** Некробиотические и дистрофические изменения слоев кожи на третьи сутки эксперимента с использованием 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого. Окр. Г+Э. Увел. x90.

Отмечались глубокие нарушения многослойного плоского ороговевающего эпителия, его деструкция, очаги изъязвления, отторжения, в участках, прилежащих к раневому дефекту, эпителий резко истончен, ярко-розового цвета с плохо различимыми контурами клеток, ядра клеток уплощены, слабо базофильны и длинником своим расположены

параллельно поверхности кожи. Выражены изменения придатков кожи: волосяных луковиц, сальных и потовых желез (рис. 3, 4).

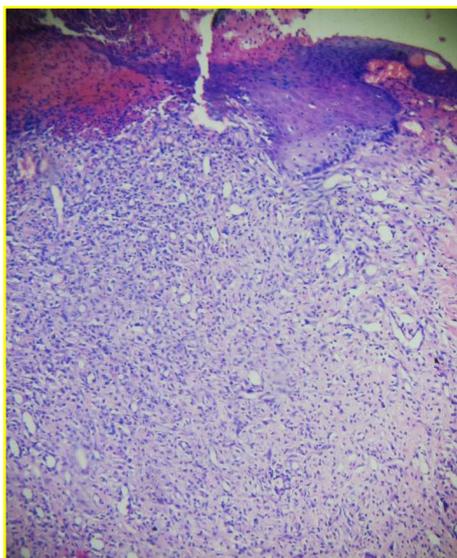


**Рис. 3.** Деструктивные изменения эпидермиса в участках, прилежащих к раневому дефекту.  
Окр. Г+Э. Увел. х400.

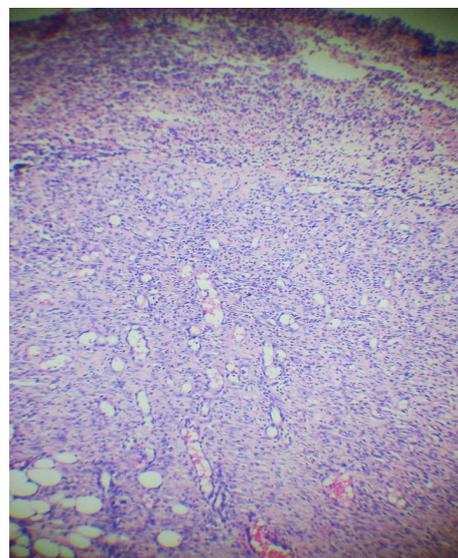


**Рис. 4.** Деструктивные изменения придатков кожи: волосяных луковиц, сальных и потовых желез.  
Окр. Г+Э. Увел. х90.

Деструктивные изменения затрагивали все слои кожи. Очаговые или диффузные воспалительные инфильтраты были представлены преимущественно палочко- и сегментоядерными нейтрофилами, эозинофилами, лимфоцитами, тучными клетками, находящимися в стадии дегрануляции и макрофагальными элементами (рис. 5, 6).

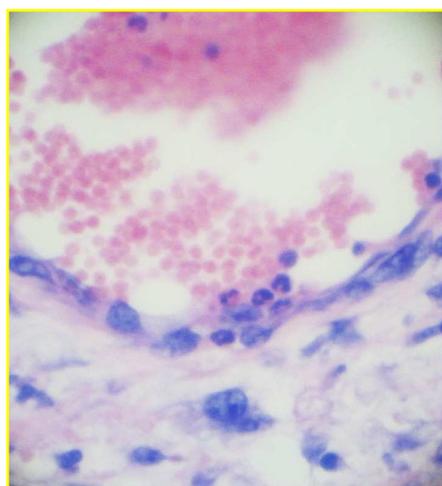


**Рис. 5.** Внешний вид грануляционной ткани, инфильтрированной полиморфноядерными лейкоцитами в препаратах с использованием 5%-ной NaКМЦ.  
Окр. Г+Э. Увел. х90.

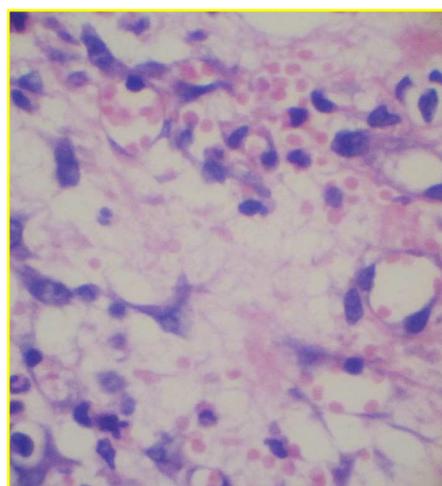


**Рис. 6.** Внешний вид грануляционной ткани, инфильтрированной полиморфноядерными лейкоцитами в препаратах с использованием 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозання крапчатого.  
Окр. Г+Э. Увел. х90.

Сосуды дермы и гиподермы расширены и полнокровны. В большинстве сосудов наблюдались краевое стояние лейкоцитов и микротромбозы (рис. 7). В периваскулярной ткани видны многочисленные кровоизлияния (рис. 8).



**Рис. 7.** Краевое стояние лейкоцитов.  
Окр. Г+Э. Увел. х400.

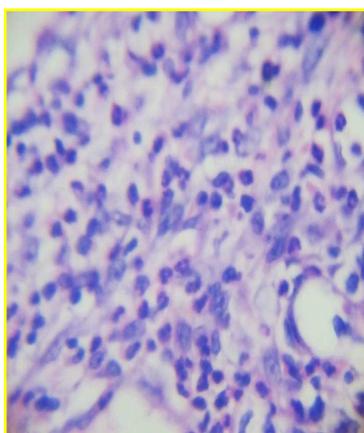


**Рис. 8.** Периваскулярные кровоизлияния.  
Окр. Г+Э. Увел. х400.

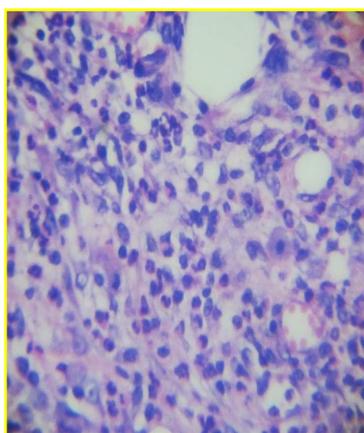
В подкожно-жировой клетчатке выявлена лейкоцитарная инфильтрация, которая в большей степени выражена на границе с собственной мышцей кожи. Мышечные волокна фрагментированы, окружены круглоклеточным инфильтратом.

Представленная морфологическая картина изменений характерна на 3-и сутки для всех экспериментальных групп.

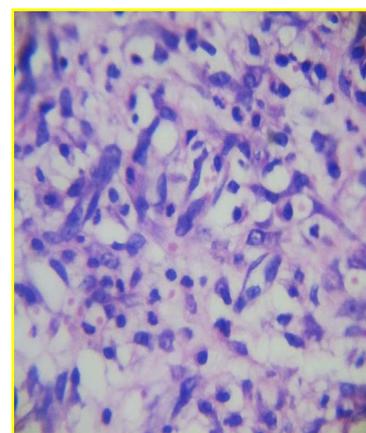
При микроскопическом исследовании на 7-е сутки (рис. 9, 10, 11) репаративной регенерации кожи отмечается нарастание лейкоцитарной инфильтрации грануляционно лейкоцитарного вала, который четко отграничивает некротические участки.



**Рис. 9.** Клеточный компонент грануляционной ткани на первые сутки в контрольной серии.  
Окр. Г+Э. Увел. х400.



**Рис. 10.** Клеточный компонент грануляционной ткани на первые сутки в серии с использованием 5%-ной NaCMII.

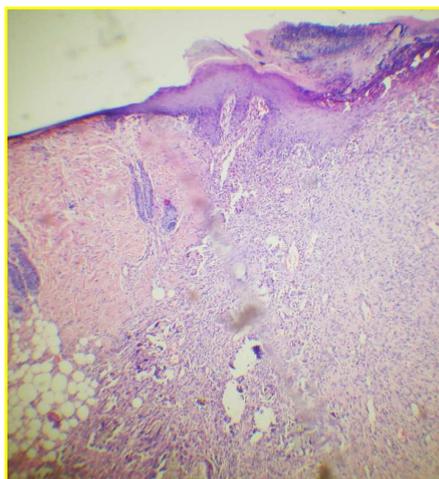


**Рис. 11.** Клеточный компонент грануляционной ткани на первые сутки в серии с использованием 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозаника крапчатого.  
Окр. Г+Э. Увел. х400.

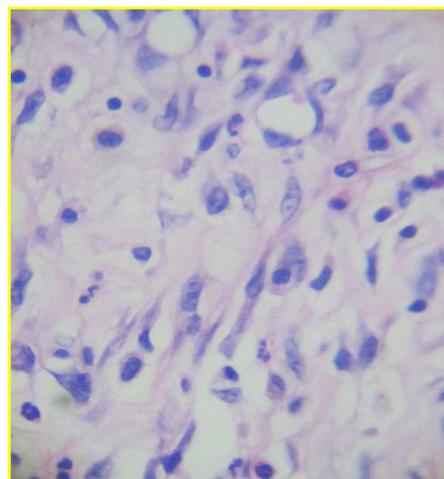
Наблюдается пока еще недостаточно зрелая грануляционная ткань, которая хорошо васкуляризована, так как процессы неангиогенеза ярко выражены, в некоторых участках

наблюдается незначительный интерстициальный отек. При этом выявляется выраженная клеточность грануляционной ткани: в большом количестве в поле зрения наблюдаются не только фибробласты, фиброциты, гистиоциты, лимфоциты, но и нейтрофильные гранулоциты, особенно в неэпителизированных отделах, прикрытых струпом, т.е. клеточный компонент существенно преобладает над волокнистым.

К 10-м суткам эксперимента по краям дефекта раны идет подрастание эпидермального пласта под некротические участки. Дерма – с сохраненной структурой и пролиферацией клеток в стенках волосяных влагалищ, с неравномерной толщиной вновь образующихся стержней. В участках, содержащих грануляционную ткань, в поле зрения, среди клеточной массы преобладают фибробласты. Постепенно волокнистый компонент начинает преобладать над клеточным, и процесс регенерации завершается формированием рубцовой ткани, представляющей собой пучки грубых коллагеновых волокон с расположенными среди них немногочисленными клетками и сосудами (рис. 12, 13).



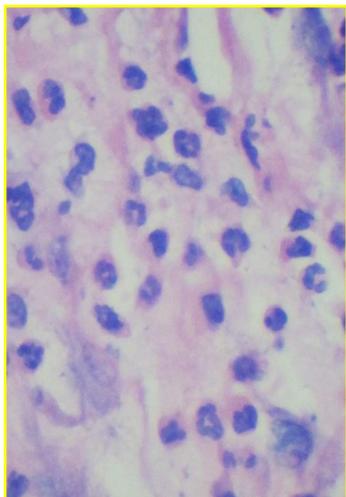
**Рис. 12.** Подрастание эпидермального пласта к десятым суткам эксперимента.  
Окр. Г+Э. Увел. x90.



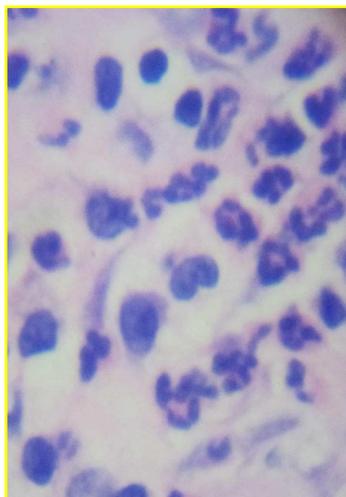
**Рис. 13.** Новообразованная соединительная ткань с преобладанием клеток фибробластического ряда.  
Окр. Г+Э. Увел. x400.

Картина воспалительно-репаративного процесса в разных экспериментальных группах имела достоверные отличия, начиная с 7-х суток эксперимента. Так, на 7-е сутки в контрольной серии с использованием перекиси водорода и серии с использованием 5%-ной NaKMЦ наблюдалось снижение толщины и количества слоев эпидермиса в участках кожи, прилегающих к ране, в сравнении с серией эксперимента с использованием 15%-ного геля на основе густого экстракта прозанника крапчатого, где эпидермальная кинетика была более выразительна. В ростковых слоях эпидермиса в третьей группе наблюдалось значительно большее количество клеток, находящихся в стадии митотического деления. Площадь некротических изменений и вновь образованной грануляционной ткани была достоверно меньше в третьей серии эксперимента. Грануляционная ткань состояла из большого количества формирующихся сосудистых петель, ориентированных перпендикулярно к

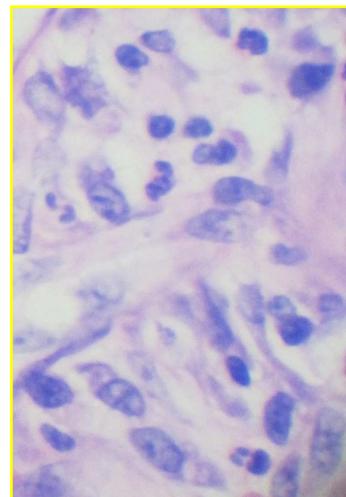
раневой поверхности, и многочисленных тяжёлых фибробластов, среди которых встречались клетки с митозами. Грануляционная ткань диффузно инфильтрирована лимфоцитами, с обилием тучных клеток и макрофагами, в сравнении с первой и второй группами эксперимента, где преобладала полиморфноклеточная лейкоцитарная инфильтрация (рис. 14-16).



**Рис. 14.** Преобладание полиморфноклеточной лейкоцитарной инфильтрации в контрольной серии.  
Окр. Г+Э. Увел. х900.



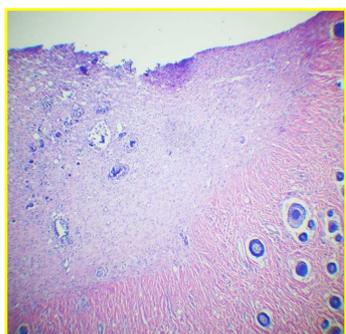
**Рис. 15.** Преобладание полиморфноклеточной лейкоцитарной инфильтрации в серии с использованием 5%-ной NaKMЦ.  
Окр. Г+Э. Увел. х900.



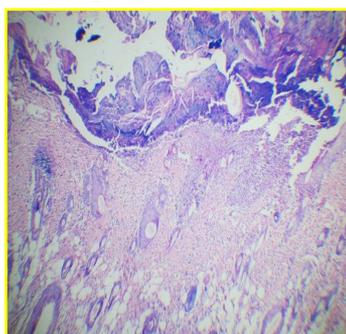
**Рис. 16.** Преобладание элементов фибробластического ряда в серии с использованием 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого.  
Окр. Г+Э. Увел. х900.

К 10-м суткам эксперимента скорость регенераторных процессов была существенно ниже в первой и второй группах, где эпителизация раневой поверхности была завершена не полностью. В центральных участках сохранялись некротические массы, которые прорастали регенерирующий эпителий в виде надвигающегося вала. Подлежащая грануляционная ткань незрелая с преобладанием клеточных элементов соединительной ткани – фибробластов.

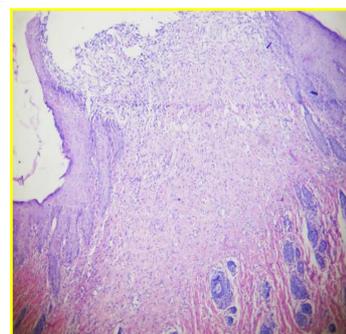
В группе животных, получавших в качестве лечения 15%-ный гель на основе густого экстракта прозанника крапчатого, на 10 сутки произошла полная эпителизация раны. При большом увеличении видно, что в сформированном регенерате грануляционной ткани преобладают волокнистые структуры над клеточными элементами - фибробластами, что указывает на высокую степень зрелости грануляционной ткани (рис. 17-19).



**Рис. 17.** Степень эпителизации раневой поверхности к десятым суткам эксперимента в контрольной серии.  
Окр. Г+Э. Увел. х90.



**Рис. 18.** Степень эпителизации раневой поверхности к десятым суткам эксперимента в серии с использованием 5%-ной NaKMЦ.  
Окр. Г+Э. Увел. х90.



**Рис. 19.** Степень эпителизации раневой поверхности к десятым суткам эксперимента в серии с использованием 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого.  
Окр. Г+Э. Увел. х90.

## **Выводы**

1. Таким образом, полученные результаты морфологического исследования показывают, что 15%-ный гель на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого обладает хорошо выраженным стимулирующим эффектом на пролиферативную и функциональную активность клеток грануляционной ткани, который со временем возрастает.
2. Несмотря на практически полное восстановление эпидермиса, произрастающего от краев раневой поверхности, на отдельных участках частично сохранился струп, при использовании перекиси водорода и 5%-ной NaKMЦ. Оценка количества клеточных элементов на стандартной единице площади среза показала более высокое их содержание в грануляционной ткани, чем в группе с использованием геля, что говорит о меньшей степени зрелости этой ткани.
3. Реактивные изменения дермы, а именно ее клеточная плотность в группах с использованием перекиси водорода и 5%-ной NaKMЦ была значительно выше уже на начальных сроках эксперимента, в сравнении с группой с использованием 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого, что свидетельствует о более затяжном характере воспалительного процесса, следовательно, и о более длительном заживлении раны.
4. Относительно большее количество клеток фибробластического ряда у животных с использованием 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого, чем с использованием перекиси водорода и 5%-ной NaKMЦ, также свидетельствует о повышенной регенераторной активности в этой группе.
5. Выявленное максимальное количество макрофагов в группах с использованием 15%-ного геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого также свидетельствует об ускорении процессов регенерации, так как макрофаги при репаративных и патологических процессах не только модулируют пролиферативную и синтетическую функции фибробластов, но и путем паракринной стимуляции активизируют миграцию и пролиферацию эндотелиоцитов, процессы ангиогенеза.

## **Список литературы**

1. Герасимов А.Н. Медицинская статистика : учебное пособие для студентов медицинских вузов. – М. : МИА, 2007 – 475 с.
2. Григорьян А.Ю., Иванов А.В., Бежин А.И. и др. Гистологическая характеристика течения раневого процесса при лечении экспериментальных гнойных ран препаратами на основе энтеросгеля // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник. – 2011. – № 2. – С. 132-145.

3. Лазаренко В.А., Бежин А.И., Чердаков А.В. и др. Применение раневых покрытий биотравм и ресорб для лечения гнойных ран // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2010. – № 2. – С. 5-14.
4. Латыпова Г.М., Давлетшина Р.Я., Бубенчикова В.Н., Романова З.Р. Технология густого экстракта из травы первоцвета весеннего // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2011. – Вып. 15, № 16 (111). – С. 226-231.
5. Мусина Л.С. Прозанник крапчатый. Биол. флора Моск. обл. Вып. 9, ч. 2. – М. : Изд-во МГУ, 1993. – С. 88-93.
6. Никитина Н.В., Кулешова С.А. Изучение фармакологического действия мази с экстрактом почек тополя черного // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 11. – С. 554-558.
7. Огай М.А., Степанова Э.Ф., Ларионов Л.П., Петров А.Ю. Фармакологические исследования наружных лекарственных препаратов – фитогелей на основе лекарственного растительного сырья для предупреждения последствий сахарного диабета // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2010. – № 1. – С. 123-126.
8. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование; семейство Asteraceae (Compositae). – СПб. : Наука, 1993. – С. 16.
9. Судебно-медицинская гистология. Руководство для врачей. – 2-е изд., перераб. и доп. / А.В. Пермяков, В.И. Витер, Н.И. Неволин. – Ижевск – Екатеринбург : Экспертиза, 2003. – 214 с.
10. Флора СССР : в 30-ти т. – М. - Л. : Изд-во АН СССР, 1934-1964. – Т. XXVI. - С. 201-204.

**Рецензенты:**

Сипливая Л.Е., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии ГБОУ ВПО «КГМУ», г. Курск.

Шорманов В.К., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии ГБОУ ВПО «КГМУ», г. Курск.