

## ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ВЛИЯНИЯ СРЕДСТВ, СОДЕРЖАЩИХ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ, ПРИ ДЕРМАТИТЕ ПРОСТОМ РАЗДРАЖИТЕЛЬНОМ КОНТАКТНОМ

Гребенникова С.В., Макляков Ю.С., Волошин В.В.

*Ростовский государственный медицинский университет, кафедры фармакологии и клинической фармакологии и патологической анатомии, Ростов-на-Дону, e-mail: svetgrva@yandex.ru*

**Цель:** сравнительно оценить в эксперименте влияние на морфологические изменения в коже при дерматите простом раздражительном контактном (ДПРК) препаратов, содержащих омега-3 и 6 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), и средства противовоспалительного действия. **Материал и методы:** выполнены гистопатологические исследования 18 фрагментов кожи экспериментальных белых крыс с приготовлением парафиновых блоков и последующей окраской срезов гематоксилином-эозином и пикрофуксином по ван-Гизон. **Результаты:** Авторы отметили после 11-дневного лечения инъекциями внутрь брюшной полости Омегавена и наружно Кремом «Витамин Ф99» жирным (содержат омега-3 и 6 ПНЖК) менее выраженную, чем у леченных, Радевит мазью, лейкоцитарную инфильтрацию вокруг зон некроза в пораженной коже с преобладанием лимфоцитов и макрофагов. Выявлена также меньшая толщина полоски грануляционной ткани под активно пролиферирующими клетками эпидермиса. **Заключение:** удалось установить более выраженное противовоспалительное действие при экспериментальном ДПРК лечения – внутрь брюшной полости Омегавена и наружно – Крем «Витамин Ф99» жирным по сравнению с Радевит мазью.

**Ключевые слова:** дерматит простой раздражительный контактный, лечение, препараты омега-3 и 6 полиненасыщенных жирных кислот, гистопатологические изменения кожи.

## HISTOPATHOLOGICAL STUDY IN EXPERIMENT OF THE EFFECTIVENESS OF PRODUCTS CONTAINING POLYUNSATURATED FATTY ACIDS WITH SIMPLE IRRITABLE CONTACT DERMATITIS

Grebennikova S.V., Maklyakov Yu.S., Voloshin V.V.

*Rostov state medical university, Department of pharmacology and clinical pharmacology, Rostov-on-Don, e-mail: svetgrva@yandex.ru*

**Objective:** to evaluate comparatively histopathological methods in the experiment on white rats with irritable contact dermatitis simple (DPRK) the effect of preparations containing omega-3 and 6 polyunsaturated fatty acids (Pufas), as well as a means of anti-inflammatory action. **Material and methods:** white rats caused DPRK method of burns and treating different groups of animals Radevit ointment (1), combination of injections into the abdominal cavity of Omegaven and externally of the Cream "Vitamin Ф99" fat (2) and only outward – Cream "Vitamin Ф99" fat (3). Performed histopathological examinations of 18 fragments of the skin of the experimental white rats with a preparation of paraffin blocks and subsequent colouring of cuts with hematoxylin-eosin and pikrofuksin by van Gieson. **Conclusion:** Marked by a more pronounced anti-inflammatory effect in experimental DPRK treatment injections into the abdominal cavity and externally of Omegaven Cream "Vitamin Ф99" fat compared to Radevit ointment.

**Keywords:** polyunsaturated fatty acids, simple irritable contact dermatitis, treatment, histopathology of the skin.

Воспалительные заболевания кожи весьма распространены, а повышение эффективности их лечения является актуальной проблемой современной клинической фармакологии.

В исследованиях ряда авторов показано противовоспалительное действие полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) [4,7]. Содержащие омега-3 ПНЖК препараты при системной терапии проявляют противовоспалительное, антиоксидантное и мембраностабилизирующее влияние [6, 8]. В доступной литературе нет морфологических исследований влияния Омегавена и Крема «Витамин Ф99» жирного на воспалительную

реакцию кожи. Мы стремились в настоящей работе осветить этот вопрос. Цель: сравнительно оценить в эксперименте влияние на морфологические изменения в коже при дерматите простым раздражительном контактом (ДПРК) препаратов, содержащих омега-3 и 6 полиненасыщенные жирные кислоты, и средства противовоспалительного действия.

### **Материал и методы**

Экспериментальное исследование выполнено с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных с учетом норм и правил биомедицинской этики (с разрешения этического комитета РостГМУ – протокол № 16/13 от 14.11.2013 г.) [2, 3]. Ожоговую травму экспериментальным животным наносили металлической пластиной круглой формы площадью 3,8 см квадратных при толщине в 1,5 мм, нагревали на электрической плитке с закрытой спиралью при начальных проявлениях покраснения покрывающей спираль металлической части. Металлическую пластину после нагревания охлаждали до 120 градусов. Это достигалось охлаждением трафарета размещением его в течение 20 секунд на металлическом основании комнатной температуры. Экспериментальных животных было 18 возраста 3–6 мес и массой тела 300–350 гр. Белых крыс без ДПРК было 2, для отработки термического повреждения – 5 животных, в группе без лечения 4 дня после ожоговой травмы – 2 крысы, 3 группы по 11 дней лечения Радевит мазью, сочетанием Омегавена и Крема «Витамин Ф9» жирный и лишь только таким кремом – по 3 животных. Биоптаты кожи животных, включающие зону ожога (верхняя часть спины справа), фиксировали в нейтральном формалине 24 часа и после обычной проводки заключали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизон. Использовали методы обзорной микроскопии.

При лечении ДПРК были применены Омегавен, Радевит мазь и Крем «Витамин Ф99» жирный. Омегавен является, согласно данным доступной нам литературы, единственным лекарственным препаратом ПНЖК для парентерального введения. Фармакологическое действие – восполнение дефицита ПНЖК. Показания: термические и химические ожоги и др. (Инструкция по применению, производитель «Фрезениус Каби, Австрия ГмБХ»; [5]). Применение – внутривенно, для инфузии в вену при суточной дозе 1–2 мл/кг/сутки препарата. Наружно были использованы Крем «Витамин Ф 99» жирный и Радевит мазь. Крем «Витамин Ф99» жирный (ООО НИЛ «Стрелец», Россия) в составе включает витамин Ф – источник незаменимых ПНЖК, эфиры омега-3 жирных кислот, концентрат масла облепихового и др. [1].

Примененная Радевит мазь («Ретиноиды», Россия) представляет комбинированный препарат от белого до желтоватого цвета, в составе которой Ретинола пальмитат, Альфа-

токоферола ацетат, Эргокальциферол и др. Фармакологическое действие – смягчающее, увлажняющее, противовоспалительное, репаративное, противозудное, нормализует процессы ороговения, усиливает защитную функцию кожи. Показания включают эрозии, ожоги и др. [1]. При инъекировании Омегавена (3,0 мл/кг/сут – ежедневно) белую крысу располагали головой вниз, легко встряхивали, иглой инъекционного шприца прокалывали брюшную стенку в 3–4 см кпереди от лонного сочленения. Крем и мазь наносили ежедневно тонким слоем.

### **Результаты и их обсуждение**

#### **Без лечения, 4 дня после ожоговой травмы (№;69, 71)**

Коагуляционный некроз с кариопикнозом, кариорексисом и плазмокоагуляцией клеток в центре очагов повреждения захватывает эпидермис и слои дермы. В центре очага повреждения – коагуляционный некроз. Придатки кожи не определяются. На границе дермы и в гиподерме полнокровие, кровоизлияния, лейкоцитарная инфильтрация.

Некротизированы волосяные луковицы и сальные железы. В зоне повреждения на всем протяжении, до краев дефекта придатки не обнаруживаются.

На границе с гиподермой и в жировой клетчатке признаки острого воспаления: полнокровие, отек, инфильтраты из сегментоядерных лейкоцитов. По краю зоны повреждения некроз распространяется до 2/3 сетчатого слоя дермы, частично сохраняются луковицы волос и сальные железы. По границе некроза полнокровие, отек, выраженная (3+)\*инфильтрация дермы сегментоядерными лейкоцитами.

Отмечаются признаки регенерации. Под коагуляционный некроз (струп) проникают пролиферирующие клетки эпидермиса толщиной до 10 слоев за счет росткового слоя. Пролиферация клеток эпидермиса выявлена вокруг сохранившихся волосяных стержней. Тяжи эпидермальных клеток, внедряющиеся в зону некроза в дерме, окружены сегментоядерными лейкоцитами.

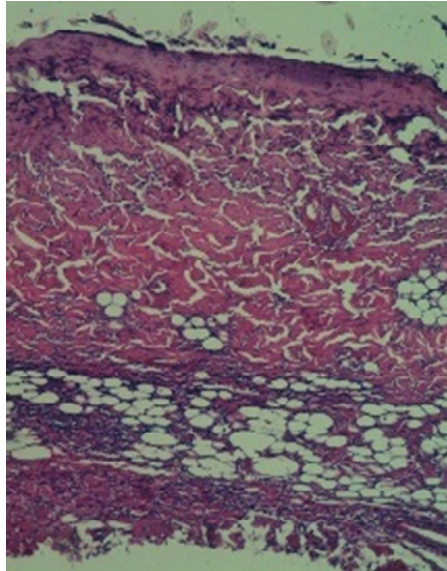
В гиподерме – полнокровие, отек, периваскулярная лейкоцитарная инфильтрация. Вокруг сосудистых сплетений на границе гиподермы – инфильтраты из сегментоядерных лейкоцитов.

#### **Лечение Радевит мазью, 11 дней после ожоговой травмы (№ №72, 76, 78)**

В центре очагов повреждения – коагуляционный некроз с кариопикнозом, кариорексисом и плазмокоагуляцией клеток охватывает эпидермис и оба слоя дермы (рис. 1).

\*/Слабо выраженная клеточная инфильтрация – 1+, умеренно выраженная

инфильтрация – 2+, выраженная инфильтрация – 3+ и резко выраженная инфильтрация – 4+.



*Рис. 1. Окраска гематоксилином-эозином, x 100 (№ 72). Центр очага повреждения. Коагуляционный некроз захватывает эпидермис, сосочковый и сетчатый слои дермы. На границе гиподермы, в жировой клетчатке и мышечном слое выраженная лейкоцитарная инфильтрация (3+)*

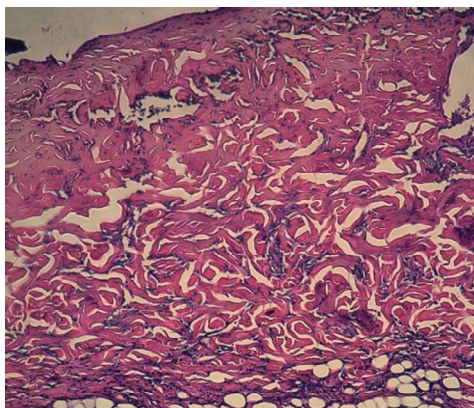
Волосяные луковицы и сальные железы некротизированы. В зоне повреждения на всем протяжении до краев дефекта придатков обнаружить не удалось.

На границе гиподермы в жировой клетчатке и мышечном слое – выраженная лейкоцитарная инфильтрация с преобладанием сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов (3+). В нижних отделах сетчатого слоя дермы и в гиподерме – развитие грануляционной ткани с большим количеством капилляров, основного вещества и клеток. Грануляционная ткань выявлена и в краях очага повреждения. Она располагается под пролиферирующим эпидермисом, который в виде языка наползает на зону некроза. Толщина пласта эпидермальных клеток достигает 15 слоев. Отмечена пролиферация эпидермальных клеток вокруг сохранившихся волосяных влагалищ с образованием колбообразных выпячиваний. Местами эпидермальные клетки проникают под зону некроза и образуют тонкие полоски толщиной в 1–2 клетки, как при заживлении под струпом.

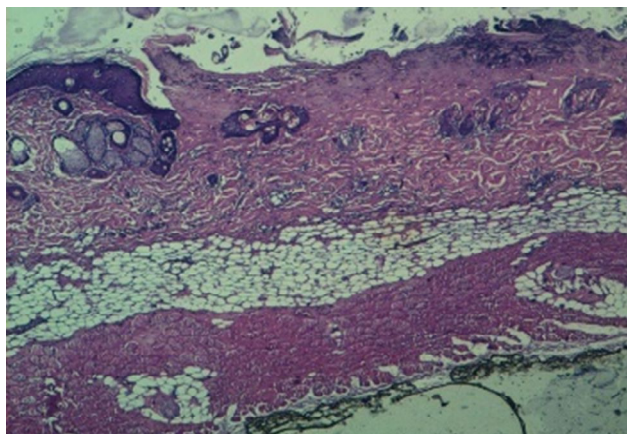
Выраженная лейкоцитарная инфильтрация (3+) и развитие грануляционной ткани отмечены под зоной некроза в дерме и гиподерме. Следует отметить, что зрелость грануляционной ткани увеличивается по направлению к периферии. Ближе к центру очага она более рыхлая и содержит большое количество капилляров, основного вещества, фибробластов и клеток крови, среди которых преобладают сегментоядерные нейтрофильные лейкоциты и эозинофильные лейкоциты. Это свидетельствует о задержке острой фазы воспаления.

**Лечение - Омегавен и Крем «Витамин Ф 99» жирный, после ожоговой травмы – 11 дней (№81, 82, 84)**

В центре очагов повреждения выявляется коагуляционный некроз эпидермиса и обоих слоев дермы. Кариопикноз, кариорексис и плазмокоагуляция наблюдаются в клетках эпидермиса и мезенхимы. Некротизированы волосяные луковицы и сальные железы. В зоне повреждения на всем протяжении, до краев дефекта придатков обнаружить не удалось. В дерме полнокровие, кровоизлияния и инфильтрат из сегментоядерных лейкоцитов, большей частью некротизированных. Под зоной некроза, на границе эпидермиса и дермы слабо выраженная (1+) периваскулярная лейкоцитарная инфильтрация (рис. 2).



*Рис. 2. Окраска гематоксилином – эозином, x 100 (№ 82). Центр очага повреждения. Под зоной некроза, на границе эпидермиса и дермы слабо выраженная периваскулярная лейкоцитарная инфильтрация (1+)*



*Рис. 3. Окраска гематоксилином-эозином, x 40 (№ 84). Край очага повреждения. Некроз распространен до ½ сетчатого слоя дермы; сохранены части волосяных луковиц. Вокруг них пролиферация клеток эпидермиса. Лейкоцитарная инфильтрация сохранившейся дермы и гиподермы слабо выражена (1+)*

В краях очагов повреждений некроз распространяется до половины сетчатого слоя, частично сохранены луковицы волос (рис.3). Регенерация проявляется прежде всего

пролиферацией клеток эпидермиса. Толщина пласта клеток эпидермиса достигает 10 клеток. Он в виде тонких язычков или булавовидных утолщений проникает под некротизированную ткань. Отмечается пролиферация клеток эпидермиса вокруг сохранившихся волосяных влагалищ с образованием колбообразных выпячиваний. В дерме вокруг пролифератов клеток эпидермиса слабо выраженная лейкоцитарная инфильтрация (1+). Инфильтраты преимущественно из лимфоцитов и макрофагов. Преобладание лимфоцитов и макрофагов характерно для всех инфильтратов дермы и гиподермы. Местами в дерме отмечены своеобразные тяжи: периваскулярные лимфо-макрофагальные инфильтраты и тонкие полоски грануляционной ткани, распространяющиеся от гиподермы до зоны некроза. Тонкие полоски грануляционной ткани обнаруживаются и под эпидермисом.

### **Лечение Кремом «Витамин Ф 99» жирным, 11 дней после ожога (№ 86, 88, 90)**

Центральную зону в очагах повреждения занимает участок коагуляционного некроза, который захватывает эпидермис, сосочковый и сетчатый слои дермы. Его характеризуют кариопикноз, кариорексис, плазмокоагуляция клеток эпидермиса и стромы. Волос и сальных желез в этой зоне не обнаружено. Под зоной некроза, на границе дермы, в жировой клетчатке гиподермы и мышечном слое выраженная лейкоцитарная инфильтрация с преобладанием сегментоядерных лейкоцитов (3+) и развитие грануляционной ткани с большим количеством капилляров, основного вещества и клеток, среди которых много эозинофильных лейкоцитов, что свидетельствует о регенерации. В краях очага некроза признаки заживления более выражены.

Пролиферирующие плоские клетки эпидермиса образуют резко утолщенный (до 10 рядов) слой, с неравномерно выраженным ороговением. Он погружен под некротические массы – заживление под струпом, образовал своеобразные выпячивания «почки», либо распространяется по поверхности. Отмечается пролиферация эпидермальных клеток вокруг сохранившихся волосяных влагалищ.

Выраженная лейкоцитарная инфильтрация (3+) и грануляционная ткань разной степени зрелости выявляются под эпидермисом, в дерме и гиподерме. Менее зрелой она определяется ближе к центру повреждения, более зрелой – по периферии краев.

Гистопатологические исследования пораженной кожи белых крыс с дерматитом простым раздражительным контактным при различных методах лечения позволили выявить определенные закономерности. От контрольной группы биоптаты кожи крыс с повреждением без лечения через 4 дня отличаются наличием очагов коагуляционного некроза, признаками воспаления: полнокровие, отек, кровоизлияния, выраженная инфильтрация сегментоядерными нейтрофильными лейкоцитами вокруг зон некроза, в дерме и гиподерме. Пролиферация эпидермиса в краях зон повреждения слабо выражена.

Биоптаты кожи крыс после 11 дней лечения Радевит мазью и Кремом «Витамин Ф99» жирным между собой практически не различаются. Отмечается выраженная инфильтрация сегментоядерными нейтрофильными лейкоцитами с примесью эозинофильных лейкоцитов (3+) и развитие большого количества грануляционной ткани вокруг некроза, под пролиферирующим эпидермисом, в толще дермы и в гиподерме. Грануляционная ткань более зрелая у краев очага повреждения.

### **Заключение**

В биоптатах крыс после 11-дневного лечения инъекциями внутрь брюшной полости Омеговена и наружно – Крем «Витамин Ф 99» жирный в дерме отмечена менее выраженная – во всех препаратах 1+ (чем у леченных Радевит мазью либо только Кремом «Витамин Ф99» жирный – во всех препаратах 3+) лейкоцитарная инфильтрация вокруг зоны некроза, причем в инфильтратах преобладали лимфоциты и макрофаги, что свидетельствует о преобладании клеточного ответа. Под пролиферирующими активно клетками эпидермиса отмечена тонкая полоска грануляционной ткани, значительно менее выраженная, чем при лечении Радевит мазью, что, по-видимому, приведет к формированию более нежного рубца. Тем самым отмечено более выраженное противовоспалительное действие при экспериментальном дерматите простым раздражительном контактном средств лечения, содержащих омега-3 и 6 ПНЖК (Омегавен и Крем «Витамин Ф 99» жирный), по сравнению с Радевит мазью (судя клеточному составу инфильтратов – лимфоциты и макрофаги в одном случае и нейтрофильные сегментоядерные лейкоциты и эозинофилы – в другом случае, а также по выраженности клеточных инфильтратов).

### **Список литературы**

1. Гребенников В.А. Местная терапия в дерматологии. Фармакологический справочник / В.А. Гребенников, Л.А. Анисимова, В.Е. Темников и др. – Ростов-на-Дону, 2014. – 131 с.
2. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования / Н.Н. Каркищенко. – М.: Межакадемическое изд-во ВПК, 2003. – 500 с.
3. Каркищенко Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях /под ред. Н.Н. Каркищенко и С.В. Грачева / Н.Н. Каркищенко. – М.: Профиль, 2010. – 358 с.
4. Миллер Л.Г. Регенерация кожи в условиях экспериментального дерматита и на фоне лечения препаратами «Эйковит»: дис. ... канд. мед. наук: 03.00.25 /Миллер Лидия Георгиевна. – Тюмень, 2004. – 125 с.

5. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: справочник. – М.: ЮБМ Медика Рус, 2014. – 1600 с.
6. Цветков Д.С. Иммунное питание: новые возможности коррекции метаболических нарушений у больных в критических состояниях /Д.С. Цветков // Эффективная фармакотерапия. – 2014. – № 6. – С.28-34.
7. Heller A.R. Omega-3 fatty acids improve liver and pancreas function in postoperative cancer patients /A.R. Heller, T. Rossel, B. Gottshlich et al. // Int. J. cancer. – 2004. – V.111. – P.611-616.
8. McLean C.H. Effects of omega-3 fatty acids on lipids and glycemic control in type 2 diabetes and the metabolic syndrome and on inflammatory bowel disease, rheumatoid arthritis, renal disease, systemic lupus erythematosus, and osteoporosis /C.H. McLean, W.A. Mojica, S.C. Marton et al. // Evid. Rep. Technol. Assess. (Summ.). – 2004. – V.89. – P. 1-4.