

УДК615.262.2



СТИМУЛЯЦИЯ РЕПАРАЦИИ В МОДЕЛИ ЛИНЕЙНОЙ РАНЫ У КРЫС ГЕЛЕМ С БИШОФИТОМ

Ю.В. Степенко¹, В.О. Солдатов¹, М.А. Затолокина², А.В. Майорова³, Б.Б. Сысуев³,
А.Н. Демиденко¹, Е.Н. Ивахно¹, М.В. Сарычева¹, М.В. Покровский¹

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

² Курский государственный медицинский университет
305041, Россия, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3

³ Российский университет дружбы народов
117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Поступила в редакцию: 20.12.2018

Принята к печати: 23.01.2019

Цель – оценка репаративной активности геля с Бишофитом на модели линейной раны у крыс. **Материалы и методы.** Исследование было проведено на 36 самцах крыс линии Wistar массой 193–218 г. На 8-е сутки после моделирования линейного раневого дефекта длиной 50±1 мм оценивали репаративное действие Бишофита, Актовегина и Контрактубекса в составе гелей. Оценка проводилась с помощью: 1) изучения физико-механических свойств раневого дефекта (механический раноразрыватель Метротест РЭМ-0.2-1); 2) морфологического исследования тканей кожного лоскута, взятого из области раны (окраска гематоксилин-эозин и Ван Гизон); 3) определения соотношения коллагена I и III типов в поляризационном микроскопе (окраска пикросириус красный); 4) колориметрического анализа концентрации гидроксипролина в тканях раневой поверхности. **Результаты.** На 8-е сутки наибольшей прочностью характеризовались раневые дефекты, полученные от животных с применением Бишофита (среднее усилие на момент разрыва 13,70 Н), что достоверно выше ($p < 0,01$), чем в контрольной группе (11,76 Н). Актовегин повлиял на данный параметр в меньшей степени (12,60 Н), а Контрактубекс привел к его снижению (8,10 Н). Влияние препаратов на морфологическую картину тканей кожи было аналогичным. Содержание гидроксипролина в образцах исследуемых групп составило: Бишофит – 13,23±1,68; Актовегин – 15,89±1,37; Контрактубекс – 17,61±0,67; Контроль – 16,59±1,08. По влиянию на соотношение коллагена I и III типов исследуемые препараты располагались в следующей последовательности: Бишофит (0,73±0,023) > Актовегин (0,67±0,017) > Контроль (0,56±0,012) > Контрактубекс (0,38±0,02). **Заключение.** Проведенное исследование показало, что Бишофит обладает выраженной способностью стимулировать регенерацию раневого дефекта кожи. При этом препарат сравнения Актовегин продемонстрировал меньшую активность, а Контрактубекс ухудшил ранозаживление.

Ключевые слова: Бишофит, регенерация, Актовегин, Контрактубекс, гидроксипролин, коллаген

Для цитирования: Ю.В. Степенко, В.О. Солдатов, М.А. Затолокина, А.В. Майорова, Б.Б. Сысуев, А.Н. Демиденко, Е.Н. Ивахно, М.В. Сарычева, М.В. Покровский. Стимуляция репарации в модели линейной раны у крыс гелем с Бишофитом. *Фармация и фармакология.* 2019;7(1): 42-52. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-42-52

© Ю.В. Степенко, В.О. Солдатов, М.А. Затолокина, А.В. Майорова, Б.Б. Сысуев, А.Н. Демиденко, Е.Н. Ивахно, М.В. Сарычева, М.В. Покровский, 2019

For citation: Yu. V. Stepenko, V. O. Soldatov, M. A. Zatolokina, A. V. Mayorova, B. B. Sysuev, A. N. Demidenko, E. N. Ivahno, M. V. Sarycheva, M. V. Pokrovskiy. Stimulation of reparation in a linear wound model in rats by Bischofit gel. *Pharmacy & Pharmacology.* 2019;7(1): 42-52. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-42-52

STIMULATION OF REPARATION IN A LINEAR WOUND MODEL IN RATS BY BISCHOFIT GEL

Yu.V. Stepenko¹, V.O. Soldatov¹, M.A. Zatulokina², A.V. Mayorova³, B.B. Sysuev³,
A.N. Demidenko¹, E.N. Ivahno¹, M.V. Sarycheva¹, M.V. Pokrovskiy¹

¹ Belgorod State National Research University
85, Pobeda Str., Belgorod, 308015

² Kursk State Medical University
3, Karl Marx Str., Kursk, 305041

³ Peoples' Friendship University of Russia
6, Miklukho-Maklay Str., Moscow, 117198

E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Received: 20.12.2018

Accepted for publication: 23.01.2019

The aim of the article is to evaluate Bischofit gel reparative activity in a linear wound model in rats. **Materials and Methods.** The study was conducted on 36 male Wistar rats weighing from 193 to 218 grams. On the 8th day after modeling a linear wound defect 50±1 mm long, the reparative effect of bischofite, Actovegin and Contractubex in the gel compositions was evaluated. The evaluation was carried out using: the following methods: 1) studying the physicochemical characteristics of the wound defect (a wound-tearing machine Metrotest REM-0.2-1); 2) morphological examination of the skin graft taken from the wound area (stained with hematoxylin-eosin and Van Gieson's solution); 3) determining the ratio of collagen types I and III in a polarizing microscope (the picosirius was red); 4) colorimetric analysis of the hydroxyproline concentration in the wound surface tissues. **Results.** On the 8th day, the wound defects sampled from the bischofite treated animals, were characterized by the most pronounced strength (the average force at the rupture moment was 13.70 N), which was significantly higher ($p<0.01$) than in the control group (11.76 N). Actovegin showed less influence on this parameter (12.60 N), and the use of Contractubex led to its decrease (8.10 N). The effect of the drugs on the morphological state of the skin tissue was similar. The hydroxyproline concentration in the studied groups' samples was: Bischofit 13.23±1.68; Actovegin 15.89±1.37; Contractubex 17.61 ± 0.67; the Control was 16.59±1.08. According to the impact on the ratio of collagen in types I and III, the studied drugs were arranged in the following sequence: Bischofit (0.73±0.023) > Actovegin (0.67±0.017) > Control (0.56±0.012) > Contractubex (0.38 ±0.020). **Conclusion.** The carried out study showed that Bischofit has a pronounced ability to stimulate the regeneration of the skin wound defect. Hereby, the reference drug Actovegin showed less activity, and Contractubex worsened wound healing.

Keywords: Bischofite, regeneration, Actovegin, Contractubex, hydroxyproline, collagen

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на стремительное развитие направленного синтеза, появление высокоселективных препаратов и биологической терапии, более простые, мультитаргетные соединения не теряют своей актуальности [1]. Одним из таких средств является гель на основе Бишофита – природного минерала, значительные запасы которого представлены на территории Нижнего Поволжья. Долгое время Бишофит использовался в клинической практике для лечения широкого спектра патологий. Фармакологическая активность этого минерала, в том числе в составе гелей, детально изучалась в течение нескольких десятилетий [2, 3]. Было показано, что Бишофит обладает противовоспалительной и иммуномодулирующей активностью, а также способствует ускорению регенеративных процессов [4–7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Исследование проведено на 36 самцах крыс линии Wistar массой (193–218 г). В качестве лабораторных животных были использованы крысы, полученные из питомника лабораторных животных «Столбовая» (Московская область, п. Столбовая). Все манипуля-

ции, производимые над особями, выполнены в соответствии с международными нормами экспериментальной этики (Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Strasbourg, 22 June, 1998)) и с требованиями надлежащей лабораторной практики (GLP). Животных размещали в макролоновых клетках с решетчатыми стальными крышками и углублением для корма. Подстилочным материалом служили нехвойные древесные опилки. Все крысы в течение эксперимента содержались в стандартных условиях вивария (влажность – 65±5%, температура – 22±2°C). Особи находились при естественном освещении со свободным доступом к пище и воде. Клетки, подстил и поилки для питья менялись по мере загрязнения.

Дизайн исследования

Под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) после предварительной депиляции (80×45 мм) и обработки антисептиком (раствор спирта этилового 70%) дорсальной области моделировали линейную рану длиной 50±1 мм путем рассечения кожных покровов по паравертебральной линии лезвием с ограничителем глубины 2 мм, после чего края раны сближали путем наложения трех швов стерильными нитями [8].

Затем животных делили на 4 равные группы:

I – контрольная группа – имитация втирания препарата на выбритую область через 10 минут после моделирования раны и в последующие 6 дней (1 раз в сутки)

II – Бишофит – втирание 500 мг геля с Бишофитом на область раны и прилежащие ткани через 10 минут после моделирования раны и в последующие 6 дней (1 раз в сутки)

III – Актовексин – втирание 500 мг геля Актовексин на область раны и прилежащие ткани через 10 минут после моделирования раны и в последующие 6 дней (1 раз в сутки)

IV – Контрактубекс – втирание 500 мг геля Контрактубекс

на область раны и прилежащие ткани через 10 минут после моделирования раны и в последующие 6 дней (1 раз в сутки)

После естественного подсушивания области нанесения препаратов животные помещались в индивидуальные клетки. В последующие 6 дней производилась оценка клинического состояния, двигательной активности, потребления корма и пищи, а также фотофиксация области раны. На 8-й день животных выводили из эксперимента методом краниальной дислокации под наркозом, после чего с дорсальной поверхности изымались 4 кожных лоскута (общая поверхность 25×45 мм) для проведения дальнейших исследований (рис. 1).

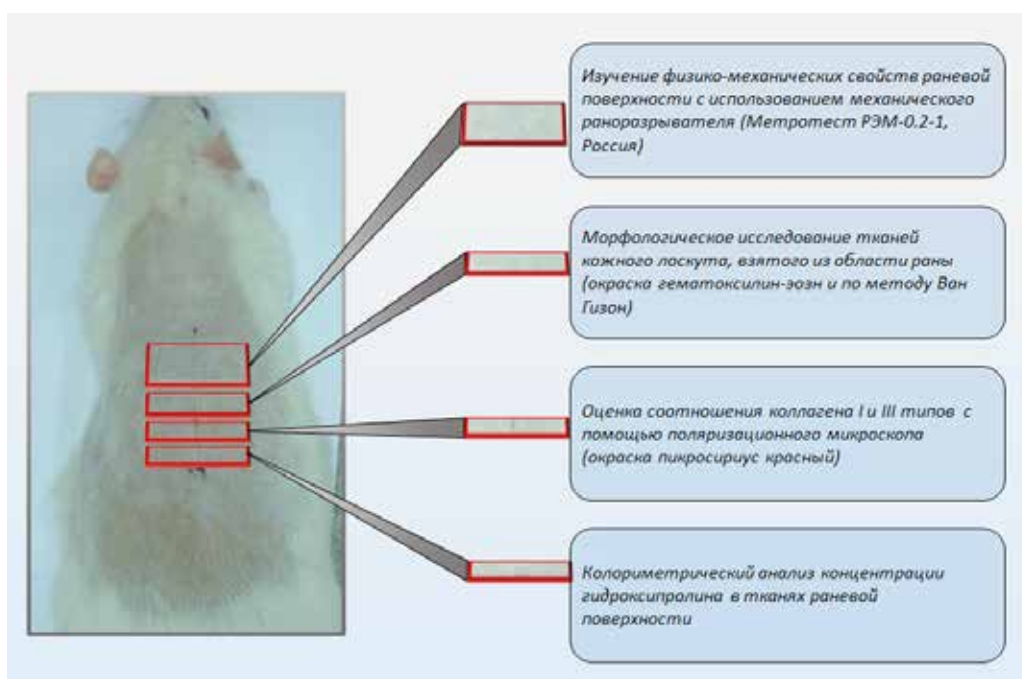


Рисунок 1. Схематическое изображение областей изъятия кожи для оценки репаративного действия препаратов

1. Изучение физико-механических свойств раневого дефекта проводили с использованием механического раноразрывателя. Вырезанный кожный фрагмент фиксировали в специальной установке с помощью нитей и металлических спиц. После запуска прибора отслеживали усилие (дискретность=0,1 Н), необходимое для разрыва тканей по линии раны, также были получены данные о предельной деформации (растяжение на момент разрыва) кожного лоскута. Данный параметр позволяет судить об эластичности раневого дефекта.

2. Колориметрический анализ концентрации гидроксипролина в тканях раневого дефекта. Также для оценки степени репаративной реакции в тканях производили определение концентрации как основной аминокислоты коллагена, так и гидроксипролина (ГП). ГП образуется как результат котрансляционного гидроксирования пролина ферментом пролингидроксилазой, которое происходит еще до завершения синтеза полипептидной цепи [9].

Для определения концентрации ГП в образцах использовали колориметрический метод определения продуктов реакции окисленного ГП и реактива Эрлиха [10]. В ходе пробоподготовки круглые участки кожи без подлежащих тканей диаметром 5 мм и, включающие все ее слои, забирались у эвтаназированных животных с помощью инструмента DermalPunch (США). Образцы замораживались в жидком азоте погружением на 1–2 секунды и хранились при температуре минус 72°С в герметично закрытых пробирках типа Eppendorf.

В день проведения исследования образцы замораживались в течение 3–5 часов при комнатной температуре на открытом воздухе. Образцы взвешивали и разрезали таким образом, чтобы масса одного из фрагментов была около 20 мг. Затем из образцов готовили гидролизат. Для определения ГП к 1 мл гидролизата добавляли 1 мл хлорамина Б, встряхивали и выдерживали при комнатной температуре 20 минут. Добавляли 1 мл раствора кислоты хлористоводородной 36%,

снова встряхивали и добавляли 1 мл 20%-го раствора реактива Эрлиха. Пробирки вновь встряхивали и помещали в водяную баню (60°C) на 20 минут, затем прерывали реакцию погружением пробирок в ледяную баню и добавляли 5 мл этилцеллозоля. Оптическую плотность определяли при длине волны 557 нм. Для приготовления стандартов использовали кристаллический ГП производства Sigma-Aldrich (США).

3. Морфологическое исследование тканей кожного лоскута, взятого из области раны, проводили стандартным способом. Образцы фиксировали 10% раствором забуференного формалина. Срезы

окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Ван Гизон. Окрашивание гематоксилином и эозином позволяет провести общую оценку гистологической картины, а окраска по методу Ван Гизон позволяет детально изучить архитектуру соединительной ткани, дифференцируя зрелый и незрелый коллаген. Затем полученным препаратам были присвоены кодовые названия для независимой оценки экспертной комиссией, состоящей из 5 врачей патологоанатомического бюро областной клинической больницы г. Белгорода им. Святителя Иосифа. Оценка производилась по специально разработанной шкале (таб. 1).

Таблица 1. Шкала для оценки репаративной активности исследуемых препаратов с помощью гистологической картины области раневого дефекта

Качественный признак	Баллы и их характеристика			
Нарушение цитоархитектоники	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярko выражено
Нарушение архитектоники межклеточного матрикса	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярko выражено
Кровоизлияния, расширенные сосуды	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярko выражено
Нарушение эпителизации	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярko выражено
Лейкоцитарная инфильтрация	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярko выражено

4. Оценка соотношения коллагена I и III типов в поляризационном микроскопе

Для оценки состоятельности репаративного процесса определяли соотношение коллагена I и III типов, поскольку преобладание зрелого (I) коллагена над незрелым (III), свидетельствует о нормально протекающей регенерации раны. Для количественной оценки соотношения зрелого (I) и незрелого (III) коллагена срезы окрашивали пикросириус красным, микроскопировали в поляризационном микроскопе и фотографировали. Для каждого среза осуществляли фотосъемку 10 полей зрения при увеличении $\times 400$. Соотношение цветов дифференциальной окраски устанавливалось путем автоматического анализа цветных гистограмм для каждой из микрофотографий с помощью программы image J и последующей статистической обработки. Меньшее значение соотношения указывает на более высокую долю незрелого коллагена III типа [11].

Статистическая обработка полученных дан-

ных проводилась с помощью программного обеспечения Statistica 10.0. Для всех данных была применена описательная статистика. Нормальность распределения определялась с использованием критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Статистическая достоверность различий в зависимости от характера данных проводилась с использованием t-критерия Стьюдента и Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми признавались различия при значении $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После пробуждения и в дальнейшие дни исследования животные были активны, потребление корма и пищи в пределах нормы. Гнойных осложнений, геморагий, экскораций и прочих нежелательных явлений не наблюдалось. К 7 дню исследования наибольшие визуальные отличия наблюдались между животными, получавшими гель с Бишофитом и контрольной группой (рис. 2).



Рисунок 2. Общий вид животных непосредственно перед эвтаназией

Примечание:

A – группа животных, получавшая гель с Актовегином;

B – группа животных, получавшая гель с Контрактубексом;

C – группа животных, получавшая гель с Бишофитом

Определение физико-механических свойств раневого дефекта

При определении усилия на момент разрыва с использованием механического раноразрывателя (Метротест РЭМ-0.2-1, Россия) было установлено, что средняя сила, необходимая для разрыва кожного лоскута по

линии раневого дефекта в контрольной группе составила $11,76 \pm 0,71$ Н. По влиянию на прочность раневого дефекта изучаемые препараты можно расположить в следующем ряду (по убыванию): гель с Бишофитом ($13,70 \pm 0,76$ Н, $p < 0,01$); Актовегин ($12,60 \pm 0,63$ Н, $p < 0,05$); Контрактубекс ($9,65 \pm 0,59$ Н, $p < 0,01$) (рис. 3).

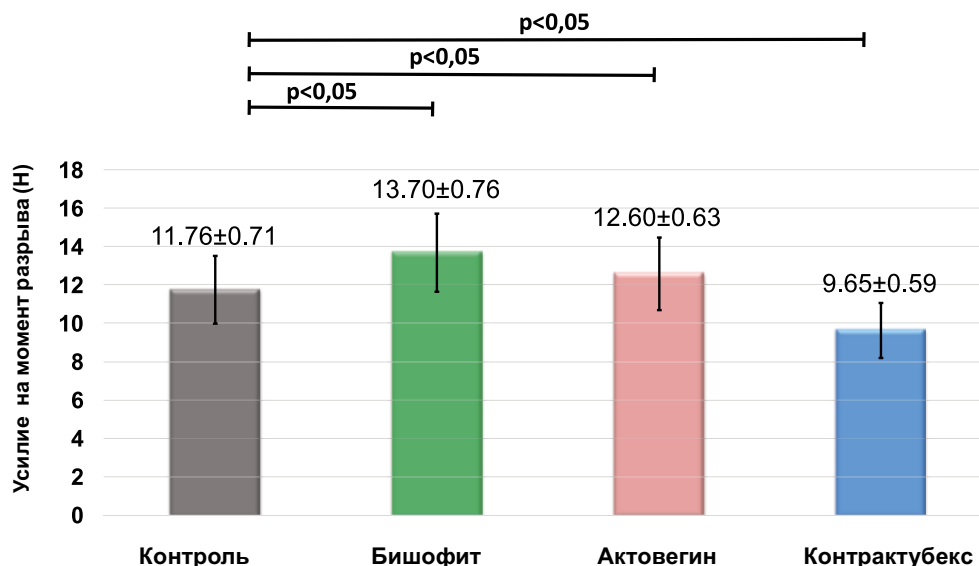


Рисунок 3. Результаты определения физико-механических свойств раневого дефекта. Усилие на момент разрыва (Н) при оценке прочности раневого дефекта с использованием механического раноразрывателя ($M \pm m$)

При анализе предельной деформации кожного лоскута было показано, что увеличение длины кожного лоскута на момент разрыва составило в контрольной группе – $8,0 \pm 1,7\%$. По влиянию на эластичность раневого дефекта изучаемые препараты можно расположить в следующем ряду (по убыва-

нию): гель с Бишофитом ($10,7 \pm 2,3\%$); Актовегин ($8,2 \pm 1,9\%$); Контрактубекс ($8,1 \pm 1,7\%$). Статистическая обработка показала, что по данному параметру достоверно ($p < 0,05$) отличается от контрольной группы только группа, получавшая гель с Бишофитом (рис. 4).

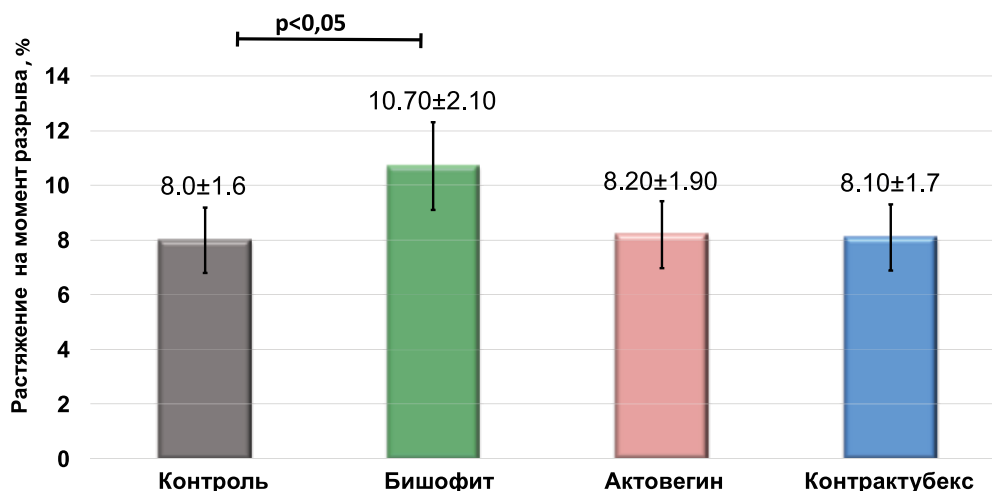


Рисунок 4. Результаты определения физико-механических свойств раневого дефекта: растяжение на момент разрыва (%) при оценке эластичности раневого дефекта с использованием механического раноразрывателя ($M \pm m$)

Колориметрический анализ концентрации гидроксипролина в тканях раневого дефекта

При колориметрическом анализе было установлено, что наибольшая концентрация ГП содержалась в тканях раневых дефектов животных, получавших Контрактубекс, однако статистически

достоверной разницы с контрольной группой обнаружено не было. Достоверно меньшую в сравнении с контролем ($p < 0,05$) концентрацию ГП содержали ткани моделированных ран у животных, получавших гель с Бишофитом (79,7% от контроля) (таб. 2).

Таблица 2. Концентрация гидроксипролина (ГП) в образцах тканей раневых дефектов, полученных на 8 сутки после начала эксперимента ($M \pm m$)

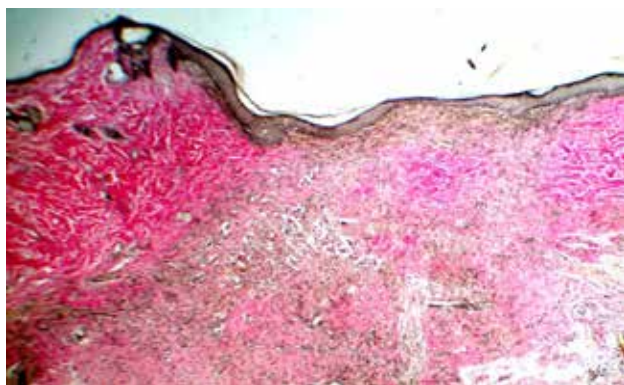
Группа	Контроль	Бишофит	Актовегин	Контрактубекс
Концентрация ГП, мг/г	16,59±1,08	13,23±1,68	15,89±1,37	17,61±0,67

Примечание: * – наличие статистических значимых отличий при сравнении с группой контроля по критерию Манна-Уитни при $p \leq 0,05$

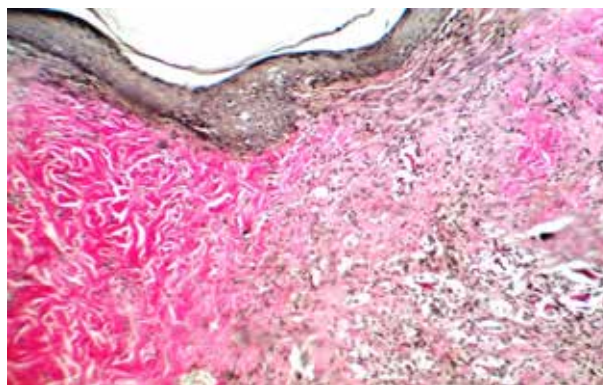
С учетом данных, полученных при определении физико-механических свойств раневого дефекта, вероятной причиной увеличения концентрации ГП в тканях животных, получавших Контрактубекс, является сохранность воспалительной реакции, пролонгирование процессов ремоделирования новообразованной соединительной ткани и разрастания грануляционной ткани. С другой стороны, снижение концентрации ГП в раневых дефектах группы, получавшей гель с Бишофитом, свидетельствует о снижении вторичной альтерации и об ускорении репарации.

Морфологическое исследование тканей кожного лоскута, взятого из области раны

Контрольная группа. В контрольной группе новообразованный соединительнотканый рубец занимает широкую площадь, визуализируются участки неравномерного созревания соединительной ткани. Регенерировавший и покрывающий рану эпидермис имеет толщину в 3–4 раза, превышающий лежащий рядом эпидермис интактной кожи (рис. 5А). В толще эпидермиса на фоне митотически делящихся клеток базального слоя визуализируются эпителиоциты с пикноморфными ядрами и явлениями кариолизиса. Следует также отметить о неоднородности строения соединительнотканного рубца (рис. 5В).



A



B

Рисунок 5. Микрофотография среза кожи в области раны в группе контрольных наблюдений

Примечание: окрашено по методу Ван Гизон. Ув. $\times 100$ (A). Ув. $\times 200$ (B)

Волокнистый компонент в области рубца представлен тонкими разнонаправленными коллагеновыми волокнами. Клеточный компонент преобладает

над волокнистым. Следует отметить, что в зоне рубца отсутствуют волосяные фолликулы и сальные железы (рис. 6).

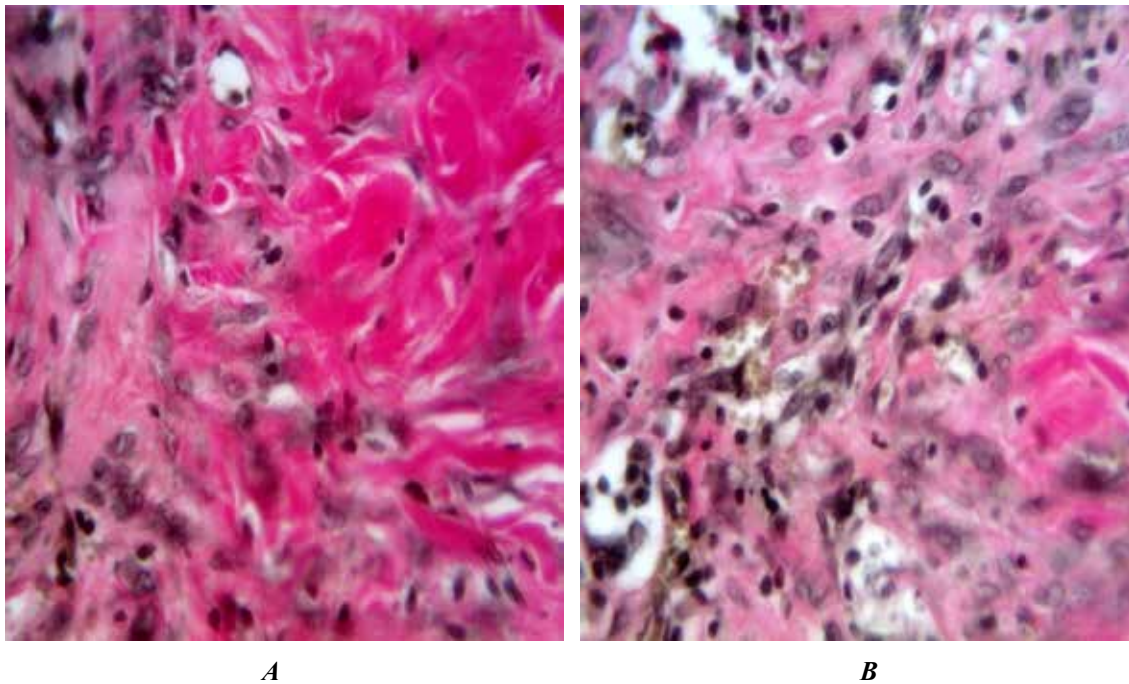


Рисунок 6. Микрофотография среза кожи в области раны в группе контрольных наблюдений
Примечание: окрашено по Ван Гизон. Ув. $\times 400$

Бишофит. На гистологических срезах кожи животных, получавших гель с Бишофитом, в области раны визуализируется тонкий соединительнотканый рубец, на поверхности которого определяется полная регенерация эпидермиса, которая в несколько раз больше, чем в прилегающей ране

эпидермиса. В зоне рубца дериваты не определяются (рис. 7А). Непосредственно под эпидермисом визуализируется широкая полоса соединительной ткани, содержащая кровенаполненные сосуды с локальными кровоизлияниями в окружающую ткань (рис. 7В, С).

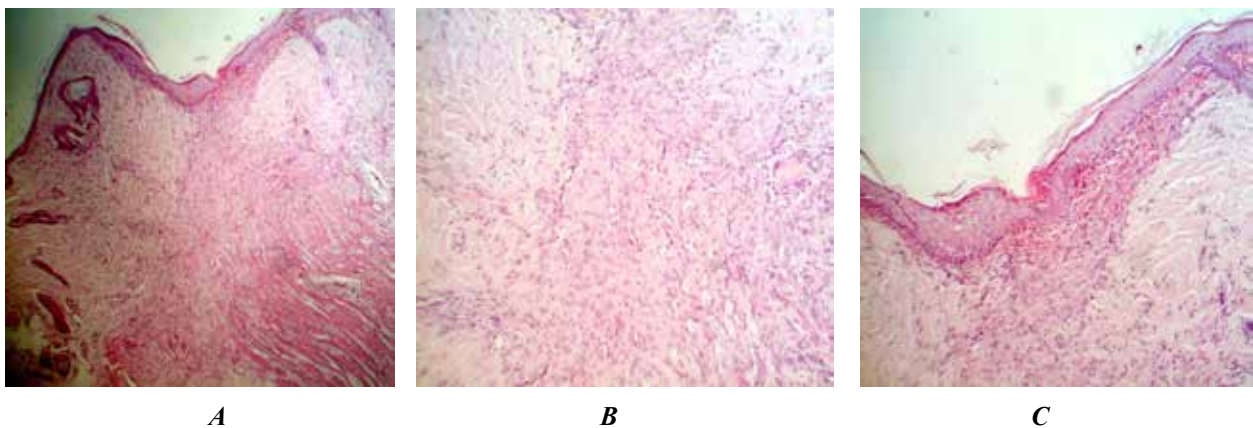


Рисунок 7. Микрофотография среза кожи в области раны в группе наблюдений с применением геля Бишофита

Примечание: хорошо визуализируется утолщенный новообразованный эпидермис (А, В) и новообразованная грануляционная ткань с большим количеством кровеносных сосудов (С). Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$ (А). Ув. $\times 200$ (В, С)

Относительно пространственной организации новообразованного соединительнотканного рубца необходимо отметить наличие нарушения послойно-

го строения кожи. Со стороны новообразованной соединительной ткани происходит прорастание в подлежащую гиподерму и мышечную ткань (рис. 8А).

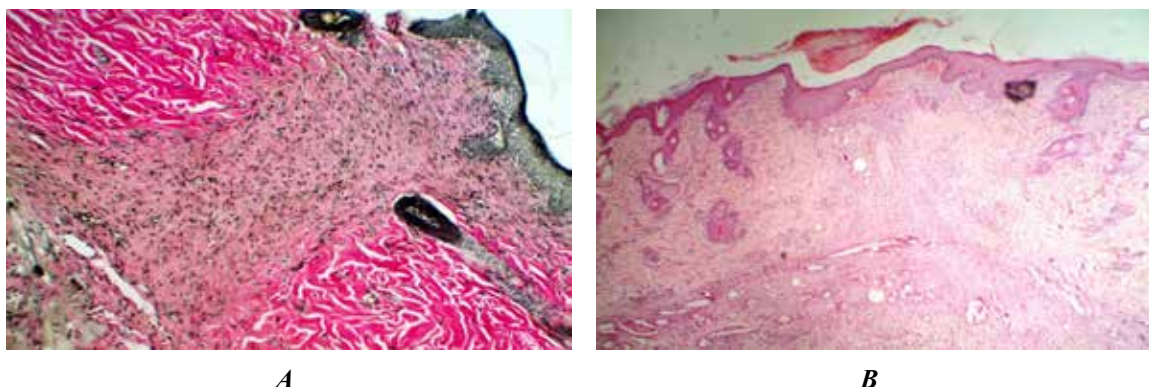


Рисунок 8. Микрофотография среза кожи в области раны в группах наблюдений

Примечание:

A – Бишофит, окрашено по Ван Гизон. Ув. × 200;

B – Актовегин, окрашено гематоксилином и эозином. Ув. × 100

Актовегин. На препаратах полностью сформированный соединительнотканый рубец клиновидной формы. Наблюдается полное закрытие раневого де-

фекта многослойным плоским эпителием (рис. 8B).

В базальном и шиповатом слоях эпидермиса визуализируется большое количество митозов (рис. 9A).

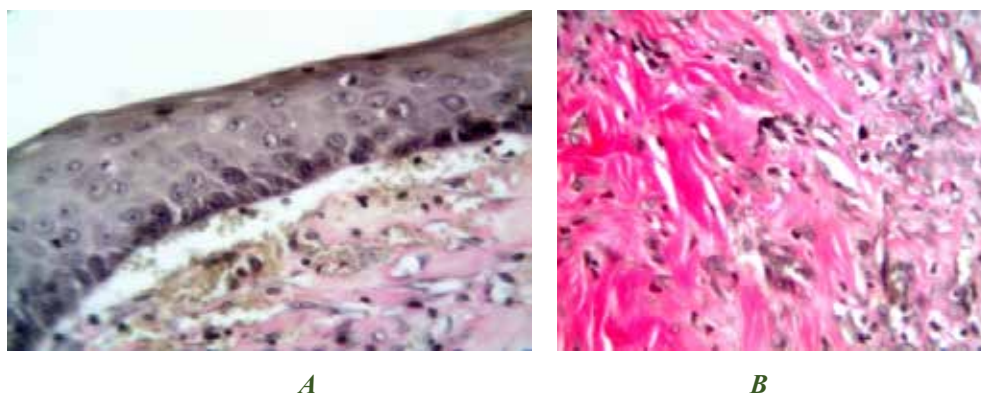


Рисунок 9. Микрофотография среза кожи в области раны в группе наблюдений с применением Актовегина. Окрашено по методу Ван Гизон. Ув. × 400

Примечание:

A – в поле зрения преобладают фибробласты и лимфоциты, единичные фиброциты. Следует отметить отсутствие хорошо сформированного сосочкового слоя;

B – в рядом расположенных участках от рубца, дерме, волокна толстые структурированные и имеют все нормофункциональные критерии плотной неоформленной соединительной ткани

У основания клиновидного соединительнотканного рубца клеточный компонент преобладает над волокнистым, в поле зрения преобладают фибробласты и лимфоциты, единичные фиброциты. Следует отметить отсутствие хорошо сформированного сосочкового слоя. В поле зрения преобладают зрелые ярко оксифильные коллагеновые волокна, которые расположены хаотично и неупорядоченно. На участках, расположенных рядом от рубца, дерме, волокна толстые структурированные и имеют все нормофункциональные критерии плотной неоформленной соединительной ткани (рис. 9B).

Контрактубекс. При изучении микропрепаратов кожи животных, получавших Контрактубекс, визуализируется широкая зона рубцового дефекта, полное заполнение раневого дефекта грануляционной тканью (рис. 10A).

На протяжении всей поверхности рубца наблюдается отслоение новообразованного утолщенного эпителия. Обращает внимание наличие неоднородности в пространственной организации соединительнотканного рубца. Имеет место присутствие локальных участков с высокой степенью зрелости новообразованной соединительной ткани. При этом коллагеновые волокна, расположенные хаотично, не плотно, перемежаются с участками единично расположенных жировых клеток с разным диаметром, не склонных к слиянию (рис. 10B).

У основания новообразованного соединительнотканного рубца, который продолжается в глубоких слоях дермы, гиподермы и мышечного слоя кожи, определяется большое количество расширенных кровеносных сосудов, со склонностью к кровоизлиянию в окружающую ткань (рис. 10C).

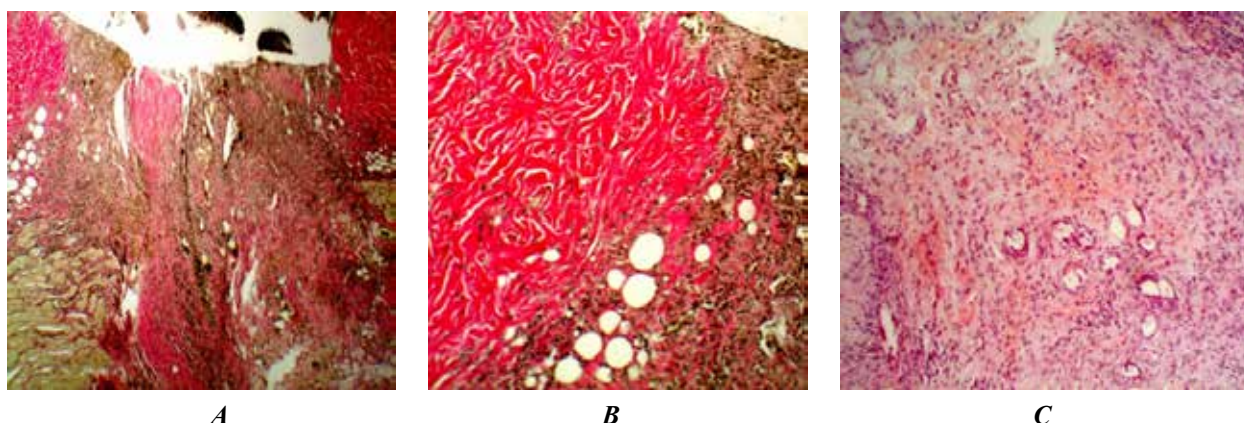


Рисунок 10. Микрофотография среза кожи в области раны в группе наблюдений с применением Контрактубекса

Примечание:

A – полное заполнение раневого дефекта грануляционной тканью, окрашено по методу Ван Гизон, ув. × 100;

B – наблюдается чередование участков с высокой степенью зрелости новообразованной соединительной ткани с участками единично расположенных жировых клеток с разным диаметром, не склонных к слиянию, окрашено по методу Ван Гизон, ув. × 100;

C – в глубоких слоях дермы, гиподермы и мышечного слоя кожи определяется большое количество расширенных кровеносных сосудов со склонностью к кровоизлиянию в окружающую ткань, окрашено гематоксилином и эозином, ув. × 200

Сравнительная количественная оценка

При анкетировании экспертной комиссии в каждой группе был определен средний балл (таб. 3).

Меньшее количество баллов указывает на более состоятельную гистологическую картину образцов, полученных из групп.

Таблица 3. Результаты балльной оценки микропрепаратов кожи экспертной комиссией (M±m)

Качественный признак	Количественная оценка (в баллах)			
	Контроль	Бишофит	Актовегин	Контрактубекс
Нарушение цитоархитектоники	1,71±0,18	1,34±0,21	1,49±0,15	1,49±0,15
Нарушение архитектоники межклеточного матрикса	1,32±0,21	1,12±0,09	1,21±0,10	1,31±0,11
Кровоизлияния, расширенные сосуды	1,91±0,19	1,24±0,11	1,54±0,16	1,39±0,15
Нарушение эпителизации	1,72±0,21	1,52±0,15	1,51±0,19	1,79±0,21
Лейкоцитарная инфильтрация	1,84±0,23	1,32±0,31	1,29±0,12	2,0±0,21
Средний балл	1,70±0,20	1,31±0,21*	1,41±0,15*	1,60±0,16

Примечание: меньшее количество баллов указывает на более состоятельную гистологическую картину; * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем

Из данных представленных в таблице 3 видно, что менее выраженные морфологические изменения наблюдаются в группах, получавших гель с Бишофитом и гель с Актовегином.

Оценка соотношения коллагена I и III типов в поляризационном микроскопе

При оценке соотношения коллагена I и III типов в тканях раневого дефекта при окраске пикросирусом красным было установлено, что по количеству зрелых коллагеновых волокон исследуемые группы могут быть расположены в следую-

щей последовательности (по убыванию): Бишофит > Актовегин > Контроль > Контрактубекс (таб. 4, рис. 11).

Были обнаружены статистически значимые отличия в группах Бишофит и Контрактубекс. В группе, получавшей Бишофит, относительное содержание коллагена третьего типа ниже, что свидетельствует о более высокой степени организации рубца. В группе, получавшей Контрактубекс, наблюдается повышенное относительное содержание коллагена III типа, что указывает на задержку созревания коллагена и наличие склонности к образованию рубцовой ткани.

Таблица 4. Соотношение коллагена I и III типов в образцах тканей моделированных ран, полученных на 8 сутки после начала эксперимента ($M \pm m$)

Группа	Контроль	Бишофит	Актовегин	Контрактубекс
Соотношение коллагена I типа/ коллаген III типа	0,56±0,012	0,73±0,023*	0,67±0,017	0,38±0,02*

Примечание: * – $p \leq 0,05$ при сравнении с группой контроля

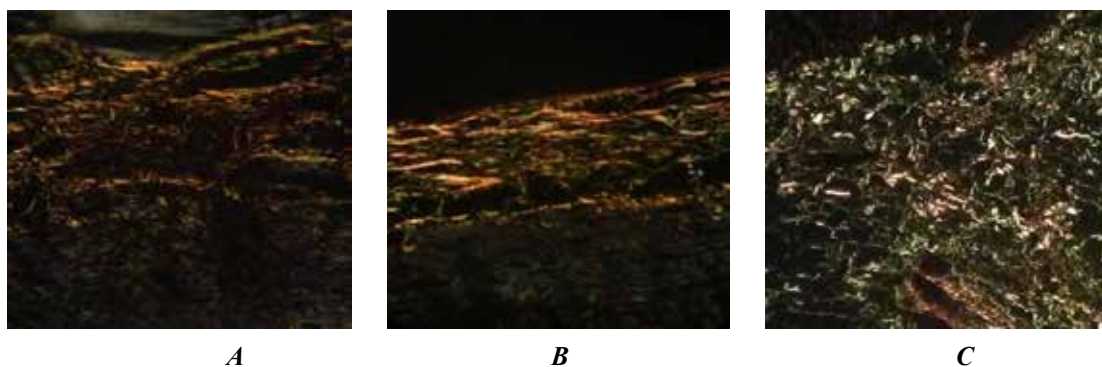


Рисунок 11. Микроскопическая картина кожи в области моделированной раны

Примечание:

поляризационная микроскопия, окраска SiriusRed, ув. $\times 400$;

A – контрольная группа;

B – группа Бишофит;

C – группа Контрактубекс

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что наилучшие результаты репарации раневого эффекта были получены при наружном использовании геля с Бишофитом. Раневой дефект в данной группе характеризовался наибольшей прочностью, эластичностью, хорошей гистологической картиной и меньшей склонностью к образованию рубца, о чем можно судить по низкой концентрации гидроксипролина и коллагена III типа. Менее значимым, но более выраженным репаративным эффектом на данной модели обладает Актовегин. Гель Актовегина продемонстрировал положительное влияние на макро- и микроскопическую картину раневого

дефекта, а также прочность раны и профилактическое воздействие на избыточное образование рубцовой ткани. Менее удовлетворительные результаты были получены при применении Контрактубекса. Не оказав существенного влияния на физико-механические свойства раны, Контрактубекс увеличил содержание ГП и снизил содержание зрелого коллагена. Подобные результаты свидетельствуют о том, что Контрактубекс снизил репаративный потенциал тканей, повысив разрастание грануляционной ткани и замедлив восстановление. Данный вывод подтверждается результатами гистологического исследования и объясним с точки зрения имеющихся сведений о фармакодинамике препарата.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Bogus S., Galenko-Yaroshevsky P., Suzdalev K., Sukoyan G., Abushkevich V., Soldatov V. 2-Phenyl-1-(3-pyrrolidin-1-yl-propyl)-1H-indole hydrochloride (SS-68): antiarrhythmic and cardioprotective activity and its molecular mechanisms of action (Part II) // Research Results in Pharmacology. – 2018. – №4(3). – С. 73–86. DOI: <https://doi.org/10.3897/rpharmacology.4.30329>.
2. Сысуев Б.Б., Иежица И.Н., Лебедева С.А. Изучение токсичности пероральных форм раствора минерала Бишофит // Фундаментальные исследования. – 2013. – №4–3. – С. 680–683.
3. Сысуев Б.Б. Структурно-механические свойства мазовых композиций с минералом Бишофит // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2006. – №4(20). – С. 46–48.
4. Евсеева С.Б., Сысуев Б.Б. Использование природных минеральных солей в современных косметических рецептурах: ассортимент продукции, характеристика сырья и особенности технологии // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, №2. – С. 4–25. DOI: [https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-2\(15\)-4-25](https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-2(15)-4-25).
5. Сысуев Б.Б., Смирнов А.В., Митрофанова И.Ю. Изучение морфологических особенностей процессов репарации кожных ран под влиянием глазных капель Бишофита // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – №5. – Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=4787>.

6. Спасов А.А., Мазанова Л.С., Мотов А.А., Зайченко С.И., Лутошкина И.Н., Оробинская Т.А., Сысуев Б.Б. Влияние мази минерала Бишофит на прочность рубца инфицированных и неинфицированных ран кожи // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72, №4. – С. 43–45. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2009-72-4-43-45>.
7. Спасов А.А., Мазанова Л.С., Мотов А.А., Оробинская Т.А., Сысуев Б.Б. Влияние мази минерала Бишофит на течение контактного аллергического дерматита, вызванного 2,4-динитрохлорбензолом // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. Т. 72. №3. – С. 37–39. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2009-72-3-37-39>.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: ГрифиК, 2012. – 944 с.
9. Bella J. Collagen structure: new tricks from a very old dog // Biochem J. – 2016. – V. 473, №8. – P. 1001–1025. DOI: <https://doi.org/10.1042/BJ20151169>.
10. Определение гидроксипролина в тканях и оценка содержания в них коллагена / Н. Ю. Игнатьева, Н. А. Данилов, С. В. Аверкиев и др. // Журнал аналитической химии. – 2007. – Т. 62, № 1. – С. 51–57.
11. Lattouf R., Younes R., Lutomski D., Naaman N., Godeau G., Senni K., Changotade S. Picrosirius Red Staining: A Useful Tool to Appraise Collagen Networks in Normal and Pathological Tissues // J HistochemCytochem. – 2014. – V. 62, №10. – P. 751–758. DOI: <https://doi.org/10.1369/0022155414545787>.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы

Степенко Юлия Владимировна – студент 5 курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID – 0000-0002-7414-7326. E-mail: julia.v.stepenko@gmail.com

Солдатов Владислав Олегович – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID – 0000-0001-9706-0699. E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Затолокина Мария Алексеевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии, ФГАОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID – 0000-0002-9553-1597. E-mail: marika1212@mail.ru

Майорова Алена Валентиновна – кандидат фармацевтических наук, заведующий кафедрой эстетической медицины факультета непрерывного медицинского образования, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Минобрнауки России. ORCID ID – 0000-0003-1764-0592. E-mail: 1263220@bsu.edu.ru

Сысуев Борис Борисович – доктор фармацевтических наук, кафедра эстетической медицины факультета непрерывного медицинского образова-

ния, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Минобрнауки России. ORCID ID – 0000-0002-9933-1808. E-mail: bsb500@yandex.ru

Демиденко Алексей Николаевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии, заведующий отделением отоларингологии ОГБУЗ «Городской больницы № 2 г. Белгорода». ORCID ID – 0000-0002-6797-7751. E-mail: Demidenkolor@yandex.ru

Ивахно Елена Николаевна – студент 3 курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). E-mail: lenu.ivaখনo@mail.ru

Сарычева Марина Владиславовна – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID – 0000-0002-0284-275X. E-mail: dr.sarycheva@mail.ru

Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ Фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID – 0000-0002-2761-6249. E-mail: mpokrovsky@yandex.ru