

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2016

УДК 615.262.1:615.276

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООЖГОВОЙ АКТИВНОСТИ ГИДРОГЕЛЯ С АНТИГИПОКСАНТОМ

К.И. Максименкова, С.О. Лосенкова, В.Е. Новиков

ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Смоленск

В статье приводятся результаты экспериментального изучения противовоспалительной активности геля с антигипоксантом поли(дигидроксифенилен)тиосульфатом натрия в определенном спектре доз. При моделировании термического ожога у крыс установлено, что ежедневное нанесение на рану 1 раз в сутки полоски гидрогеля с поли(дигидроксифенилен)тиосульфатом натрия размером 1,5-2 см с содержанием 15 мг или 20 мг лекарственного вещества обеспечивает высокую скорость эпителизации раны в течение 16 дней в отличие от контрольной и интактной групп, в которых полное заживление наблюдается только на 29 сутки эксперимента. Применение полоски крема «Депантол» размером 2 см (группа сравнения) обеспечило заживление раны в течение 26 дней наблюдения.

Ключевые слова: термический ожог, гидрогель, поли(дигидроксифенилен)тиосульфат натрия.

По данным статистики термические ожоги занимают до 10% от общего количества всех травм в мире. Неправильное и несвоевременное лечение ожоговой травмы может повлечь за собой тяжелые последствия для организма пострадавшего. При термических ожогах происходит ускорение процессов свободно-радикального окисления в поврежденных тканях на фоне развития гипоксии, активации клеток воспаления и гемостаза, на фоне возрастания функции органов детоксикации, усиления липолиза, а также повышения содержания в крови жирных кислот, истощение системы антиоксидантной активности [2]. В связи с этим очень важно подобрать лекарственное средство (ЛС), применение которого ускоряет заживление ожога и позволяет предотвратить его негативные последствия для организма [11]. В качестве такого средства нами был выбран антигипоксант с антиоксидантной активностью поли(дигидроксифенилен)тиосульфат натрия (гипоксен) [3], пред-

ставленный на фармацевтическом рынке следующими лекарственными формами (ЛФ): капсулы 0,25, таблетки 0,5 г, раствор для инъекций 7%. Эффективность гипоксена продемонстрирована в эксперименте и клинике при многих патологических состояниях [5, 6].

Целью нашего исследования явилось экспериментальное изучение противовоспалительной активности сконструированного гидрогеля с натрия поли(дигидроксифенилен)тиосульфатом в спектре доз на модели термического ожога у лабораторных крыс.

Материалы и методы

Гидрогель 2,5% с поли(дигидроксифенилен)тиосульфатом натрия (гипоксен, ЗАО «Корпорация Олифен») на основе натрия карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) изготовлен в асептических условиях согласно технологической схеме производства гелей. Для обеспечения гомогенизации и стерильности ЛФ, предназначенной для нанесения на открытую раневую поверхность, ее обрабатывали ульт-

развуком на частоте 25 кГц в течение 30 секунд при помощи ультразвукового скальпеля установки медицинской УРСК-7н непосредственно в первичной упаковке (алюминиевая труба с диаметром выходного отверстия 5 мм) [4]. Результаты исследования стерильности свидетельствовали о соответствии приготовленной ЛФ требованиям 1 категории ЛС.

Эксперименты проведены на 42 крысах-самцах линии «Вистар» массой 180-220 г, которых содержали в стандартных условиях вивария согласно правилам надлежащей лабораторной практики при свободном доступе к воде и пище [7]. Моделировали термический ожог под эфирным наркозом согласно методу, описанному в литературе [8]. Крысам на обоих бедрах выбривали шерсть с участков кожи 2×2 см, далее разогревали до 150°C плоскодонную стеклянную пробирку с диаметром дна 13 мм и прикладывали к коже на 5 секунд. Все лабораторные животные были разделены на 6 групп: 3 опытных группы, контрольная, интактная и группа сравнения. Животным первой опытной группы ежедневно на ожог 1 раз в сутки наносили по 1 см гидрогеля с содержанием 10 мг поли(дигидроксифенилен) тиосульфата натрия. Гидрогель равномерно с помощью стерильной стеклянной палочки распределяли на поверхности раны. Животным второй и третьей опытных групп в том же режиме наносили соответственно 1,5 см геля (15 мг лекарственного вещества) или 2 см геля (с содержанием 20 мг лекарственного вещества). Животным контрольной группы аналогично наносили 1-2 см гелевой основы. Заживление ожогов у крыс интактной группы проходило без нанесения каких-либо препаратов. Крысам группы сравнения ежедневно 1 раз в сутки наносили 2 см противоожогового крема «Депантенол» (ОАО «Нижфарм»). Заживление ожогов происходило открытым способом.

Скорость эпителизации ожоговой раны определяли двумя методами. По методу В. Нежда и Ж. Неждова в модификации Т.Д. Зыряновой и соавторов [1]. Контуры ожоговой раны переносились на прозрач-

ную полиэтиленовую пленку, вырезались и взвешивались. Далее определяли вес стандартного квадрата из той же пленки с заранее известной площадью, искомая поверхность ожога высчитывалась путем деления первого числа на второе (вес стандартной навески) с последующим умножением на известную площадь стандартного квадрата пленки. Для наибольшей точности полученных результатов измерения проводили ежедневно в течение всего срока эксперимента.

Методом планиметрии [9]. Для подсчета площади ожога на рану накладывали пластинку простерилизованного целлофана и на ней обрисовывали контур раны. Затем целлофан с нанесенным контуром клали на миллиметровую бумагу и путем подсчета квадратных миллиметров внутри контура определяли площадь раны. Уменьшение площади ожоговой раны (%) рассчитывали по формуле:

$$\Delta S = ((S - S_n) / (S \cdot t)) \cdot 100\%,$$

где ΔS – относительное уменьшение площади ожоговой раны (%);

S – величина площади раны при предыдущем измерении (мм²);

S_n – величина площади раны при данном измерении (мм²);

t – количество суток между измерениями.

Дополнительно проводили морфологическое исследование поврежденных тканей, указавшее нам на 2-3 степень термического ожога.

Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью пакета программ STATISTICA 6.0.

Результаты и их обсуждение

Результаты измерения скорости эпителизации ожоговой раны при нанесении 1 см гидрогеля с гипоксеном представлены в таблице 1. В этой опытной группе на 5-е сутки лечения прослеживалась тенденция уменьшения площади ожоговой поверхности в 1,15 раза по сравнению с контролем и в 1,16 раза относительно группы сравнения. На 10-е сутки эксперимента в опытной группе происходило уменьшение площади ожога в 1,36 раза по сравнению с контролем, в 1,32 раза по сравнению с интактными животными и в

1,4 раза по отношению к группе сравнения. При оценке площади ожоговой поверхности на 15-е сутки эксперимента в опытной группе наблюдали уменьшение в 1,92 раза по сравнению с контролем, в 2 раза по сравнению с интактными животными и в 1,93 раза относительно группы сравнения. Значительное уменьшение площади ожоговой раны наблюдали на 21-е сутки эксперимента (в 18,5, 22,33 и 16,06 раза соответственно по отношению к контролю, интактным животным и группе сравнения). На 22-е сутки после нанесения ожога в опытной группе регистрировали полное заживление ожоговой раны, в то время как в контрольной и интактной группах полное заживление раны визуально фиксировали только на 29 сутки эксперимента. В группе сравнения на фоне лечения ожога кремом «депантенол» полное заживление раны регистрировали на 26 сутки эксперимента.

При нанесении 1,5 см гидрогеля с гипоксеном на ожоговую рану уже в первые дни после начала лечения наблюдали положительный эффект. Так, на 2-е сутки эксперимента в опытной группе досто-

верно уменьшалась площадь ожога в 1,14 раза относительно контрольной группы и в 1,13 раза по отношению к интактной группе и группе сравнения. На 5-е сутки в опытной группе происходило уменьшение ожоговой поверхности в 1,34 раза по сравнению с контролем, в 1,27 раза по сравнению с интактными животными и в 1,36 раза по отношению к группе сравнения (таблица 2). На 10-е сутки эксперимента в опытной группе площадь ожога уменьшилась в 2,1 раза по сравнению с контролем и интактными животными и в 2,16 раза по отношению к группе сравнения. Значительное уменьшение площади ожоговой раны во второй опытной группе наблюдали на 15-е сутки эксперимента: в 34,43, 43,0, и в 36,38 раза соответственно по отношению к контрольной, интактной и группе сравнения. На 16-е сутки эксперимента у животных опытной группы, которым наносили 1,5 см гидрогеля (15 мг ЛВ), наблюдали полное заживление ожоговой поверхности, в то время как у крыс контрольной и интактной групп полное заживление раны визуально фиксировали на 29 сутки эксперимента.

Таблица 1

Скорость эпителизации ожоговой раны при нанесении 1 см (10 мг) гидрогеля с поли(дигидроксифенилен)тиосульфатом натрия

Число суток после термического ожога	относительное уменьшение площади ожоговой раны за сутки, мм ² / %			
	Опытная группа	Контрольная группа	Интактная группа	Группа сравнения
5	0,61 ± 0,34 / 4,77 ± 2,74 p < 0,001 p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,005	0,35 ± 0,12 / 2,45 ± 0,88	0,39 ± 0,08 / 2,83 ± 0,56	0,29 ± 0,06 / 1,93 ± 0,45
10	0,86 ± 0,24 / 9,17 ± 2,52 p < 0,005 p ₁ < 0,005 p ₂ < 0,001	0,74 ± 0,17 / 4,04 ± 1,46	0,43 ± 0,09 / 3,74 ± 0,81	0,50 ± 0,18 / 4,11 ± 1,63
15	0,96 ± 0,28 / 18,31 ± 5,63 p < 0,005 p ₁ < 0,005 p ₂ < 0,05	0,69 ± 0,25 / 7,92 ± 3,09	0,64 ± 0,12 / 6,97 ± 1,36	0,73 ± 0,27 / 6,82 ± 3,57
21	0,11 ± 0,18 / 28,57 ± 45,13 p < 0,005 p ₁ < 0,005 p ₂ < 0,001	0,66 ± 0,12 / 14,67 ± 2,86	0,67 ± 0,11 / 12,54 ± 1,97	0,69 ± 0,23 / 16,94 ± 7,93

Примечание: здесь и в других таблицах достоверность различий: p – с контрольной группой; p₁ – с интактной группой; p₂ – с группой сравнения.

Таблица 2

Скорость эпителизации ожоговой раны при нанесении 1,5 см (15 мг) гидрогеля с поли(дигидроксифенилен)тиосульфатом натрия

Число суток после термического ожога	относительное уменьшение площади ожоговой раны за сутки, мм ² /%			
	Опытная группа	Контрольная группа	Интактная группа	Группа сравнения
5	0,77 ± 0,13 / 6,75 ± 1,15 p < 0,005 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,005	0,35 ± 0,12 / 2,45 ± 0,88	0,39 ± 0,08 / 2,83 ± 0,56	0,29 ± 0,06 / 1,93 ± 0,45
10	1,07 ± 0,38 / 16,66 ± 6,85 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,005	0,74 ± 0,17 / 4,04 ± 1,46	0,43 ± 0,09 / 3,74 ± 0,81	0,50 ± 0,18 / 4,11 ± 1,63
15	0,17 ± 0,42 / 14,29 ± 4,96 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	0,83 ± 0,19 / 10,48 ± 2,39	0,64 ± 0,12 / 6,97 ± 1,36	0,73 ± 0,27 / 6,82 ± 3,57

Таблица 3

Скорость эпителизации ожоговой раны при нанесении 2 см (20 мг) гидрогеля с поли(дигидроксифенилен)тиосульфатом натрия

Число суток после термического ожога	относительное уменьшение площади ожоговой раны за сутки, мм ² /%			
	Опытная группа	Контрольная группа	Интактная группа	Группа сравнения
5	0,96 ± 0,34 / 8,54 ± 3,27 p < 0,001 p ₁ < 0,005 p ₂ < 0,001	0,35 ± 0,12 / 2,45 ± 0,88	0,39 ± 0,08 / 2,83 ± 0,56	0,29 ± 0,06 / 1,93 ± 0,45
10	1,17 ± 0,20 / 16,67 ± 2,63 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	0,74 ± 0,17 / 4,04 ± 1,46	0,43 ± 0,09 / 3,74 ± 0,81	0,50 ± 0,18 / 4,11 ± 1,63
15	0,14 ± 0,10 / 14,29 ± 4,96 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	0,83 ± 0,19 / 10,48 ± 2,39	0,64 ± 0,12 / 6,97 ± 1,36	0,73 ± 0,27 / 6,82 ± 3,57

Скорость эпителизации ожоговой раны у животных третьей опытной группы, которым наносили 2 см гидрогеля (20 мг гипоксена) на ожоговую поверхность, примерно соответствовала второй опытной группе (таблица 3). На 5-е сутки ле-

чения крыс третьей опытной группы ожоговая поверхность уменьшалась в 1,38 раза по сравнению с контролем, в 1,32 раза в сравнении с интактной группой и в 1,4 раза по отношению к группе сравнения. На 10-е сутки эксперимента площадь

ожоговой раны уменьшилась в 2,42 раза по сравнению с контролем и в 2,5 раза по отношению к интактной группе и группе сравнения. На 15-е сутки в опытной группе наблюдалось уменьшение площади ожога в 36,15 раза по сравнению с контролем, в 42,5 раза по сравнению с интактной группой и в 38,20 раза относительно группы сравнения. На 16-е сутки эксперимента у животных третьей опытной группы, также как и у животных второй группы произошло полное заживление ожоговой поверхности.

Следует отметить, что у 74% животных контрольной и интактной групп и у 42% животных группы сравнения со 2 суток после моделирования термического ожога наблюдали нагноение раны, что замедляло процесс ее заживления и ухудшало общее состояние крыс. Ни у одного из животных опытных групп нагноения раны визуально не наблюдали.

Таким образом, ежедневное применение гидрогеля с поли (дигидроксифенилен)тиосульфонатом натрия в спектре доз 10-20 мг стимулирует заживление ожоговой раны более выражено, чем применение препарата сравнения «депантенол». При этом нанесение на ожоговую поверхность 1,5 см гидрогеля (15 мг лекарственного вещества) вызывает заживление ожога в 1,4 раза быстрее, чем при нанесении 1 см ЛФ (10 мг лекарственного вещества). Значения скорости эпителизации в опытных группах при нанесении 1,5 см и 2 см гидрогеля с поли(дигидроксифенилен) тиосульфонатом натрия достоверно между собой не отличались. Следовательно, для стимуляции заживления термического ожога достаточно нанесения 1,5 см гидрогеля с содержанием 15 мг поли (дигидроксифенилен) тиосульфоната натрия. Выявленное противоожоговое действие гидрогеля, вероятно, связано с антиоксидантной и противовоспалительной активностью поли (дигидроксифенилен) тиосульфоната натрия (гипоксена) [10].

Выводы

1. Сконструированный на основе пленкообразователя натрия карбоксиметилцеллюлозы гидрогель с натрия по-

ли(дигидроксифенилен)тиосульфонатом проявляет противоожоговую активность в спектре доз 10-20 мг, способствуя уменьшению площади ожоговой раны и увеличению скорости её эпителизации.

2. Ежедневное применение 1,5-2 см гидрогеля (15-20 мг натрия поли(дигидроксифенилен)тиосульфоната) приводит к полному заживлению раны на 16 сутки после моделирования термического ожога (в контрольной группе на 29 сутки, в группе сравнения на 26 сутки эксперимента).

Литература

1. Зырянова Т.Д., Сергеев С.С., Цуканова Н.Н. К вопросу о повышении точности вычисления площадей раневых поверхностей // 1-я Всесоюз. конф. по ранам и раневым инфекциям. – М., 1977. – С. 123.
2. Кантюков С.А., Кривохижина Л.В., Фархутдинов Р.Р. Состояние процессов свободно-радикального окисления при термической травме разной степени тяжести // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2010. – № 24. – С. 117-124.
3. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т. 10, №3. – С. 3-12.
4. Максименкова К.И., Лосенкова С.О., Кириллов С.К. Влияние низкочастотного ультразвука на микробиологическую чистоту и стабильность дерматологического геля с гипоксеном при хранении // Научный потенциал мира: материалы IX научно-практической конференции. – София, 2013. – Т. 16. – С. 6-7.
5. Новиков В.Е., Илюхин С.А. Влияние гипоксена на эффективность кислоты ацетилсалициловой при остром воспалении // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, №4. – С. 32-35.
6. Новиков В.Е., Климкина Е.И. Влияние гипоксена на морфо-функцио-

- нальное состояние печени при экзогенной интоксикации // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72, №5. – С. 43-45.
7. Об утверждении «Правил лабораторной практики». Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. № 708 н. – М., 2010.
 8. Парамонов Б.А., Чеботарев В.Ю. Методы моделирования термических ожогов кожи при разработке препаратов для местного лечения // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 134, №11. – С. 593-597.
 9. Попова Л.Н. Как изменяются границы вновь образующегося эпидермиса при заживлении ран: дис. ... канд. мед. наук. – Воронеж, 1942.
 10. Пожилова Е.В. Влияние антигипоксантов на развитие каррагинин-индуцированного воспаления // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2014. – №4. – С. 61-67.
 11. Nikulin A.A., Iakusheva E.N., Zakharova N.M. A comparative pharmacological evaluation of sea buckthorn, rose and plantain oil in experimental eye burn // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1992. – Т. 55. – С. 64.

EXPERIMENTAL STUDY OF THE ACTIVITY OF THE HYDROGEL AGAINST BURNS WITH ANTIHYPOXANT

K.I. Maksimenkova, S.O. Losenkova, V.E. Novikov

The article presents the results of an experimental study of the activity of the gel against burns with antihypoxant sodium poly(dihydroxyphenylen)thiosulfonate in a certain spectrum of doses. In the simulation of a thermal burn in male rats established that daily application on the wound once a day one strip of hydrogel with sodium poly(dihydroxyphenylen)thiosulfonate of size 1,5-2 cm with content 15 mg or 20 mg of drug substance provides high speed of epithelialization of wound for 16 days, unlike the control group and the intact, in which the complete healing is observed only at 29 days of the experiment. Applying of strip of cream "D Panthenol" of size 2 cm (the comparison group) provided a wound healing during the 26 days of observation.

Keywords: burn, hydrogel, sodium poly(dihydroxyphenylen)thiosulfonate.

Максименкова К.И. – ассистент кафедры фармацевтической технологии ГБОУ ВПО СГМУ Минздрава России.

E-mail: ksu12-07@mail.ru

Лосенкова С.О. – д.ф.н., доц., зав. кафедрой фармацевтической технологии ГБОУ ВПО СГМУ Минздрава России.

E-mail: losenkova-so@mail.ru

Новиков В.Е. – д.м.н., проф., зав. кафедрой фармакологии ГБОУ ВПО СГМУ Минздрава России.

E-mail: novikov.farm@yandex.ru