

РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ИРГИ ОБЫКНОВЕННОЙ

А.Г. Краснолобов, Е.А. Лаксаева, Е.Г. Мартынов

Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова

В экспериментах на лабораторных животных изучены гистологическая картина ожоговой раны и ранозаживляющее действие водорастворимых полисахаридов (ВРПС), выделенных из зрелых плодов растений ирги обыкновенной.

Ключевые слова: полисахариды, ирга обыкновенная, ранозаживление.

Полисахариды растений обладают широким спектром биологической активности [2-6]. Они повышают неспецифическую резистентность здоровых животных, стимулируют физическую работоспособность, уровень обмена веществ, активируют процессы иммунопоза и гемопоза, обладают выраженным противорадиационным, противовоспалительным, антианемическим, антиоксидантным действием [7-9,11]. Есть данные о ранозаживляющем действии полисахаридов некоторых растений [6,10]. Применение полисахаридов растений в медицине и ветеринарии обусловлено отсутствием токсичности и побочного действия на организм, это открывает широкие возможности для дальнейшего исследования растительных полисахаридов. Изучение ранозаживляющей активности полисахарида ирги обыкновенной является в этой связи актуальной задачей.

Материалы и методы

Водорастворимые полисахариды (ВРПС) экстрагировали горячей водой из плодов ирги обыкновенной в течение полутора часов. Полисахариды осаждали полутонным объемом 96%-ного этанола. Осадок отделяли фильтрованием, а затем очищали 96%-ным этанолом и ацетоном. ВРПС ирги обыкновенной представляют собой аморфный порошок кремового цвета. Для исследований использовали 0,5% раствор ВРПС. Работу проводили на беспородных крысах массой 180 – 200 грамм, содержащихся в стандартных условиях вивария. Ожоги наносили на депилированную кожу наружной части бедра втиранием 3 капель 20% раствора едкого калия в течение 30 секунд как описано в [1], на площади 1,54 см². Раны обрабатывали ежедневно в стерильных условиях 3мл 0,5%-ным раствором ВРПС в течение всего срока заживления, до полной эпителизации, начиная со второго дня после нанесения ожога. Процесс регенерации изучался на 3, 7, 14, 21, 30 сутки по изменению площади раневой поверхности, состоянию раны и ее гистологической картины. У контрольных животных происходило спонтанное ранозаживление.

Для гистологического исследования брали образцы ткани из области ожога, фиксировали в растворе формалина, а затем окрашивали гематоксилином и эозином и изучали в поле зрения оптического микроскопа при среднем увеличении (окуляр-16, объектив-12), оценивая состояние эпидермиса, дермы, микроциркуляционное русло, клеточный состав.

Результаты и их обсуждение

Через сутки после нанесения ожога состояние и площадь раневой поверхности контрольных и опытных животных практически не отличались: ярко выраженная гиперемия, отек, элементы некроза.

Динамика состояния раневой поверхности кожи животных представлена в таблице 1.

На 3 сутки площадь раневой поверхности у контрольных животных $1,17\text{см}^2$, а у опытных $1,09\text{см}^2$. Величина отека у опытных животных уменьшилось, а у контрольных такие изменения незначительны. У контрольных животных многослойный плоский ороговевающий эпителий отсутствовал на всей площади ожога.

Таблица 1

Состояние раневой поверхности кожи у животных

№	n=5	Сутки исследования кожи					
		1	3	7	14	21	30
1	Контроль	$1,40\pm 0,01$	$1,22\pm 0,02$	$1,18\pm 0,01$	$0,70\pm 0,02$	$0,28\pm 0,01$	$0,02\pm 0,01$
	S, см^2	$1,54\pm 0,02$	$1,17\pm 0,02$	$1,09\pm 0,05$	$0,38\pm 0,01$	$0,06\pm 0,01$	0,0003
	%	100	75,97	70,78	24,67	3,89	0,02
2	*Опыт	$1,40\pm 0,01$	$1,18\pm 0,01$	$0,64\pm 0,03$	$0,30\pm 0,03$	0	0
	S, см^2	$1,54\pm 0,02$	$1,09\pm 0,03$	$0,32\pm 0,01$	$0,07\pm 0,01$	0	0
	%	100	70,78	20,78	4,55	-	-
	P1,2	-	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05

Примечание: * - диаметр раневой поверхности раны животных в контроле и опыте

В сосочковом слое и поверхностных отделах сетчатого слоя дермы наблюдался резкий отек ткани с формированием полостей различных размеров. В межклеточном веществе наблюдали признаки фибриноидного некроза с набуханием и слиянием пучков коллагеновых волокон, их гомогенизацией. Мукополисахариды аморфного вещества дермы лизированы. В клетках дермы цитоплазма стала более плотной, распадалась на отдельные глыбки и превращалась в детрит в результате распада органоидов, коагуляции и денатурации белков цитоплазмы. Ядро подверглось кариопикнозу, кариорексису, кариолизису. В результате распада белков, жиров и углеводов и коллагеновых волокон, возникла масса коагуляционного некроза.

У крыс, леченных ВРПС, поверхность раны не содержала эпителиальной выстилки. Некротические изменения наблюдались в сосочковом и поверхностных отделах сетчатого слоев дермы, а под ними заметна выраженная инфильтрация ткани сегментоядерными нейтрофилами.

На 7 сутки площадь раневой поверхности у контрольных животных $1,09\text{см}^2$, а у опытных $0,32\text{см}^2$, Отечность у опытных животных в два раза меньше, чем у контрольных. Гистологические исследования показали, что у контрольных животных явления некроза нарастали и сопровождалось грубыми структурными изменениями волосяных фолликулов, потовых и сальных желез. В клетках эпителия выражены явления кариолизиса и цитолиза. В глубоких отделах сетчатого слоя дермы, на границе с некротически измененными структурами, наблюдалась резко выраженная инфильтрация сегментоядерными нейтрофилами.

У крыс, леченных ВРПС, экссудативные процессы выражены слабо и только в сосочковом слое дермы. На периферии раны, под некротически измененными структурами, наблюдался слабо выраженный процесс репаративной регенерации базального и шиповатого слоев эпидермиса, заметны восстановленные и полнокровные сосуды микроциркуляторного русла. В сетчатом слое дермы увеличивается количество фибробластов, макрофагов.

На 14 сутки площадь раневой поверхности у контрольных животных $0,38\text{см}^2$, а у опытных $0,07\text{см}^2$. У контрольных животных гистоморфологические признаки некроза и отека дермы сохранялись. В сосочковом и сетчатом слоях дермы полное отсутствие соединительнотканых клеток волосяных фолликулов, сальных и потовых желез. В глубоких отделах сетчатого слоя в местах нейтрофильной инфильтрации, наблюдался цитолиз нейтрофилов и их фрагментация.

У крыс леченных ВРПС раневая поверхность почти свободна от некротических масс, экссудация

отсутствует. В сетчатом слое дермы много фибробластов, сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, увеличивается количество коллагеновых волокон. Много восстановленных сосудов микроциркуляторного русла. Это свидетельствует о нормализации кровоснабжения дермы кожи.

На 21 сутки площадь раневой поверхности у контрольных животных $0,06\text{см}^2$, а у опытных $0,00\text{см}^2$. У контрольных животных, уменьшилась отечность дермы, а элементы некроза наблюдались только в сосочковом и поверхностных отделах сетчатого слоя дермы. Под некротически измененными структурами дермы наблюдалась нейтрофильная инфильтрация с гибелью многих зрелых нейтрофилов. В глубоких отделах сетчатого слоя дермы обнаружено увеличение фибробластов, появились лимфоциты. Усиливаются процессы пролиферации в которых участвуют фибробласты, макрофаги и мигрировавшие из сосудов лимфоциты.

У крыс леченных ВРПС раневая поверхность чистая. Представлены все слои эпидермиса, который значительно толще, чем на неповрежденной поверхности. В зернистом слое эпидермиса появляются гранулы кератогиалина, что свидетельствует об ороговении. Под эпителием много полнокровных кровеносных сосудов микроциркуляторного русла. На периферии бывшей раневой поверхности в дерме наблюдались процессы восстановления наружных эпителиальных влагалищ корней волос, а также сальных желез. Структура межклеточного вещества дермы такая же как у интактных животных. Коллагеновые волокна формируют пучки различной толщины и направлений, аморфного вещества мало. Общее количество клеток больше, чем в контроле, преобладают фибробласты, фиброциты, встречаются макрофаги, а под эпидермисом обнаруживаются единичные диффузно расположенные лимфоциты.

К концу 30-х суток у крыс леченных ВРПС гистологическая картина кожного покрова на месте бывшей травмы, ничем не отличается от нормального кожного покрова. Полностью восстановлены производные эпидермиса – сальные, потовые железы, волосы. В дерме уменьшено количество соединительнотканых клеток, нет клеток крови, коллагеновые волокна формируют более отчетливые пучки в сетчатом слое дермы.

У контрольных крыс раневая поверхность лишена эпителиальной выстилки. В сосочковом и в поверхностных отделах сетчатого слоев дермы обнаруживались изменения ядер соединительнотканых клеток в виде кариопикноза и кариолизиса, а также цитоплазмы в виде плазмолиза, плазморексиса, инфильтрация сегментоядерными нейтрофилами. В глубоких отделах сетчатого слоя дермы выражены процессы репаративной регенерации, проявляющиеся пролиферацией и увеличением количества фибробластов, лимфоцитов. В межклеточном веществе появились небольшие по диаметру и беспорядочно расположенные пучки коллагеновых волокон.

Выводы

1. ВРПС ирги обыкновенной ускоряют процесс регенерации кожи при химическом ожоге на 60%, превосходя контроль.
2. ВРПС ирги обыкновенной уменьшают площадь раневой поверхности у подопытных крыс к концу недели, превосходя контроль на 50%
3. ВРПС активируют процессы пролиферации, синтеза коллагеновых волокон, микроциркуляционного русла в области раневой поверхности у подопытных животных, превосходя контроль.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акмолова Н.Е. К динамике заживления экспериментальных ожоговых ран под воздействием нативного облепихового масла / Н.Е. Акмолова, Л.Д. Лебедева // Здравсохранение Таджикистана . – 1985. - №2(197). – С.92-94.
2. Демидов Д.А. Послеоперационное лечение перитонита пектиносодержащим препаратом в эксперименте и клинике /Д.А. Демидов, Т.С. Попова, Т.П. Газина // Вестник восстановительной медицины: Диагностика. Оздоровление. Реабилитация: орган Ассоциации специалистов

- восстановительной медицины / Российский центр восстанов. медицины и курортологии МЗ РФ. - М.: Ассоц. спец-тов восст. медицины.-2005.-№4.-С.47-52.
3. Иванычева Ю.Н. Исследование биологически активных полисахаридов, выделенных из лекарственного растения *Geranium pretense* L., применяемого при различных нарушениях обмена веществ / Ю.Н. Иванычева, Г.И. Чурилов // Материалы научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова / ред. В.Г. Макарова; РязГМУ им. акад. И.П. Павлова.- Рязань: РГМУ,2005.- Ч.1.- С.20-22.
 4. Полисахариды аронии черноплодной и их фармакологическое действие / В.Г. Макарова [и др.] // Клиникофизиологические материалы диагностики и коррекции физического состояния организма / под ред. проф. М.Ф. Сауткина.- Рязань, 1995.- С.83-86.
 5. Фармакологическое действие полисахаридов некоторых плодовых и ягодных растений / В.Г. Макарова [и др.] // Вопросы диагностики и коррекции физического состояния организма / под ред. проф. М.Ф. Сауткина и проф. В.А. Кирюшина.- Рязань, 1996.- С.83-87.
 6. Сычев И.А. Механизм противовоспалительного действия полисахаридов Донника желтого / И.А. Сычев // Рос. медико - биол. вестн. им.акад. И.П. Павлова.- 2008.- №2.- С.95-101.
 7. Сычев И.А. Действие полисахаридов донника желтого на систему кроветворения в норме и при патологии/ И.А. Сычев, В.М. Смирнов, Г.В. Порядин // Рос. медико - биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова.- 2007.-№1.- С.50-58.
 8. Сычев И.А. Действие полисахаридов донника желтого на систему крови облученных животных / И.А. Сычев, В.М. Смирнов, Т.Ю. Колосова // Рос. медико - биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова.- 2006.- №1.- С.51-55.
 9. Чекулаева Г.Ю. Выделение и химико-биологическое исследование полисахарида из лекарственного сырья / Г.Ю. Чекулаева, Г.И. Чурилов // Рос. медико - биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова.- 2002.- №3-4.- С.95-100.
 10. Чурилов Г.И. Исследование моносакхаридного состава водорастворимых полисахаридов герани луговой / Г.И. Чурилов, Ю.Н. Иванычева // Материалы ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени акад. И.П. Павлова / ред. В.Г. Макарова; Ряз. гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова.- Рязань: РязГМУ,2006.- Ч.1.- С.16-18.

WOUND HEALING ACTIVITY OF WATER SOLUBLE POLYSACCHARIDE OF AMELANCHIER MEDIC IN CASE OF CHEMICAL BURN

A.G. Krasnolobov, E.A. Laksaeva, E.G. Martinov

Hystologic picture of burn wound and wound healing activity of water soluble polysaccharide gotten from juneberry mature fruit were investigated in experiments with laboratory animals.

Key words: polysaccharides, saskatoon ordinary, wound healing.

Краснолобов Анатолий Григорьевич к.м.н., доцент кафдры гистологии и биологии ГОУ ВПО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Росздрава; root@ryazgmu.ryazan.ru
Лаксаева Е.А. ассистент кафедры общей химии ГОУ ВПО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Росздрава; root@ryazgmu.ryazan.ru
Мартынов Евгений Григорьевич доцент кафедры общей химии ГОУ ВПО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Росздрава; root@ryazgmu.ryazan.ru