

уменьшение количества зрелых иммуноглобулин-синтезирующих лимфоцитов, появление сегменто-ядерных лейкоцитов и накопление гемосидерина.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнов А. В., Шмидт М. В., Паньшин Н. Г. и др. // Вестник новых медицинских технологий. — 2011. — Т. XVIII, № 2. — С. 63—65.

2. Спасов А. А., Иежица И. Н., Бугаева Л. И. и др. // Микроэлементы в медицине. — 2008. — Т. 9, № 12. — С. 20—21.

3. Kenneth A. Freude, et al. // J. Nutr. — 1978. — Vol. 108. — P. 1635—1641.

4. Malpuech-Brugere C., Kuryszko J., et al. // Magnes. Res. — 1998. — Vol. 11. — P. 161—169.

5. Tam M., Gomez S., Gonzalez-Gross M., Marcos A. // European Journal of Clinical Nutrition. — 2003. — Vol. 57. — P. 1193—1197.

6. Wintergerst E. S., Maggini S., Homig D. H. // Ann. Nutr. Metab. — 2007. — Vol. 51 (4). — P. 301—323.

**И. Ю. Митрофанова, А. В. Смирнов, Б. Б. Сысуев**

Кафедра фармацевтической технологии и биотехнологии ВолгГМУ

### МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПАРАТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ РАСТВОРА БИШОФИТА И КИСЛОТЫ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПОЛНОСЛОЙНЫХ ЛИНЕЙНЫХ КОЖНЫХ РАН

УДК 591:615.326:549.456.1:615.457+616. — 001.4

Установлено, что минерал бишофит является биологически активным веществом, проявляющим противовоспалительное, иммуностимулирующее и ранозаживляющее действие в экспериментальной и клинической патологии. Было проведено изучение морфологических особенностей процессов репарации полнослойной кожной раны под влиянием раствора бишофита и кислоты глицирризиновой. Установлено, что, в отличие от данных контрольной группы, скорость репаративных процессов при лечении раствором бишофита и кислоты глицирризиновой была выше. Предлагаемый раствор бишофита уменьшал развитие отека и эритемы пораженного участка кожи, ускорял отторжение струпа. Поэтому раствор бишофита и кислоты глицирризиновой целесообразно использовать в качестве противовоспалительного средства с выраженной противовирусной, иммуномодулирующей и ранозаживляющей активностью при воспалительных заболеваниях глаз.

*Ключевые слова:* минерал бишофит, глицирризиновая кислота, репаративные эффекты.

**I. U. Mitrofanova, A. V. Smirnov, B. B. Sysuev**

### MORPHOLOGIC STUDY OF REPARATIVE EFFECTS OF BISCHOFITE SOLUTION AND GLYCYRRHIZINIC ACID IN EXPERIMENTAL MODEL OF DERMAL INJURIES

It was established that bischofite mineral is a biologically active substance with anti-inflammatory, immunomodulatory and reparative activity in experimental and clinical practice. We have investigated the morphologic characteristics of the reparative process of dermal injuries under the impact of bischofite solution with glycyrrhizinic acid. It was established that in contrast to control groups the reparation process rate was higher when we had used the bischofite solution with glycyrrhizinic acid. The developed bischofite solution decreased edema and erythema of the dermal injuries, promoted crust breakdown. Thus, the bischofite solution with glycyrrhizinic acid can be used as an anti-inflammatory agent with immunomodulatory and reparative activity, which may be recommended for treatment of inflammatory eye conditions.

*Key words:* bischofite mineral, glycyrrhizinic acid, reparative effects.

За последние 10 лет уровень заболеваний органа зрения увеличился в среднем на 25,8 %. Ведущими заболеваниями органа зрения являются катаракта и глаукома, которые вместе составляют более 86,9 % всех заболеваний глаза и его придаточного аппарата [5].

На поражения роговицы и их последствия приходится более 30 %. Из них наиболее тяжелую группу патологии представляют ранения роговицы химическими, термическими и термохимическими агентами, которые составляют 30—62,8 % общего количества травм глаза [5].

В ряде случаев офтальмологические патологии не поддаются консервативной терапии и требуют применения хирургических методов лечения, которое часто сопровождается осложнениями в восстановительном периоде.

Большинство применяемых в настоящее время офтальмологических лекарственных средств не обладают выраженной репаративной и противовоспалительной активностью.

При поиске новых стимуляторов репарации роговицы и противовоспалительных лекарственных средств для офтальмологического применения обращают на себя внимание соединения магния, которые стабилизируют энергетический обмен в регенерирующей ткани и стимулируют регенерационные процессы. Предполагают, что магний в тканях, в особенности в слизистых, не только стабилизирует энергетический обмен и местную иммунореактивность, но и определяет их противовоспалительный потенциал [2]. Определенное значение в данном аспекте имеет природный минеральный комплекс бишофит, состоящий на 90—96 % из магния хлорида с включением макро- и микроэлементов [6]. Самой высокой в мире концентрацией магния хлорида (88—98 %) [6] характеризуются запасы волгоградского бишофита, что позволяет рассматривать бишофит этого месторождения как перспективный, доступный и экологически чистый сырьевой источник для создания лекарственных средств.

В связи с этим актуальным направлением остается разработка и внедрение новых, более эффективных противовоспалительных средств с выраженной иммуномодулирующей и ранозаживляющей активностью и изучение влияния бишофита на процессы репарации.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Морфологическое изучение репаративных эффектов раствора бишофита и кислоты глицирризиновой на модели полнослойной кожной раны.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования процессов регенерации полнослойных кожных ран крыс при курсовом местном применении раствора бишофита и кислоты глицирризиновой проводили на 30 крысах-самках массой 280—320 г. Животные были разделены на три группы: первая группа — контрольные крысы; вторая группа — крысы, леченные глазными каплями «Лакрисифи»; третья группа — крысы, леченные раствором бишофита и кислоты глицирризиновой, состоящим на 10 % из стандартизированного минерала бишофит (в сухом остатке 96 % магния хлорида) и кислоты глицирризиновой [2]. Исследуемые препараты наносили один раз в сутки в течение 21 дня.

Животных выводили из эксперимента с помощью летальной дозы хлороформа. После эвтаназии быстро проводили забор материала. Фрагменты кожи и подлежащих тканей размерами 0,5 × 0,5 см (от одного

экспериментального животного осуществляли забор двух фрагментов исследуемой ткани) фиксировали 10%-м раствором нейтрального забуференного формалина (рН 7,4) в течение 24 ч, с дальнейшим обезвоживанием в батарее спиртов и изготовлением парафиновых блоков [7]. На ротаторном микротоме изготавливали срезы толщиной 5—6 мкм (с одного блока 1 гистологический препарат). В дальнейшем, для выявления общепатологических процессов производили окрашивание гематоксилином и эозином по общепринятой гистологической методике.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе морфологического исследования микропрепаратов кожных ран крыс всех групп в исходном состоянии обнаружено наличие линейной раневой поверхности кожи с некротизированным эпидермисом, его производными и дермой. В дерме и подкожной жировой клетчатке определяется выраженный фибринозно-гнойный экссудат, содержащий значительное количество нейтрофильных лейкоцитов, часть из которых разрушена. В подлежащей скелетной мышечной ткани наблюдаются выраженные признаки экссудативной реакции с полиморфно-нукlearной инфильтрацией, выраженное полнокровие.

В краях раны эпидермис некротизирован, инфильтрирован нейтрофильными лейкоцитами. В дерме и подкожной жировой клетчатке определяется умеренно выраженная полиморфно-нукlearная инфильтрация. Волосные фолликулы, сальные железы сохранены. В скелетной мышечной ткани и межмышечных прослойках фиброзной и жировой тканей наблюдается умеренная экссудативная реакция с полиморфно-нукlearной инфильтрацией и зонами отека (серозного экссудата) (рис. 1).



**Рис. 1. Гистологическое строение раны кожи крыс в исходном состоянии. Окрашка гематоксилином-эозином. Увеличение × 400**

У интактных крыс на 3-и сутки эксперимента не обнаружено значимых морфологических изменений

раневой поверхности, дермы и подкожной жировой клетчатки по сравнению с исходным состоянием. Зона некроза по сравнению с предыдущим сроком сохраняет свои размеры или даже несколько увеличена. В отдельных случаях обнаруживаются «карманы» с гнойным экссудатом. В дне раны в зоне демаркационного воспаления наблюдаются полнокровные кровеносные сосуды, увеличение количества фибробластов, миофибробластов, гистиоцитов в периваскулярных отделах, появляются вновь образованные сосуды, сосудистые почки.

В подлежащей скелетной мышечной ткани наблюдаются дистрофические изменения, очаговая полиморфно-нуклеарная инфильтрация, появление в перимизии участков ангиогенеза и грануляционной ткани.

В краях раны сохраняется полиморфно-нуклеарная инфильтрация. В дерме обнаруживаются участки грануляционной ткани, богатые вновь образованными сосудами, фибробластами и гистиоцитами в периваскулярных отделах.

На 7-е сутки эксперимента у интактных крыс раневая поверхность кожи и дерма не претерпевают существенных морфологических изменений, зона некроза уменьшена по сравнению с предыдущим сроком.

В дне раны в зону демаркационного воспаления вовлекается скелетная мышечная ткань, в которой наблюдаются выраженные дистрофические и атрофические изменения, очаги некроза, обильная межмышечная полиморфно-нуклеарная инфильтрация, наличие в перимизии участков ангиогенеза и грануляционной ткани.

В краях раны в дерме обнаруживаются хорошо развитая грануляционная ткань с большим количеством соединительнотканых клеток: фибробластов и гистиоцитов, а также небольшие скопления малых лимфоцитов, сохраняется полиморфно-нуклеарная инфильтрация. В эпидермисе появляются участки разрастания и регенерации эпителия по краям раны.

На 14-е сутки эксперимента у интактных крыс при морфологическом исследовании отмечена эпителизация линейной раневой поверхности под покрывающим ее струпом. В дерме определяется грануляционная ткань со слабой полиморфно-нуклеарной инфильтрацией, большим количеством фибробластов

и гистиоцитов, единичными гемосидерофагами. Наблюдаются процессы коллагенообразования, а также появление незрелых волосяных фолликулов в виде эпителиальных почек.

В скелетной мышечной ткани сохраняются выраженные дистрофические и атрофические изменения, небольшая очаговая межмышечная полиморфно-нуклеарная инфильтрация, в перимизии обнаруживаются участки грануляционной ткани (рис. 2).

У крыс, леченных глазными каплями «Лакрисифи», на 3-и сутки эксперимента обнаружено наличие линейной раневой поверхности кожи, покрытой фибринозно-гнойным экссудатом, под которым располагается слой тканевого детрита. В дерме и подкожной жировой клетчатке определяется умеренно выраженная полиморфно-нуклеарная инфильтрация, экссудат содержит помимо нейтрофильных лейкоцитов значительное количество фибрина. Зона некроза по сравнению с предыдущим сроком сохраняет свои размеры или даже несколько увеличена. В дне раны в зоне демаркационного воспаления наблюдаются полнокровные кровеносные сосуды, увеличение количества фибробластов, миофибробластов, гистиоцитов в периваскулярных отделах, появляются вновь образованные сосуды, сосудистые почки.

В подлежащей скелетной мышечной ткани наблюдаются дистрофические изменения, очаговая полиморфно-нуклеарная инфильтрация, появление участков ангиогенеза и грануляционной ткани.

В краях раны сохраняется полиморфно-нуклеарная инфильтрация. В дерме обнаруживаются участки грануляционной ткани, богатые вновь образованными сосудами, фибробластами и гистиоцитами в периваскулярных отделах.

На 7-е сутки эксперимента у крыс группы, леченных глазными каплями «Лакрисифи», слой тканевого детрита замещается грануляционной тканью. В дерме и подкожной жировой клетчатке сохраняется умеренно выраженная полиморфно-нуклеарная инфильтрация. Зона некроза по сравнению с предыдущим сроком сохраняет свои размеры. В дне раны в зоне демаркационного воспаления не отмечено существенных морфологических изменений по сравнению с предыдущим сроком.

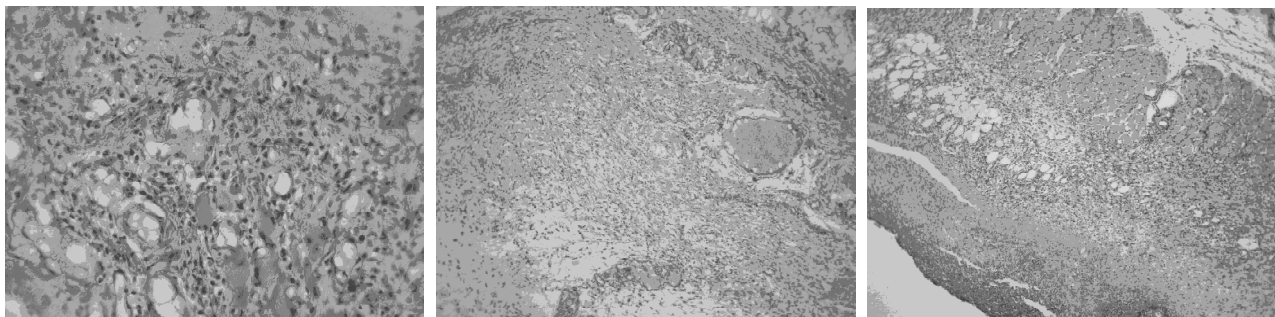


Рис. 2. Гистологическое строение ран кожи на 3-и сутки эксперимента: а — интактных крыс; б — под влиянием глазных капель «Лакрисифи»; в — под влиянием раствора бишофита и кислот глицирризиновой. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение  $\times 400$

В подлежащей скелетной мышечной ткани наблюдаются слабо выраженные дистрофические изменения, полнокровие, наличие в межмышечных отделах участков грануляционной ткани с эозинофильными лейкоцитами. Полиморфно-нуклеарная инфильтрация минимальная.

В краях раны в дерме обнаруживаются хорошо развитая грануляционная ткань с большим количеством соединительнотканых клеток. Полиморфно-нуклеарная инфильтрация сохраняется по мере продвижения к центру раны. В эпидермисе наблюдаются процессы эпителизации раневой поверхности в виде поверхностного роста тонких пластов плоского эпителия (рис. 3).

В краях раны в дерме обнаруживаются хорошо развитая грануляционная ткань с большим количеством соединительнотканых клеток, появление волосяных фолликулов различной степени зрелости, полиморфно-нуклеарная инфильтрация слабо выражена.

На 14-е сутки эксперимента у крыс группы, леченных глазными каплями «Лакрисифи», наблюдается эпителизация покрытой струпом раневой поверхности. В дерме определяется грануляционная ткань со слабой полиморфно-нуклеарной инфильтрацией, большим количеством фибробластов и гистиоцитов, единичными гемосидерофагами. Наблюдаются процессы коллагенообразования, а также появление незрелых волосяных фолликулов в виде эпителиальных почек.

В скелетной мышечной ткани сохраняются выраженные дистрофические и атрофические изменения, небольшая очаговая межмышечная полиморфно-нуклеарная инфильтрация, в перимизии обнаруживаются участки грануляционной ткани.

При морфологическом исследовании кожных ран у крыс, леченных раствором бишофита и кислоты глицирризиновой, на 3-и сутки эксперимента, как и в предыдущих группах, обнаружено наличие линейной раневой поверхности кожи, покрытой фибринозно-гнойным экссудатом, под которым располагается зона некроза меньшей толщины по сравнению с контрольной группой и группой крыс, леченных глазными каплями «Лакрисифи». В дер-

ме и подкожной жировой клетчатке определяется умеренно выраженная полиморфно-нуклеарная инфильтрация. В дне раны в зоне демаркационного воспаления наблюдается умеренное полнокровие, появление грануляционной ткани, состоящей из фибробластов, миофибробластов, гистиоцитов, вновь образованных кровеносных сосудов, сосудистых почек.

В подлежащей скелетной мышечной ткани наблюдения аналогичны исходу. В дерме обнаруживаются меньшие по размерам участки грануляционной ткани.

На 7-е сутки эксперимента у крыс, леченных раствором бишофита и кислоты глицирризиновой, раневая поверхность, дерма и подкожная жировая клетчатка не претерпевают значимых морфологических изменений раневой поверхности, дермы и подкожной жировой клетчатки по сравнению с предыдущим сроком. Полиморфно-нуклеарная инфильтрация слабая.

В подлежащей скелетной мышечной ткани наблюдаются слабо выраженные дистрофические изменения, полнокровие, наличие в межмышечных отделах участков грануляционной ткани с эозинофильными лейкоцитами. Полиморфно-нуклеарная инфильтрация минимальная.

В краях раны сохраняется полиморфно-нуклеарная инфильтрация. В дерме обнаруживаются меньшие по размерам участки грануляционной ткани.

На 14-е сутки эксперимента у крыс, леченных раствором бишофита и кислоты глицирризиновой, обнаружена эпителизированная раневая поверхность кожи, покрытая тонким слоем эпидермиса, формирующимися волосяными фолликулами и сальными железами. Морфологические изменения дермы и подлежащей скелетной мышечной ткани аналогичны соответствующим изменениям предыдущего срока. Полиморфно-нуклеарная инфильтрация минимальная (рис. 4).

В краях раны в дерме обнаруживаются участки грануляционной ткани, формирующиеся волосяные фолликулы и сальные железы. В эпидермисе имеются участки акантоза за счет разрастания и регенерации эпителия краев раны.

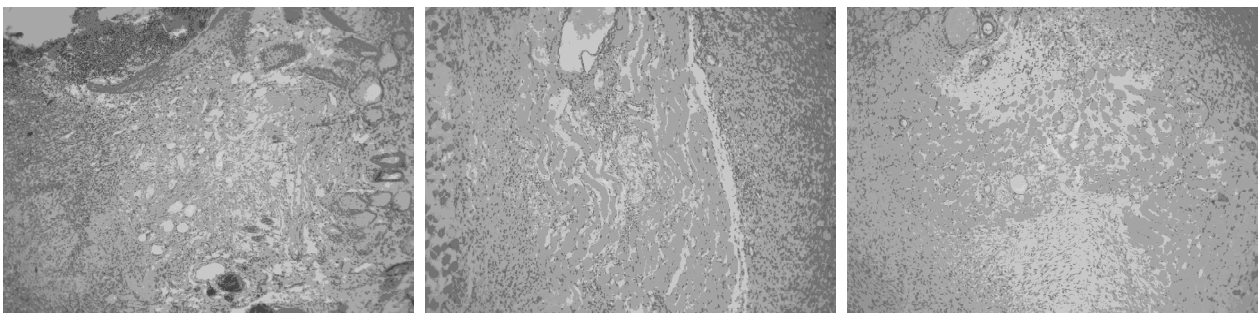
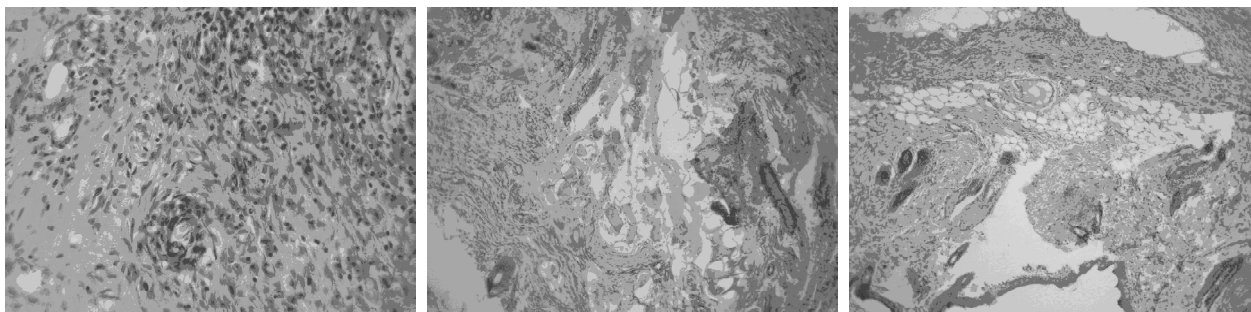


Рис. 3. Гистологическое строение ран кожи на 7-е сутки эксперимента: а — интактных крыс; б — под влиянием глазных капель «Лакрисифи»; в — под влиянием раствора бишофита и кислоты глицирризиновой. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение × 400



**Рис. 4.** Гистологическое строение ран кожи на 14-е сутки эксперимента: *а* — интактных крыс; *б* — под влиянием глазных капель «Лакрисифи»; *в* — под влиянием раствора бишофита и кислоты глицирризиновой. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение  $\times 400$

В подлежащей скелетной мышечной ткани наблюдаются слабо выраженные дистрофические изменения, наличие в межмышечных отделах участков грануляционной ткани.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изучение гистологических препаратов фрагментов кожи, подвергавшихся лечению раствором бишофита и кислоты глицирризиновой, свидетельствуют, что в отличие от данных контрольной группы скорость репаративных процессов при лечении раствором бишофита и кислоты глицирризиновой была выше. Предлагаемый раствор бишофита уменьшал развитие отечности и эритемы пораженного участка кожи, ускорял отторжение струпа. Поэтому раствор бишофита и кислоты глицирризиновой целесообразно использовать в качестве противовоспалительно-го средства с выраженной противовирусной, иммуномодулирующей и ранозаживляющей активностью при воспалительных заболеваниях глаз.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Егоров Е. А., Астахов Ю. С., Ставицкая Т. В. Офтальмофармакология. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 464 с.
2. Местная терапия бишофитом: монография / под ред. А. А. Спасова. — Волгоград: ФГУП «ИПК «Царицын», 2003. — 160 с.
3. Митрофанова И. Ю. Разработка состава и технологии офтальмологического спрея бишофита и кислоты глицирризиновой / И. Ю. Митрофанова, Б. Б. Сысуев, Факхир Отман // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр.; под ред. М. В. Гаврилина. — Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2011. — Вып. 66. — С. 291—292.
4. Пат. 2112473 Российская Федерация, МКИ 6 А61F 9/00. Глазные капли / В. П. Фокин, Г. П. Вдовина, Л. Н. Борискина, С. А. Ушаков, Е. С. Блинкова (РФ), № 96100315/14; Заявл. 05.01.96; опубл. 10.06.98 // Бюл. — 1998. — № 16. — 6 с.
5. Попова И. В. Рационализация управления региональной заболеваемостью органа зрения на основе мониторинга медико-биологических и социально-гигиенических факторов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Воронеж, 2007. — 18 с.
6. Салех Ахмед И. Ш. Волгоградский бишофит. Возможности освоения, глубокой переработки и использования природного бишофита. — Волгоград, 2010. — 433 с.: ил.
7. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника: руководство / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. — М.: Медицина, 1996. — 544 с.