

Рекомендована д.б.н., професором Л.М.Малоштан

УДК 615.454.1:638.135:615.451.16:616-001.41:616-003.9:57.012.4

ДОСЛІДЖЕННЯ УЛЬТРАСТРУКТУРИ ЛІНІЙНИХ РІЗАНИХ РАН ПІД ВПЛИВОМ МАЗІ “ПРОЛІДОКСИД”[®]

Л.В.Яковлєва, О.В.Ткачова, В.П.Невзоров

Національний фармацевтичний університет

На моделі лінійної різаної рані при дослідженні ультраструктури клітин встановлено, що нова ранозагоювальна мазь “Пролідоксид”[®], яка містить природний антиоксидантний комплекс — фенольний гідрофобний екстракт прополісу за репаративною активністю виявила більшу цито-протективну дію у порівнянні з маззю природного походження “Вундехіл”. Під впливом мазі “Пролідоксид”[®] спостерігалося виражене посилення метаболічної активності внутрішньоклітинних структур, що виявлялося у формуванні пучків колагенових волокон, збільшенні кількості рибосом, нормалізації структури мітохондрій.

Патогенез загоєння ран на I-й фазі (гнійно-некротичній) досить часто супроводжується запаленням з утворенням гнійного ексудату та виразною бальовою чутливістю уражених та прилеглих до рані тканин, що потребує застосування препаратів, які сприяють очищенню рані від некротичних мас, проявляють знеболювальну та протизапальну дію [1]. У період між гнійно-некротичною фазою і фазою грануляції в одних клітинах проходять репаративні процеси, а в інших продовжує проходити процес запалення з виділенням гнійного ексудату. На цьому етапі лікарські засоби повинні поряд з антибактеріальними властивостями проявляти менший, ніж на I-й фазі осмотичний та виразний репаративний ефекти, що сприяло б очищенню рані та стимулювало її загоєння. Загоєння лінійної різаної рані, як правило, відбувається за типом первинного натягування, оскільки вона відтворюється в асептичних умовах та має співставлені краї. В клінічних умовах при сприятливому перебігу в таких ранах досить швидко (протягом 6-10 діб) відбувається процес грануляції з утворенням рубця, який поступово розсмоктується.

Беручи до уваги недостатню кількість вітчизняних комбінованих препаратів, що проявляють багатопрофільну лікувальну дію на рановий процес: antimікробну, місцевоанестезуючу, протизапальну, осмотичну, репаративну, вченими НФаУ була розроблена нова ранозагоювальна мазь “Про-

лідоксид”[®], яка містить два діючі компоненти: фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП) і лідокаїн. У проведених доклінічних дослідженнях встановлено, що завдяки ФГПП, основними компонентами якого є фенольні сполуки (до 81,3%), мазь “Пролідоксид”[®] проявляє ранозагоювальну дію [4].

Метою даної роботи стало дослідження ультраструктури клітин шкіри лінійної різаної рані під впливом мазі “Пролідоксид”[®] у порівнянні з аналогом за лікарською формою, фармакологічною дією і показаннями до застосування — маззю “Вундехіл”.

Матеріали та методи

Лінійну різану рану відтворювали на 18 білих нелінійних статевозрілих щурах-самицях з масою тіла 170-220 г. Були сформовані три експериментальні групи по 6 тварин у кожній: 1-ша позитивний контроль (ПК) — неліковані тварини з відтвореною патологією; групи 2-3 — тварини, у яких на тлі патології застосовували мазі “Пролідоксид”[®] і “Вундехіл” в умовно-терапевтичній дозі 20 мг/см², яка повністю всмоктується в шкіру та достатньо її зволожує. Лікування розпочинали через 24 год після моделювання рані і продовжували наступні 5 днів [3]. Для дослідження ультраструктури клітин лінійних різаних ран у дослідних тварин брали шматочки шкіри з осередку рані на 6-й день після відтворення патології, які обробляли по стандартній методиці Г.Гайдера (1974 р.). З отриманих блоків готували ультратонкі зрізи на ультрамікроскопі УМТП-6 і контрастували цитратом свинцю. Дослідження проводили під електронним мікроскопом ЕМВ-100БР при прискорючій напрузі 75 кв. Збільшення вибирали відповідно до мети дослідження в межах 20000-40000х. Електронномікроскопічні дослідження різаної рані проводили на рівні кератиноцитів базального, шипуватого і зернистого шарів епідермісу шкіри, а також фібробластів дерми.

Результати та їх обговорення

Дослідження ультраструктури клітин шкіри щурів на 6-ту добу після моделювання різаних ран показали, що у тварин групи ПК відновлення нормальної архітектоніки клітин шкіри на цей

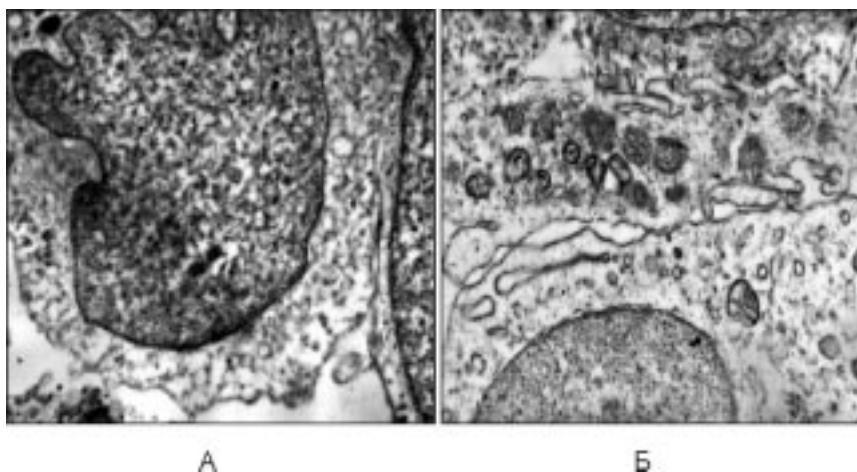


Рис. 1. Ультраструктура кератиноцитів базального шару епідермісу шурів групи ПК на 6-й день патології.
А — розширені перинуклеарні простори. х29000. Б — лізис крист та їх дезорганізація. х27000.

термін не відбулося. В ультраструктурній організації кератиноцитів базального, шипуватого і зернистого шарів спостерігали дистрофічні і деструктивні порушення. Ядра значної кількості кератиноцитів базального шару мали витягнуту форму. Ядерна мембрana їх була сильно розріхлена та місцями ушкоджена. В ній спостерігали різке розширення перинуклеарних просторів і вакуолеутворювальні випинання (рис. 1А). У цитоплазмі були присутні вторинні лізосоми, що містили осьміофільні електронно-щільні включення. Мітохондрії мали електронно-прозорий матрикс і містили невелику кількість кристалів, локалізованих переважно по периферії органел. Зовнішня мембра мітохондрій мала чітко оформлену осьміофільну структуру. окремі органели мітохондрій в окремих місцях містили зруйновані оболонки і кристи (рис. 1Б). Гранулярний ендоплазматичний ретикулум був слабко розвиненим і представленим у вигляді окремих мембран і розширених цистерн. Вміст як вільно утримуваних у цитоплазмі рибосом і полісом, так і зв'язаних з мембранами ендоплазматичного ретикулу був значно знижений у порів-

нянні з групою інтактних тварин. Цитоплазматична мембра оточувала ділянки деструкції. Дистрофічним і деструктивним порушенням піддавалися ядра кератиноцитів шипуватого шару епідермісу. Ядерна мембра їх втратила чітку структуру, розріхлилася. Хроматин сконцентрувався уздовж ядерної мембрани. Мітохондрії були сильно набряклі. Матрикс мітохондрій містив грубо-волокнисту речовину середньої електронної щільності. Дуже часто виявлялися деструкції мембран і кристалів мітохондрій (рис. 2А). У клітинах зернистого шару були аналогічні зміни. У їх цитоплазмі спостерігали пучки фрагментованих топофібріл і включення ліпідних крапель з осьміофільною серцевиною, лізис кристалів мітохондрій (рис. 2Б). На межі між шарами у незначній кількості містилися функціонально активні фібробласти з розвиненою ультраструктурою.

У групі тварин, яких лікували маззю “Вундехіл”, в основному зберігалися ультраструктурні зміни, описані вище. Разом з тим, у ряді препаратів зустрічалися клітини в стані досить високої метаболічної активності. Під впливом препарату в

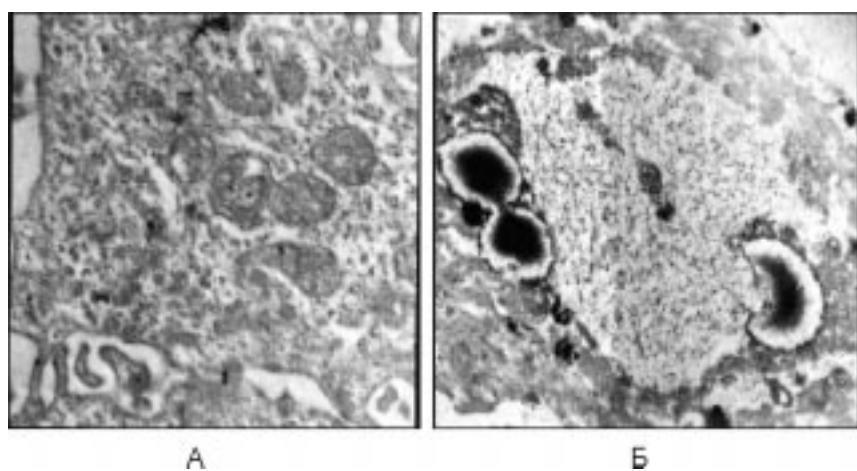


Рис. 2. Ультраструктура кератиноцитів шипуватого (А) та зернистого (Б) шару епідермісу шурів групи ПК на 6-й день патології.
А — деструкції мембран і кристалів мітохондрій. х32000. Б — пучки фрагментованих топофібріл і включення ліпідних крапель з осьміофільною серцевиною у клітинах зернистого шару. х32000.

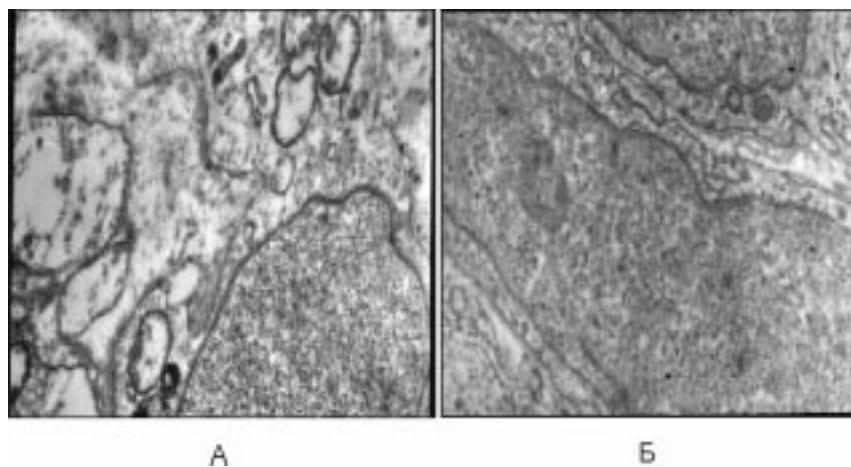


Рис. 3. Ультраструктура кератиноцитів базального (А) та шипуватого (Б) шару епідермісу на 6-й день лікування різаної рани мазю "Вундехіл". А — у цитоплазмі присутні помірно набряклі мітохондрії з проясненим матриксом. Незначний вміст крист у мітохондріях. х32000. Б — множинні неглибокі інвагінації ядерної мембрани. х36000.

ультраструктурній організації клітин виявлені ознаки підвищення активності репаративних внутрішньоклітинних процесів. Встановлено зменшення процесу деструкції ядерної мембрани, мітохондрій і ендоплазматичного ретикулуму, а також помірну активацію метаболізму фіробластів. Ядра кератиноцитів базального шару мали структурну форму з чітко вираженою типовою мембраною, що у ряді випадків утворювала неглибокі інвагінації. У цитоплазмі були присутні помірно набряклі мітохондрії з проясненим матриксом, кількість яких збільшилася у порівнянні з групою ПК. Але слід зазначити порівняно низький вміст крист у мітохондріях (рис. 3А). Ядра кератиноцитів шипуватого шару мали витягнуту форму, їх ядерна мембрана утворювала множинні неглибокі інвагінації (рис. 3Б), зберігала помірне розріхлення і мала ділянки деструкції. В цитоплазмі кератиноцитів шипуватого шару на відміну від групи ПК спостерігали істотне збільшення кількості рибосом і полісом. Цистерни гранулярного ендоплаз-

матичного ретикулуму були сплющені і заповнені субстанцією середньої електронної щільності. Мітохондрії зберігали значний ступінь набряку із проясненим матриксом.

Отже, під впливом мазі "Вундехіл" у клітинах шкіри збільшується кількість рибосом і полісом, що свідчить про активацію синтетичних внутрішньоклітинних реакцій. Але повного відновлення типової субмікроскопічної архітектоніки клітин шкіри на 6-й день експерименту не відбувається.

У групі тварин, яких лікували мазю "Пролідоксид", у субмікроскопічній організації клітин епідермісу спостерігалося виражене посилення метаболічної активності внутрішньоклітинних структур. Ядра кератиноцитів базального шару епідермісу набуvalи типової структури. Ядерна мембрана була чітко сконструйована і зберігала інвагінації помірної глибини (рис. 4А). Перинуклеарні простори мали рівномірну ширину. При лікуванні досліджуваним препаратом встановлено виразну цитопротективну дію, про що свідчить різке

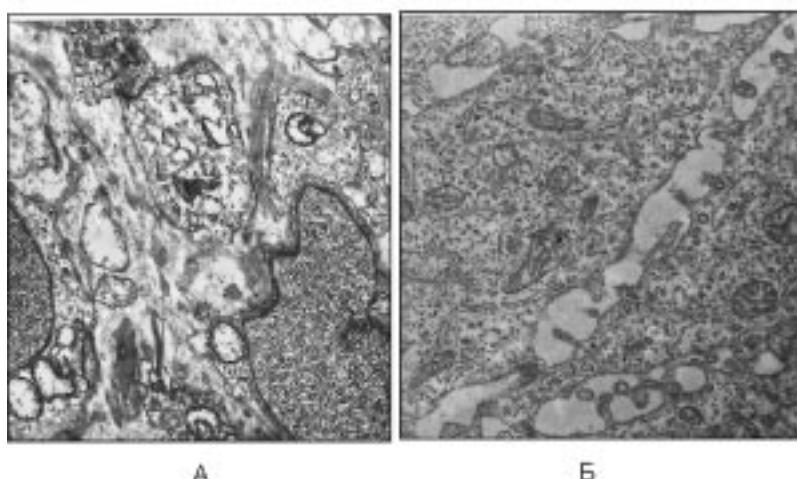


Рис. 4. Ультраструктура кератиноцитів базального шару епідермісу щурів на 6-й день лікування різаної рани мазю "Пролідоксид"®. А — інвагінації ядерної мембрани помірної глибини. х32000. Б — збільшення кількості рибосом, ущільнення цистерн ендоплазматичного ретикулуму. х35000.

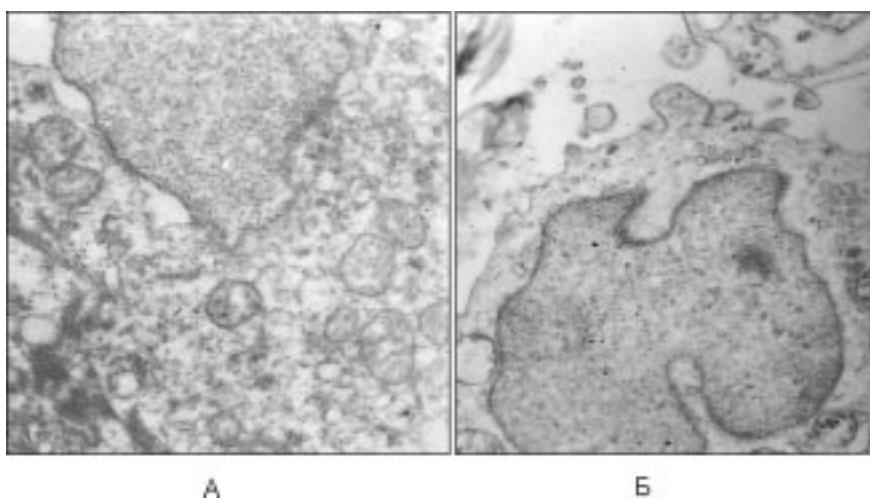


Рис. 5. Ультраструктура кератиноцитів шипуватого шару епідермісу (А) та фібробластів (Б) на 6-й день лікування різаної рані мазю “Пролідоксид”[®]. А — Просвітлення матриксу ядра і мітохондрій. х36000. Б — Глибокі інвагінації ядерної мембрани. х32000.

збільшення у цитоплазмі кератиноцитів базально-го шару кількості рибосом і полісом, формування пучків колагенових волокон, а також ущільнення цистерн ендоплазматичного ретикулуму (рис. 4Б).

В ультраструктурній організації кератиноцитів шипуватого шару епідермісу ще зберігалися по-одинокі деструкції ядерної мембрани. На багатьох препаратах під впливом мазі “Пролідоксид”[®] виявлено просвітлення матриксу ядра і розширення перинуклеарного простору (рис. 5А). Мітохондрії хоча і мали значну кількість крист, однак їх матрикс мав низьку електронну щільність. Цистерни ендоплазматичного ретикулуму були розширені.

Фібробласти в групі тварин, яких лікували мазю “Пролідоксид”[®], мали помірний ступінь активності. Ядра їх мали різані контури з глибокою інвагінацією ядерної мембрани (рис. 5Б). Матрикс ядер зберігав низьку електронну щільність, однак хроматин розподілявся досить рівномірно і перинуклеарні простири не були розширені. Зовнішні мембрани мітохондрій і крист набували чітких обрисів. Хоча стан субмікроскопічної архітектоніки клітин при лікуванні мазю “Пролідоксид”[®] був кращим у порівнянні з мазю “Вундехіл”, але повного відновлення типової структури клітин шкіри на 6-й день лікування різаної рані не відбулося.

Отже, результати ультраструктурних досліджень на моделі лінійних різаних ран підтверджують цитопротективну дію мазі “Пролідоксид”[®], що

виявилася активніше за препарат порівняння — мазь “Вундехіл”. Під впливом досліджуваного препарату в ультраструктурі кератиноцитів базально-го шару епідермісу спостерігалося виразне посилення метаболічної активності внутрішньоклітинних структур, що виявлялось у формуванні пучків колагенових волокон, збільшенні кількості рибосом, нормалізації структури мітохондрій, ущільненні цистерн ендоплазматичного ретикулуму. Під впливом мазі “Вундехіл” спостерігалося менш виражене посилення регенерації структурних компонентів клітин, що вплинуло на збільшення терміну рубцювання різаних ран.

Репаративна активність мазі “Пролідоксид”[®] обумовлена комплексом фенольних сполук (до 81,3% у складі ФГПП), які є вираженими антиоксидантами [2, 6, 8], здатних перехоплювати вільні радикали [7, 9, 10], утворювати хелато-комплекси з реакційноздатними іонами, гальмувати активність радикалогенеруючих ферментів і, таким чином, захищати ліпіди, нуклеїнові кислоти та інші життєво необхідні складові клітин від окиснення та руйнування [5]. Фенольні сполуки стимулюють репаративні процеси, впливаючи в основному на макрофагальну ланку запально-репаративної реакції [1]. При цьому посилюється хемотаксис у рану макрофагів, проліферація і диференціювання фібробластів, відновлюються порушені міжклітинні утворення, відбувається дозрівання грануляційної тканини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Берченко Г.Н. Роль макрофагов в процессе заживления ран / В кн.: Теоретические вопросы травматологии и ортопедии. — М., 1990. — С. 19-32.
2. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. — М., 2001. — 78 с.
3. Турецев С.Н. // Фармаком. — 1996. — №4-5. — С. 25-36.
4. Яковлева Л.В., Ткачова О.В., Кальф-Каліф С.С. // Вісник фармації. — 2001. — №3. — С. 123-124.
5. Aitken R.J., Krausz Cs. // Reproduction. — 2001. — Vol. 122, №4. — P. 497-506.

6. Cano A., Arnao M.B., Williamson G., Garcia-Conesa M.T. // Redox Rep. — 2002. — Vol. 7, №6. — P. 379-383.
7. Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J. // LWT — Food Sci. and Technol. — 2006. — Vol. 39, №7. — P. 756-761.
8. Gabrielska J., Soczynska-Kordala M., Przestalski S. // J. Agric. Food Chem. — 2005. — Vol. 53, №1. — P. 76-83.
9. Isla M.I., Nieva Moreno M.I., Sampietro A.R. et al. // J. of Ethnopharmacol. — 2001. — Vol. 76, №2. — P. 165-170.
10. Teixeira S., Siquet C., Alves C. et al. // Free Radic. Biol. Med. — 2005. — Vol. 39, №8. — P. 1099-1108.

УДК 615.454.1:638.135:615.451.16:616-001.41:616-003.9:57.012.4
ИССЛЕДОВАНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ЛИНЕЙНЫХ РЕЗАНЫХ РАН ПОД ВЛИЯНИЕМ МАЗИ “ПРОЛИДОКСИД”®

Л.В.Яковлева, О.В.Ткачева, В.П.Невзоров

На модели линейной резаной раны при исследовании ультраструктуры клеток установлено, что новая ранозаживляющая мазь “Пролидоксид”®, которая содержит антиоксидантный комплекс — фенольный гидрофобный препарат прополиса по reparative активности проявила более выраженное цитопротективное действие в сравнении с мазью природного происхождения “Вундхил”. Под воздействием мази “Пролидоксид” наблюдалось значительное усиление метаболической активности внутриклеточных структур, что проявилось в формировании пучков коллагеновых волокон, увеличении количества рибосом, восстановлении структуры митохондрий.

УДК 615.454.1:638.135:615.451.16:616-001.41:616-003.9:57.012.4
RESEARCH OF THE LINEAR SWORD-CUTS ULTRASTRUCTURE UNDER THE EFFECT OF “PROLIDOXIDE OINTMENT”®

L.V.Yakovleva, O.V.Tkachova, V.P.Nevzorov

When studying the cell ultrastructure in the model of the linear sword-cut it has been found that a new wound-healing ointment “Prolidoxide”®, which contains the antioxidant complex — phenolic hydrophobic medicine of propolis, showed more expressed cytoprotective action by its reparative activity comparing to the natural origin ointment “Woundheal”. Under the action of “Prolidoxide ointment”® there was a considerable intensification of the metabolic activity of intracellular structures, and it revealed in forming bundles of collagenous fibres, increasing the amount of ribosomes, restoration of the mitochondria structure.

Довідник “ВФ”

ЗВІТ ПРО ПРОВЕДЕННЯ IV З'ЇЗДУ АПІТЕРАПЕВТІВ УКРАЇНИ “АПІТЕРАПІЯ: СЬОГОДЕННЯ ТА МАЙБУТНЄ ФАРМАЦІЇ”

IV з'їзд апітерапевтів України “*Апітерапія: Сьогодення та майбутнє фармації*” відбувся 12-13 травня 2011 року на базі Національного наукового центру “Інститут бджільництва ім. П.І.Прокоповича” НААН України в м. Києві. З'їзд проходив за підтримки Міністерства охорони здоров'я України, Національної академії аграрних наук України, Національного наукового центру “Інститут бджільництва ім. П.І.Прокоповича” НААН України, Національного фармацевтичного університету, асоціації апітерапевтів України та Київської міської ради. На з'їзді були присутні близько 150 делегатів з різних регіонів України, СНД та країн білякнього зарубіжжя, зокрема з Росії, Беларусі, Молдови, Румунії, Болгарії, Чечні.

Вітальними промовами з'їзду відкрили директор ННЦ “Інститут бджільництва ім. П.І.Прокоповича” НААН України член-кореспондент НААН України, президент спілки апітерапевтів України **Боднарчук Леонід Іванович**, завідувач кафедри аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету (м. Харків), заслужений діяч науки і техніки України, академік Української АН, доктор фармацевтичних наук, професор **Тихонов Олександр Іванович** та керуючий справами Київської міської ради, заступник секретаря Київради **Колесник Микола Петрович**.

У ході проведення з'їзу розглядалися важливі питання стосовно підготовки до 43-го Міжнародного конгресу бджолярських організацій “Апімандія”, який буде проводитись у 2013 році в Україні у м. Києві; основних аспектів розвитку апітерапії в Україні; розробки, стандартизації та впровадження лікарських засобів у промислове виробництво тощо.

У програмі з'їзу були також заслухані близько 35 доповідей провідних учених в галузі фармації та апітерапії, практичних лікарів-апітерапевтів та бджолярів.

Проведений з'їзд дав позитивну оцінку розвитку апітерапії в Україні та прийняв відповідні рішення:

1. Враховуючи те, що у 2013 р. в Україні відбудеться 43-й Міжнародний конгрес “Апімандія” і буде працювати симпозіум по апітерапії, слід представити кращі роботи, кращі наукові центри, які заслуговують на світове визнання.
2. Керівникам асоціації апітерапевтів України, Спілки пасічників сприяти створенню регіональних центрів із залученням провізорів, лікарів, зацікавлених в розвитку цього напряму.
3. Практикувати міжнародні конференції по збагаченню досвіду апітерапевтів.
4. Асоціації апітерапевтів України та Спілці пасічників України проводити щорічні курси по апітерапії з залученням провізорів, лікарів та бджолярів.
5. Розробити статут “Почесного апітерапевта України” і ознайомити з ним апітерапевтичні центри та МОЗ України.
6. Обрати представником від України до оргкомітету 43-го Міжнародного конгресу “Апімандія” керівником симпозіуму по апітерапії академіка Української АН, доктора фармацевтичних наук, професора Тихонова Олександра Івановича.