

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ МАЗІ “МІРАМЕФ-ДАРНИЦЯ” НА МОРФОГЕНЕЗ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Ю.В.Федорчук, Ю.Б.Лар'яновська

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: рана; регенерація; комбінована мазь; репаративні властивості

Наведені результати вивчення фармакологічної ефективності нової мазі “Мірамеф-Дарниця”, призначеної для лікування ранового процесу та запальних уражень шкіри. Мазь розроблена вченими Національного фармацевтичного університету та містить мефенамову кислоту, мірамістин і декспантенол, що забезпечує її виражені протизапальні, антибактеріальні, антиоксидантні та репаративні властивості. В умовах експериментальних трафаретних ран у щурів на мікроструктурному рівні встановлений стимулювальний вплив нової мазі на процес репарації ураженої ділянки. Препарат виражено прискорює проліферативні процеси в рані, формування сполучної тканини та сприяє утворенню м'якого рубця. Це супроводжується стимулюванням регенерації епітелію, відновленням його функціональних характеристик. За вираженістю репаративної дії на мікроструктурному рівні мазь “Мірамеф-Дарниця” не поступається препарату порівняння — мазі метилурацилової. Одержані результати підтверджують виражені ранозагоювальні властивості нової комбінованої мазі “Мірамеф-Дарниця” та дозволяють рекомендувати її для місцевої терапії уражень, що супроводжуються порушенням цілісності шкірного покриву.

Інтенсивний розвиток науково-технічного прогресу, механізація виробництва та побуту, підвищення динаміки життя призводять до зростання травматизму, що обумовлює актуальність лікування ранового процесу. Проблема терапії ран ускладнюється ростом антибіотикорезистентності мікроорганізмів, зниженням імунологічного захисту, посиленням алергізації пацієнтів внаслідок підвищеної хімізації народного господарства та поліпрагмазії у медичній практиці [2-5, 19, 20]. Вказане свідчить про необхідність удосконалення існуючих та пошуку нових засобів фармакотерапії ран, перш за все, для зовнішнього застосування.

Специфічність патогенезу ран вимагає індивідуального підходу до вибору лікарського засобу для зовнішнього застосування в залежності від фази ранового процесу. Згідно з сучасними уявленнями перебіг патологічного процесу у рані незалежно від при-

чин, які його викликають, налічує три послідовні фази: гнійно-некротичну (перша фаза), фазу утворення грануляцій (друга фаза) та фазу епітелізації (третя фаза) [6, 7, 15, 18]. Правильний підбір діючих компонентів та мазевої основи є запорукою успішного лікування та профілактики розвитку ускладнень ранового процесу [13, 14, 16].

На кафедрі промислової фармації під керівництвом проф. Чуєшова В.І. розроблена нова комбінована мазь “Мірамеф-Дарниця”, призначена для лікування ран наприкінці першої та у другій фазі ранового процесу. Вказані фази характеризуються помірно вираженим запальним процесом, зниженням кількості мікроорганізмів у рані, очищенням рани від некротичного вмісту та активацією репаративних процесів і появою грануляційної тканини [7, 11, 12, 17]. У зв'язку з цим до складу мазі були введені такі компоненти: протизапальний засіб мефена-

мова кислота, антибактеріальний препарат широкого спектра дії мірамістин, стимулятор репаративних процесів декспантенол та димексид, який проявляє місцевознеболювальні, антимікробні, антиоксидантні, протизапальні властивості і традиційно використовується у фармацевтичному виробництві як провідник лікарських засобів через біологічні мембрани. Для запобігання пересихання рани та ушкодження грануляційної тканини використана полімерна основа з помірною осмотичною активністю.

Комплекс фармакологічних досліджень мазі “Мірамеф-Дарниця”, проведений на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом проф. Л.В.Яковлевої, дозволив встановити виражені протизапальні, антибактеріальні, протиалергічні властивості, що обумовило доцільність вивчення її лікувальної дії на експериментальних моделях ранового процесу [9].

На моделі трафаретних ран у щурів було встановлено, що мазь “Мірамеф-Дарниця” достовірно прискорює швидкість загоєння ран

Вплив мазі “Мірамеф-Дарниця” на морфогенез ранового процесу на моделі трафаретних ран у щурів (бали), n=90

Показник		Термін спостереження, дні	Групи тварин			
			Контрольна патологія	Мазь “Мірамеф-Дарниця”	Метилурацилова мазь	
Ступінь зрілості грануляцій	Клітинна насиченість	5	2,5	2,0	2,25	
		8	3,5	2,25	2,75	
		12	3,0	1,25	2,0	
		16	1,66	0	0,37	
	Загальна сума балів			10,66	5,5	7,37
	Васкуляризація	5	0,25	2,0	2,0	
		8	1,75	2,25	2,75	
		12	2,75	1,75	2,0	
		16	0,66	0	0,25	
	Загальна сума балів			5,41	6,20	7,00
	Волокноутворення	5	0	0,25	0,5	
		8	0,9	0,9	1,12	
		12	1,56	2,87	2,70	
		16	3,33	4,0	4,0	
Загальна сума балів			5,79	8,02	8,32	
Швидкість епітелізації поверхні	Формування епітелію	5	0	0,63	1,0	
		8	0,25	2,0	2,25	
		12	2,0	3,5	3,6	
		16	3,33	4,00	4,00	
	Загальна сума балів			5,58	10,13	10,85
	Диференціювання шарів у епітелії	5	0	0	0	
		8	0	1,0	1,5	
		12	0,5	3,5	3,4	
		16	3,0	4,0	4,0	
	Загальна сума балів			3,5	8,5	8,9

на рівні препарату порівняння — метилурацилової мазі (у 3,99 та 3,73 рази відповідно у порівнянні з контрольною патологією). Крім того, препарат зменшує цитолітичні процеси та більш виразно, ніж препарат порівняння відновлює синтез білка, що характеризується підвищенням рівня загального білка у сироватці крові, РНК та ДНК у гомогенаті шкіри та зменшенням вмісту сечовини у крові [10].

Метою цього дослідження стало підтвердження лікувальної дії нової комбінованої мазі “Мірамеф-Дарниця” на мікроструктурному рівні. У завдання роботи

входило дослідження впливу мазі на морфогенез ранового процесу на моделі трафаретних ран у щурів у порівнянні з метилурациловою маззю.

Матеріали та методи

Досліди проводили на білих безпородних щурах з масою тіла 160-200 г, вирощених у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ. Трафаретні рани відтворювали за допомогою механічного пробійника на попередньо депільованій ділянці шкіри бокової поверхні тіла щурів під барбаміловим наркозом [8].

Тварини були розподілені на 3 групи: перша група тварин (конт-

рольна патологія), яких після відтворення ранового процесу не лікували; друга дослідна група тварин, яких після відтворення патології лікували маззю “Мірамеф-Дарниця”; третя дослідна група тварин, яких після відтворення патології лікували метилурациловою маззю. Лікування мазями починали з 2-го дня після відтворення ран. Дефекти шкіри залишали відкритими протягом усього експерименту.

Забір матеріалу для світло-оптичного дослідження проводили на 5, 8, 12 та 16 дні після моделювання патології. Ділянку рани відокремлювали разом з приле-

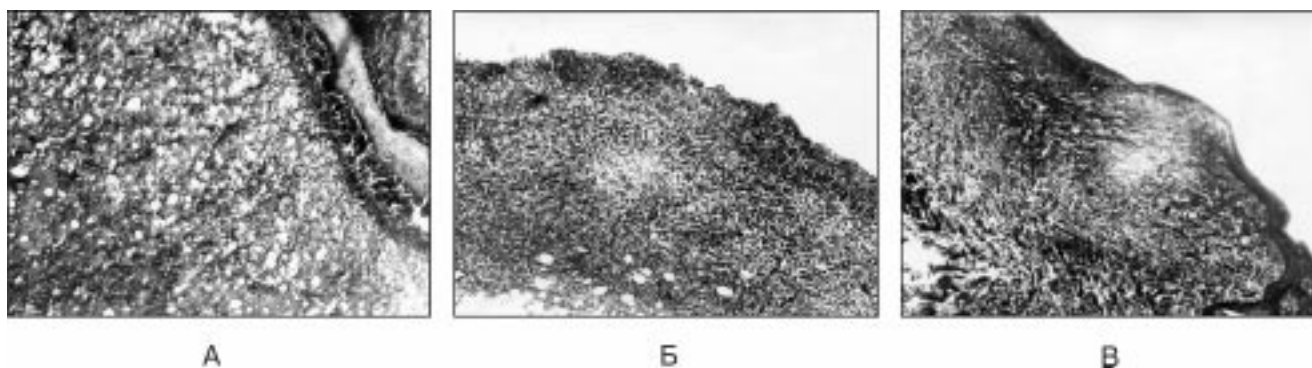


Рис. 1. Повношарова рана шкіри нелікованого щура. Гематоксилін-еозин. x100

А — 5-й день експерименту. Видно великий фібринозно-лейкоцитарний шар, який заповнює дефект

Б — 8-й день експерименту. Дефект вистелений грануляційною тканиною з помірною кількістю новоутворених кровоносних судин в області дна

В — 12-й день експерименту. Слабка крайова епітелізація, грануляційна тканина з досить великою кількістю клітинних та судинних складових

люю здоровою шкірою. Після стандартної обробки зразків зрізи для оглядової мікроскопії фарбували гематоксиліном та еозином [1]. Вираженість патологічного процесу та лікувальну дію препаратів на мікроструктурному рівні оцінювали напівкількісно за 5-бальною шкалою:

- 0 балів — ознака відсутня;
- 1 бал — ознака виражена слабо;
- 2 бали — ознака виражена помірно;
- 3 бали — ознака виражена виразно;
- 4 бали — ознака виражена різко.

Визначали такі характеристики, як ступінь зрілості грануляцій та швидкість епітелізації поверхні рани. Для молоді незрілої тканини характерна висока клітинна

насиченість та слабка васкуляризація. Тому ступінь зрілості грануляцій оцінювали за інтенсивністю клітинної насиченості, васкуляризації та волокноутворення у рані. При формуванні рубця відбувається редукція кровоносних судин. Про швидкість епітелізації поверхні судили за темпами зростання епітеліального клину та диференціюванням шарів у епітелії. Усі вказані показники оцінювали в балах за наведеною вище шкалою.

Результати та їх обговорення

Результати проведеного дослідження наведені на рис. 1-3 та у таблиці.

Як показали дослідження, на 5-й день після травми у всіх тва-

рин групи контрольної патології в рановому дефекті домінували зміни некротично-запального характеру. Майже 2/3 об'єму дефекту займав фібринозно-лейкоцитарний шар, під яким розташований шар дуже незрілої грануляційної тканини. Грануляції були дуже вузькі та склалися з великої кількості недиференційованих клітин з домішками нейтрофільних лейкоцитів. Ознак епітелізації не спостерігали (рис. 1А).

На 8-й день досліду лише у 50% щурів цієї групи грануляційна тканина, яка заповнювала дефект, мала більш зрілий, ніж у попередній строк характер. У ній було багато лімфоїдних клітин та помірна кількість вертикально орієнтованих кровоносних судин, у достатній кількості були наявні

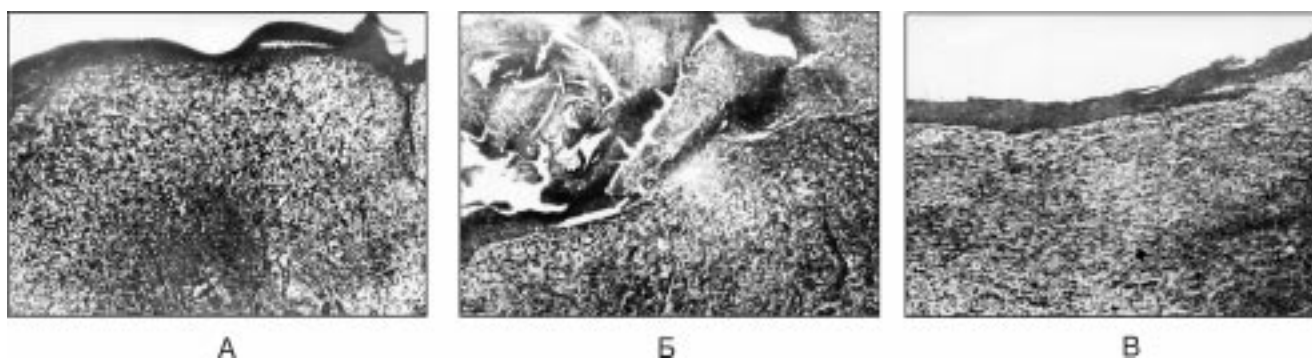


Рис. 2. Повношарова рана шкіри щура, якого лікували маззю "Мірамеф-Дарниця". Гематоксилін-еозин. x100

А — 5-й день експерименту. Дефект заповнений молодією грануляційною тканиною з великою кількістю новоутворених кровоносних судин і клітинним матеріалом

Б — 8-й день експерименту. Під сукроватицево-некротичною кіркою, що відторгалася, — новоутворений шар епітелію з диференціюванням шарів, волокноутворення в крайових зонах дефекту

В — Зона колишнього дефекту. Рубець має пухкий волокнистий характер, містить достатню кількість клітин та судин

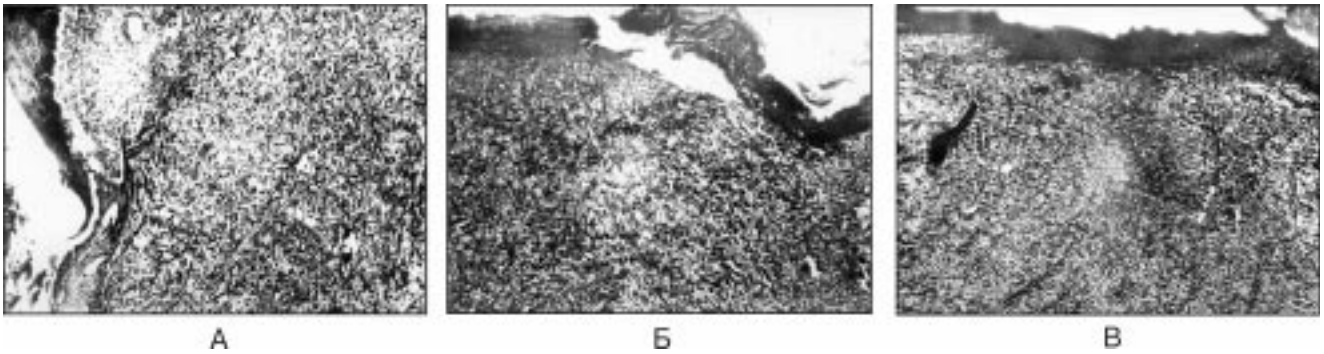


Рис. 3. Повношарова рана шкіри щура, якого лікували метилурациловою маззю. Гематоксилін-еозин. $\times 100$

- А — 5-й день експерименту. Початковий ріст епітелію, молода грануляційна тканина
 Б — 8-й день експерименту. Грануляційна тканина різного ступеня зрілості в різних зонах дефекту. Виразений ріст епітеліального пласта
 В — Загоєний дефект шкіри на 12-й день експерименту. Пухка волокниста тканина рубця ще має кровоносні судини і клітинний матеріал

фібробласти, які у глибоких шарах дефекту мали упорядковану просторову орієнтацію. На ділянках, що межують зі здоровою шкірою, та в зоні дна рани були видні ознаки волокноутворення. У решти тварин грануляції були васкуляризовані у незначній мірі (рис. 2Б). Майже у всіх тварин зберігався досить виразний поверхневий фібринозно-лейкоцитарний шар.

На 12-й день після травми у більшості щурів групи контрольної патології новоутворена тканина, що заповнювала рановий дефект, ще не мала виразних ознак волокноутворення. Вона містила велику кількість клітинних та судинних складових, зберігався досить великий поверхневий фіброзно-лейкоцитарний шар (рис. 2В). Лише у найглибших зонах дефекту спостерігали осередки волокнистої тканини. У однієї тварини волокноутворення було помітне також і в периферичних зонах рани. В цілому регенерація епітелію була слабко виражена. Епітеліальний клин складався з 2-3 рядів сплоснених клітин, які “наповзали” на поверхню рани з краю.

На 16-й день у 67% щурів у зоні колишнього дефекту був сформований м’який рубець, прикритий потовщеним епітелієм. Волокниста тканина рубця містила ще достатню кількість клітинного матеріалу. У 33% щурів загоєння дефекту не спостерігали. У цих тварин у новоутвореній тканині волокнистий шар з великою кіль-

кістю домішок клітин (фібробластів та лімфоцитів) займав до 3/4 об’єму дефекту, решту — досить незріла грануляційна тканина з гнійним нальотом на поверхні.

На відміну від тварин групи контрольної патології, у 75% щурів, лікованих маззю “Мірамеф-Дарниця”, вже на 5-й день після травми у рановому дефекті під фібринозно-лейкоцитарним шаром спостерігали наявність значно більш зрілої грануляційної тканини. Ця тканина була в достатній мірі рівномірно васкуляризована, містила поряд з лімфоцитами досить диференційовані фібробласти, які в глибоких зонах дефекту мали вже упорядковану орієнтацію. Сам об’єм грануляції був більшим, ніж у групі контрольної патології. У цей же строк відмічали початковий ріст нового епітелію (рис. 2А). У однієї тварини були виявлені явні ознаки волокноутворення в області дна дефекту. Протягом наступного строку спостереження (8-16 дні експерименту) темпи росту та зрілості грануляційної тканини у рановому дефекті щурів, лікованих маззю “Мірамеф-Дарниця”, набагато випереджали за даними показниками нелікованих тварин. Так, на 8-й день після травми грануляційна тканина, що заповнила дефект, у всіх випадках була васкуляризована по всій глибині, містила багато фібробластів, у крайових зонах та в області дна мала

волокнистий характер. У новоутвореному епітеліальному клині визначали слабкі ознаки диференціювання шарів (рис. 2Б). На 12-й день у 75% щурів спостерігали повне загоєння дефекту. Гістологічно шкірний регенерат поданий епітелізованим волокнистим рубцем з помірним клітинним і судинним компонентами. Він прикритий дещо потовщеним епідермісом, в якому видні характерні шари. Волосся і сальних залоз у рубці не було виявлено (рис. 2В). На 16-й день у всіх тварин, лікованих маззю “Мірамеф-Дарниця”, на місці дефекту визначався волокнистий рубець. Волокна були більш грубими, ніж у попередній період спостереження. У тканині були практично відсутні кровоносні судини, знижена кількість клітинного матеріалу. Регенований епітелій дещо потовщений. В субепітеліальному шарі відмічали нерізко виражену сосочковість, одиничні волосяні фолікули.

Мазь метилурацилова теж прискорювала загоєння дефекту шкіри, проте у тварин, лікованих препаратом порівняння, спостерігали більшу варіабельність стану дефекту. На 5-й день після травми у рановому дефекті визначали досить поширений фібринозно-лейкоцитарний шар, під яким видно різну за об’ємом грануляційну тканину, в цілому незрілого типу, але місцями в ній спостерігали скупчення хаотично орієнтованих фібробластів та мо-

лоді кровоносні судини. Відмічений ріст епітеліального клину у більшості щурів був без видимої диференціації шарів у ньому (рис. 3А).

На 8-й день у всіх тварин у дефекті різко зменшився або був відсутній фібринозно-лейкоцитарний шар. Грануляційна тканина залишалась густоклітинною, але серед клітин спостерігали багато по-різному орієнтованих фібробластів, зберігався високий ступінь васкуляризації тканини. В одному випадку прослідковувалося волокноутворення у крайових зонах дефекту. Продовжувався ріст новоутвореного епітелію, прослідковувалась початкова диференціація шарів у ньому (рис. 3Б).

На 12-й день у 80% щурів рановий дефект був відсутній. На його місці — волокниста тканина з ще досить великим вмістом клітин і кровоносних судин, прикрита помірно потовщеним епідермісом звичайного вигляду (рис. 3В). У деяких випадках відмічений сосочковий шар.

На 16-й день загоєння ранового дефекту спостерігали у 100% тварин, лікованих метилурациловою маззю. Волокниста тканина на місці колишнього дефекту зберігала слабку васкуляризацію і наявність клітинного матеріалу. Рубець покритий помірно потовщеним епідермісом. Рідко видно волосяні фолікули.

Для більшої наочності та зручності порівняння темпів дозрівання грануляційної тканини в рановому дефекті та швидкості росту і диференціювання епітелію у щурів різних груп проведена напівкількісна оцінка цих ознак (табл.).

Як видно з наведених даних, у щурів групи контрольної патології були помітно знижені як темпи дозрівання грануляційної тканини (перевага клітинного компоненту, затримка васкуляризації та редукції судин, волокноутворення), так і швидкості росту ре-

генерованого епітелію. Все це призводило до зменшення відсотка тварин з повним загоєнням дефекту наприкінці експерименту (лише 67% на 16-й день).

Мазь “Мірамеф-Дарниця” на моделі трафаретних ран шкіри проявляє виражену репаративну дію. Якщо у нелікованих щурів у перші 5 днів у рані домінували некротично-запальні процеси, то після застосування мазі в ранах у цей період дослідження вже відмічали не тільки зменшення клітинного вмісту та кращу васкуляризацію молоді тканини, а й ознаки волокноутворення в ній та початкові явища регенерації епітелію. В цілому показник ступеня зрілості грануляцій при застосуванні мазі “Мірамеф-Дарниця” перевищував цей показник у тварин групи контрольної патології в цей період у 1,54 рази. У подальшому раніше починалася перебудова архітекtonіки грануляційної тканини. Вона втрачала клітинний компонент, кровоносні судини регресували, тканина набувала характеру волокнистого рубця. Кровоносні судини грануляційної тканини мали виражені ознаки регресії. Слід відзначити, що під впливом мазі “Мірамеф-Дарниця” швидкість втрати грануляційною тканиною клітинних компонентів та регресія кровоносних судин була у 1,8 рази вищою, а перетворення на рубець — у 1,65 рази вищим, ніж у групі контрольної патології. Як наслідок цього повне загоєння ранового дефекту відбувалося вже на 12-й день досліді у 75% щурів та на 16-й день — у 100%.

У цілому протягом досліді ступінь зрілості грануляційної тканини під впливом мазі “Мірамеф-Дарниця” був вищим в середньому у 1,5 рази (1,94 рази — за показником зменшення клітинної насиченості, у 1,15 рази — за темпами васкуляризації і редукції

судин та у 1,4 рази — за вираженістю волокноутворення).

Препарат порівняння — метилурацилова мазь також проявив на цій моделі ранозагоювальний ефект, який за деякими показниками (волокноутворення, швидкість епітелізації) у перші 8-м днів експерименту був дещо більше виражений, ніж у мазі “Мірамеф-Дарниця”, а за деякими (клітинною насиченістю, васкуляризацією) — поступався їй. У подальшому стимулювальний вплив обох мазей на регенеративні процеси епітелію та на формування рубця був виражений майже на одному рівні. В той же час препарат порівняння не так активно впливав на реорганізацію рубця.

Таким чином, на основі проведених досліджень впливу мазі “Мірамеф-Дарниця” на динаміку морфологічних змін трафаретних ран шкіри у щурів можна зробити висновок про те, що досліджувані препарат проявляє виражену ранозагоювальну дію, значно прискорює проліферативні процеси в рані, формування сполучної тканини, утворення м'якого рубця. Це супроводжується стимулюванням регенерації епітелію, відновленням його функціональних характеристик.

ВИСНОВКИ

1. Нова комбінована мазь “Мірамеф-Дарниця” проявляє виражену репаративну дію на моделі трафаретних ран у щурів.

2. На мікроструктурному рівні репаративна дія мазі полягає у прискоренні визрівання грануляційної тканини та формування м'якого рубця і стимуляції регенерації епітелію.

3. За вираженістю репаративної дії на мікроструктурному рівні мазь “Мірамеф-Дарниця” не поступалася препарату порівняння мазі метилурацилової, але у той же час виявляла деякі гістологічні особливості в характері цього ефекту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию. — М.: Медицина, 1980. — С. 216.

2. Адарченко А.А. //Здравоохранение республики Беларусь. — 1997. — №6. — С. 45-48.
3. Бенсман В.М., Сидоренко О.В., Федоренко С.С., Еременко А.А. Хирургический сепсис и некоторые вопросы его патогенетического лечения //Матер. Междунар. конф. “Раны и раневая инфекция”. — М., 1998. — С. 206-207.
4. Капуцкий В.Е., Абаев Ю.К., Семенкова Г.Н., Коваленко Е.И. Эволюция гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей и разработка методов лечения //Матер. Междунар. конф. “Раны и раневая инфекция”. — М., 1998. — С. 256-258.
5. Раны и раневая инфекция: Руковод. для врачей / Под ред. М.И.Кузина, Б.М.Костюченко. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 1990. — 592 с.
6. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Е.П.Безуглая, С.Г.Белов, В.Г.Гуныко и др. Под ред. Б.М.Даценко. — К.: Здоров'я, 1995. — 384 с.
7. Цибуляк В.Н., Цибуляк Г.Н. Травма, боль, анестезия. — М.: Медицина, 1994. — 224 с.
8. Яковлева Л.В., Ткачова О.В., Кальф-Каліф С.С. //Вісник фармації. — 2001. — №3 (27). — С. 123-124.
9. Яковлева Л.В., Федорчук Ю.В. Скрининговое изучение противовоспалительной активности различных композиций экспериментальной мази “Мирамеф” //Лекарства — человеку. — Т. XVI, №1-2. — Х., 2001. — С. 565-572.
10. Яковлева Л.В., Федорчук Ю.В. //Вісник фармації. — 2005. — №1 (41). — С. 65-68.
11. Almeyr P. Wound Healing and Skin Physiology. — Berlin: Springer, 1995. — 717 p.
12. Bast Aalt, Halnen Guido R.M.M., Doclam Cus I.A. //Americ. J. Med. — 1991. — Vol. 91, №3. — P. 2-13.
13. Blaisdell F.W., Trunkey D.D. Cervicotoracic trauma. In trauma management. — New York: Thieme, 1994. — 117 p.
14. Buntain W.L. Management of pediatric trauma. — Philadelphia ect.: Saunders, 1995. — 788 p.
15. Center of Studies and Research in Biomedicine //Eur. Epimarker. — 2001. — Vol. 3, №4. — P. 1-7.
16. Diebschlag W., Nocker W., Lehmacher W., Rehn D. //J. Pharm. Med. — 1994. — №4. — P. 7-14.
17. Fleche C., Clement M.C., Zeggane S., Faucon J.P. //Rev. Sci. Tech. — 1997. — Vol. 16, №2. — P. 609-619.
18. Halliwell B. //Pathol. Biol. — 1996. — Vol. 44, №1. — P. 6-13.
19. Kinjo J., Nagao S., Tanaka T. et al. //Biol. Pharm. Bull. — 2001. — Vol. 24, №12. — P. 1443-1445.
20. Silva O., Duarte A., Pimentel M. et al. //J. Ethnopharmacol. — 1997. — Vol. 57, №3. — P. 203-207.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (057) 714-27-15.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 26.10.2005 р.