

БИОХИМИЯ

УДК 619:616

М. М. Казанджян, Г. В. Гаспарян, Г. С. Мкртчян, В. О. Топузян

Исследование репаративной активности N1-фенил-2-{5-оксо-2-фенил-4-[(Z)-1-фенилметилен]-4,5-дигидро-1H-имидазолил}-ацетамида в условиях экспериментального ожога

(Представлено академиком К.Г. Карагезяном 26/XII 2008)

Ключевые слова: ожоги, воспаление, 5-имидазолы, репаративная активность, гистология

Изучение поражений при ожоговой болезни не может ограничиваться только исследованием изменений, происходящих в коже и подлежащих тканях. С момента ожога вследствие раздражения рецепторов кожи и последующего непрерывного потока афферентных импульсов в болезненный процесс вовлекается центральная нервная система (ЦНС). Из обожженных тканей в кровь всасываются продукты распада. Вследствие ожога ткани теряют воду и белки, что способствует истощению органов, а иногда приводит организм к смерти [1].

В некротизированных тканях появляется огромное количество микробов, скопление которых может быть обнаружено в гистологических срезах даже при малом увеличении микроскопа. В подкожной клетчатке около раневой области наблюдаются дистрофические, некробиотические и некротические изменения.

Современные методы обработки поверхности ожога различными лекарственными средствами в значительной степени ограничивают разведение микрофлоры, усиливая регенерацию эпителиального покрова кожи, где задерживаются процессы гниения, что приводит к формированию сухого струпа [2]. Для этого применяют разные влажно-высыхающие повязки йодофоров, представляющие собой соединения йода с поливинилпирролидином.

В другой стадии раневого процесса — регенерации и отторжения струпа лечение должно быть направлено на создание благоприятных условий для созревания грануляции. С этой целью используют мазевые повязки с антимикробным и ранозаживляющим действием (2% фурациллиновая мазь, метилдиоксидин, винилин, мазь Вишневского и др.) [3]. Вместе с тем, учитывая разновидности ожоговой болезни, изучение и изыскание новых эффективных ранозаживляющих средств и их внедрение в медицинскую практику довольно актуально.

Известно, что некоторые производные имидазолин-5-онов проявляют противовоспалительные свойства [4], что и привело нас к изучению репаративной активности аналогов этих соединений в условиях экспериментального ожога.

В качестве потенциального ранозаживляющего средства при ожоговой болезни в эксперименте был использован новый аналог имидазолин-5-она N1-фенил-2-{5-оксо-2-фенил-4-[(Z)-1-фенилметилен]-4,5-дигидро-1H-1-имидазолил}-ацетамид (далее I), синтез которого описан в [5]. Изучены противовоспалительные и ожогозаживляющие свойства I при ожоговой болезни, где воспалительными факторами являлись травмы эпидермиса и легкие химические ожоги. Репаративная активность I изучалась на модели острого химического ожога задних бедер крыс, индуцированного ксилолом [6].

Целью настоящего исследования являлось установление особенностей влияния I на течение и динамику фазового развития ожоговой раны в различные сроки эксперимента (спустя 24, 48, 96 ч).

В соответствии с поставленными задачами эксперимента животных разделили на следующие группы по 6 в каждой: 1) интактная; 2) контрольные животные (спустя 24, 48, 96 ч после ожога, правое бедро); 3) подопытные животные (спустя 24, 48, 96 ч после ожога пораженные участки обрабатывали 10 % мазью I, левое бедро); 4) подопытные животные (спустя 24, 48, 96 ч после ожога пораженные участки обрабатывали 20 % мазью I, левое бедро). Все группы содержались в одном помещении, на едином пищевом рационе.

Сба бедра животного тщательно очищались от волосяного покрова, приблизительно на 1 см² так, чтобы была поражена эпидермальная часть и частично дерма кожи. Животные всех групп (очищенные участки) подвергались аппликации х. ч. ксилолом. Правые бедра крыс 3-й и 4-й групп были сработаны ланолином в качестве контроля. Левые бедра лечили мазью, содержащей 10 и 20 % I. После завершения каждого этапа эксперимента во всех группах макроскопически оценивали уровень заживления раневой поверхности а также развитие регенерационных и дисрегенерационных

процессов в исследуемых отделах кожи.

Животных каждой группы в соответствующие сроки под наркозом забивали с помощью лабораторной гильотины. Оценка морфофункционального состояния кожи в данном эксперименте базировалась на результатах общеморфологического анализа эпидермиса и дермы кожи.

Гистологические исследования проводили на серийных микротомных срезах, окрашенных общепринятыми и специальными морфологическими методами. Для предварительной оценки общего морфофункционального состояния кожи полученные срезы окрашивались гематоксилином-эозином по методу Ван Гизона [7]. Кроме того с помощью окулярной измерительной сетки Автандилова была определена динамика изменений ядро-цитоплазматического коэффициента (ЯЦК). Подсчитав количество точек (1000), приходящихся на ядро, а затем на цитоплазму клеток эпидермиса и дермы кожи и взяв их соотношение, получили соответствующий индекс для каждой клетки кожи [8]. Следует упомянуть, что такая характеристика состояния эпидермоцитов и меланцитов кожи при химических ожогах в литературе не представлена. Все полученные в работе количественные данные подвергались статистической обработке по методу Фишера — Стьюдента.

Известно, что под влиянием различных вредных факторов на поверхностных частях кожи развиваются разные патологические процессы, приводящие к развитию воспалительных реакций кожного покрова [9,10].

В нашем эксперименте были созданы модели легкого химического ожога, который по своей характеристике приближается к ожогу первой степени. При этом химическому ожогу подвергались поверхностные слои эпидермального покрова и частично дермы кожи.

Гистологические исследования показали, что спустя 24 ч после ожога у животных как контрольной, так и подопытных групп в коже наблюдаются заметные расширения капилляров. В эпидермисе обожженная поверхность становится пропухшей и гиперемированной, с явно выраженными отеками. Отмечается появление серозного экссудата. Эпидермис наполнен очагами лимфогистиоцитарной инфильтрации с наличием экссудата. Кровеносные сосуды расширены и полнокровны. Воспалительные процессы в эпителиальном слое эпидермиса характеризуются появлением экссудата под струпом.

По сравнению с предыдущим сроком спустя 48 ч после ожога в раневой ткани кожи отмечается увеличение количества лимфоидных элементов. Усиливаются процессы деструктивных изменений. Часто встречаются клетки с отсутствием ядра. Кожные железы местами окружены лимфоидными элементами, которые достигают базального слоя эпидермиса. Сосуды расширены и заполнены эритроцитами (стаз). Под струпом наблюдается

кровоизлияние ткани и отечность.

Вышеуказанные нарушения заметно усиливаются спустя 96 ч с начала эксперимента. Помимо нарушений многослойного характера эпидермиса нарушаются также сосочковая и сетчатая формации дермы. Выявляются многочисленные лимфоидные элементы с наличием экссудата. Эпидермоциты и меланоциты часто подвергаются некрозу и кровоизлиянию. Прогрессируют процессы лимфогистоцитарных инфильтраций. По сравнению с предыдущим сроком дистрофические и деструктивные изменения прогрессируют, достигая максимума (рис. 2).

Следует отметить, что наряду с выявленными многочисленными нарушениями в кожной ткани крыс в этом сроке эксперимента местами наблюдаются очаги субституционных репаративных регенераций.

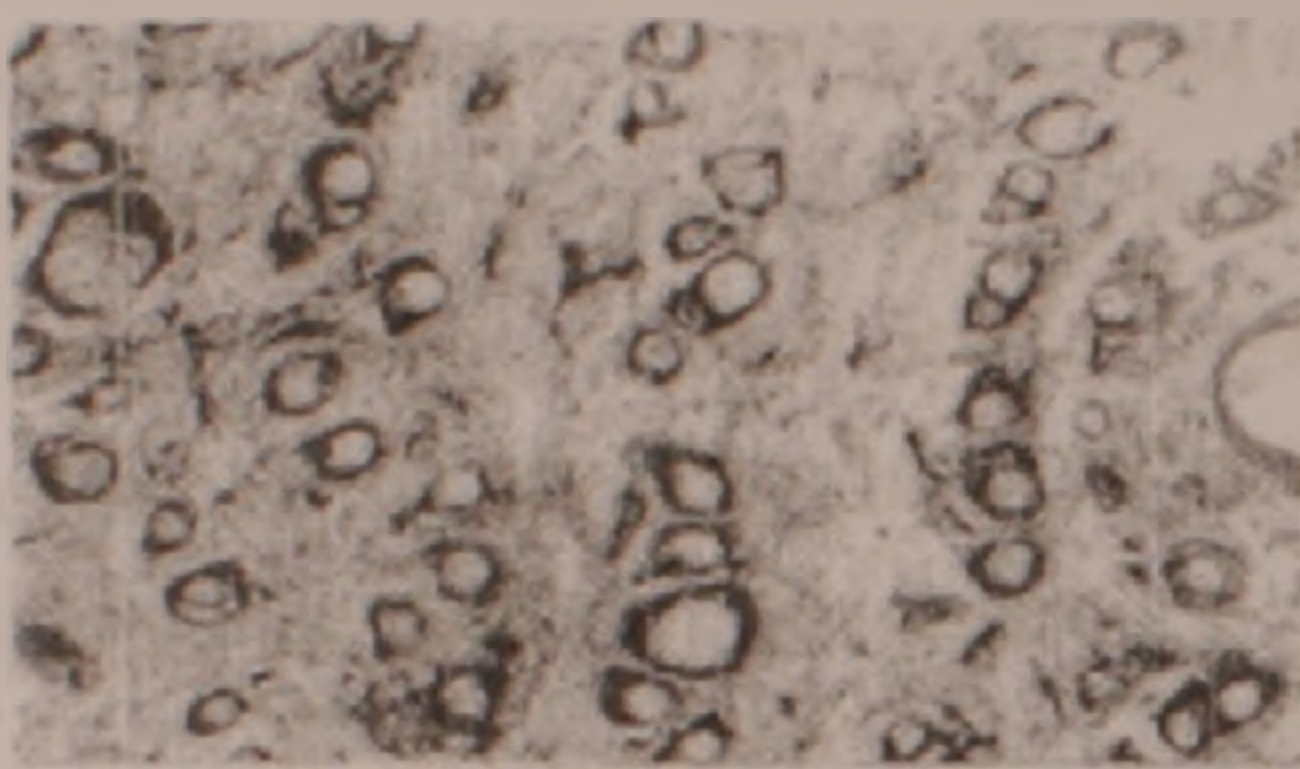
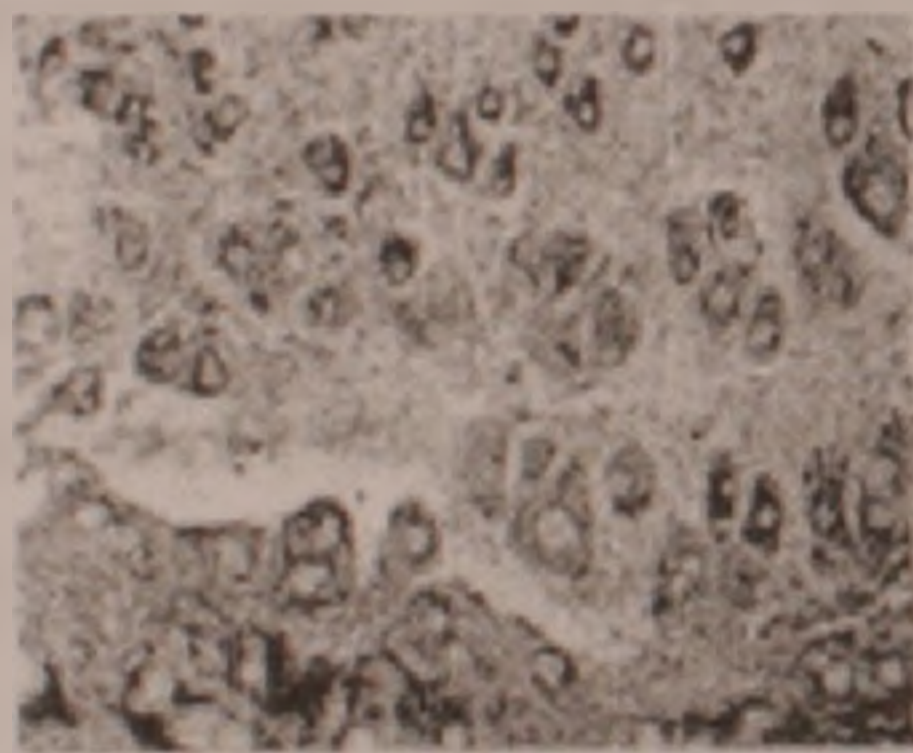


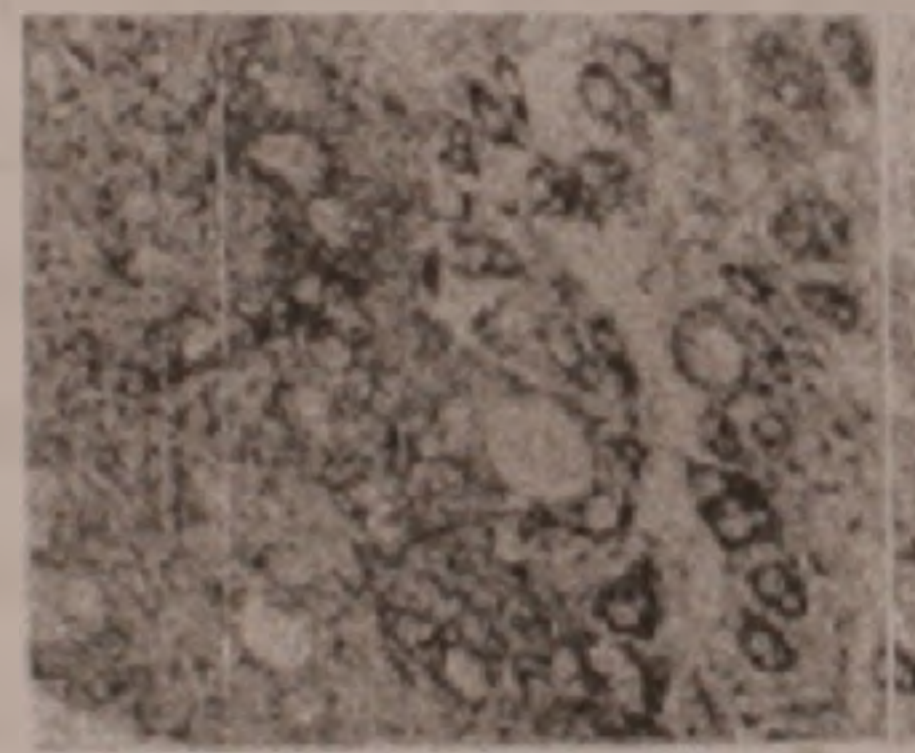
Рис. 1. Участок кожи животного интактной группы, окрашенный гем. розином.



А



Б



В

Рис. 2. Участки кожи животных контрольной группы спустя 24 (А), 48(Б), 96 (В) ч после ожога.

Списанные патологические изменения дали нам возможность апробировать I в виде 10 и 20 % мази в качестве ожого-ранозаживляющего средства, а также степень репаративной и противовоспалительной активности этого вещества. На фоне влияния мази, содержащей 10 и особенно 20 % I, вышеуказанные патологические процессы умеренно подавляются.

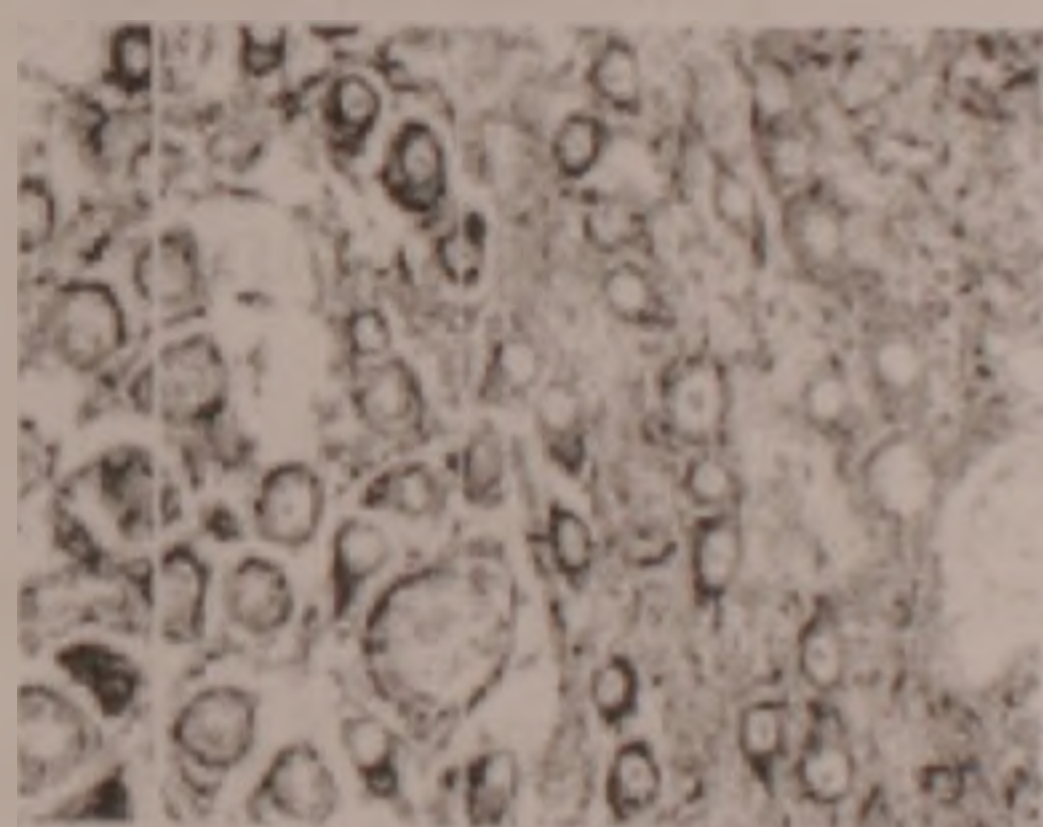
Начиная с 1-х суток лечения животных указанным средством наблюдается уменьшение кожных ожоговых реакций. В этом сроке эксперимента под влиянием 10% мази хоть и наблюдается тенденция развития субституционной регенерации, но местами также участки превращаются в воспалительные очаги экссудативного характера. Интересно отметить, что под воздействием 20% мази на 2-е сутки эксперимента намечаются восстановительные процессы

структуры сетчатых и сосочковых слоев. Умеренно уменьшаются количество и площадь деструктивных очагов (рис. 3).

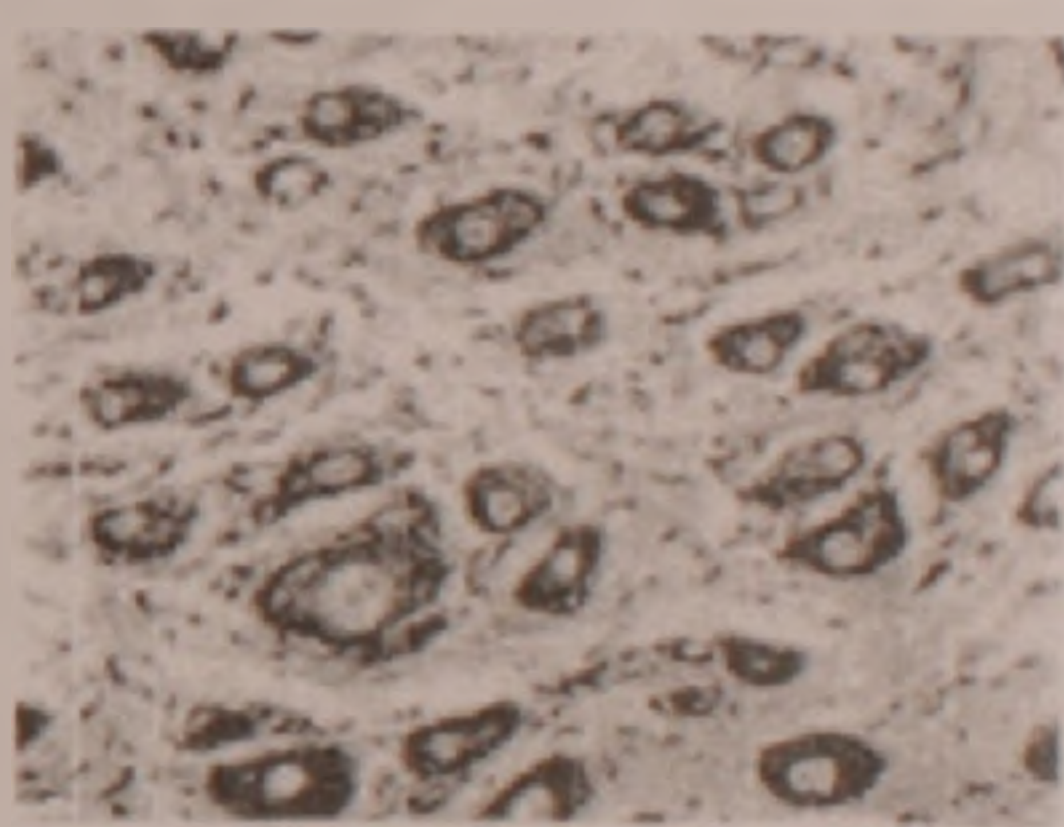
Если у контрольной группы (спустя 48 ч после ожога) почти у всех животных оставались участки незаживших ран, то у животных, которые получали предлагаемое средство, выявилась активация процессов регенерации. Заметно восстанавливаются клеточные элементы кожи, в некоторых местах хорошо защищены ядра меланоцитов. Наблюдается формирование коллагеновых волокон сетчатого слоя дермы. Визуально уменьшается площадь ожоговой поверхности. Наряду с возникновением процессов реституционных регенераций в некоторых областях кожи выявляются очаги некротического характера, а также участки кровоизлияния.



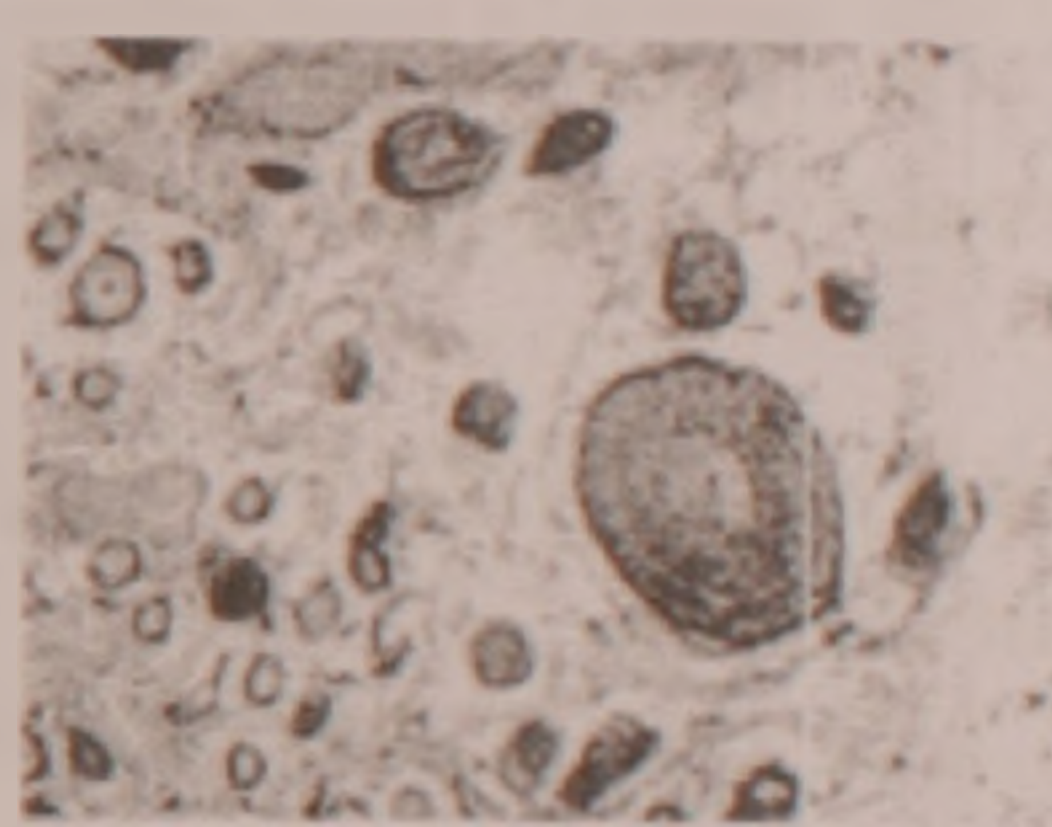
Рис. 3. Участок кожи животного экспериментальной группы при применении 10% мази I спустя 48 ч после ожога.



А



Б



В

Рис 4 Участки кожи животных экспериментальной группы при применении 20% мази I спустя 24 (А), 48 (Б), 96 (В) ч после ожога.

Иная гистологическая картина кожи выявляется на 4-й день эксперимента. По сравнению с предыдущим сроком процесс регенерации кожи под воздействием 20 % мази проходил значительно быстрее. Воспалительные процессы менее выражены, чем в контрольной ситуации. Образуется грануляционная ткань, которая постепенно заполняет раневую часть, наблюдается отторжение струпа и эпителизация раневой поверхности. Почти полностью восстанавливается количество клеточных элементов, форма и структура элидермоцитов и меланоцитов приближаются к норме. По всей поверхности кожи доминирует картина репаративной реституционной регенерации. Наряду с восстановлением сетчатого слоя инфильтративные,

деструктивные и дистрофические очаги в дерме достигают минимума (рис. 4.). На фоне влияния 20% I на эпидермисе отмечается образование демаркационного вала, с последующим формированием грануляционной ткани, восстановление кожной ткани.

Достоверность приведенных гистологических данных подтверждают полученные нами морфометрические данные при определении ЯЦК. Цитометрические исследования показывают, что ЯЦК у "нелеченых" крыс имеет тенденцию к уменьшению, а на фоне влияния 20% мази этот показатель приближается к норме (таблица). Заметно уменьшаются процессы каротикноза и кариолиза, что приводит к увеличению ЯЦК.

Ядро-цитоплазматический коэффициент дермы животных в эксперименте

Группа	24 ч	48 ч	96 ч
Интакт	27.6±0.002	27.6±0.002	27.6±0.002
Контроль	15.2 ±0.05	13.6±0.05	12.2±0.04
Основа	16.3 ±0.003	15.7±0.05	15.8 ± 0.006
10 % I	18.2 ±0.09	17.1±0.004	16.1± 0.07
20 % I	19.6 ±0.04	20.7 ±0.003	22.6 ±0.05

Целесообразность использования карио- и цитометрии диктуется тем, что эти показатели позволяют судить о метаболическом состоянии клеток, поскольку ядро является важнейшим индикатором клеточной функции [11].

Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА

М. М. Казанджян, Г. В. Гаспарян, Г. С. Мкртчян, В. О. Топузян

Исследование репаративной активности N1-фенил-2-{5-оксо-2-фенил-4-[(Z)-1-фенилметилен]-4,5-дигидро-1H-имидазолил}-ацетамида в условиях экспериментального ожога

Установлено, что в условиях экспериментального ожога N1-фенил-2-{5-оксо-2-фенил-4-[(Z)-1-фенилметилен]-4,5-дигидро-1H-имидазолил}-ацетамид в виде 20%-ной мази проявляет репаративные свойства. Длительное воздействие (до 96 ч) этим веществом приводит к интенсификации репаративных процессов. Выявлено, что указанное соединение может привести к частичному восстановлению гистоструктуры кожи.

Մ. Մ. Ղազանջյան, Ն. Վ. Գասպարյան, Գ. Ս. Մկրտչյան, Վ. Օ. Թոփուզյան
N1-Ֆենիլ-2-{5-օքսո-2-ֆենիլ-4[(Z)-1-ֆենիլմեթիլիդեն]-4,5-դիհիդրո-1H-իմիդազոլիլ}-
ացետամիդի ռեպարատիվ ակտիվության ուսումնասիրությունը էքսպերիմենտալ
այրվածքի պայմաններում

N1-Ֆենիլ-2-{5-օքսո-2-ֆենիլ-4[(Z)-1-ֆենիլմեթիլիդեն]-4,5-դիհիդրո-1H-իմիդազոլիլ}-ացե-
տամիդի ռեպարատիվ ակտիվության ուսումնասիրությունները պարզեցին, որ էքսպերիմենտալ
այրվածքների առկա-յության պայմաններում մեր կողմից ուսումնասիրված N1-Ֆենիլ-2-{5-
օքսո-2-ֆենիլ-4[(Z)-1-ֆենիլմեթիլիդեն]-4,5-դիհիդրո-1H-իմիդազոլիլ}-ացետամիդը 20% քսուքի
ձևով դրսևորում է լավ արտահայտված վիրավերականգնողական հատկություններ:

Պարզվել է, որ նշված նյութի ազդեցության պայմաններում (20% քսուք) էքսպերիմենտի
առավել երկար ժամանակահատվածում (96 ժ.) ինքնեսիվանում են ռեպարատիվ ռեգեներա-
ցիայի պրոցեսները:

M. M. Ghazanjyan, H. V Gasparyan., G. S. Mkrtchyan, V. O. Topuzyan
Investigation of Regenerative Activity of the N1-phenyl-2-{5-oxo-2-phenyl-4-[(Z)-1-
phenylmethylidene]-4,5-dihydro-1H-imidazolyl}-acetamide under Conditions of
Experimental Chemical Burns

The action of the N1-phenyl-2-{5-oxo-2-phenyl-4-[(Z)-1-phenylmethylidene]-4,5-
dihydro-1H-imidazolyl}-acetamide on the experimental burnt has been researched. This
compound in 20% ointement form shows well expressed rehabilitation qualities.

Литература

1. Гублер Е.В., Хребтобич В.И., Суббота А.Г. В сб: Термические ожоги и ожо-
говая болезнь. М. Медицина. 1973. С. 380.
2. Кочетыгов Н.И. Ожоговая болезнь. Л. Медицина. 1973.
3. Алексеев А.А., Попов С.В., Кузнецов В.Н. - Комбустиология. 2004. Т. 18.
С. 197-203.
4. Kalpana P., Kalsi R., Bhalla T. N., Barthwall J. P. - Pharmazie. 1987. N 4. P. 269-
272.
5. Топузян В.О., Казанджян М.М., Пароникян Р.В. - Хим. ж. Армении. 2008.
Т. 61. N1. С. 73-78.
6. Hosseinzadeh H., Rahmi R. - Iran. J. Med. Sci. 1999. V. 24. P. 144-147.
7. Меркулов Г. А. Курс патологической техники. Л. Медицина. 1969.
8. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию.
М. Медицина. 1973.
9. Zurier R.B. - Prost, Leuk, Essent, Fatty Acids. 1992. V. 48. P. 57-62.
10. Muthiah N.S., Vijayasekaran V. - Ind. J. Pharmac Sci. 1993. V. 55. P. 180-183.
11. Khasina E.I. Kirilenko L. A., Kirillov O. I. - Microscop. Anat. Forsch. 1986.
V. 100. N3. P. 110-118.