

Влияние мази из семян лоха узколистного на процесс регенерации ожоговой раны в эксперименте

М.Г. Баласанян *, А.Г. Жамгарян *, Г.В. Ягджян **, Д.С. Григорян ***, О.В. Шамахян ***

*Кафедра фармацевтической химии

**Кафедра пластической реконструктивной хирургии и микрохирургии ЕРГМУ им. М.Герац

*** Центр травматологии, ортопедии, ожогов и радиологии

375025, Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: лох узколистный, ожоговая травма, ранозаживляющее действие

Важным направлением в терапии ожоговых ран с целью купирования воспаления и стимулирования процесса ранозаживления, несомненно, является местное применение веществ с антиоксидантным действием [7]. Этим объясняется эффективность применения средств, содержащих флавоноиды, как соединений фенольного происхождения с выраженной антиоксидантной активностью [5, 14].

Хорошо известно, что термическая травма вызывает выброс цитокинов и простагландинов, в результате чего усиливается взаимодействие между лейкоцитами, тромбоцитами и клетками эндотелия [6]. При этом активация лейкоцитов, в первую очередь полиморфноядерных, и тромбоцитов ведет к увеличению образования активных форм кислорода и азота, что приводит к повреждению эндотелиоцитов микроциркуляторного русла и нарушению проницаемости капилляров. Проявляется дисбаланс между активностью радикало-продуцирующей и антиоксидантной систем, в результате чего накапливаются свободные радикалы, что сопровождается резкой интенсификацией процессов ПОЛ как в зоне паранекроза, так и в прилегающих тканях. Все эти нарушения являются причиной формирования зон вторичного некроза и увеличения глубины поражения тканей [5, 10, 14].

Флавоноиды с наличием в их молекулах фенольной гидроксильной группы легко окисляются при взаимодействии со свободными радикалами, проявляя высокую сквенджерную способность. Кроме того некоторые флавоноиды [15] усиливают действие эндогенных антиоксидантов, а также ингибируют активность фермента ксантинокси-

дазы, тем самым предотвращая образование супероксид радикала. Более того, флавоноиды обладают также и способностью нейтрализовать один из самых мощных повреждающих ткани агентов – пероксинитрит радикал, который образуется при взаимодействии оксида азота со свободными радикалами. Приведенные данные полностью обосновывают широкое применение при лечении ожоговых ран, наряду с синтетическими средствами, препаратов различных лекарственных растений с высоким содержанием флавоноидов.

В проведенных нами ранее исследованиях [1, 2, 12] было показано, что семена лоха узколистного (*Elaeagnus angustifolia* L.), обладая высоким содержанием флавоноидов, проявляют довольно выраженную противовоспалительную и обезболивающую активность. Эти данные явились основой для исследования эффективности мази на основе экстракта из семян лоха узколистного как средства, стимулирующего процессы регенерации при ожоговых травмах.

Материал и методы

Сбор плодов *Elaeagnus angustifolia* L. был проведен в Аптаракском марзе в период октября-ноябрь 2004 г. Идентификация сырья лоха узколистного проводилась согласно макро- и микроскопическому анализу.

Получение мази. 5г сухого экстракта, полученного по ранее описанному методу [3], растирали с небольшим количеством воды (несколько капель) до получения густой массы. При постоянном перемешивании частями добавляли 45 г эмуль-

сионной мазевой основы типа SS-4 до получения однородной массы. Полученную мазь хранили при 4-5°C.

Исследования ранозаживляющей активности проводились на 28 белых беспородных крысах-самцах массой 180-200г, разделенных на 2 группы по 14 крыс в каждой. У первой группы крыс отмечали сроки отторжения струпа и заживления ран, а у второй – на 4, 7, 10 и 14-е сутки определяли pH раневой поверхности и проводили бактериологическое исследование раневого отделяемого.

С целью моделирования термического ожога к депилированной коже крыс под эфирным наркозом прикладывали нагретую прямоугольную пластину, в результате чего животные получали контактный ожог II-III степени. Полученная ожоговая площадь не превышала 16% поверхности тела крысы. У первой группы крыс использовалась пластина размером 2х4см, которая прикладывалась к боковой поверхности туловища крысы сначала справа (контрольный участок), а после повторного нагрева – слева (участок наблюдения). У второй группы животных пластина размером 3х4см, разогретая до 200°C, прикладывалась к депилированной коже в центре спинной части туловища. Начиная со вторых суток после получения ожога, дважды в день проводилась аппликация мази на ожоговый струп участка наблюдения, а на контрольный участок наносилась мазевая основа SS-4 эмульсионного типа (Al-Fayasel Laboratories, Amman-Jordan).

Определение ранозаживляющей активности мази проводилось оценкой изменений площади раневой поверхности контрольного и участка наблюдения с применением метода планиметрии по модифицированной технике Gattos et al. [11, 13] с помощью компьютерной графической программы Adobe® Photoshop CS [9].

Для проведения бактериологического исследования раневого отделяемого стерильным ватным тампоном брали мазок с поверхности раны, после чего тампон помещали в стерильную маркированную пробирку и отправляли в бактериологическую лабораторию. Для выявления микроорганизмов кишечной группы проводились посевы на питательную среду «агар-Эндо», золотистого стафилококка – на желточно-солевой агар, а грибов – на среду «Самуро».

На 4, 7, 10 и 14-е сутки эксперимента определялся pH раневой (ожоговой) поверхности с помощью pH-метра мультитест ИПЛ-112 (Семико).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью электронной таблицы Microsoft Excel 2000 [4]. Достоверность отличия опытных данных от контрольных значений рассчитывалась с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Анализ данных, полученных при оценке площади поверхности ожоговой раны, позволил выявить (рис.1) ранозаживляющую способность мази из

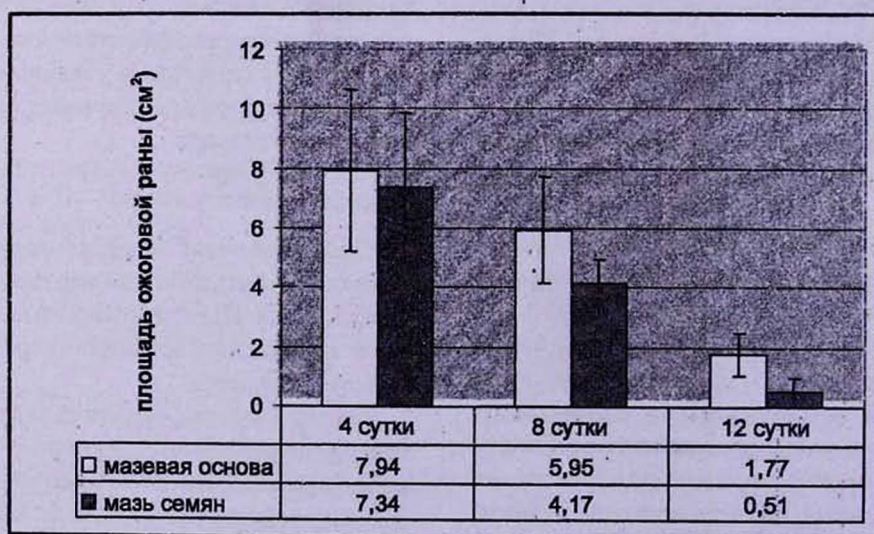


Рис. 1. Площадь поверхности ожоговой раны при применении мази экстракта семян лоха узколистного

экстракта семян лоха узколистного. Так, у всех животных участки ожоговой раны, подвергнутые действию мази, заживали раньше контрольных участков. При этом на 4-е сутки изменения площади ожоговой раны по сравнению с контрольным участком не отмечалось. Однако уже на 8-е и 12-е сутки наблюдалось статистически достоверное уменьшение поверхности ожоговой раны по сравнению с контролем на 29,8% ($p < 0,05$) и 71,2% ($p < 0,01$) соответственно.

С целью выявления процессов, лежащих в основе ранозаживляющей способности мази семян лоха узколистного, нами была проведена серия экспериментов по исследованию антибактериальной активности, а также определению изменений pH поверхности раны в условиях термического ожога.

Таблица

Влияние мази экстракта семян лоха узколистного на микрофлору раневого отделяемого в различные сроки исследования (+ - скудный, ++ - умеренный, +++ - обильный рост)

Микробная флора	4-е сутки		7-е сутки		10-е сутки		14-е сутки	
	контр.	преп.	контр.	преп.	контр.	преп.	контр.	преп.
<i>Proteus vulgaris</i>	-	+	+	-	+	+	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	+	+	+	++	++	++
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	++	+++	+	+	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	++	++	++	+	+	+	+
<i>Klebsiella</i>	+	-	-	+	+	-	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	++	-	+	+	+

Результаты микробиологического исследования раневого отделяемого показали, что на контрольном участке высевалась различная микробная флора (таблица). Наиболее часто, особенно на 7, 10 и 14-е сутки, определялся *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. В единичных наблюдениях высевались *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, у двух крыс была выявлена даже грибковая флора.

В группе животных, которым проводилась аппликация мази, не удалось обнаружить заметного снижения количества колоний в раневом отделяемом. При сопоставлении полученных нами результатов с литературными данными оказалось, что поиск антимикробной и антифунгальной активности у семян лоха узколистного не был увенчан успехом и в исследованиях других авторов [16].

Совершенно иные результаты были получены при определении pH раневой поверхности в различные сроки экспериментального ожога. Как свидетельствуют полученные данные (рис.2), применение мази экстракта семян лоха узколистного на 4-е и 7-е сутки не приводит к заметному изменению pH, однако уже на 10-е и 14-е сутки отмечается статистически достоверное ($p < 0,05$) снижение pH раневой поверхности по сравнению с контролем на 0,15 и 0,2 единицы соответственно.

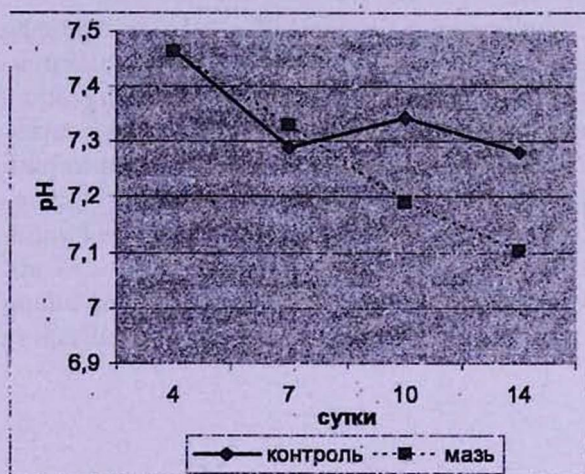


Рис. 2. Изменение pH раневой поверхности в различные сроки экспериментального ожога у крыс

Объяснить отмеченное отклонение pH тем, что, как уже отмечалось ранее, экстракт семян лоха узколистного сам по себе имеет кислую реакцию среды ($pH=5$), в связи с содержанием в нем свободных органических кислот, было бы не правомочно, поскольку снижение pH раневой поверхности в условиях применения мази не наблюдается ни на 4-е, ни на 7-е сутки эксперимента.

Таким образом, полученные в результате

эксперимента данные свидетельствуют о наличии у мази из экстракта семян лоха узколистного ранозаживляющей активности. Указанная активность, по-видимому, обусловлена наличием в мази флавоноидных фракций, которые, как было представлено ранее, обладают выраженной антиоксидантной активностью и тем самым снижают риск окислительных повреждений клеток и тканей, способствуя более быстрому заживлению термических ран. При этом в описанном эффекте немаловажным яви-

лась способность мази снижать pH раневой поверхности, поскольку, согласно литературным данным [8], снижение pH положительно сказывается на течении раневого процесса, способствуя регенерации тканей после ожоговых травм.

Полученные данные позволяют предложить применение мази на основе сухого экстракта семян лоха узколистного в составе различных комплексных препаратов при лечении ожоговых травм.

Поступила 21.02.07

Փշատ նեղատերևի սերմերից ստացված քսուրի ազդեցությունը այրվածքային վերքերի ռեգեներացիոն պրոցեսի վրա փորձարարական պայմաններում

Մ.Գ. Բալասանյան, Ա.Գ. Ժամհարյան, Գ.Վ. Յաղճյան, Դ.Ս. Գրիգորյան, Հ.Վ. Շամախյան

Հետազոտվել է փշատ նեղատերևի սերմերից ստացված քսուրի վերք լավացնող ազդեցությունը բերմիկ այրվածքների վրա փորձարարական պայմաններում: Պարզվել է, որ քսուրը արագացնում է այրվածքների ռեգեներացիան, ինչն արտահայտվում է վերքի մակերեսի փոքրացմամբ հետազոտման 8 և 12-րդ օրը համապատասխանաբար 29,8 ($p < 0,05$) և 71,2%-ով ($p < 0,01$) ստուգիչ խմբի համեմատ: Նշված ազդեցությունը պայմանավորված է հավանաբար

բույսում ֆլավոնոիդների բարձր տոկոսային պարունակությամբ, որոնք հանդիսանում են հզոր հակաօքսիդանտային միջոց: Ստացված ազդեցության մեխանիզմների բացահայտման ընթացքում պարզվել է, որ սերմերից ստացված քսուրը չի ցուցաբերում հակամանրէային ակտիվություն, սակայն փոքրացնում է այրվածքային մակերեսի pH-ը, ստեղծելով բարենպաստ պայմաններ վերքի լավացման համար:

Influence of ointment from *Elaeagnus angustifolia* seeds on the process of regeneration in burn injury in experiment

M.G. Balasanyan, A.G. Zhamharyan, G.V. Yaghdjyan, D.S. Grigoryan, H.V. Shamakhyan

The regeneration ability of the ointment from Armenian flora silver berry (*Elaeagnus angustifolia*) seeds in conditions of thermal burn has been studied. The carried out experiments evident that the area of surface was decreased on the 8th and 12th days after inducing thermal burn by 29,8 % ($p < 0,05$) and 71,2%

($p < 0,01$) consequently compared with control group. It has been found out that the ointment reduces pH of burn surface without causing any changes in bacterial flora. It is concluded that the regeneration activity of plant may be mediated by flavonoids.

Литература

1. Баласанян М.Г., Вардазарян Н.Д., Жамгарян А.Г., Хуришудян К.Л. Противовоспалительная активность экстракта семян лоха узколистного. Мед. наука Армении НАН РА, 2006, 4, с. 33-39.
2. Жамгарян А.Г. Исследование влияния различных факторов на экстракцию дубильных веществ и флавоноидов из разных частей плодов лоха узколистного. Лекарства и медицина, 2005, 1, с. 63-66.
3. Жамгарян А.Г., Баласанян М.Г. Исследование антиноцицептивной активности экстрактов из различных частей плодов лоха узколистного. Мед. наука Армении НАН РА, 2005, 2, с. 22-25.
4. Ланац С.Н., Чубенко А.В., Бабыч П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев, 2000, с. 320.
5. Лезега В.И., Галенко-Ярошевский В.П., Зиновьев Е.В. и др. Влияние новых раневых покрытий на заживление термических ожогов кожи при острой лучевой болезни. Бюл. эксперим. биологии и медицины, 2004, т. 138 (9), с. 351-355.
6. Михальчик Е.В., Иванова А.В., Ануров М.В., Титкова С.М., Пеньков Л.Ю., Коркина Л.Г. Профилактическое и лечебное действие комплексного антиоксидантного препарата при ожоговой травме у крыс. Бюл. эксперим. биологии и медицины, 2004, т. 138 (9), с. 299-301.
7. Перетягин С.П., Дмитриев Д.Г., Выхов С.А., Стручков А.А. Открытое наблюдательное многоцентровое исследование эффективности и безопасности раневого покрытия "Воскопран" (салфетки). Русский медицинский журнал, 2003, т. 11, 21, с. 28-31.
8. Фесенко В.П., Кривошеин Ю.С., Могилыцкий А.А. Экспериментальное обоснование применения мирамистина для лечения гнойных ран в условиях нарушенного периферического кровообращения. Ж. Вестник научных исследований, 1995, 6, с. 15-19.
9. Adobe Systems Inc. San Jose, CA, USA. 2003.
10. Dincer Avlan, Hakan Taskinar, Lihfer Tamer, Handan Camdaviren, Hakan Ozturhan, Candan Ozturk, Selim Aksoyek. Protective effect of trapidil against oxidative organ damage in burn injury, Burns, 2005, 31, p. 859-865.
11. Garros I.D., Campos A.C., Tambara E.M. Extract from Passiflora edulis on the healing of open wounds in rats: morphometric and histological study, Acta Chir. Bras., 2006, 21, p. 55-65.
12. Hosseiny J., Semnanian S., Javan M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Elaeagnus angustifolia fruit extract, J. of Ethnopharmacology, 2000, 72, p. 287-292.
13. Hsu O.K., Gabr E., Steward E. et al. Pharmacologic enhancement of rat skin flap survival with topical oleic acid, Plast. Reconstr. Surg., 2004; 113(7):2048-54.
14. Jureta W. Horton Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy, Toxicology, 2003, 189, p. 75-88.
15. Robert J. Nijveldt, Els van Nood, Danny E.C. van Hoorn, Petra G. Boelens, Klaske van Norren, Paul A.M. van Leeuwen. Am. J. of Clin. Nutrition, 2001., 74, 4, p. 418-425.
16. Shahidi Bonjar G.H., Aghighi S., Karimi Nik A. Antibacterial and antifungal survey in plants used in indigenous herbal-Medicine of south east regions of Iran, J. of Biol. Sci., 2004, 43, p. 405-412.