

ОСОБЕННОСТИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ КОЖИ В УСЛОВИЯХ ТЕРМИЧЕСКОГО ОЖОГА ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ЦЕОЛИТОВ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ

© 2009 К.С. Голохваст^{1,5}, И.В. Рева², А.М. Паничев³, А.Н. Гульков^{1,7},
П.А. Никифоров⁴, А.А. Анисимова⁵, И.Э. Памирский⁶

¹ Институт нефти и газа Дальневосточного государственного
технического университета

² Медицинская школа, Университет Ниигаты, Япония

³ Тихоокеанский институт географии ДВО РАН

⁴ Институт механики, автоматизации и передовых технологий
Дальневосточного государственного технического университета

⁵ Дальневосточный государственный университет

⁶ Амурская государственная медицинская академия

⁷ ЗАО ДВНИПИ-нефтегаз

Поступила в редакцию 9.11. 2009

В последнее время, очень перспективным направлением в разработке новых перевязочных средств при ожогах, является создание биологически активных раневых покрытий, к которым можно отнести и сорбенты, созданные на основе цеолитов. Особенностью действия цеолитов при ожогах наряду со способностью сорбировать токсические вещества, является участие в регулировании электролитного гомеостаза, а также антиоксидантные свойства. В статье приводятся результаты исследования гистологического строения кожи у больных с ожогами II и III степени после применения наночастиц цеолитов некоторых месторождений Дальнего Востока.

Ключевые слова: *наночастицы, цеолит, кожа, ожог, антиоксиданты, нанотоксикология*

Ожоги были, есть и остаются одним из самых распространенных видов травматизма. При ожогах в первую очередь страдает кожа, поскольку именно она играет важную роль в защите организма от экстремальных факторов внешней среды. В литературе существует много данных о том, что даже при ожогах I степени возникают не только физиологические нарушения в коже, но и выраженные морфологические изменения [11]. Среди веществ, которые в последнее время интенсивно

исследуются медициной, есть интересная группа – цеолиты [5-7, 9, 12]. В литературе уже имеются данные об использовании цеолитов в качестве средства при перегревании и для лечения ожогов [1-4].

Целью нашего исследования было определить гистологическое состояние кожи после ожога II и III степени и при коррекции этого состояния с помощью наночастиц цеолитов Вангинского, Куликовского и Лютогского месторождения Дальнего Востока.

Материалы и методы. Опытные воздействия проводились на людях-добровольцах с ожогами II и III степени из Приморского ожогового центра (г. Владивосток). Все пациенты были полностью информированы о сути проводимых мероприятий, от них было получено письменное согласие на применение аппликаций цеолитов и взятие биоптатов. Все манипуляции на людях проводились в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Для проведения экспериментальных воздействий все добровольцы возрастом от 25 до 40 лет были

Голохваст Кирилл Сергеевич, кандидат биологических наук, заместитель директора. E-mail: drooru@mail.ru

Рева Иван Владимирович, кандидат медицинских наук, старший исследователь

Паничев Александр Михайлович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии и охраны животных.

Гульков Александр Нефедович, доктор технических наук, профессор, директор

Никифоров Павел Александрович, кандидат технических наук, старший преподаватель кафедры технологии металлов и металловедения.

Анисимова Анна Алимовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры клеточной биологии

Памирский Игорь Эдуардович, ассистент кафедры биологической химии с курсом биоорганической химии

разделены на 4 группы по 7 человек. «Контроль» – пациенты, получающие аппликации мазью «Левомеколь»; «В» – добровольцы, получавшие на раневую ожоговую поверхность аппликации из измельченных цеолитов Вангинского месторождения (Амурская область); «К» – добровольцы, получавшие на раневую ожоговую поверхность аппликации из измельченных цеолитов Куликовского месторождения (Амурская область); «Л» – добровольцы, получавшие на раневую ожоговую поверхность аппликации из измельченных цеолитов Лютогского месторождения (Сахалин). Для решения поставленной задачи цеолит подвергался дроблению (дробилка ВКМД6) и последующему ультразвуковому измельчению (гомогенизатор Bandelin Sonopulse 3400). В итоге размер частиц цеолита достигал размеров около 500 нм. Концентрация цеолита в туфах всех трех месторождений составляла около 60-70%. Аппликации из цеолитов (массой до 1 г) раневой поверхности проводились на протяжении одной недели один раз в день. После опытных мероприятий у пациентов бралась биопсия кожи. Для гистологического исследования материал фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина, заливка осуществлялась в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином Бемера и эозином, ШИК-реакция по Мак-Манусу, орсеином по Унны-Тенцера; полутонкие срезы окрашены

метиленовым синим и осмий-цинк йодидом по Акерт-Сандри. Для морфометрии мы использовали микроскоп Zeiss Axio Image A1 и программу "ВидеоТест-Морфология - 5.1". Изучались периметр, площадь, длина, ширина клетки и ядра. Статистическую обработку полученных значений производили с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. В контрольной группе в биопсийном материале мы наблюдали гиперемию сосудов, усиление экссудации, и в результате этого, отек дермы, что является проявлением первой фазы заживления. В грануляционной ткани выявлялось большое число нейтрофилов, по сравнению с нормой [8, 11]. В группе «В» мы наблюдали эффективное развитие грануляционной ткани. Фибробласты образовывали пласты и имели крупные размеры. Морфометрические показатели тканевых базофилов в группе «В» достоверно выше по сравнению с контрольной группой, получавшие стандартное лечение: периметр клеток повышается на 18,2%, площадь на 44% и длина на 25% (таб. 1). Также в группе В по сравнению с контрольной, достоверно повышались морфометрические показатели ядра и клетки кератиноцитов (площадь на 15%, длина на 16%), клеток Меркеля (площадь на 14%, площадь ядра на 13%) и Лангерганса (площадь на 21%, длина на 19%).

Таблица 1. Морфометрические данные тканевых базофилов кожи при ожоге и на фоне аппликации цеолитом

Показатели	Группы			
	Контроль	В	К	Л
периметр, мкм	33,32±1,42*	39,38±1,89*	33,95±1,29**	37,88±1,82**
площадь, мкм ²	56,24±2,02**	80,98±4,12*	57,22±1,96*	78,81±4,03*
длина, мкм	14,11±0,53**	17,63±0,95*	14,98±0,55**	16,55±0,79**
ширина, мкм	5,76±0,34*	5,68±0,32	5,85±0,33*	5,71±0,28*

* - достоверность $p > 0,05$; ** - достоверность $p > 0,001$.

Также у материале группы «В» по сравнению с контрольной группой, происходило уменьшение высоты сосочков кожи, разрыхленности базальной мембраны, процента вакуолизации клеток и очаговых скоплений утолщенных коллагеновых и эластических волокон. Эти данные в целом совпадают с данными литературы [1, 2]. В группах «К» и «Л» в коже наблюдались повышение большинства показателей по сравнению с результатами

контрольной группы, получавших «Левомеколь». Процент вакуолизации в коже достоверно уменьшался по сравнению с контролем (на 10% и 22% в базальном, на 16% и 26% в шиповатом и в 1,6 и 3 раза в зернистом слое для группы «К» и «Л» соответственно). Морфометрические показатели клеток Лангерганса, Меркеля, кератиноцитов и тканевых базофилов в группе «Л» достоверно соответствовали показателям в группе «В» (таб. 2), а в

группе «К» отмечено лишь незначительное статистически незначимое повышение (до 10%) этих показателей по сравнению с материалом контрольной группы. Количество

эластических и коллагеновых волокон в группах «В», «К» и «Л» по сравнению с группой «Контроль» заметно уменьшалось, они становились тонкими и более упорядоченными.

Таблица 2. Некоторые морфометрические данные клеток Лангерганса и Меркеля кожи при ожоге на фоне аппликации цеолитов

Показатели	Ядро				Клетка			
	Контроль	В	К	Л	Контроль	В	К	Л
Клетка Лангерганса								
периметр, мкм	40,22±1,51*	42,66±1,53**	40,05±2,16*	42,71±1,39	53,73±1,32	59,95±1,85*	59,21±1,52*	58,34±2,13
площадь, мкм ²	47,42±3,57*	48,37±2,86**	48,18±2,58*	50,76±2,78*	130,14±5,54**	157,47±3,48**	137,99±4,25**	152,21±4,63**
длина, мкм	11,42±1,42	13,51±0,73*	11,75±0,67*	13,44±0,58*	15,92±0,62**	18,95±1,61*	17,37±0,47*	18,87±1,57**
ширина, мкм	5,81±0,45*	5,92±0,37*	6,02±0,34**	5,96±0,39**	14,89±1,53*	16,58±0,73*	15,35±0,69*	16,32±1,24
Клетка Меркеля								
периметр, мкм	45,57±2,22*	46,12±2,01*	46,35±3,65*	46,23±2,12*	60,23±1,33*	69,68±1,48*	59,77±1,24*	68,43±1,54**
площадь, мкм ²	89,73±2,44*	99,29±4,14**	95,11±3,12*	98,93±4,07*	174,82±6,77*	199,31±4,65**	169,72±4,83**	193,23±4,61**
длина, мкм	16,32±0,41*	19,43±0,55*	17,22±0,44*	19,32±0,57*	18,62±0,73	18,93±1,33*	17,72±1,06	18,87±1,23*
ширина, мкм	8,61±0,51*	9,02±0,71*	8,91±0,54	8,95±0,72	17,78±0,43*	18,61±0,22*	16,77±1,36*	18,43±0,42**

* - достоверность $p > 0,05$; ** - достоверность $p > 0,001$.

Выводы: наночастицы цеолитов Вангинского, Куликовского и Лютогского месторождений Дальнего Востока уменьшают последствия ожоговой травмы в коже. Наименьшим положительным действием обладает цеолит Куликовского месторождения, что может быть обусловлено «игольчатым» строением кристаллической решетки. В целом состояние ожоговой раны после аппликации цеолитов свидетельствовало о большей зрелости грануляционной ткани и большей функциональной состоятельности фибробластов, чем у пациентов, получавших аппликации мази «Левомеколь». Механизм действия цеолитов, по данным литературы [8, 9], заключается в адсорбции раневых токсинов, выделении в рану микроэлементов и в нормализации гомеостаза в очаге поражения за счет каталитических свойств кристаллической решетки. Вопрос использования цеолитов в ожоговой хирургии требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа У.М.Н.И.К.) и гранта РФФИ 09-04-90781-моб_ст.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Бгатова, Н.П. Структура эндотелиоцитов лимфатических капилляров кожи в условиях коррекции раневого процесса при термическом ожоге / Н.П. Бгатова, А.М. Паничев, В.П. Кокишарова и др. // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – Т. 115, №1. – С. 37-42.
2. Бородин, Ю.Н. Влияние природных цеолитов на лимфатический дренаж кожи и структуру печени в условиях термического ожога / Ю.И. Бородин, Н.П. Бгатова, А.М. Паничев и др. // Бюлл. НЦССХ им. А.Н. Бакулева. – 2003. – Т. 4, №5. – С. 76.
3. Воробьева, Н.Ф. Реакция крови и подкожной рыхлой соединительной ткани белых крыс при общем перегревании организма и при перегревании на фоне введения природных цеолитов // Бюллетень СО РАМН. – 2007. – Т. 123, №1. – С. 76-79.
4. Воробьева, Н.Ф. Особенности гистиоцитарной реакции после предварительного приема с пищей цеолитов в процессе онтогенеза при перегревании и сухоядении // Патол. физиология и экспер. терапия. – 2008. – №1. – С. 23-25.
5. Гамидов, М.Г. Природные минеральные ресурсы и биологические основы их применения в сельском хозяйстве // Вестник ДальГАУ. – 2007. – №2. – С. 55-60.

6. Герасев, А.Д. Влияние цеолитов на минеральный обмен организма / А.Д. Герасев, С.Н. Луканина, Г.А. Святаш и др. // Бюллетень СО РАМН. – 2004. – Т. 114, №4. – С. 91-95.
7. Голохваст, К.С. Использование цеолитов в медицине и ветеринарии / К.С. Голохваст, А.М. Паничев, А.Н. Гульков // Вестник ДВО РАН. – 2008. – №3. – С. 71-75.
8. Кушеев, Ч.Б. Влияние природного цеолита на течение патологических процессов в органах пищеварительной системы и коже: Эксперим. исслед.: Автореф. дис. д-ра вет. наук. – Улан-Удэ, 2002. – 39 с.
9. Паничев, А.М. Применение цеолитов в медицине / А.М. Паничев, Ю.В. Кулаков, А.Н. Гульков // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2003. – №4. – С. 21-24.
10. Цеолиты в хирургии / А.М. Паничев, Н.И. Богомолов, Н.П. Бгатова и др. – Владивосток: Изд-во ДВГТУ, 2004. – 117 с.
11. Усов, В.В. Современные аспекты активного хирургического лечения больных с термическими ожогами / В.В. Усов, И.В. Рева, Т.Н. Обыденникова. – Владивосток: Медицина-ДВ, 2005. – 141 с.
12. Kralj, M. Medicine on a small scale / M. Kralj, K. Pavelic // EMBO reports. – 2003. – Vol. 4, № 11. – P. 1008-1012.

HISTOLOGICAL FEATURES OF SKIN STATUS IN THE CONDITIONS OF THERMAL BURN AFTER APPLICATION THE ZEOLITE NANOPARTICLES FROM FAR EAST DEPOSITES

© 2009 K.S. Golohvast^{1,5}, I.V. Reva², A.M. Panichev³, A.N. Gulkov^{1,7}, P.A. Nikiforov⁴,
A.A. Anisimova⁵, I.E. Pamirskiy⁶

¹ Institute of Oil and Gas Far East State Technical university

² Medical School, University of Niigata, Japan

³ Pacific Institute of Geography FEB RAS

⁴ Institute of Mechanics, Automatics and Advanced Technologies of
Far East State Technical University

⁵ Far East State University

⁶ Amur State Medical Academy

⁷ JSC DVNIPI-neftegas

Recently, very perspective direction in development of new dressing means at burns, is creation biologically active wound coverings to which it is possible to carry the sorbents created on the basis of zeolites. Feature of zeolites action at burns along with ability of sorption toxic substances, is participation in regulation of electrolytic homeostasis, and also antioxidant properties. In article results of research the histologic structure of a skin at patients with burns II and IIIa degrees after zeolites nanoparticles application of some deposits from Far East are resulted.

Key words: *nanoparticles, zeolite, skin, burn, antioxidants, nanotoxicology*

Kirill Golokhvast, Candidate of Biology, Deputy Director.

E-mail: droopy@mail.ru

Ivan Reva, Candidate of Medicine, Senior Researcher

Alexander Panichev, Doctor of Biology, Leading Research

Fellow at the Laboratory of Ecology and Animal Protection

Alexander Guikov, Doctor of Technical Sciences, Professor,

Director

Pavel Nikiforov, Candidate of Technical Sciences, Senior

Lecturer at the Department of Metals Technology and Metallurgy

Anna Anisimova, Candidate of Biology, Associate Professor

at the Department of Cell Biology

Igor Pamirskiy, Assistant at the Department of Biological

Chemistry with Course of Bioorganic Chemistry