



УДК 615.262

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОЖИ МОРСКИХ СВИНОК ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ С ГИПОКСЕНОМ

С.О. ЛОСЕНКОВА¹**С.М. БАЖЕНОВ**¹**Г.Н. ФЁДОРОВ**¹**Э.Ф. СТЕПАНОВА**²¹⁾ *Смоленская государственная медицинская академия*²⁾ *Пятигорский фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России**e-mail: losenkova-so@mail.ru*

С целью изучения изменений структурных компонентов кожи морских свинок, на фоне применения трансдермальной терапевтической системы с натрия поли(дигидроксифенилен)-тиосульфатом (гипоксеном) в течение 7 дней, проведено исследование гистологических препаратов кожи. После применения сконструированного трансдермальной терапевтической системы отмечены основные типы индивидуальной реакции животных: утолщение эпидермиса и гипертрофия сальных желёз.

Ключевые слова: морфологически структуры кожи, трансдермальная терапевтическая система, натрия поли(дигидроксифенилен)тиосульфат, морские свинки.

Актуальность проблемы. Кожа (cutis) является полифункциональным мембранным образованием, состоящим из двух частей: эпителиальной и соединительной тканей. Эпителий (надкожица, эпидермис) представлен многослойными плоскими ороговевающими клетками. Толщина слоя колеблется в пределах от 0,03 до 1,5 мм и более. Различают 5 основных слоёв эпидермиса: базальный, шиповатый, зернистый, блестящий, роговой. Дерма (соединительно-тканная часть кожи) или собственно кожа делится на 2 слоя: сосочковый и сетчатый, которые составляют основную часть дермы (толщина обоих слоёв варьирует от 0,49 до 4,75 мм). Гиподерма (подкожная жировая клетчатка) содержит в себе кровеносные сосуды, нервные стволы, нервные окончания, потовые железы, волосяные фолликулы [3]. Литературные данные свидетельствуют о том, что разнообразные лекарственные вещества (ЛВ) при трансдермальном применении могут воздействовать на морфофункциональные свойства кожи [1, 4, 5]. Они проникают в организм через кератиновый слой кожи (поверхность) путём абсорбции, частично через волосяные фолликулы и сальные железы, растворяясь в воде и жирах, подвергаясь сложным физико-химическим изменениям. Неповреждённый кератиновый слой выступает в роли депо, из которого ЛП проникают глубже в кожу, проходя через роговой слой, эпидермис, они доходят до дермы, где васкулярная сеть переносит их к органам, вызывая системный эффект [3].

Одним из требований к трансдермальным ЛФ является отсутствие раздражающего действия на кожу. Кожа морских свинок очень близка по строению к коже человека, и поэтому на этих животных можно моделировать различные дерматологические заболевания [2]. Целью исследования явилось изучение макроскопических и гистологических изменений кожи морских свинок, её структурных компонентов на фоне 7-дневного применения сконструированной трансдермальной терапевтической системы (ТТС) с натрия поли(дигидроксифенилен) тиосульфатом (гипоксеном).

Материалы и методы. В ходе исследования морфологические изменения кожи были изучены на 12 морских свинках-самках массой 250,0–400,0 грамм, которые были разделены на 2 группы: 1 группа – контрольная, в которой животных триминговали, но ТТС не накладывали; 2 группа – опытная, в которой накладывали сконструированную ТТС с натрия поли(дигидроксифенилен)-тиосульфатом площадью 2см² с содержанием в нём 4 мг ЛВ на 7 дней.

Поверхность спины свинки разделяли на 4 квадрата: верхние левый (ВЛ) и правый (ВП), нижние левый (НЛ) и правый (НП). Каждая зона кожи была очищена от шерсти путём тримингования с последующей обработкой 20% этанолом, далее на высушенную поверхность НП зоны опытной группы накладывали ТТС с лекарственным веществом (ЛВ) площадью 2см², на НЛ зону пластырь, но без ЛВ (зона сравнения). Дополнительно сверху ТТС фиксировали полосками гипоаллергенного перфорированного пластыря. ВЛ и ВП зоны служили контрольными для НЛ и НП зон. Через 7 дней (период наблюдения) ТТС удаляли, животным внутривенно вводили раствор хлоралгидрата в дозе 350мг/кг и забирали четыре кусочка кожи. Операционный материал фиксировали в 10% растворе формалина, нейтрализованном по фенолфталеину. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по ван-Гизон. На



раны накладывали швы, используя шёлковые нитки, края раны обрабатывали 5% спиртовым раствором йода.

Проводили количественную оценку трёх основных частей дермы: эпидермиса и его производных; придатков дермы (волосяных фолликул (ВФ) и сальных желез (СЖ)); клеток стромы кожи. Исследовали глубину и длину среза в мкм. В баллах оценивали: выраженность гиперкератоза, папилломатоза, толщина эпидермиса, кустистость расположения ВФ, количество митозов в волосяных луковицах (ВЛ), количество порочных ВФ, количество фибробластов (ФБ), выраженность диффузной лейкоцитарной инфильтрации (ДЛИ) стромы, наличие очаговых васкулитов и объём прилежащей скелетной мышечной ткани, количество миоцитов в сопочковом слое дермы. Учитывали общую характеристику эпидермиса, состояние его слоёв, число рядов эпидермоцитов. Морфометрическими методами определяли параметры сальных желез, максимальный и минимальный диаметр ВФ, состояние сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) в субэпидермальном слое дермы, расположение и абсолютное количество волосяных фолликулов (ВФ) в одном срезе, количество волосяных луковиц, корней волоса (КВ) в ВФ, волосяных сумок вокруг волосяных луковиц.

Проводили системную полуколичественную (по трёх-балльной шкале) и количественную (подсчёт и измерение) оценку некоторых гистологических параметров строения кожи. Исследовали 21 первичный абсолютный и 6 расчётных относительных показателя. Результаты запроотоколировали в специально разработанных бланках морфометрического исследования кожи. Полученные результаты обрабатывали с использованием пакета прикладных программ Stat-Graphics 5.0.

Результаты исследования. В результате проведённого исследования были установлены структурные проявления воздействия ТТС с натрия поли(дигидроксифенилен) тиосульфатом на гистологические структуры кожи морских свинок. Наиболее значимые и достоверные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Морфологические изменения кожи морских свинок на фоне 7-дневной экспозиции ТТС с натрия поли(дигидроксифенилен) тиосульфатом

Показатель	Зоны кожи спины морских свинок			
	В.П. зона контроля	В.Л. зона контроля	Н.Л. зона сравнения	Н.П. зона опытная
1. Толщина эпидермиса, (балл) Контрольная группа	0,8±0,3	0,9±0,2	2,0±0,5*°	2,3±0,6*°
	0,8±0,3	0,7±0,3	0,6±0,2	0,6±0,2
2. Количество волосяных фолликул, (абс) Контрольная группа	36,3±4,0	22,5±4,1	23,8±3,9	31,5±2,9*#°
	21,8±3,6	22,8±2,4	21,2±2,8	23,0±3,0
3. Количество волосяных фолликул на 1мм Контрольная группа	4,4±0,7	4,6±0,9	3,5±0,5*	4,6±0,9#
	4,2±0,9	4,0±0,4	3,1±0,2	3,9±0,4
4. Количество сальных желез, (%) Контрольная группа	51,1±4,9	50,8±10,1	98,2±17,2*°	73,7±11,8*#°
	48,0±10,5	46,2±10,3	34,0±6,9	28,8±5,4

Примечание: * (p<0,05) – достоверность различий по сравнению с показателем контрольной зоны; # (p<0,05) – достоверность различий по сравнению с показателем зоны сравнения; °(p<0,05) – достоверность различий по сравнению с соответствующими зонами контрольной группы животных.

Гистологические срезы кожи контрольной группы животных изучены после непосредственного тримингования кожи. На срезах контрольных зон выявлен умеренный гиперкератоз, эпидермис тонкий, увеличена ДЛИ, количество ВФ, ВЛ и СЖ обычное (Рис. 1).

На гистологических срезах зоны сравнения НЛ морских свинок контрольной группы выявлено незначительное количество ВЛ и СЖ. Строма содержит незначительную лейкоцитарную инфильтрацию, эпидермис состоит из 3-4 слоёв.

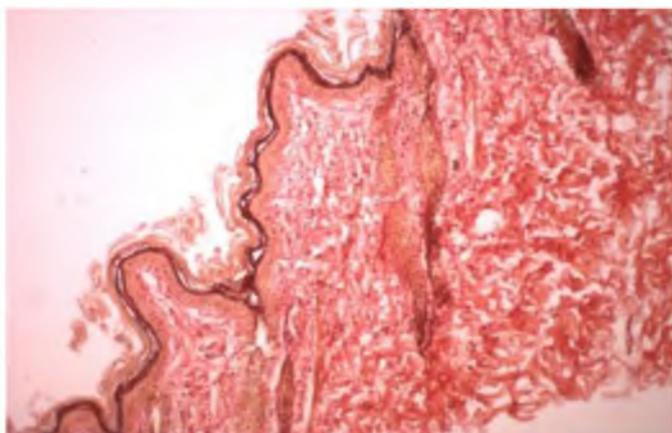


Рис. 1. Гистологический срез опытной зоны НП животного контрольной группы: сальные железы. Самка массой 265грамм. Увеличение $\times 100$. Окраска по ванн Гизон

На срезах опытной зоны НП свинок контрольной группы эпидермис тонкий, строма дермы без особенностей, значительное уменьшение количества сальных желёз по сравнению с зоной НП животных, получавших трансдермальный гипоксен.

Гистологический биоптат контрольной зоны ВП представляет собой тонкий срез с незначительным ороговением, зрелые ВФ и ВЛ были расположены неравномерно, лейкоцитов в строме кожи умеренное количество, незначительная ДЛИ, незначительное количество СЖ, фигуры митоза практически отсутствуют. Гистологический срез контрольной зоны кожи ВЛ был аналогичен предыдущему. После применения ТТС в течение 7 дней визуально в опытной зоне отсутствовало раздражение кожи. Кожа животных была без повреждений и покраснения и не отличалась от других участков, несмотря на длительный период наложения пластыря.

Гистологический срез зоны сравнения после 7-дневного применения ТТС без ЛВ представлял собой срез со значительным утолщением эпидермиса. Толщина эпидермиса зоны сравнения достоверно превышала значения контрольной зоны и показатели контрольной группы морских свинок. Зафиксирована гипертрофия сальных желёз, их количество достоверно превышало показатели контрольной зоны и соответствующей зоны контрольной группы животных (рис. 2). Максимальный диаметр ВФ в зоне сравнения НЛ достоверно превышал контрольные значения и значения контрольной группы животных. Отмечено усиление кустистости ВФ относительно значений контрольной группы животных.

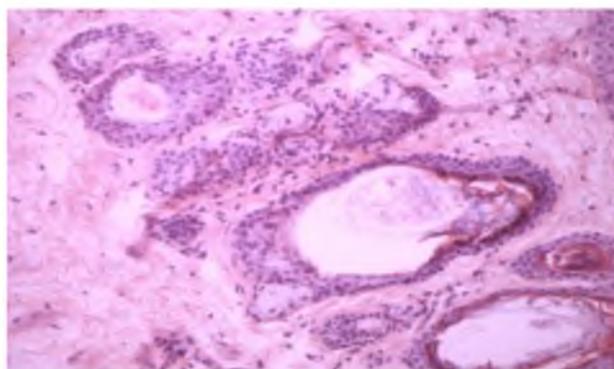


Рис. 2. Гистологический срез зоны сравнения НЛ при 7-дневном применении ТТС без ЛВ: гипертрофия сальных желёз. Самка-альбинос массой 234,2 грамма. Увеличение $\times 200$, окраска гематоксилином и эозином.

На гистологическом срезе опытной зоны НП, на которую в течение 7 дней был наложен ТТС с натрия поли(дигидроксибензил)тиосульфатом, выявлено значительное утолщение эпидермиса, что достоверно отличало показатели зоны НП от контрольной зоны и показателей контрольной группы животных (рис. 3).

Степень гипертрофии сальных желёз достоверно выше контрольных значений и показателей контрольной группы животных, но меньше значений зоны сравнения. Незначительная ДЛИ отражала реакцию всех зон кожи животного на тримингование. Отмечено усиление кустистости



стости, а также увеличение максимального диаметра ВФ относительно контрольной группы животных. Абсолютное количество ВФ в опытной зоне достоверно было увеличено после 7-дневного применения трансдермального гипоксена по отношению ко всем исследуемым зонам. Появление новых ВФ в исследуемой концентрации гипоксена может свидетельствовать о перспективности исследований трансдермального гипоксена у больных с нарушением роста волос.

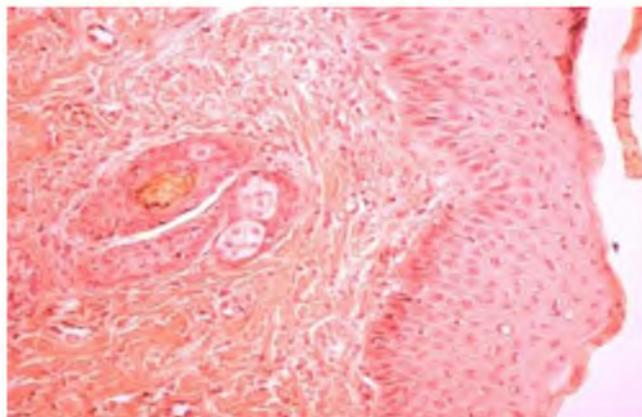


Рис. 3. Гистологический срез опытной зоны НП при 7-дневном применении ТТС с натрия поли(дигидроксифенилен)тиосульфидом: утолщение эпидермиса. Самка-альбинос массой 244,5 грамма. Увеличение ×200, окраска по ванн-Гизон

Кожа участвует во всех жизненных процессах организма, выполняя ряд важных специальных функций, в том числе играет роль труднопреодолимого барьера для чужеродных молекул, ограничивая количество и типы молекул, которые могут быть введены через неё в организм [3]. Роговой слой кожи является основным барьерным компонентом. От его прочности, а также состояния водно-жировой оболочки, функциональной активности сально-волосяных фолликулов зависит резорбционная функция кожи. Приём обработки тримингованной кожи 20% этанолом используется с целью гидратации кожных покровов (изменения состояния водно-липидной плёнки) и увеличения степени резорбции ЛВ при применении трансдермальных ЛФ. Наложение ТТС дополнительно повышает степень гидратации кожи, способствует гипертрофии (гиперплазии) сальных желёз, утолщению гидратированного эпидермиса, разрастанию волосяных фолликулов. Все вышеперечисленные факторы объясняют возможные механизмы проникновения ЛВ через тканевые барьеры: увеличивается скорость пассивной диффузии через «водные поры» по градиенту концентрации между эндотелиальными клетками капилляров для солюбилизованных молекул с молекулярной массой не более 30 дальтон.

Заключение. Тримингование кожи способствует запуску воспалительной реакции на всех исследуемых участках кожи морских свинок. На гистологических срезах кожи морских свинок после 7-дневного применения ТТС с натрия поли(дигидроксифенилен)тиосульфидом выявлено утолщение эпидермиса, гипертрофия сальных желёз в сравнении с животными контрольной группы и контрольными зонами, а также достоверное увеличение количества и максимального диаметра волосяных фолликулов.

Литература

1. Жучков С.А. Состояние кератиноцитов интерфолликулярного эпидермиса при аппликации 13-цис-ретиноевой кислоты (иммуноцитохимический анализ) / С.А. Жучков // Морфология. 2007. – Т. 132, №4. – С. 68-72.
2. Кулага В. В. Аллергические заболевания кожи. / В.В. Кулага, И.М. Романенко // К.: Здоровье, 1997.- 256 с.
3. Мизина П.Г. Чрескожное введение лекарственных средств: современные аппликационные лекарственные формы/ П.Г. Мизина, В.А. Быков // Учебное пособие. – Самара, 2004. – 124с.
4. Яцковский А.Н. Гистоструктурные и морфометрические проявления дерматотропной активности препарата нафтадерм в эксперименте / А.Н. Яцковский, Т.А. Белоусова, В.И. Ноздрин // Ретиноиды: Сб.ст. – М.: Изд-во ЗАО «Ретиноиды». – 2003. – Вып. 15. – С. 51-60.
5. Histopathological and ultrastructural effects of glycolic acid on rat skin / S. Inan, S. Oztukan, S. Vatansever, A.T. Ermertcan, D. Zeybek, A. Ok-sal, G. Giray, S. Muftuoglu // Acta Histochem. – 2006.– Vol.108, № 1. – P. 37-47.



MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE SKIN OF PORPOISES AT APPLICATION TRANSDERMAL OF TERAPEVTIC SISTEM WITH HYPOXEN

S.O. LOSENKOVA¹
S.M. BAZHENOV¹
G.N. FYODOROV¹
E.F. STEPANOVA²

¹⁾*Smolensk State Medical Academy*

²⁾*Pyatigorsk pharmaceutical institute –
PFI-BRANCH GBOU VPO VolgGmU of
Ministry of Health of Russia*

e-mail: losenkova-so@mail.ru

For the purpose of studying of changes of structural components of a skin of porpoises, against application transdermal a plaster with sodium weed (dihydroxyphenylen) tiosulfonatum (hypoxen) within 7 days, research of histologic preparations of a skin is carried out. After application designed transdermal of terapevtic sistem the basic types of individual reaction of animals are noted: a thickening of skin surface and a hypertrophy of sebaceous glands.

Keywords: morphological structures of skin, transdermal of terapevtic system, sodium weed (dihydroxyphenylen) tiosulfonatum, morphological porpoises.