

Ставский Евгений Александрович
д.м.н., доцент, НГМУ, Новосибирск
Stavsky Evgeniy Aleksandrovich
MD, DSc, Associate Professor, NSMU
Novosibirsk

Теплякова Тамара Владимировна
д.б.н., профессор, ГНЦ ВБ «Вектор»
НСО, п. Кольцово

Жайворон Анна Николаевна
преподаватель, НГМУ, Новосибирск

Зарубина Юлия Дмитриевна
студентка, НГМУ, Новосибирск

Яшина Таисия Александровна
студентка, НГМУ, Новосибирск

РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНЫХ СВОЙСТВ МАЗИ НА ОСНОВЕ МЕЛАНИНА ИЗ ГРИБА ЧАГИ НА МОДЕЛИ ОЖГОВОЙ РАНЫ У КРЫС DEVELOPMENT AND EVALUATION OF THERAPEUTIC PROPERTIES OF CHAGA MUSHROOM MELANIN OINTMENT ON A BURN WOUND MODEL IN RATS

Аннотация: В статье представлена разработанная экспериментальная мазь на основе меланина из гриба чаги и рассматриваются результаты оценки её эффективности при лечении на крысах глубокой термической ожоговой раны IIIa – IIIb степени тяжести. При этом ожоговая рана на указанных животных смоделирована согласно авторской разработке. Показаны *in vivo* выраженные противовоспалительные, регенеративные свойства экспериментальной мази, высокая эффективность заживления данной мазью ожоговых ран у подопытных крыс к 36-39 суткам цикла их лечения открытым способом.

Abstract: The article presents the developed experimental ointment based on chaga mushroom melanin and discusses the results of its effectiveness evaluation in the treatment of deep thermal burn wounds of grade IIIa – IIIb severity in rats. In this case, the burn wound in these animals was modeled according to the author's development. *In vivo*, pronounced anti-inflammatory, regenerative properties of the experimental ointment, high efficiency of healing of burn wounds in experimental rats by this ointment by 36-39 days of their open treatment cycle are shown.

Ключевые слова: Модель, термический ожог, крысы, мазь, ранозаживление.

Keywords: Model, thermal burn, rats, ointment, wound healing.

В Российской Федерации ежегодно происходит более 300000 тысяч пожаров, в результате которых более 800 тысяч человек получают термические ожоги, из них более 180 тысяч погибают [1-3]. В настоящее время для лечения ожогов консервативным способом существует достаточно широкий набор лекарственных средств (более 10 препаратов) [4]. При этом из них для лечения глубоких ожогов в основном рекомендованы Офломелид, Стелланин-ПЭГ, Аргосульфам, Мирамистин мазь, мазевые повязки Бранолинд Н [4]. Учитывая инфицирование ожоговых и других ран наряду с обычными бактериями, микрофлорой устойчивой к антибиотикам, большим количеством нежелательных побочных последствий антибиотиков для организма человека и животных, измененной реактивности организма, прежде всего человека [5-8] возникла необходимость поиска перспективных источников получения новых лекарственных препаратов с абиотическими и нетоксичными или малотоксичными свойствами. Работами ряда исследователей показано, что в качестве



подобных источников могут выступать высшие грибы базидиомицеты, способные синтезировать широкий комплекс биологически активных веществ, обладающих антибактериальными, противовирусными, противоопухолевыми, иммуномодулирующими, регенеративными и др. свойствами [9-14]. К настоящему времени, в частности, разработаны и показана высокая эффективность экспериментальных меланин- и полисахаридсодержащих мазей для местного лечения резаных инфицированных ран [13-14]. В связи с этим можно ожидать, что мази на основе меланина, полученного из природного грибного сырья, могут быть также как перспективными, так и эффективными средствами лечения ожоговых ран.

Целью работы являлась разработка и оценка лечебных свойств мази на основе меланина из гриба чаги на модели глубоких ожоговых ран IIIа – IIIб степени тяжести у крыс.

В качестве источника меланина использовали гриб чаги как одного из представителей высших базидиальных грибов. При этом меланин получали из природного сырья чаги *Inonotus obliquus* согласно разработанному методу [15]. Меланиновую мазь получали следующего состава (из расчета на 1,0 г мази): 9,3 мг меланина; 10,0 мг офлоксацина; 30,0 мг лидокаина гидрохлорида (в форме моногидрата); 40 мг метилурацила; вспомогательные вещества – макрогол 1500 и макрогол 400. Готовая мазь имела сметанообразную массу и была расфасована для удобства использования в пластиковые баночки по 100 г.

Термический ожог кожи IIIа – IIIб степени моделировали на 10 крысах-самцах популяции Wistar массой 177-237 г. Животным после удаления волосяного покрова в паравертебральной области спины на уровне ее середины под общим наркозом комплексным анестетиком диссоциативного действия наносился контактный термический ожог медной пластинкой прямоугольной формы ($L=4$, $W=3$, $S=12\text{см}^2$) с силой в 1,6 кг, нагретой до 200°C . Для этого крысу помещали на измерительную площадку электронных весов для контроля прикладываемой силы давления в процессе нанесения ожога. Время экспозиции пластины составляло 12 сек. Контроль температуры нагрева осуществляли с помощью прикрепленной непосредственно к медной пластинке термопарой с выводом от последней на считывающее электронное устройство показателя температуры. Нагрев собственно пластинки до требуемой температуры осуществляли на электроплите. Под контролем времени экспозиции данное устройство обеспечило формирование одинаковых по площади и глубине поражения ожоги. На следующий день в условиях асептики хирургическим методом удаляли струп, обрабатывали рану 3% раствором перекиси водорода, подсушивали рану стерильной салфеткой. Полученная модель была готова для проведения оценки лечебных свойств и эффективности ранозаживления испытуемой мази. В процессе лечения животным ежедневно наносили по 3,0 г мази на рану, заходя при этом на 5,0 мм за её края по периметру. Лечение крыс продолжали 50 дней до момента заживления у них ожоговых ран. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных», (Страсбург, 1986). Все животные содержались при естественном освещении на стандартном рационе при свободном доступе к корму, воде. Ежедневно у всех животных оценивали площади раневого дефекта по методу Л. Н. Поповой для последующих расчётов процентов уменьшения площади раны (ПУП) [5, 16-17]. Для оценки токсичности определяли двигательную активность животных, аппетит, изменение массы тела на 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 45 сутки. Все данные обрабатывали статистически с помощью программ Microsoft Excel и Statistica. Достоверность различий средних величин оценивали по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$. Результаты экспериментальной оценки *in vivo* лечебных свойств мази, содержащей меланин, представлены в табл. 1-2.

Из данных, представленных в табл. 1, следует, что динамика показателей прироста массы тела у крыс на всем протяжении цикла лечения была положительной. При этом общий прирост массы тела к концу срока лечения составил $294,2 \pm 84,8$ г. Таким образом,



экспериментальная мазь на основе меланина из гриба чаги оказалась нетоксичной для подопытных животных в процессе всего цикла лечения у них ожоговых ран. Визуально при оценке динамики заживления ран, леченных меланинсодержащей мазью, дефекты кожи у крыс уже практически исчезли на 36-39 сутки, раны зарубцевались, на ранах на фоне розовых рубцов регенерировавшей кожи покрытых по её периферии отрастающей шерстью остались небольшие тонкие сухие корочки

Таблица 1

**Динамика показателей прироста массы тела у крыс
 в процессе лечения ожоговых ран меланинсодержащей мазью (г)**

Сроки наблюдения, сутки								Общий прирост массы тела крыс от исходной
6	12	18	24	30	36	42	45	
$60,7 \pm 38,0$	$72,6 \pm 53,8$	$29,2 \pm 21,9$	$43,0 \pm 38,2$	$78,0 \pm 24,0$	$42,4 \pm 27,3$	$88,8 \pm 14,4$	$58,3 \pm 36,1$	$294,2 \pm 102,4$
$60,7 \pm 23,5$	$72,6 \pm 33,3$	$29,2 \pm 13,6$	$43,0 \pm 23,7$	$78,0 \pm 14,8$	$42,4 \pm 16,9$	$88,8 \pm 17,8$	$58,3 \pm 21,5$	$294,2 \pm 84,8$

Таблица 2

**Динамика изменения площади ран у крыс
 в процессе лечения ожоговых ран меланинсодержащей мазью (см²)**

Сроки наблюдения, сутки							
6	12	18	24	30	36	42	45
$14,8 \pm 2,2$	$8,3 \pm 1,7$	$5,7 \pm 1,2$	$2,5 \pm 0,8$	$1,3 \pm 0,6$	$0,5 \pm 0,08$	$0,3 \pm 0,03$	$0,2 \pm 0,02$
$14,8 \pm 1,3$	$8,3 \pm 1,1$	$5,7 \pm 0,8$	$2,5 \pm 0,5$	$1,3 \pm 0,4$	$0,5 \pm 0,05$	$0,3 \pm 0,02$	$0,2 \pm 0,01$

Примечание: в табл. 1 и 2 представлены средние показатели прироста массы тела и площади ран у крыс, соответственно, с их стандартными отклонениями ($\bar{X} \pm \sigma$; числитель); доверительными интервалами для вероятности 95% ($\bar{X} \pm P_{0,05}$; знаменатель). \bar{X} – среднее арифметическое; σ – стандартное отклонение; $P_{0,05}$ – доверительный интервал для вероятности 95%.

или только следы от них. Визуальную картину подтвердили показатели процента уменьшения площади ран (ПУП) для указанных крыс. Значения ПУП у животных к 36 суткам составил 96,3%, к 45 суткам – 99%, т.е. экспериментальная мазь продемонстрировала как высокую скорость, так и эффективность заживления ожоговых ран у подопытных крыс.

Таким образом, экспериментальная мазь, содержащая меланин из гриба чаги, не обладает токсичностью для экспериментальных животных. Меланинсодержащая мазь обладает высокими лечебными свойствами и обеспечивает эффективное заживление глубоких термических ожоговых ран IIIа – IIIб степени тяжести у крыс в течение 36-39 суток в условиях консервативного лечения открытым способом.

Список литературы:

1. Терентьева, Н. А. Ожоги. Ожоговая болезнь / Н. А. Терентьева, А. М. Осипова. // Молодой ученый. – 2024. – № 4 (503). – С. 451-454.



2. Шаповалов К.Г., Емельянов Р.С., Михайличенко М.И. Термический травматизм в Сибирском регионе. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2023; 67 (3): 211-216. <https://doi.org/10.47470/0044-197X-2023-67-3-211-216> <https://elibrary.ru/foflto>
3. А.Р., Орлова О.В., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Дворникова Л.Г., Семенихина Н.М. Оценка эффективности лечения экспериментальных ожоговых ран по результатам лабораторных и морфологических исследований. *Бюллетень медицинской науки*. 2023; 3 (31): 65-73. <https://doi.org/10.31684/25418475-2023-3-65>
4. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. М.: Видаль Рус, 2019, 1200 с.
5. Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., и соавт.. Новые способы местного медикаментозного лечения гнойных ран. *Исследования и практика в медицине*. 2020; 7 (2): 56-63.
6. Зотов Д.С., Панкрушева Т.А., Жилыева Л.В. и соавт. Сравнительная оценка применения иммобилизованной формы гексэтидина, фотодитазина и их комбинации в лечении гнойных ран // *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2021. № 4 (80). С. 149-154.
7. Краснолуцкая В.Н., Сесорова Д.В. Современные подходы к лечению гнойных ран // *Медицина*. 2017. № 5 (2). С. 10-12.
8. Власов А.А. /Применение коллаген-хитозановых покрытий и дермального эквивалента кожи в местном лечении термических ожогов. Дисс. канд. мед. наук, Красноярск. 2010.
9. Сакович В.В., Жерносеков Д.Д. Базидиомицеты как источники биологически активных веществ // *Вестник Полесского государственного университета*. -2018.-№1.-с.3-13.
10. Теплякова Т.В., Косогова Т.А. Высшие грибы Западной Сибири – перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. Новосибирск, 2014. – 298 с.
11. Brugnari T. Effects of cooking and In Vitro digestion on antioxidant properties and cytotoxicity of the culinary-medicinal mushroom *Pleurotus ostreatus* (agaricomycetes)/T. Brugnari [et al.] // *International Journal of Medicinal Mushrooms*. – 2018. – Vol. 20, № 3. – С. 259-270.
12. Teplyakova T.V., Ilyicheva T.N., Kosogova T.A. Higher Fungi Against Influenza Viruses. *International Journal of Medicinal Mushrooms*-2021.-23 (2). -P.1-11
13. Е.А. Ставский, Т.В.Теплякова, А.П. Надеев, А.А. Ставская и соавт. Оценка лечебных свойств мазей на основе полисахаридов из гриба вешенки/Биофармацевтический журнал- 2023.-Т.15, № 6, С.34-39
14. Ставский Е.А., Теплякова Т.В., Надеев А.П., Ермаченко и соавт. Получение и сравнительная оценка лечебных свойств мазей на основе меланинов из гриба *Inonotus obliquus* / *Биофармацевтический журнал*. – 2024. Т. 16. № 3. С. 31 – 38.
15. Пат. 2480227 Российская Федерация, МПК А61К 36/06, А61К 31/785, А61Р 31/22, А61Р 31/12, А61Р 31/16, А61Р 31/18. Противовирусное средство на основе меланина / Т.В. Теплякова [и др.]; заявитель и патентообладатель Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». – № 2011127305/15; заявл. 01.07.2011; опубл. 27.04.2013, Бюл. № 12. – 11 с.
16. Гончар А.М., Коган А.С., Салганик Р.И. /Раневой процесс и иммобилизованные протеолитические ферменты. – Новосибирск, 1986. 115 с.
17. Савченко Ю.П., Федосова С.Р. Методы определения раневой поверхности. *Вестник хирургии*. 2007.-Т.-166.-№1.-с.102-105.

