Экспериментальная и клиническая фармакология 2007 Том 70 № 6 С. 32 – 35

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СРЕДСТВА

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ БИШОФИТНОЙ МАЗИ

А. А. Спасов, Т. А. Оробинская, Л. С. Мазанова, А. А. Мотов, Б. Б. Сысуев[1]

В опытах с отеком лапки крыс, вызванным флогогенными агентами каррагенином, гистамином, серотонином установлено более выраженное противовоспалительное действие мази бишофита по сравнению с мазью “вулнузан”. Мазь бишофита стимулирует фагоцитарную активность нейтрофилов, ускоряет заживление и очищение инфицированной раны кожи крыс, оказывает бактериостатическое действие.

Ключевые слова: минерал бишофит, мазь бишофита, мазь “вулнузан”, воспалительные процессы, фагоцитоз, противомикробное действие

ВВЕДЕНИЕ

Снижение содержания магния (гипомагниемия) в тканях способствует развитию воспалительного процесса через усиление выделения субстанции Р, интерлейкинов 1 и 6, свободнорадикальных процессов и развитие дегенерации тканей [9, 18 – 20].

Магнийсодержащий минерал бишофит нашел применение в медицинской практике в качестве бальнеологического средства при ревматическом поражении опорно-двигательного аппарата [4, 6, 7, 11, 13], воспалительных заболеваниях кожи [12, 13], в ЛОР-практике и стоматологии [15]. У бишофита отмечено также антибактериальное, иммунотропное, стимулирующее действие на репаративные процессы при дефектах кожи [11]. Бишофит как бальнеологическое средство применяют в чистом виде (ванны, орошения) либо в виде гелей, линиментов [5].

Целью данного исследования явилось экспериментальное обоснование противовоспалительного и ранозаживляющего действия мази минерала бишофит.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучали противовоспалительное действие мази, состоящей на 50 % из стандартизированного минерала бишофит (в сухом остатке 96 % магния хлорида) и полиэтиленгликолей.

Опыты проводили на 100 белых беспородных крысах обоего пола массой 200 – 220 г. Животных содержали в виварии в стандартных условиях. Отек лапки крысы вызывали субплантарным введением 0,1 мл флогогенных агентов — 2 % раствора каррагенина (ICN, США), 0,5 % раствора гистамина (ООО “Биохемика”, Россия), 0,01 % раствора серотонина (ICN, США) [14].

В качестве препарата сравнения применяли мазь “вулнузан” (“PHARMACHIM”, Болгария). Мазь “вулнузан” содержит основной раствор Поморийского озера, действующим началом которого является поморийская рапа (до 75 % сухого остатка — соли магния).

При каррагениновом, гистаминовом и серотониновом отеках мазь минерала бишофит и мазь “вулнузан” наносили сразу после введения флогогенного агента, затем через 1 ч и через 3 ч. Величину отека лапки крысы и выраженность противоотечного действия мази бишофит и мази “вулнузан” определяли волюметрическим методом [14]. Измерения объема лапки проводили через 3 и 5 ч при каррагениновом отеке и через 1 и 3 ч — при гистаминовом и серотониновом.

Влияние раствора бишофита на фагоцитарную активность полинуклеаров крови исследовали на мышах. Раствор (2,5 и 10 %) бишофита вводили подкожно (5 мл/кг) ежедневно в течение 6 дней. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали на 3-и и 6-е сутки по фагоцитному индексу (ФИ) — проценту захвата микробных клеток и НСТ-тесту (процент нейтрофилов, содержащих гранулы диформазона), определяли по методам [2, 7].

Изучение влияния мази бишофита на заживление инфицированной раны проводили по методике [10]. В раны вносили $1 \cdot 10^9$ микробных тел бактериальной суспензии, содержащих культуру *Staphylococcus aureus* 209P ATCC 6538P. Планиметрию раны проводили по [16]. При бактериальном контроле количественно определяли микробные тела в 1 г ткани на 2, 4, 7, 9, 11-е сутки после начала лечения по методике [3]. Критерием очищения раны от бактериальной обсемененности было количество микробных тел менее 10^5 на 1 г ткани (количество колонийобразующих единиц — КОЕ). Лечение ран животных проводили открытым способом. Динамику раневого процесса оценивали по следующим клиническим показателям: сроки появления грануляций, краевая эпителизация, очищение ран от гнойно-некротических тканей, полная эпителизация, количественный состав внутритканевой микрофлоры в биоптате края раны.

[1] Кафедра фармакологии (зав. — член-корр. РАМН А. А. Спасов) Волгоградского государственного медицинского университета, Волгоград, 400131, пл. Павших борцов, 1.

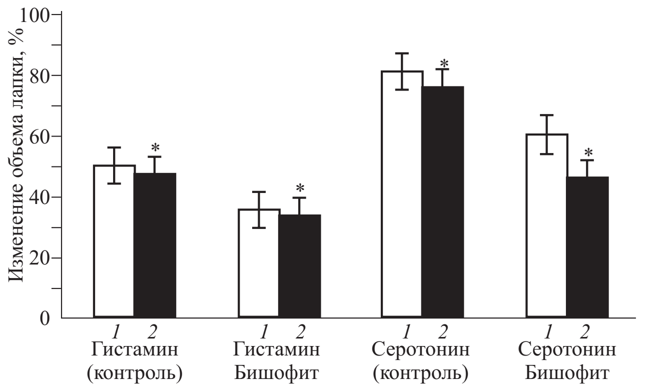

Рис. 1. Влияние мази минерала бишофит на воспаление, вызванное серотонином и гистамином.

1 — через 1 ч, 2 — через 3 ч. Здесь и на рис. 2 и 3 звездочка — изменения достоверны относительно контроля ($p < 0{,}05$).

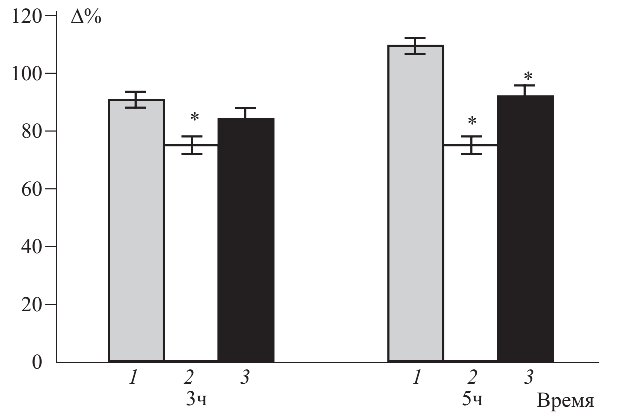

Рис. 2. Влияние мази минерала бишофит и препарата сравнения “вулнузан” на воспаление, вызванное каррагенином.

Здесь и на рис. 3: *1* — контроль, *2* — мазь бишофита, *3* — мазь “вулнузан”. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

Противомикробное действие мази бишофит в концентрации 50 % изучали в опытах *in vitro* на референтных штаммах патогенной микрофлоры — *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermalis*, *Candida ablicans*, *E. coli* при 24-часовой инкубации при температуре 37 °С. Суточные культуры микроорганизмов в концентрации 10^9 КОЕ/мл были добавлены в образцы мази с природным раствором бишофита 50 % концентрации. В качестве контроля использовали физиологический раствор, зараженный 10^9 КОЕ/мл вышеуказанными микроорганизмами. Высев на питательные среды проводили по схеме: 6, 24, 48 ч, 7 сут. Об эффективности противомикробного действия мази бишофита судили по наличию или отсутствию роста колоний и оценивали в баллах.

Критерии оценки: 0 — отсутствие роста или менее 10; 1 балл (+) — рост от 10 до 50 КОЕ/чашку; 2 балла (++) — рост от 50 до 100 КОЕ/чашку; 3 балла (+++) — рост более 100 КОЕ/чашку.

Результаты исследований статистически обрабатывали с применением параметрических методов, достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента (Microsoft Excel).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что мазь бишофита и “вулнузан” оказывают противовоспалительное действие на различных моделях отека лапки крыс, но это действие выражено в разной степени (рис. 1 и 2). Так, мазь бишофита на модели серотонинового отека уменьшала отек лапки через 3 ч на 32,5 %; при гистаминовом отеке — на 37,7 %, при каррагениновом — на 17,7 %. Под влиянием мази “вулнузан” на серотониновой модели отек лапки уменьшался на 16,3 %, при каррагениновом отеке — на 7,3 %.

Таким образом, мазь бишофита оказывала более выраженное противовоспалительное действие, чем мазь “вулнузан”, наибольшее отличие отмечалось при отеке, вызванном каррагенином (в среднем в 2 раза).

Известно, что ионы магния в организме усиливают образование комплемента C3b и стимулируют фагоцитоз [7]. Поскольку основным действующим веществом в растворе минерала бишофит и мази бишофит является магний, то в табл. 3 приводятся данные о влиянии раствора минерала бишофит на фагоцитарную активность нейтрофилов крови мышей.

Проведенные исследования показали, что магнийсодержащий раствор бишофита в зависимости от введенной дозы увеличивал фагоцитарный индекс (ФИ) нейтрофилов в 1,5 – 1,8 раза более чем на 3 суток, показатель НСТ-теста возрос максимально в 3 раза (рис. 1, табл. 1). Это подтверждает возможную роль фагоцитоза (в действии) мегнийсодержащих препаратов, в том числе мази бишофит при воспалительных заболеваниях.

Таблица 1. **Влияние минерала бишофит (5 мл/кг, подкожно) на фагоцитарную активность нейтрофилов крови мышей ($M \pm m$)**

Показатель фагоцитарной активности	Концентрация бишофита, %	Исходные данные	День введения		3-й день после отмены
			3-й	6-й	
ФИ	5	45,6 ± 2,8	64,0 ± 4,0*	73,2 ± 2,6*	65,6 ± 3,2*
	10	45,6 ± 2,8	69,3 ± 4,4*	86,6 ± 4,3*	75,0 ± 2,3*
НСТ-тест	5	16,4 ± 1,7	26,3 ± 1,4*	49,3 ± 2,3*	29,0 ± 2,4*
	10	16,4 ± 1,7	27,0 ± 0,5	44,0 ± 0,5*	41,3 ± 1,7*

* данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0{,}05$).

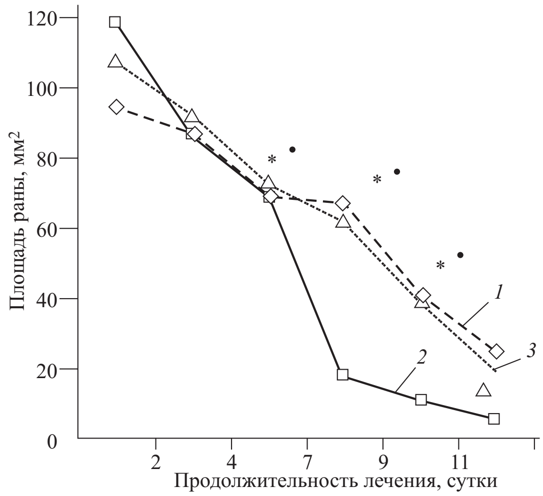

Рис. 3. Влияние мази минерала бишофит и препарата сравнения “вулнузан” на сокращение площади кожной раны крыс, инфицированной *St. aureus*.

• — изменения достоверны относительно показателей мази “вулнузан”. Остальные обозначения те же, что на рис. 1 и 2.

Мазь бишофита оказывает действие на процессы сокращения раневой поверхности, уменьшая сроки ее заживления. В контрольной группе у животных при визуальном осмотре отмечали выраженное воспаление вокруг кожного дефекта с отеком окружающих тканей, инфильтрацией, гиперемией; корки были бугристые с белым налетом, отмечался краевой валик.

При лечении мазью бишофита края раны были умеренно гиперемированы, с незначительным отеком, гнойно-воспалительные явления были менее выражены, чем при лечении мазью “вулнузан” и в контрольной группе (рис. 3). При лечении мазью бишофита на 4-е сутки после лечения площадь раны уменьшилась на 41,6 %, под воздействием мази “вулнузан” на 33 %, в контрольной группе на 27,6 % соответственно.

Наиболее выраженный эффект сокращения раневой поверхности отмечали через 7 сут. Под действием мази бишофита площадь раневой поверхности сокращалась на 85,5 %, под действием мази “вулнузан” — на 42,3 %, в контроле — на 29,2 %. В последующие дни шло постепенное уменьшение гнойно-воспалительного процесса с равномерной скоростью сокращения площади раневой поверхности (под действием мази бишофита на 9-е сутки на 91,6 %, на 11-е сутки — на 95,6 %; под действием мази “вулнузан” на 74,5 и 83,3 % соответственно). Полная эпителизация раны под воздействием мази бишофита наступала на 13-е сутки с образованием нежного мягкого рубца, под действием мази “вулнузан” эпитализацию отмечали через 15 сут и лишь у 80 % животных.

Анализируя эффективность влияния мази бишофита на бактериальную обсемененность раны (табл. 2),

Таблица 2. **Влияние мази минерала бишофит и препарата сравнения “вулнузан” на сроки очищения раны от бактериальной обсемененности**

Сроки наблюдения, сут	Количество микробных тел на 1 г ткани					
	контрольная группа		мазь бишофита		мазь “вулнузан”	
	отпечаток	мазок	отпечаток	мазок	отпечаток	мазок
Начало лечения	10^7	сплошной рост	10^7	сплошной рост	10^7	сплошной рост
2	10^6	$3 \cdot 10^8$	10^5	сплошной рост	10^5	сплошной рост
4	10^6	$4{,}4 \cdot 10^7$	10^5 – 12 колоний 10^3 – 280 колоний	200	10^5	100
7	10^5	$8 \cdot 10^5$	10^3 – 63 колонии	84	$10^5 – 10^3$	60
9	10^3	$3 \cdot 10^5$	10^3 – 20 колоний	роста нет	10^3	9
11	10^2	10^6	роста нет	роста нет	10^2	1

Таблица 3. **Влияние мази минерала бишофит на рост условно-патогенной микрофлоры кожи (оценка в баллах)**

Культура микроорганизмов	Рост микроорганизмов (количество КОЕ микроорганизмов на 1 г мази)											
	10^{-1}	10^{-3}	10^{-5}	10^{-1}	10^{-3}	10^{-5}	10^{-1}	10^{-3}	10^{-5}	10^{-1}	10^{-3}	10^{-5}
	через 6 ч			через 24 ч			через 48 ч			через 7 суток		
Staphylococcus epidermalis	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+	+	++	0	0
Candida ablicans	+++	+++	0	++	+	0	++	+	0	0	0	0
E. coli	+++	+++	++	++	+	0	+	0	0	0	0	0
Staphylococcus aureus	+++	+++	+++	+++	++	+	++	0	0	0	0	0

следует отметить, что на 2-е сутки после начала лечения произошло резкое снижение бактериальной обсемененности до 10^{-5} по отпечатку. На 4-е сутки отмечали рост только 12 колоний при разведении 10^{-5}, на 7 сутки — 63 колонии (10^{-3}), а при разведении 10^{-5} в этот период рост колоний отсутствовал. В последующие дни рост бактериальной обсемененности раны снижался и на 11-е сутки рост колоний Staphylococcus aureus отсутствовал.

Что касается мази “вулнузан”, то во время лечения максимальное снижение количества колоний наблюдали при разведении 10^{-3} на 9-е сутки.

Антибактериальным эффектом обладали все субстраты. Наибольший антибактериальный эффект выражен у 50 % мази с бишофитом, особенно в отношении патогенного стафилококка (где сроки выживания патогенного агента в субстрате исчислялись 48 часами) и кишечной палочки; в меньшей степени — для грибов рода Candida и эпидермального стафилококка (табл. 3).

Анализируя полученные данные, можно заключить, что мазь бишофита ускоряла заживление и очищение от бактериальной обсемененности инфицированной раны кожи крыс, превосходя по эффективности препарат сравнения “вулнузан”, и оказывала бактериостатическое действие.

ВЫВОДЫ

1. Мазь минерала бишофит на основе полиэтиленгликолей оказывает выраженное местное противовоспалительное действие при отеке лапки крыс, вызванном каррагенином, серотонином, гистамином, с наибольшим эффектом при коррагениновом отеке. Противовоспалительное действие мази бишофита обусловлено и ее стимулирующим действием на фагоцитоз нейтрофилов. По эффективности мазь бишофита превосходит препарат сравнения “вулнузан” практически в 2 раза.

2. Мазь бишофита улучшает регенерацию тканей, оказывая стимулирующее действие на репаративные процессы при инфицированных и неинфицированный дефектах кожи, ускоряя заживление и очищение от бактериальной обсемененности инфицированной раны крыс.

3. Мазь бишофита оказывает бактериостатическое действие по отношению к условно-патогенным микроорганизмам (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermalis*, *Candida ablicans*, *E. coli*).

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Н. Гребенюк, *Consilium medicum*, **5**(3), 120 – 123 (2003).
2. Ж. М. Исин, Б. М. Сулибеинов, *Ж. гиг. эпидемиол.*, **31**(3), 335 (1987).
3. М. И. Кузин, *Хирургия*, № 11, 5 – 7 (1980).
4. *Лечение ваннами бишофита больных ревматоидным артритом*, А. Б. Зборовский, В. Ф. Мартемьянов, Е. А. Сидорова, Л. Н. Ростовщикова (ред.), *Материалы 1-й Всероссийской конференции “Бишофит в лечении заболеваний суставов”*, Волгоград (1993), сс. 17 – 18.
5. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Москва, Новая волна (2004).
6. Е. Л. Насонова, *Противовоспалительная терапия ревматических болезней*, Москва, “М-Сити” (1999).
7. А. Ройт, *Основы иммунологии*, Москва (1991).
8. *Свойства бишофита подавлять рост и размножение патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Диплом на открытие № 75 международной ассоциации научных открытий Академии естественных наук*, А. А. Спасов, И. С. Мащенко, М. А. Зорина и др. (ред.), Москва (1998).
9. В. В. Серова, *Воспаление. Руководство для врачей*, В. В. Серова, В. С. Пауков (ред.), Москва, Медицина (1995).
10. В. Б. Скопинцев, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Москва (1992).
11. Л. А. Смирнова, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Волгоград (1995).
12. А. А. Спасов, *Магний в медицинской практике*, Волгоград, ООО “Отрок” (2000).
13. А. А. Спасов, *Материалы 1-й Всероссийской конференции “Бишофит в лечении заболеваний суставов”*, Волгоград (1993), сс. 12 – 13.
14. Ф. П. Тринус, *Нестероидные противовоспалительные средства*, Ф. П. Тринус, Н. А. Мохорт, Б. М. Клебанов (ред.), Киев (1975).
15. Э. С. Темкин, А. А. Спасов, Е. В. Боровский и др., *IV Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”*, Москва (1997), с. 127.
16. К. М. Фенчин, *Заживление ран*, Киев (1979), сс. 66 – 69.
17. С. Н. Щава, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Волгоград (2001).
18. E. P. Brestel, *Modern Pharmakology*, Little, Brawn and Company (1992), pp. 561 – 569.
19. S. Nigam, *Prostaglandins*, *Leukotrienes and Medicine*, **23**(1), 1 – 10 (1986).
20. W. B. Wegliki, *Am. J. Physiol.*, № 32, 734 – 737 (1992).

Поступила 20.06.07

ANTIINFLAMMATORY EFFECT OF BISCHOFIT OINTMENT

A. A. Spasov, T. A. Orobinskaya, L. S. Mazanova, A. A. Motov, and B. B. Sysuev

Department of Pharmacology, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131 Russia

A new ointment based on the mineral bischofit exhibits a more pronounced antiinflammatory effect on the models of inflammation induced by carrageenin, histamine, and serotonin in rats in comparison to the reference ointment (vulnuzan). Bischofit ointment stimulates phagocyte activity of neutrophils, accelerates the healing and cleaning of infected skin wounds, and produces bacteriostatic action.