

© САВЕЛЬЕВА Е. Е., ВЕСЕЛОВА О. Ф., ГАЦКИХ И. В., ХОРЖЕВСКИЙ В. А., АЛЕШЕНЦЕВ К. Г., ПЕРЕВЕРТОВ Т. А.

УДК 615.322

DOI: 10.20333/2500136-2021-2-113-116

Исследование противовоспалительной активности лапчатки гусиной (*Potentilla anserina* L) на ожоговых ранах у мышей

Е. Е. Савельева, О. Ф. Веселова, И. В. Гацких, В. А. Хоржевский, К. Г. Алешенцев, Т. А. Перевертов

Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

Цель исследования. Исследовать противовоспалительный эффект Лапчатки гусиной на модели термической раны.

Материал и методы. Жидкий экстракт на 70 % этиловом спирте получали из сухой измельченной Лапчатки гусиной методом перколяции. Полученные вытяжки упаривали под вакуумом при температуре 50 °С. Сухой остаток растворяли в воде непосредственно перед лечением в дозе 250 мг/кг. Оценку противовоспалительной активности проводили в эксперименте на 20 белых мышах-самцах. У всех животных моделировали термический ожог кожи. Заживление ожогов происходило открытым способом. В течение всего эксперимента оценивали общее состояние подопытных животных, определяли массу и температуру тела, оценивали внешний вид ран, аппетит, активность. Для гистологического исследования забирали участок кожного покрова, включающий зоны ожога и интактных тканей. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты. Анализ результатов экспериментального исследования показал, что у всех подопытных животных под воздействием высоких температур развился термический ожог кожи III степени, характеризовавшийся поражением всей толщи кожи с полной гибелью волосяных фолликулов, потовых и сальных желез. На месте ожога кожа была плотная, неподвижная и нечувствительная к болевым раздражителям. Внешний вид ран различий между группами животных не имел. При сравнительной микроскопии контрольной и экспериментальной групп установлено, что глубина поражения эпидермиса и дермы более выражена в экспериментальной группе. Кроме того, в этой же группе более выражена лимфоцитарная инфильтрация дермы, гиподермы, наличие выраженной сосудистой реакции и отека дермы, что свидетельствует о более выраженной воспалительной.

Заключение. Анализ полученных результатов показывает, что в терапии ожоговых ран местное применение препарата Лапчатки гусиной на 4-е сутки в эксперименте не приводит к выраженному противовоспалительному эффекту. Однако выявленная лимфоцитарная инфильтрация дермы и другие гистологические параметры указывают на более активные процессы в тканях, что может впоследствии, привести к более ускоренному очищению раны и более быстрой регенерации.

Ключевые слова: термическая рана, регенерация, противовоспалительный эффект, лапчатка гусиная.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Савельева ЕЕ, Веселова ОФ, Гацких ИВ, Хоржевский ВА, Алешенцев КГ, Перевертов ТА. Исследование противовоспалительной активности лапчатки гусиной (*Potentilla anserina* L) на ожоговых ранах у мышей. *Сибирское медицинское обозрение*. 2021;(2):113-116. DOI: 10.20333/2500136-2021-2-113-116

Study of the anti-inflammatory activity of the *Potentilla anserina* L on burn wounds in mice

E. E. Savelieva, O. F. Veselova, I. V. Gackih, V. A. Horgevski, K. G. Aleshencev, T. A. Perevertov

Prof. V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

The aim of the research. To investigate the anti-inflammatory effect of Cinquefoil on a model of a thermal wound.

Material and methods. A liquid extract in 70 % ethyl alcohol was obtained from dry crushed goose cinquefoil by the percolation method. The resulting extracts were evaporated under vacuum at a temperature of 50 °C. The dry residue was dissolved in water immediately before treatment at a dose of 250 mg / kg. The evaluation of anti-inflammatory activity was carried out in an experiment on 20 white male mice. Thermal skin burns were simulated in all animals. The burns were healed in an open way. During the entire experiment, the general condition of the experimental animals was assessed, body weight and temperature were determined, the appearance of wounds, appetite, and activity were assessed. For histological examination, a section of the skin was taken, including the burn zones and intact tissues. Paraffin sections were stained with hematoxylin and eosin.

Results. An analysis of the results of the experimental study showed that all experimental animals, under the influence of high temperatures, developed a third degree thermal burn of the skin, characterized by damage to the entire thickness of the skin with complete death of hair follicles, sweat and sebaceous glands. At the site of the burn, the skin was dense, motionless and insensitive to painful stimuli. The appearance of the wounds did not differ between groups of animals. Comparative microscopy of the control and experimental groups showed that the depth of damage to the epidermis and dermis was more pronounced in the experimental group. In addition, in the same group, lymphocytic infiltration of the dermis, hypodermis, the presence of a pronounced vascular reaction and edema of the dermis are more pronounced, which indicates a more pronounced inflammatory.

Conclusion. The analysis of the results obtained shows that in the treatment of burn wounds, the local application of the preparation *Potentilla* goose on the 4th day in the experiment does not lead to a pronounced anti-inflammatory effect. However, the revealed lymphocytic infiltration of the dermis and other histological parameters indicate more active processes in the tissues, which may subsequently lead to more accelerated wound cleansing and faster regeneration.

Key words: thermal wound, regeneration, anti-inflammatory effect, Goose cinquefoil.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Savelieva EE, Veselova OF, Gackih IV, Horgevski VA, Aleshencev KG, Perevertov TA. Study of the anti-inflammatory activity of the *Potentilla anserina* L on burn wounds in mice. *Siberian Medical Review*. 2021; (2):113-116. DOI: 10.20333/2500136-2021-2-113-116

Введение

Ожоговый травматизм является одним из часто распространенных видов травм у населения в мирное время. Терапия ожоговых ран разнообразна и, в первую очередь, направлена на местное лечение. Для этого современная медицина предлагает использовать фармакологические препараты (мази на водорастворимой основе левомеколь, левосин, левонорсин, диоксиколь, сульфамилон, фламазин, диоксидиновая и др.), хирургическое вмешательство, физические методы (ультрафиолетовое облучение, ультразвук в непрерывном режиме, низкоинтенсивная лазерная терапия, фототерапия, магнито-лазерная терапия, криотерапия, озонотерапия и др.) [1, 2]. Несмотря на столь обширный арсенал подходов к лечению ожоговой раны актуальным остается поиск новых более эффективных, безопасных, малозатратных методов и средств лечения. В этом отношении большой интерес представляют лекарственные растения. Растительное сырье, богатое различными группами биологически активных веществ, часто проявляет поливалентное действие – антимикробное, антиоксидантное, регенераторное. Это особенно важно в терапии ожоговых ран. Известно, что после термической травмы возникает иммунодефицитное состояние, которое в значительной степени обуславливает в дальнейшем, развитие инфекционных процессов [3]. Лапчатка гусиная (*Potentilla anserina* L.), широко распространенная на территории Северного полушария, содержит фенольные соединения, в том числе флавоноиды и дубильные вещества, проявляет антимикробное и антиоксидантное действия [4, 5]. Доступность данного лекарственного растения и его компонентный состав вызывает интерес к изучению терапевтического воздействия на термические ожоги лекарственных препаратов Лапчатки гусиной.

Материал и методы

Надземную часть лапчатки гусиной заготавливали в Томской области, в районе с. Коларово, во время массового цветения. Растения сушили в тени в хорошо проветриваемом помещении и измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм. Из измельченного сырья методом перколяции получали жидкий экстракт на 70 % этиловом спирте в соотношении 1:1. Первую порцию экстракта в количестве 85 % от массы сырья собирали в одну емкость, затем перколировали сырье 5 кратным объемом экстрагента по отношению к массе до истощения сырья в другую емкость. Полученные разбавленные вытяжки упаривали под вакуумом при температуре 50 °С до получения 15% от массы сырья и растворяли в первой порции экстракта. Затем экстрагент удаляли, сухой остаток растворяли в воде непосредственно перед лечением в дозе 250 мг/кг.

Оценку противовоспалительной активности проводили в эксперименте на 20 белых мышках-самцах массой 35±2 г, которых перед началом исследования разделили на 2 равные группы: 1-ая группа –

контрольная (без лечения); 2-ая группа – экспериментальная (лечение ожоговой раны экстрактом лапчатки гусиной). У всех животных моделировали термический ожог кожи. Термическую травму наносили с помощью стального трафарета (площадь поверхности 225 мм², температура накаливания 100 °С, время экспозиции 5 сек). В результате воздействия формировался ожог III степени площадью 1-2% от полной поверхности тела. Для обезболивания подопытных животных использовали эфирный наркоз. Заживление ожогов происходило открытым способом. Животным 1 группы (группа контроля, без лечения) ежедневно на рану наносили 30 мкл физиологического раствора. Во 2-ой группе животных на рану наносили 30 мкл препарата лапчатки гусиной (инстилляцией до полного впитывания с поверхности). В течение всего эксперимента оценивали общее состояние подопытных животных, определяли массу и температуру тела, оценивали внешний вид ран, аппетит, активность [6]. Для гистологического исследования забирали участок кожного покрова, включающий зону ожога и 5мм окружающих интактных тканей после выведения животных из эксперимента. Образцы кожи фиксировали в нейтральном 10% растворе формалина, заливку осуществляли в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов экспериментального исследования показал, что у всех подопытных животных под воздействием высоких температур развился термический ожог кожи III степени, характеризовавшийся поражением всей толщи кожи с полной гибелью волосяных фолликулов, потовых и сальных желез. На месте ожога кожа была плотная, неподвижная и нечувствительная к болевым раздражителям. Вокруг ожоговой раны отмечалась небольшая зона гиперемии шириной 1–3 мм. У всех животных, участвовавших в эксперименте – группа 1 (контроль, без лечения) и группа 2 (экспериментальная, получавшая местную терапию препаратом лапчатки гусиной) в течение 3-х суток после нанесения ожоговой травмы наблюдались одинаковые общие проявления ожоговой болезни (снижение активности, периодический отказ от еды, повышение температуры тела) и отмечалась потеря массы тела до 7 % от первоначальной. На 2-е сутки у всех животных на месте ожоговой раны образовался рыхлый, неравномерный по толщине, струп. У некоторых животных, на раневой поверхности были обнаружены трещины, из которых выделялся в небольшом количестве экссудат с примесью крови. На 4-е сутки струп стал более плотным и возвышался по отношению к здоровым участкам кожи. Края струпа были неровными. Внешний вид ран не имел различий между группами животных (рис. 1)

Для проведения гистологического исследования раны в период выраженного воспалительного процесса в ткани, терапию ожоговой раны проводили 4 раза

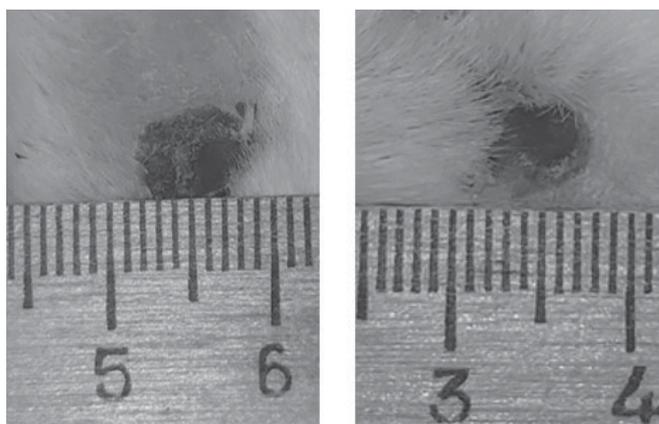


Рисунок 1. Внешний вид термической травмы. Слева – местная терапия препаратом Лапчатки гусиной, справа – без терапии.

Figure 1. Appearance of thermal injury. On the left – local therapy with *Potentilla anserina* L, on the right – without therapy.

в течение 4-х суток. После этого животных подвергли эвтаназии. Исследования проводили на участке кожного покрова, включающего зону ожога и окружающие интактные ткани. Анализ гистологических изменений кожи и окружающей ткани при изолированном ожоге на 4-е сутки показал, что в контрольной группе наблюдается выраженная деструкция эпидермиса с образованием некротического детрита, со средней толщиной 241,8 мкм. Субэпидермально расположена выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация со средней толщиной в исследуемой группе около 110 мкм. В дерме наблюдались признаки воспаления, умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация, расширенные полнокровные сосуды, вакуолизация и отек (рис. 2 а.).

При микроскопическом исследовании кожи мышей экспериментальной группы наблюдалась более выраженная деструкция эпидермиса и дермы с образованием некротического детрита, со средней толщиной 438 мкм. Субэпидермально видна выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация со средней толщиной в исследуемой зоне, равной 131,8 мкм. В дерме наблюдались выраженные признаки воспаления,

выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация, расширенные полнокровные сосуды, выраженная вакуолизация и отек (рис. 2 б.).

При сравнительной микроскопии контрольной и экспериментальной групп установлено, что глубина поражения эпидермиса и дермы более выражена в экспериментальной группе. Кроме того, в этой же группе более выражена лимфоцитарная инфильтрация дермы, гиподермы, наличие выраженной сосудистой реакции и отека дермы, что свидетельствуют о более выраженной воспалительной (табл.).

Заключение

Анализ полученных результатов показывает, что в терапии ожоговых ран местное применение препарата Лапчатки гусиной на 4-е сутки в эксперименте не приводит к выраженному противовоспалительному эффекту. Однако выявленная лимфоцитарная инфильтрация дермы и другие гистологические параметры указывают на более активные процессы в тканях, что может впоследствии, привести к более ускоренному очищению раны и более быстрой регенерации. Для подтверждения, либо опровержения данной версии необходимо продолжить исследование

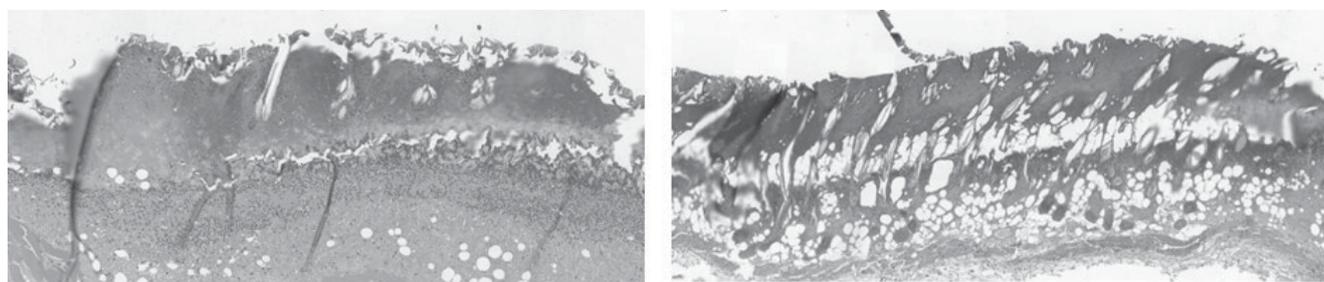


Рисунок 2. Термическая рана после 4-х суток терапии. Окраска гематоксилин-эозином. Слева – контрольная группа (без терапии); справа – экспериментальная группа (местная терапия препаратом Лапчатки гусиной). Увеличение x50.

Figure 2. Thermal wound after 4 days of therapy. Hematoxylin-eosin staining. Left – control group (without therapy); on the right – the experimental group (local therapy with the *Potentilla anserina* L). Magnification x50

Гистологические различия между термическими ранами у животных без терапии и с терапией экстрактом Лапчатки гусиной

Histological differences between thermal wounds in animals without therapy and with therapy with an extract of *Potentilla anserina* L

Группа	Толщина струпа (детрит), мкм	Толщина лейкоцитарного вала, мкм	Выраженность вакуолизации дермы
Без терапии (n=10)	241,8±30,1	110±19,6	Умеренная
Терапия экстрактом Лапчатки гусиной (n=10)	438±18,81	131,7±13,8	Выраженная

по изучению применения препарата Лапчатки гусиной на ожоговую поверхность ран мышей с выведением животных на 7-е и 21 сутки от начала эксперимента.

Литература / References

1. Подойницына МГ, Цепелев ВЛ, Степанов АВ. Применение физических методов при лечении ожогов кожи. *Современные проблемы науки и образования*. 2015;5. Ссылка активна на 08.02.2021. [Podoinitsyna MG, Sepelev VL, Stepanov AV. Application of physical methods to treat skin burns. *Modern problems of science and education*. 2015;5. Accessed June 08.02.2021. (In Russian)] <http://science-education.ru/ru/article/view?id=22156>.

2. Фаязов АД, Рuzимуратов ДА. Современные методы местного лечения ожоговых ран. *Вестник экстренной медицины*. 2012;(3):97-103. [Fayazov AD, Ruzimuratov DA. Modern methods of local treatment of burn wounds. *Emergency Medicine Bulletin*. 2012;(3):97-103 (In Russian)]

3. Бялик ЕИ, Соколов ВА, Семенова МН. Особенности лечения открытых переломов длинных костей у пострадавших с политравмой. *Вестник травматологии и ортопедии им Н.Н. Приорова*. 2002;(4):3-8. [Byalik EI, Sokolov VA, Semenov MN. Peculiarities of treatment of open fractures of long bones in patients with polytrauma. *Bulletin of Traumatology and Orthopedics named after N.N. Priorov*. 2002;(4):3-8. (In Russian)]

4. Tomczyk M, Leszczynska K, Jakoniuk P. Antimicrobial activity of *Potentilla* species. *Fitoterapia*. 2008;79(7-8):592-594. DOI: 10.1016/j.fitote.2008.06.006

5. Савельева ЕЕ, Лапкина ЕЗ, Булгакова НА, Тютрина ЕС, Курбатский ВИ. Исследование антирадикальной активности растений рода *Potentilla* L. *Химия растительного сырья*. 2020;(2):189-196. [Savelieva EE, Lapkina EZ, Bulgakova NA, Tutrina ES, Kurbatski VI. Study of antiradical activity of plants of the genus *Potentilla* L. *Chemistry of Plant Raw Materials*. 2020;(2):189-196. (In Russian)]. DOI: 10.14258/jcprm.2020027261

6. Попов НС, Демидова МА, Шестакова ВГ, Елисеева ТИ, Казаишвили ЮГ. Морфологические изменения в коже крыс при наружном применении экстракта пиявки медицинской при термическом ожоге. *Верхневолжский медицинский журнал*. 2014;12(2):

45-50. [Popov NS, Demidova MA, Shestakova VG, Eliseeva TI, Kazaishvili YuG. Morphological changes in the skin of rats after external application of the medicinal leech extract for thermal burns. *Upper Volga Medical Journal*. 2014;12(2):45-50. (In Russian)]

Сведения об авторах

Савельева Елена Евгеньевна, к.фарм.н., заведующая кафедрой фармацевтической технологии и фармакогнозии с курсом ПО, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел: +7 (391) 220 98 06, e-mail: savelieva_ee@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6963-5851>

Ольга Федоровна Веселова, к.м.н., доцент, заведующая кафедрой фармакологии и фармацевтического консультирования с курсом ПО, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел: +7 (391) 228 36 66, e-mail: veselovaof@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6126-665X>

Гациких Ирина Владимировна, к.м.н., доцент кафедры фармакологии и фармацевтического консультирования с курсом ПО, к.м.н., Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел: +7 (391) 228 36 66, e-mail: gackikihiv@krasgmu.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7631-8056>

Хоржевский Владимир Алексеевич, к.м.н., и.о. заведующего кафедрой патологической анатомии имени профессора П. Г. Подзолкова, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел: +7 (391) 220 14 25, e-mail: vladpatholog@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9196-7246>

Алешенцев Константин Геннадьевич, ассистент кафедры патологической анатомии имени профессора П. Г. Подзолкова, Красноярского государственного медицинского университета имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел: +7 (391) 220 14 25, e-mail: KostAleshencev290991@mail.ru

Перевертов Тимофей Андреевич, студент, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел: +7 (950) 990 10 01, e-mail: dmchernov26@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6280-9233>

Author information

Elena E. Savelieva, Cand. Farm. Sci., Head of the Department of Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy, Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7 (391) 220 98 06, e-mail: savelieva_ee@mail.ru

Olga F. Veselova, Cand. Med. Sci., Head of the Department of Pharmacology and Pharmaceutical Consulting, | Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7 (391) 228 36 66, e-mail: veselovaof@mail.ru

Irina V. Gackih, Cand. Med. Sci., Associate Professor, Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7 (391) 228 36 66, e-mail: gackikihiv@krasgmu.ru

Vladimir A. Horgevski, Cand. Med. Sci., Acting Head of the Department of Pathological Anatomy named after Professor P.G. Podzolkov, Professor V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7 (391) 220 14 25, e-mail: vladpatholog@yandex.ru

Konstantin G. Aleshencev, Assistant, Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7 (391) 220 14 25, e-mail: KostAleshencev290991@mail.ru

Timofey A. Perevertov, student, Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7 (950) 990 10 01, e-mail: dmchernov26@mail.ru

Дата поступления: 01.03.2021

Дата рецензирования: 19.03.2021

Принята к печати: 31.03.2021

Received 01 March 2021

Revision Received 19 March 2021

Accepted 31 March 2021