

ПЕРСПЕКТИВА ПРИМЕНЕНИЯ КОЛЛАГЕНОВЫХ СУБСТАНЦИЙ РЫБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ДЛЯ ТКАНЕВОГО РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ

Л. В. Антипова, С. А. Сторублевцев, С. Б. Болгова

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Поступила в редакцию 9.07.2015 г.

Аннотация. Получены дисперсии коллагеновых белков из шкур внутренних водоемов, получены гели и пористые материалы на их основе. В опытах *in vivo* проведены гистологические и токсикологические исследования применительно к ранозаживлению тканей животных, доказан положительный биологический эффект в перспективе создания лекарственных средств.

Ключевые слова: коллагеновые белки, дисперсии, гели, пористые материалы, заживление тканей в опытах *in vivo*

Abstract. Dispersions of collagenic proteins from skins of internal reservoirs are received, structural features are established, gels and porous materials on their basis are received. In experiences of *in vivo* histologic and toxicological researches in relation to a ranozazhivleniye of tissues of animals are conducted, the positive biological effect in the long term of creation of medicines is proved.

Keywords: collagenic proteins, dispersions, gels, porous materials, healing of fabrics in experiences of *in vivo*

Коллагеновые белки уникальны по структуре и функциям, в связи, с чем привлекают внимание ученых и специалистов на протяжении длительного времени. Идентификация структурных элементов, механизм биосинтеза, биологические функции сформировали понимание роли коллагеновых белков в жизнедеятельности организма человека и животных. Фундаментальные исследования коллагеновых белков привели к их широкому распространению в биомедицинской практике при лечении тканевых ран, получении медицинских средств, включая лекарственные формы, создании специального питания для коррекции физиологических состояний, а также косметологии [1].

Мировой опыт базируется на производстве коллагеновых субстанций из спинок шкур КРС как основного источника. Однако падение объемов переработки сельскохозяйственных живот-

ных в России, отказ большинства стран Европы от использования продуктов переработки сельскохозяйственных животных из-за бешенства, а также санкции ЕС в отношении России создали весьма сложные условия в реализации производства коллагеновых субстанций различного назначения и ставят задачу поиска новых отечественных источников, создания импортзамещающих технологий.

Показано [1-3], что альтернативой могут выступать коллагеновые белки рыбного происхождения, которые обладают рядом существенных преимуществ в составе медицинских и косметических средств.

Вместе с тем, сведения о коллагенах рыб внутренних водоемов как наиболее доступного отечественного сырья практически отсутствуют. В то же время только в Воронежской области имеется около 4000 прудов, дающих около 10000 т товарной рыбы [3]. Глубокая переработка прудовых рыб с получением пищевых продуктов и коллагеновых субстанций открывает реальные перспек-

тивы улучшению структуры питания и обеспечения медицинскими средствами отечественного производства.

Полученные по авторской технологии водные дисперсии подвергали микробиологическим и токсикологическим исследованиям в опытах *in vivo* на теплокровных животных. На основе дисперсий получены 2 %-ые растворы в лабораторных и заводских условиях соответственно при разбавлении водой и высушивании объектов методом сублимационной сушки на действующем оборудовании с последующей низкотемпературной стерилизацией.

Полученные стерильные лекарственные средства подвергали гистологическому исследованию в опытах на животных при формировании открытых ран мягких тканей.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследования были проведены на животных одного возраста, полученных из вивария Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н.Бурденко. Все животные прошли карантинный режим, не имели признаков заболеваний и получали стандартный пищевой рацион. Средняя масса животных составила 300 ± 25 г, разброс по исходной массе не превышал 15%.

Исследования выполнены на белых лабораторных крысах в 3 группах: 2 контрольных и 1 основной, по 20 штук в каждой.

При изучении острой токсичности проводили токсиметрическую оценку коллагеновой субстанции на белых крысах и мышах. В течение 14 дней после затравки учитывали количество павших и выживших животных. При этом измельченную коллагеновую субстанцию в виде водной взвеси вводили внутривенно через зонд в различных дозах (500- 1500 мг/кг живой массы).

Эмбриотоксическое действие коллагеновой субстанции изучали на беременных белых крысах с массой тела 180-200 г. От самок было получено потомство, за развитием которого вели наблюдение: проводили взвешивание, замеры длины тела, хвоста, ступней, ушей, учитывали сроки отлипания ушей, прорезания глаз, обрастание шерстным покровом, подвижность и активность высасывания молока матери в течение первых дней жизни.

Тератогенное действие коллагеновой субстанции изучали на белых крысах. После спаривания самкам через день в течение всей беременности вводили максимально возможную дозу по объему для введения в желудок — 5000 мг/кг, и получили

от них потомство. У новорожденных крысят изменений, классифицируемых как уродства, не было выявлено.

В течение всего опыта за подопытными животными вели наблюдение, учитывали поедаемость корма, прием воды, состояние слизистых оболочек, волосяного покрова, поведение, взвешивали в начале и в конце эксперимента.

Моделирование ран проводилось по модифицированной методике И.А. Сыченникова (1974). Под эфирным наркозом в асептических условиях на выбритом от шерсти участке, после обработки кожи раствором антисептика, одноразовым медицинским скальпелем по наружной поверхности средней трети бедра производился линейный разрез кожи, фасции и мышц длиной 1 см. Мягкие ткани разводились зажимом и разминались. Площадь ран перед началом лечения в группах составила в среднем 26.0 ± 0.5 мм² без ее достоверных различий между группами. Лечение во 2-й контрольной и 1-й основной группах начинали сразу после моделирования раневого процесса.

В 1-й контрольной группе лечение не проводилось. Во 2-й контрольной группе лечение ран осуществляли путем промывания ее непосредственно после моделирования 5 мл 0,9% раствора хлорида натрия и введения в рану стандартной коллагеновой губки, которая вырезалась по площади раневого дефекта для его полного закрытия. В 1-й основной группе в отличие от 2-й контрольной использовали коллагеновую субстанцию из рыбного сырья.

Динамика купирования раневого процесса оценивалась на основании следующих методов исследования [5]:

1. Клинические методы – общее состояние животных, показатели течения раневого процесса.
2. Планиметрические методы – площадь раны по методике Л.Н.Поповой /метод целлофаногрфии и ее динамика.
3. Токсикологические методы исследования.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате токсикологических испытаний коллагеновая субстанция рыбного происхождения была отнесена к 4-му классу токсичности. Оценка эмбриотоксического действия показала, что масса крысят, матери которых получали состав, не отличалась от массы контрольных животных на протяжении всего периода изучения.

У крысят подопытных и контрольных животных не наблюдалось различий и по другим по-

казателям общего развития - и у тех, и у других крысят уши отлипались на 2-3 день жизни, с 8-го дня крысята начинали обрастать шерстью, между 16 и 19 днем у них открывались глаза.

Изучали поведение животных "в открытом поле". В таблице 1 представлены результаты опытов.

Таблица 1
Поведение крысят "в открытом поле"

Наименование	Кол-во животных	Число пересеченных квадратов	Число заглядываний в отверстия	Число фекальных шариков
Коллагеновая субстанция	20	16.0±1.0	6.0±0.2	4.0±0.2
Контроль	20	12.9±1.3	5.0±0.3	4.0±0.4

На течение и продолжительность беременности субстанция не оказывала влияния. Так, у контрольных и опытных крыс беременность продолжалась 22-23 дня, у самок, которые получали субстанцию - 23 дня. Была отмечена разница в численности помета крысят и дальнейшем их развитии. Проводилось сравнение развития крысят опытной и контрольной групп.

Установлено, что двигательная активность крысят, матери которых получали коллагеновую субстанцию, практически не отличалась от двигательной активности контрольных.

Проведенные эксперименты показали, что потомство, родившиеся у крыс, получавших при беременности коллагеновую субстанцию не отличалось от контрольного увеличенной ориентировочной активностью. На 20 день жизни число крысят, мамы которых во время беременности получали препарат, и контрольных животных, поднявшихся по сетке, было одинаковым. Изменение ориентировочных рефлексов у животных опытной группы не носило статистически значимого характера. Порог болевого раздражения (зажатие хвоста) у животных обеих групп был одинаков.

По результатам тератогенных исследований у грызунов не было зарегистрировано случаев гибели, не отмечались признаки интоксикации и заболеваний.

Применение коллагеновой субстанции в те-

чение 45 дней опыта не снижало прироста массы тела опытных животных, а наоборот способствовало увеличению данного показателя на 63.48 % в 1-й группе и на 1,6 во 2-й группе по сравнению с контролем.

В конце опыта грызуны были убиты, проведено анатомическое вскрытие и взвешивание внутренних органов. Результаты измерений представлены в таблице 2.

Таблица 2
Весовые индексы внутренних органов белых крыс (в % к живой массе тела)

Наименование органа	Группы		
	1	2	Контроль
Печень	3.75±0.211	4.01±0.153	3.977±0.041
Сердце	0.39±0.026	0.39±0.033	0.35±0.009
Почки	0.74±0.021	0.75±0.052	0.73±0.022
Семенники	1.17±0.094	1.16±0.055	1.26±0.015
Селезенка	0.39±0.021	0.41±0.031	0.36±0.056
Желудочно-кишечный тракт.	9.55±0.781	9.76±0.652	10.81±0.975

Достоверных различий по массе тушек и внутренних органов у белых крыс в опыте и контроле не выявлено, не установлено также и патологических изменений во внутренних органах при скормлении коллагеновой субстанции в течение 45 дней.

Морфологические показатели крови (количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина и гематокрит) у животных всех групп существенно не отличались и находились в пределах нормы.

Углеводная, белково-образовательная и мочевинообразовательная функции печени не нарушены.

На основании вышеизложенного можно заключить, что проведенными токсикологическими исследованиями не установлено отрицательного влияния коллагеновой субстанции на организм экспериментальных животных, не выявлены противопоказания к проведению дальнейших исследований и использованию.

Установлено, что применение ранозаживляющих материалов на основе рыбного коллагена способствуют регенерации тканей и ускорению заживления ран в 2-2.5 раза по сравнению с контролем (табл. 3).

Таблица 3

Динамика изменения площади ран животных, мм²

Группы исследования	После нанесения раны	Сроки после моделирования ран, сутки			
		1	3	7	11
Контрольная	26.1±0.5	18.5±0.5	9.2±0.4	4.5±0.41	Сформированный рубец
Основная (опыт)	26.1±0.5	12.6±0.61	5.8±0.3	1.5±0.3	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, коллагеновые субстанции рыбного происхождения имеют значительные перспективы и реальную возможность в получении ранозаживляющих средств как альтернатива зарубежного и отечественного производства. Коллагеновые белки, рыбного происхождения, вероятно, проникают в дермальные слои тканей верхних покровов, обеспечивают эффективное и глубокое воздействие на течение ранозаживления, являясь к тому же полностью безопасным в применении.

Публикация подготовлена в соответствии с НИР №3017, выполняемой в рамках базовой части государственного задания № 2014/22 Министерства образования и науки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батечко С.А. Коллаген. Новая стратегия сохранения здоровья и продления молодости / С.А. Батечко, А.М. Ледзевиров. — Колечково, 2010. — 244с.

Воронежский государственный университет инженерных технологий

Антипова Л. В., заслуженный деятель науки РФ, д.т.н., проф. кафедры технологии продуктов животного происхождения

Тел.: 8920-219-50-31

E-mail: meatech@yandex.ru

Сторублевцев С. А., к.т.н., доц. кафедры технологии продуктов животного происхождения

Тел.: 8908-139-36-18

E-mail: c11111983@yandex.ru

Болгова С. Б., аспирантка кафедры технологии продуктов животного происхождения

Тел.: 8906-589-12-80

E-mail: Ruteneya@yandex.ru

2. Антипова Л.В. Шкуры рыб - как объект для получения коллагеновых субстанций / Л.В. Антипова, С.А. Сторублевцев, М.В. Бобрешова // Научни трудове Университет по хранителни технологии Пловдив. — Vol. LIX. — 2012. — С. 976-978.

3. Антипова Л.В. Коллагены: источники, свойства, применение / Л.В. Антипова, С.А. Сторублевцев. — Воронеж : Изд-во ВГУИТ. — 2014. — 522 с.

4. Antipova L.V. Prospects of obtaining and applying wound healing materials based on fish collagen / L.V. Antipova, S.A. Storublevtsev, S.B. Bolgova, L.V. Kozhanova // Materials of 1st International Congress Industrial-academic networks in cooperation activities for pharmaceutical, chemical and food fields. — 2014. — P. 116-120.

5. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / А.Н. Миронов. — Москва: Гриф и К. — 2012. — 944 с.

Voronezh State University of Engineering Technologies

Antipova L. V., Honored Worker of Science RF, Doct.Tech.Sci., prof. of Department of Technology of products of animal origin

Ph.: 8920-219-50-31

E-mail: meatech@yandex.ru

Storublevtsev S. A., Cand.Tech.Sci., associate prof. of Department of Technology of products of animal origin

Ph.: 8908-139-36-18

E-mail:c11111983@yandex.ru

Bolgova S. B., post-graduate student of the Department of Technology of products of animal origin

Ph.: 8906-589-12-80

E-mail: Ruteneya@yandex.ru