

## 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 спилка 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  $300 \pm 25$  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  $26.0 \pm 0.5$  мм<sup>2</sup> 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, мм<sup>2</sup>

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*