

НАУКА ДЛЯ КРАСОТЫ И ЗДОРОВЬЯ

Экспериментальное исследование влияния препарата Лаеннек на процессы регенерации в коже

Николай Жидоморов

КАНДИДАТ МЕДИЦИНСКИХ НАУК, ДОЦЕНТ КАФЕДРЫ ФАРМАКОЛОГИИ С КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИЕЙ ИВГМА РОСЗДРАВА

Татьяна Суракова

КАНДИДАТ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК, ДОЦЕНТ КАФЕДРЫ БИОЛОГИИ С ЭКОЛОГИЕЙ ИВГМА РОСЗДРАВА

Татьяна Гришина

ДОКТОР МЕДИЦИНСКИХ НАУК, ЗАВЕДУЮЩАЯ КАФЕДРОЙ ФАРМАКОЛОГИИ С КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИЕЙ ИВГМА РОСЗДРАВА

Ольга Громова

ДОКТОР МЕДИЦИНСКИХ НАУК, ПРОФЕССОР КАФЕДРЫ ФАРМАКОЛОГИИ С КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИЕЙ ИВГМА РОСЗДРАВА, ЗАМЕСТИТЕЛЬ ДИРЕКТОРА ПО НАУЧНОЙ РАБОТЕ РСЦ ИНСТИТУТА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ЮНЕСКО

Официальная статистика пластических операций в России не ведется, но согласно экспертным оценкам в течение последних 10 лет их количество выросло в тысячи раз. Поскольку операция проводится с целью коррекции эстетических недостатков, важнейшим требованием к препаратам, применяемым в до- и послеоперационный период, является их позитивное влияние на скорость и качество репарации.

Одним из перспективных средств подобного действия является препарат Лаеннек, представляющий собой высокоочищенный гидролизат плаценты человека. В процессе экспериментальных исследований были выявлены и подтверждены его гепатопротекторные свойства, имеются публикации об эффективности препарата при лечении атопического дерматита. Целесообразность его использования для коррекции эстетических проблем подтверждена клиническими исследованиями с участием 130 пациентов обоего пола. Однако необходимые экспериментальные доказательства репаративных возможностей препарата Лаеннек на стандартных моделях у животных в доступной литературе отсутствуют. В то же время имеются сведения о стимулирующем влиянии на процесс ранозаживления других препаратов плаценты, в частности экстракта плаценты человека. Механизм такого эффекта достаточно сложен. В плаценте содержится более

4000 различных белков, включая факторы роста, цитохромы, факторы фибринолиза, ферменты энергетического метаболизма, идентифицированы энкефалины и другие нейропептиды, микроэлементы (прежде всего цинк) и т.д. По-видимому, процессы роста и регенерации кератиноцитов могут стимулироваться эпидермальным фактором роста (EGF) и подобными ему факторами. Ранозаживление может быть также результатом активности пептидного фрагмента, например фибронектина III типа. Имеются исследования, показывающие, что препараты плаценты не только содержат стимуляторы роста и регенерации в своем составе, но и способствуют усилению продукции эндогенных веществ, действующих в данном направлении. Так, при применении препаратов плаценты отмечается зависимое от дозы повышение уровней РНК IL 8 и самого IL 8. Эти метаболиты стимулируют процессы миграции к очагу повреждения нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов и эозинофилов, а также активируют синтез окиси азота, которая является важнейшим фактором заживления ран.

Целью работы является изучение влияния препарата Лаеннек на репаративные процессы в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты выполнены на 48 белых беспородных крысах-самцах с массой тела 200–

300 г. Критериями отбора для участия в эксперименте наряду с полом и массой тела служили следующие показатели: общее состояние животных, активное поведение, гладкая блестящая шерсть и чистый кожный покров, отсутствие внешних признаков заболеваний. На основании результатов отбора крысы были разделены на 3 группы по 16 животных в каждой, причем первая группа являлась контрольной, а во второй использовали препарат сравнения Солкосерил – широко применяющийся в клинике в качестве стимулятора регенерации. Он представляет собой стандартизованный депротеинизированный диализат крови молочных телят, содержащий широкий спектр естественных низкомолекулярных веществ, в том числе гликолипиды, нуклеозиды, нуклеотиды, аминокислоты, олигопептиды, микроэлементы. В третьей группе животных использовали исследуемый препарат Лаеннек.

Животным всех групп под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг внутривенно) на коже спины в межлопаточной области после депиляции наносился полнослойный кожный дефект размером 1,5x1,5 см. После операции на всем протяжении эксперимента рана оставалась открытой. Введение препаратов осуществлялось в одно и то же время один раз в день 5 дней в неделю вплоть до полной эпителизации раны. На-

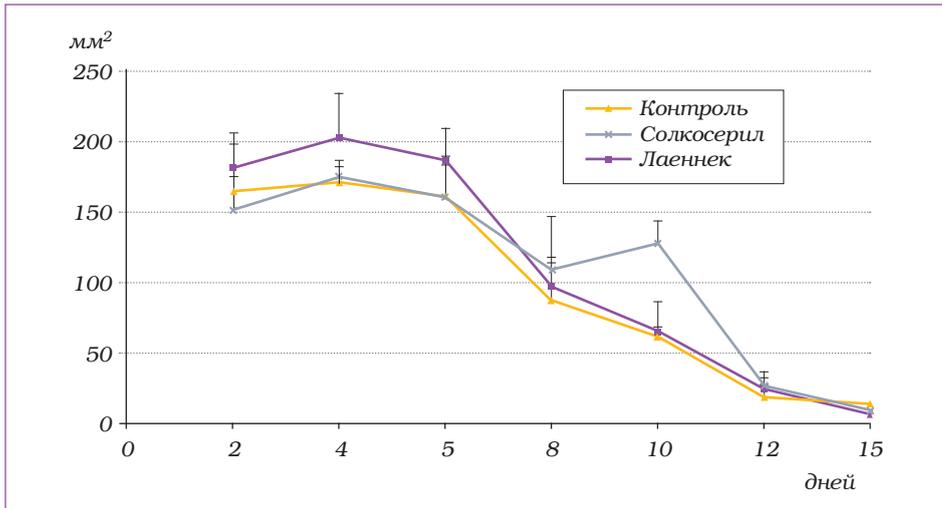


РИС. 1. Влияние препарата Лаеннек на площадь кожной раны (в мм).

чиная со 2-х суток после операции, 1 раз в 2 дня проводились планиметрические измерения, учитывались также сроки завершения эпителизации.

Солкосерил вводили внутривенно в дозе 0,1 мл (4,25 мг) на 100 г массы тела животного, Лаеннек – в дозе 0,02 мл неразведенного препарата на 100 г массы тела. Животным контрольной группы внутривенно вводили эквивалентное количество физиологического раствора.

На 30-й день после операции под хлоралгидратным наркозом (700 мг/кг внутривенно) производили забор материала для гистоморфологического исследования. Кусочки кожного регенерата фиксировались в нейтральном формалине и обезживались в спиртах восходящей концентрации. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовились в направлении поперек продольной оси межлопаточной области и окрашивались гематоксилин-эозином и резорцин-фуксином по Вейгерту. Морфологические исследования проводились с помощью микроскопа «Биолам-Р 5» и анализатора видеоизображений «Видео-Тест-Мастер». Полученные результаты были подвергнуты математической обработке в соответствии с существующими стандартами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение динамики заживления площади раневой поверхности (рис. 1), а также сроков эпителизации (рис. 2) в исследуемых группах показало, что при использовании как исследуемого препарата, так и препарата сравнения на 15-й день площадь струпа оказалась меньше по сравнению с контролем. Так, у крыс контрольной группы эпителизация раневого дефекта в среднем произошла на 19-е сутки, Солкосерил ускорил этот процесс в среднем на 7%, а Лаеннек – на 15%.

ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОЖНОГО РЕГЕНЕРАТА

Контрольная группа животных

Эпидермис – ровный как по верхнему, так и нижнему слою (фото 1). Роговой слой – тонкий, базальный слой кератиноцитов – ровный, ядра клеток крупные, округлые, сами клетки слегка вытянуты. Большинство

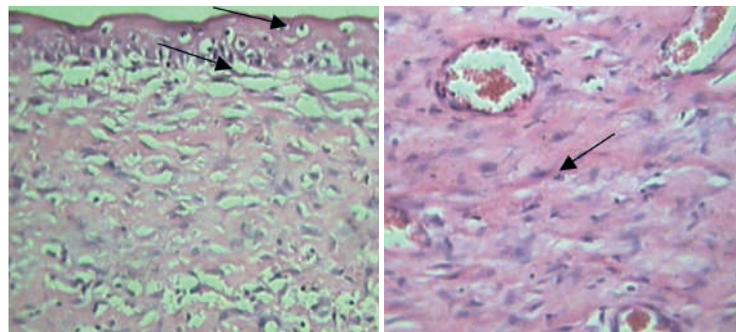


ФОТО 1. Эпидермис и фиброзная ткань кожного регенерата животных контрольной группы через 30 суток после операции. На левом фото стрелкой показаны ровные слои эпидермиса – базальный и роговой. На правом фото стрелкой помечены клетки фибробластического ряда, которые располагаются параллельно плотно сомкнутым коллагеновым волокнам

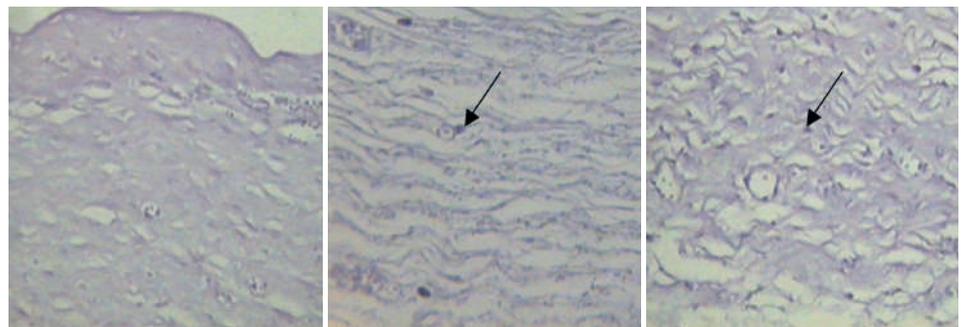


ФОТО 2. Эластические волокна кожного регенерата животных контрольной группы через 30 суток после операции. А – поверхностные слои, Б – средние слои, В – дно регенерата. Стрелками показаны эластические волокна, которые обнаруживаются только в глубине кожного регенерата, ближе к подкожной жировой клетчатке, они короткие и прямые, имеют небольшое количество разветвлений

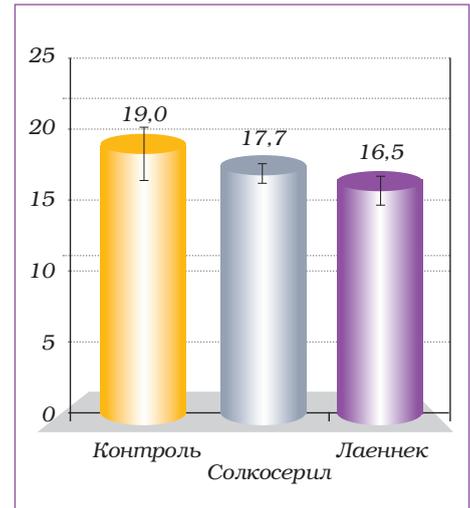


РИС. 2. Влияние препарата Лаеннек на сроки завершения эпителизации.

кератиноцитов вакуолизировано. Коллагеновые волокна, имеющие параллельную поверхности регенерата ориентацию, плотно прилегают друг к другу. Между ними располагается множество фибробластов. В фиброзной ткани отмечается большое количество капилляров. Основное аморфное вещество выражено слабо.

Эластические волокна (фото 2) обнаруживаются только в глубине кожного

НАУКА ДЛЯ КРАСОТЫ И ЗДОРОВЬЯ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА ЛАЕННЕК НА ПРОЦЕССЫ РЕГЕНЕРАЦИИ В КОЖЕ

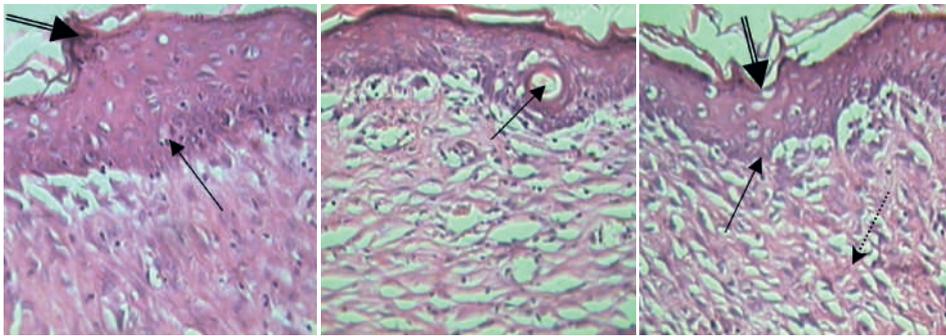


ФОТО 3. Эпидермис и фиброзная ткань кожного регенерата животных, получавших Солкосерил, через 30 суток после операции. Сплошной стрелкой показаны выпячивания эпидермиса, расположенные в его базальном слое и представляющие собой зачатки волосяных фолликулов. Двойной стрелкой отмечено формирование сложного микрорельефа на поверхности эпидермиса. Пунктирной стрелкой показаны коллагеновые волокна, имеющие небольшую извитость

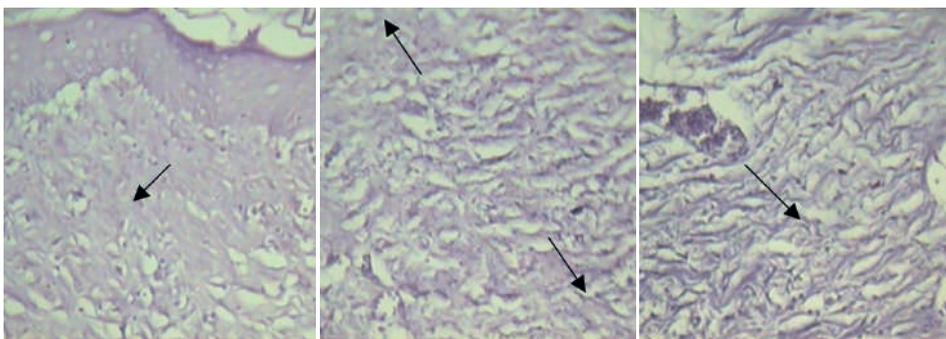


ФОТО 4. Эластические волокна кожного регенерата животных, получавших Солкосерил, через 30 суток после операции. А – поверхностные слои, Б – средние слои, В – дно регенерата. Стрелками указаны единичные эластические волокна, расположенные под эпидермисом, лучше сформированные в глубине рубца и на дне регенерата

регенерата, ближе к подкожной жировой клетчатке, они короткие и прямые, имеют небольшое количество разветвлений. По всему объему рубца эластические волокна находятся ближе к неповрежденной коже.

Группа животных, получавшая Солкосерил

Эпидермис по базальному слою образует небольшое количество выпячиваний – зачатков волосяных фолликулов, а на его поверх-

ности формируются сложный микрорельеф (фото 3). Роговой слой утолщен, отдельные его клетки вакуолизированы. Базальные кератиноциты плотно сомкнуты между собой, имеют вытянутую форму, их ядра четко очерчены. В фиброзной ткани коллагеновые волокна имеют небольшую извитость, фибробластов по сравнению с первой группой меньше, хорошо развито микроциркуляторное русло.

Эластические волокна сформированы по всему объему рубца ближе к краю ре-

генерата и располагаются вдоль коллагеновых волокон, образуя очень тонкие, едва заметные ответвления (фото 4). В центральной же части они обнаруживаются лишь в отдельных полях зрения, где в виде коротких волокон прилегают к базальному слою эпидермиса или выявляются только на дне регенерата.

Таким образом, в группе животных, получавших Солкосерил, в кожной ране отмечается формирование более полноценного, чем в контрольной группе, эластичного кожного регенерата. Это подтверждает правомерность использования Солкосерила в качестве препарата сравнения.

Группа животных, получавшая Лаеннек

Поверхность эпидермиса имеет сложный микрорельеф, базальный слой образует выпячивания (фото 5). Ядра базальных кератиноцитов – овальной формы, клетки шиповатого и зернистого слоев вакуолизированы. На отдельных участках эпидермиса начинают формироваться волосяные фолликулы. Коллагеновые волокна фиброзной ткани в основном ориентированы параллельно поверхности кожи, в некоторых местах разветвлены, что должно приводить к увеличению прочности регенерата. Капиллярное русло выражено в меньшей степени, чем у крыс первых двух групп. В верхней части рубца выявлены единичные эластические волокна, но их очень много в краевой области, в средней части и на дне регенерата, где они формируют мелкие многочисленные ответвления, переплетенные друг с другом и образующие мелкую вязь (фото 6).

Проведенные эксперименты подтвердили высокие репаративные возможности препарата Лаеннек, применение которого способствует более быстрому и полноценному заживлению кожной раны не только у животных контрольной группы, но у группы животных, получавших Солкосерил. ▷

НАУКА ДЛЯ КРАСОТЫ И ЗДОРОВЬЯ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА ЛАЕННЕК НА ПРОЦЕССЫ РЕГЕНЕРАЦИИ В КОЖЕ

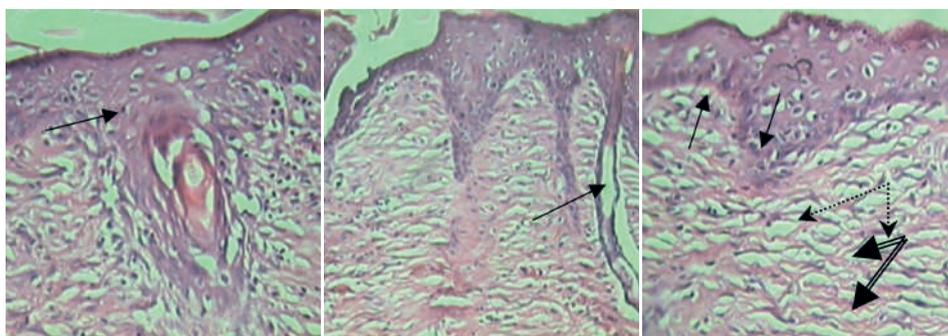


ФОТО 5. Эпидермис и фиброзная ткань кожного регенерата животных, получавших Лаеннек, через 30 суток после операции. На правом фото сплошными стрелками показан сложный микрорельеф поверхности эпидермиса и выпячивания, образованные его базальным слоем. Стрелками на левом и среднем фото выделены участки эпидермиса, в которых начинают формироваться волосяные фолликулы. Пунктирными стрелками показано хорошо выраженное основное аморфное вещество, расположенное между коллагеновыми волокнами и клеточными элементами. Двойными стрелками отмечена сложная архитектоника коллагеновых волокон

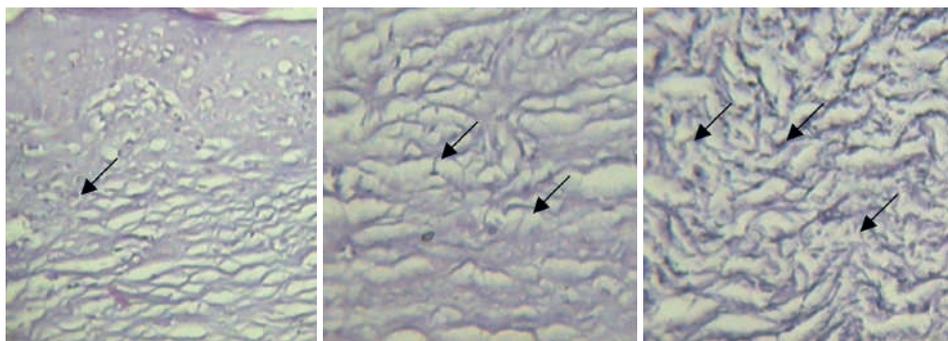


ФОТО 6. Эластические волокна кожного регенерата животных, получавших Лаеннек, через 30 суток после операции. А – поверхностные слои, Б – средние слои, В – дно регенерата

Рекомендуемая литература

- Громова О.А., Торшин И.Ю., Волков А.Ю. «Препарат Лаеннек: элементный состав и фармакологическое действие». «Пластическая хирургия и косметология», 2011, т. 2, стр. 327–333.
- Елисютина О.Г., Феденко Е.С., Шабанова И.Ф., Каримова И.М. «Первый опыт применения препарата Лаеннек

- при atopическом дерматите». «Российский аллергологический журнал», 2010, №1, стр. 97–104.
- Минушкин О.Н., Калинин А.В., Масловский Л.В. и др. «Лаеннек: опыт внутривенного капельного введения при лечении некоторых диффузных заболеваний печени». «Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии», 2005, т. 2, стр. 27–30.

- Ярилин А., Феденко Е., Каримова И. «Лаеннек – лекарственный препарат на основе гидролизата плаценты человека». «Инъекционные методы в косметологии», 2010, №4, стр. 30–38.
- Bairoch A., Apweiler R. The swiss-prot protein sequence data bank and its supplement TREMBL. *Nucleic Acids Res.* 97, v. 25, pp. 31–26.
- Biswas T.K., Auddy B., Bhattacharya N.P. et al. Wound healing activity of human placental extracts in rats. *Acta Pharmacol Sin.* 2001, v. 22(12), pp. 1113–1116.
- Chakraborty P.D., Bhattacharyya D. Isolation of fibronectin type III like peptide from human placental extract used as wound healer. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2005, v. 818(1), pp. 67–73.
- Chakraborty P.D., Bhattacharyya D., Pal S., Ali N. In vitro induction of nitric oxide by mouse peritoneal macrophages treated with human placental extract. *Int Immunopharmacol.* 2006, v. 6(1), pp. 100–107.
- Kang S.S., Woo S.S., Im J. et al. Human placenta promotes IL-8 expression through activation of JNK/SAPK and transcription factors NF-kappaB and AP-1 in PMA-differentiated THP-1 cells. *Int Immunopharmacol.* 2007, v. 7(11), pp. 1488–1495.
- O’Keefe E.J., Payne R.E., Russell N. Keratinocyte growth-promoting activity from human placenta. *J Cell Physiol.* 1985, v. 124(3), pp. 439–445.
- Sastry B.V., Tayeb O.S., Barnwell S.L., Janson V.E., Owens L.K. Peptides from human placenta: methionine enkephalin and substance P. *Placenta Suppl.* 1981, v. 3, pp. 327–337.

Авторы выражают благодарность студентам лечебного факультета ИвГМА Росздрава Екатерине Илларионовой, Ольге Коробовой, Любови Лепяхиной за помощь в подготовке материала.

