



УДК 616.5-001.19-003.93-085:615.26:615.368

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОЖИ ПОСЛЕ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЫ

Г. А. Ковалев, И. О. Ищенко, Л. Н. Тыныныка, И. А. Ефимова, Б. П. Введенский, Б. П. Сандомирский

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков,
Харьковская областная клиническая травматологическая больница,
Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина,
ХКБ ЖДТ № 2 Филиала "ЦЗ" ПАО "Укрзалізниця"

IMPACT OF PLACENTA EXTRACT ON REGENERATION OF SKIN AFTER COLD TRAUMA

G. A. Kovalev, I. O. Ishchenko, L. N. Tynynyka, I. A. Efimova, B. P. Vvedenskiy, B. P. Sandomirskiy

Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine, Kharkov,
Kharkov Regional Clinical Traumatological Hospital,
Kharkov National University name after V. N. Karazin,
"Ukrzaliznytsya"

Локальная холодовая травма сопровождается местным и системным воспалительным ответом, выраженность которого зависит от интенсивности повреждения тканей. Оценить системные проявления воспаления можно на основании определения уровня СРП в сыворотке крови, СОЭ, ЛФ крови и уровня перекисного окисления липидов [1–3].

Лечение пострадавших по поводу локальной холодовой травмы представляет серьезную медицинскую и социальную проблему [1, 4]. Основной задачей комплексного лечения холодового повреждения является влияние на зону обратимых дегенеративных процессов. ЭП, благодаря наличию в нем белков, нуклеиновых кислот, факторов роста, гормонов, полисахаридов, липидов, ферментов, аминокислот, нормализует биохимический и иммунный статус организма, стимулирует активность ферментов окислительного фосфорилирования, улучшает обмен веществ в тканях при воспалительных процессах различной этиологии [5].

Тем не менее, вопрос о включении ЭП в протоколы лечения ран не

Реферат

В эксперименте на животных, у которых моделировали холодовую травму, изучены показатели системной воспалительной реакции: уровень С-реактивного протеина (СРП), активных продуктов тиобарбитуровой кислоты (АП ТБК) в сыворотке крови, СОЭ, лейкоцитарная формула (ЛФ) крови при введении экстракта плаценты (ЭП). Отмечены снижение уровня СРП в 1,3 раза на 14-е сутки эксперимента, уменьшение СОЭ в 1,6 раза на 7-е и 14-е сутки, нормализация ЛФ крови на 7-е сутки, снижение уровня АП ТБК в 1,3 раза на 7, 9-е и 14-е сутки наблюдения. На 21-е сутки все показатели нормализовались.

Ключевые слова: холодовая травма; воспалительная реакция; С-реактивный протеин; скорость оседания эритроцитов; лейкоцитарная формула крови; ТБК-активные продукты; эксперимент.

Abstract

In experiment on animals, in which the cold trauma was simulated, the systemic inflammatory reactions indices—level of C-reactive protein, active products of thiobarbituric acid the blood serum, erythrocyte sedimentation rate (ESR), leukocyte blood formula (LBF) while injection of placenta extract — were studied. C-reactive protein level lowering in 1.3 times on the 14-th day of experiment, reduction of ESR in 1.6 times on the 7-th and 14-th day, LBF normalization on the 7-th day, lowering of the active products of thiobarbituric acid level in 1.3 times on the 7, 9-th and 14-th day of observation were noted. On the 21-st day all the indices came back to norm.

Keywords: cold trauma; inflammatory reaction; C-reactive protein; erythrocyte sedimentation rate; leukocyte blood formula; TBA—active products; experiment.

решен, что обусловлено недостаточным числом экспериментальных исследований.

Целью исследования был мониторинг у животных с моделью холодовой травмы показателей системной воспалительной реакции: уровня СРП, АП ТБК в сыворотке крови, СОЭ, ЛФ крови при введении ЭП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на крысах "Сфинкс" в соответствии с требованиями Комитета по биоэтике ИПКиК НАН Украины, согласованными с директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.10 [6]. Раны модели-

ЛФ крови у экспериментальных животных							
Группа животных	Количество лейкоцитов, % ($\bar{x} \pm m$)						
	всего	ПНГ	СНГ	ЭГ	БГ	лимф	мон
7 сутки							
КГ	35,1 ± 4,4*	4,2 ± 0,7*	30,9 ± 3,9*	1,6 ± 0,2	0,3 ± 0,5	58,7 ± 4,9*	4,3 ± 0,6
ЭГ	25,9 ± 3,6 [#]	2,9 ± 0,4 [#]	23,0 ± 3,4 [#]	1,7 ± 0,2	0,2 ± 0,4	68,0 ± 3,9	4,1 ± 0,5
14 сутки							
КГ	25,1 ± 3,2 ^α	2,8 ± 0,5 ^α	22,3 ± 3,2 ^α	1,5 ± 0,2	0,2 ± 0,4	68,9 ± 3,1 ^α	4,3 ± 0,6
ЭГ	26,1 ± 3,5	2,9 ± 0,4	23,2 ± 3,2	1,6 ± 0,2	0,3 ± 0,5	68,0 ± 3,8	4,0 ± 0,5
Норма							
ИГ	23,0 ± 2,5	2,7 ± 0,4	20,3 ± 2,5	1,6 ± 0,1	0,2 ± 0,4	71,0 ± 2,9	4,2 ± 0,7
<i>Примечание.</i>	ПНГ – палочкоядерные нейтрофильные гранулоциты (НГ); СНГ – сегментоядерные НГ; ЭГ – эозинофильные гранулоциты; БГ – базофильные гранулоциты; лимф – лимфоциты; мон – моноциты; различия показателей достоверны по сравнению с таковыми: * – в ИГ, [#] – в КГ, ^α – в соответствующей группе в предыдущий срок наблюдения ($p < 0,05$).						

ровали на латеральной поверхности бедра с применением аппликатора диаметром 8 мм (температура — 195 °С, время экспозиции 60 с). Животные распределены на группы по 10 особей в каждой. В контрольной группе (КГ) крысам вводили изотонический раствор натрия хлорида ("Юрия—Фарм", Украина); в экспериментальной группе (ЭГ) — медицинский препарат "Экстракт плаценты" ("Биофарма", Украина); в интактной группе (ИГ) — никаких воздействий на животных не оказывали.

Инъекции ЭП и изотонического раствора натрия хлорида начинали с 3—х суток после криодеструкции через день, по 0,1 мл/кг массы тела внутримышечно (в интактную лапу) в течение 9 сут.

Содержание СРП в сыворотке крови крыс определяли с использованием принципа латексной агглютинации ("Транум", Украина); СОЭ определяли микрометодом Панченкова [7]; ЛФ анализировали путем подсчета 500 клеток (микроскоп Granum R 4003, Китай) в мазках, окрашенных азур—эозином по методу Романовского — Гимза [7]. Уровень АП ТБК в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Hitachi — U3210 (Япония) [8]. Статистическая обработка проведена с помощью пакета программ Excel 2003 (Microsoft, США), SPSS v.10.0 (SPSS Inc., США). Использовали непараметрический критерий Манна—Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 7—е сутки наблюдения уровень СРП в сыворотке крови крыс КГ составлял в среднем (15,2 ± 1,8) мг/л, что в 2,5 выше, чем у животных ИГ. Введение ЭП не оказывало влияния на величину показателя, в ЭГ она составляла (14,0 ± 1,7 мг/л). Аналогичные изменения наблюдали на 9—е сутки: уровень СРП в КГ составлял (14,4 ± 1,7) мг/л, в ЭГ — (11,8 ± 1,5) мг/л, без статистически значимых различий.

На 14—е сутки наблюдения содержание СРП в сыворотке крови у животных КГ составляло (12,5 ± 1,5) мг/л и не отличалось от такового в этой группе на 9—е сутки. Введение ЭП способствовало снижению уровня СРП в 1,3 раза — до (9,6 ± 1,1) мг/л. На 21—е сутки уровень СРП в ЭГ и КГ не отличался от такового в ИГ.

Таким образом, введение животным с моделью холодовой раны ЭП способствовало более быстрому снижению уровня СРП в сыворотке крови, что свидетельствовало о стимуляции репаративных процессов у экспериментальных животных.

На 7—е сутки эксперимента у всех животных с моделью холодовой раны СОЭ статистически значимо превышала таковую в ИГ, что свидетельствовало о выраженной воспалительной реакции. Введение животным ЭП способствовало уменьшению СОЭ в 1,6 раза. Через 14 сут отмечено статистически значимое уменьшение СОЭ по сравнению с

таковым на 7—е сутки в КГ и ЭГ (в 1,7 раза), причем, у животных ЭГ — в 1,6 раза меньше, чем в КГ. На 21—е сутки СОЭ в ЭГ и КГ соответствовала норме (ИГ).

Таким образом, динамика СОЭ у животных с моделью холодовой раны свидетельствовала о течении репаративных процессов во всех группах. Тем не менее, введение ЭП сопровождалось более быстрым уменьшением показателя.

Различные популяции лейкоцитов играют важную роль при формировании воспалительной реакции в процессах пато— и саногенеза [3]. Показатели ЛФ крови представлены в *таблице*.

На 7—е сутки эксперимента суммарное количество НГ в КГ было в 1,5 раза больше, чем у животных ИГ. При этом, увеличилось количество как СНГ (в 1,5 раза), так и ПНГ (в 1,6 раза). На фоне увеличения количества НГ в КГ наблюдали относительную лимфопению — количество лимфоцитов было в 1,2 меньше, чем в ИГ. Показатели ЛФ крови у крыс ЭГ полностью соответствовали таковым в ИГ.

Таким образом, введение животным с моделью холодовой раны ЭП сопровождалось нормализацией ЛФ крови, что косвенно свидетельствовало о его противовоспалительном влиянии. На 14—е сутки эксперимента не выявляли каких—либо различий по сравнению с нормальной ЛФ крови ни в одной из групп.

Уровень перекисных процессов в сыворотке крови оценивали по со-

держанию АП ТБК. На 7—е сутки наблюдения содержание АП ТБК в сыворотке крови крыс КГ составило 14,36 нмоль/мл, что превышало таковое у животных ИГ — $(5,21 \pm 0,61)$ нмоль/мл в 2,8 раза. Введение ЭП способствовало уменьшению исследуемого показателя в 1,3 раза — до $(11,01 \pm 1,25)$ нмоль/мл. На 9—е сутки уровень АП ТБК в КГ составлял $(13,12 \pm 1,27)$ нмоль/мл, что превышало таковой у животных ИГ в 2,5 раза. Применение ЭП способствовало уменьшению показателя в 1,3 раза — до $(9,85 \pm 1,10)$ нмоль/мл.

На 14—е сутки наблюдения уровень АП ТБК в КГ составлял $(10,12 \pm 1,20)$ нмоль/мл, что в 1,9 раза выше, чем в ИГ. Введение ЭП способствовало уменьшению показателя в 1,3 раза — до $(7,58 \pm 1,03)$ нмоль/мл. Вместе с тем, и в ЭГ, и в КГ отмечены статистически значимые различия показателя по сравнению с таковым в предыдущий срок наблюдения. На 21—е сутки в сыворотке крови крыс ЭГ отмечена нормализация уровня АП ТБК $(5,52 \pm 0,63)$ нмоль/мл, в КГ и ЭГ показатель был статистически значимо ниже, чем в предыдущий срок наблюдения.

Полученные результаты свидетельствовали, что введение ЭП способствовало более интенсивному восстановлению баланса про— и

антиоксидантной системы в сыворотке крови, что, в свою очередь, подтверждало позитивное влияние ЭП на регуляцию перекисных процессов при криодеструкции кожи.

В остром периоде воспаления увеличиваются показатели системной воспалительной реакции, а в период выздоровления — они уменьшаются [1 — 3]. Криодеструкция тканей обуславливает формирование в них деструктивно—воспалительных процессов, при этом существенное значение имеет увеличение в плазме уровня глобулинов, прежде всего, фибриногена, что способствует увеличению СОЭ, содержания СРП и АП ТБК, а также изменениям ЛФ крови. Поскольку НГ являются основными клетками, обеспечивающими противомикробную защиту, увеличение их суммарного количества и, особенно, молодых форм (ПНГ) прямо свидетельствует о наличии активного воспалительного процесса в инфицированных ранах и, как правило, их нагноении [3, 9]. Лимфопения является относительной и без определения абсолютного количества лимфоцитов диагностической ценности не представляет.

Уменьшение тяжести системного воспаления у животных с моделью холодовой раны под влиянием ЭП свидетельствовало об интенсификации процессов заживления. Репаративные свойства ЭП, очевидно, могут реализовываться посредством комплекса биологически активных веществ, входящих в его состав. Их влияние, по—видимому, направлено на различные звенья патогенеза деструктивно—воспалительного процесса после криодеструкции кожи. Возможной точкой приложения для биологически активных веществ ЭП может быть регуляторное влияние на клеточные элементы воспалительного процесса (лейкоциты, фибробласты, тканевые базофилы, макрофаги) [5].

Введение ЭП способствовало уменьшению тяжести воспаления, что проявлялось постепенной нормализацией показателей системной воспалительной реакции в крови животных с моделью холодовой раны. На 21—е сутки все изучаемые показатели нормализовались.

Полученные результаты открывают потенциальные возможности применения ЭП для стимуляции регенерации кожи при холодовом повреждении.

Перспективой дальнейших исследований может быть изучение влияния ЭП на заживление ран другого генеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клиническая хирургия: национальное руководство: в 3 т.; под ред. В. С. Савельева, А. И. Кириенко. — М.: ГЭОТАР—Медиа, 2008. — Т. 1. — 864 с.
2. Кишкун А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А. А. Кишкун. — М.: ГЭОТАР—Медиа, 2007. — 798 с.
3. Шиффман Ф. Дж. Патология физиология крови / Ф. Дж. Шиффман. — М.; СПб.: БИНОМ — Невский Диалект, 2000. — 448 с.
4. Гамзатова П. К. Классификация отдаленных осложнений холодовой травмы / П. К. Гамзатова, Ю. С. Однокозова // МБИК. — 2014. — Т. 4, № 8. — С. 996 — 997.
5. Плацента: криоконсервирование, структура, свойства и перспективы клинического применения; под ред. В. И. Грищенко, Т. Н. Юрченко. —Х.: СПД ФЛ Бровин А. В., 2011. — 89 с.
6. Directive 2010/63/EU of the European Parliament of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Offic. J. Eur. Union. — 2010. — L. 276. — P. 33 — 79.
7. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т.; под ред. В. В. Долгова, В. В. Меньшикова. — М.: ГЭОТАР—Медиа, 2012. — Т. 1. — 928 с.
8. Чевари С. Определение АО параметров крови / С. Чевари, Г. Андел, Я. Штрэнгер / Лаб. дело. — 1991. — № 10. — С. 9 — 14.
9. Abbag F. I. Extreme elevation of the erythrocyte sedimentation rate in children / F. I. Abbag, J. M. Al Qahtani // Ann. Saudi. Med. — 2007. — Vol. 27, N 3. — P. 175 — 178.

