

Маханьков О.В., Сумеркина В.А.*

Городская клиническая больница №3, г. Челябинск
*Челябинская государственная медицинская академия

ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ОЖГОВОЙ РАНЫ КОЖИ ПОСЛЕ АППЛИКАЦИИ С ЭКСТРАКТОМ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ТКАНИ ПЕЧЕНИ И ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

В статье описано изучение влияния гуморальных регуляторов эмбрионального морфогенеза и низкоинтенсивного лазерного излучения на процесс заживления ожоговых ран кожи.

В связи с разработкой в последние годы новых технологий появилась весьма важная информация о ростковых факторах, которые определяют выраженность и последовательность морфологических изменений в повреждённых тканях. Поэтому представляется необходимым охарактеризовать последовательность пролиферативных изменений в тканях с биохимической и морфологической точек зрения, используя при этом сведения о ростковых факторах и других биологически активных субстанциях.

Целью наших исследований было изучение влияния гуморальных регуляторов эмбрионального морфогенеза и низкоинтенсивного лазерного излучения на процесс заживления ожоговых ран кожи.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на 60 беспородных крысах обоего пола массой 200-250 г. До и после проведения эксперимента животные содержались в условиях стационарного вивария на стандартном пищевом рационе при свободном доступе к воде. Животным под местной анестезией на кожу спины наносили ожог IV степени диаметром 1,5 см с помощью монетки, разогретой над пламенем спиртовки.

Крыс разделили на 3 группы. Животным 1 группы сразу после нанесения ожоговой раны на ее поверхность накладывались аппликации с экстрактом эмбриональной печени в количестве 0,3 мл. Животным 2 группы раневую поверхность сразу же облучали однократно в течение 1 мин. излучением диодного лазера (длина волны 0,98 мкм, мощность 500 мВт).

Животным 3 группы (контрольная группа) аппликации и облучение не назначали. Перевязки проводились ежедневно. На 7, 14, 21 и 30 сутки наблюдения у животных под местной анестезией иссекались кусочки кожи из раневой поверхности для гистологического исследования. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином, по методу Ван-Гизона для выявления коллагеновых волокон.

Эмбриональные экстракты были получены из тканей 7 и 14-дневных куриных эмбрионов. Поверхность скорлупы обрабатывали 70% этиловым спиртом. Эмбрионы извлекали из яйца, вскрывали брюшную полость и выделяли печень. Полученный материал гомогенизировали, разводили питательной средой RPMI 1640 с глутамином (Eurobio, Франция) в 2 раза и 3-хкратно подвергали замораживанию при температуре -20°C и оттаиванию. Затем препараты центрифугировали в течение 5 мин. при 5000 об/мин. при комнатной температуре, надосадочную жидкость разводили средой RPMI 1640 с глутамином в 2 раза и разливали во флаконы. Готовые экстракты хранили при температуре -20°C.

Результаты и обсуждение

На 7 сутки после аппликаций с экстрактами эмбриональной печени в препаратах кожи, в области ожоговой раны, определялся очаг коагуляционного некроза, распространяющийся на все слои кожи, вплоть до мышечного слоя. Очаг некроза отграничивался от окружающих тканей демаркационным воспалением, представленным нейтрофильными гранулоцитами. На границе с интактными тканями регистрировались

пролиферация фибробластов, макрофагальная реакция, формирование капилляров и волокнистых структур. В краях раны наблюдалась пролиферация клеток базального слоя эпидермиса. Сходные морфологические изменения в ране отмечались в эти же сроки после ее лазерного облучения. Напротив, у животных контрольной группы признаки формирования грануляционной ткани в ране не отмечались или были выражены очень слабо.

На 14 сутки после аппликаций с экстрактами эмбриональной печени в ране, под зоной некроза, отмечалось разрастание грануляционной ткани: пролиферация фибробластов, образование сосудов и коллагеновых волокон. В эти же сроки после лазерного облучения раны в ней отмечались сходные изменения. У животных контрольной группы лишь в отдельных полях зрения, на границе некроза с интактными тканями, отмечалось формирование островков грануляционной ткани.

На 21 сутки наблюдения после аппликаций с экстрактом эмбриональной печени, в препаратах кожи, в области ее раны, определялась грануляционная ткань, покрытая эпителием. На данном сроке опыта после лазерного облучения раны в ней также определялся незрелый эпителизованный рубец. В то же время у животных контрольной группы, в области раны выявлялась грануляционная ткань, но лишь с признаками ее краевой эпителизации.

На 30 сутки эксперимента в препаратах кожи животных после аппликации раны с экстрактами эмбриональной ткани печени в области повреждения определялся сформированный рубец, покрытый эпителием. В рубцовой ткани встречалось небольшое количество фиброцитов и сосудов. Сходные изменения в ране регистрировались на данном сроке после лазерного облучения, а также в ранах животных контрольной группы.

Результаты исследования показали, что в ожоговой ране после аппликаций с экстрактом эмбриональной ткани печени образование рубца с эпителизацией раны регистрировались на 21 сутки опытов. Сходный

эффект отмечался на данном сроке и после лазерного облучения раны. Наряду с этим в контрольной группе животных заживление раны (образование эпителизованного рубца) происходило лишь на 30 сутки наблюдения.

Таким образом, полученные нами экстракты эмбриональных тканей являются сильными активаторами пролиферации и дифференцировки клеток в период заживления раны. Объяснение этому феномену ускорения репарации при экспериментальном воспроизведении раневого процесса связано, в данном случае, с наличием биологически активных веществ в экстракте эмбриональной печени.

Из эмбриологических исследований известно, что различные этапы морфогенеза характеризуются синтезом разнообразных факторов, стимулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток. Сочетание этих ростковых факторов в разных областях развивающегося эмбриона при закладке дефинитивных органов отличается в своём соотношении. Механизм этого стимулирующего действия реализуется через контактное воздействие синтезирующих мезенхимальных клеток по принципу аутокринии или паракринии. Именно этот факт и привлёк наше внимание, т.к. применение этих биологических стимуляторов возможно путём аппликаций.

Безусловно, возникает вопрос о применении экстрактов из гетерогенных тканей. Из литературных данных известно, что факторы роста по своей структуре являются пептидами и имеют высокую степень гомологичности. Так, фактор роста фибробластов 13 типа (FGF13) человека и курицы гомологичен на 96,7% (5) или на 95% (3). FGF12 человека и курицы идентичны на 98,8% (7). Структура инсулиноподобного фактора роста I типа (IGF I) человека и курицы совпадает на 88% (4, 6, 8), а плацентарного фактора роста (PlGF) на 90% (7).

Что касается биостимулирующих эффектов низкоинтенсивного лазерного излучения, то следует отметить его противовоспалительное, сосудорасширяющее действие, стимулирующее действие на регенераторные

процессы (2). Нами показано, что после лазерного облучения ожоговой раны ее эпителизация с образованием рубца наблюдается уже на 21 сутки опыта, что совпадает с данными литературы (1).

Заключение

1. Экстракты куриной эмбриональной ткани печени при местном применении в экспериментальных условиях существенно сокращают сроки заживления ожоговой раны кожи.

2. Ускорение репарации при применении экстракта эмбриональной печени связано, вероятно, с наличием в их составе большого количества ростковых факторов, стимулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток.

3. Излучение диодного лазера с длиной волны 0,98 мкм способствует более быстрому заживлению термической раны кожи у крыс, что обусловлено увеличением пролиферативной активности эндотелиальных и соединительнотканых клеток.

Список использованной литературы:

1. Виноградов А.Б. Морфофункциональное обоснование воздействия лучей лазера на различные тканевые структуры: Автореф. дисс.... докт. мед. наук.- Челябинск, 2004.- 44 с.
2. Москвин СВ., Азизов Г.А. Внутривенное лазерное облучение крови.- М.: НИЦ «Матрикс», 2004.- 32 с.
3. Mahmood R., Kiefer P., Guthrie S. et al. Multiple roles for FGF-3 during cranial neural development in the chicken // Development.- 1995.- Vol.121.- P.1399-1410.
4. McMurtry J.P., Francis G.L., Upton Z. Insulin-like growth factors in poultry // Domest. Anim. Endocrinol.- 1997.- Vol.14.- P.199-229.
5. Munoz-Sanjaun I., Simandl B.K., Fallon J.F. et al. Expression of chicken fibroblast growth factor homologous factor (FHF-1) and of differentially spliced isoforms of FHF-2 during development and involvement of FHF-2 in chicken limb development // Development.- 1999.- Vol.126.- P.409-421.
6. Upton Z., Francis G.L., Ross M. et al. Production and characterization of recombinant chicken insulin-like growth factor-I from Escherichia coli // J. Mol. Endocrinol.- 1992.- Vol.9.- P.83-92.
7. Wigley P., Kaiser P. Avian cytokines in health and disease // Braz. J. Poultry Sci.- 2003.- Vol.5.- №1.- P.1-14.
8. Yandell C.A., Francis G.L., Wheldrake J.F. et al. Purification, amino acid sequence and characterization of kangaroo IGF-I // J. Endocrinol.- 1998.- Vol.156.- P.195-204.