

ЭФФЕКТЫ РЕВИТАЛИЗАЦИИ В КОЖЕ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Изучено влияние механоактивированного биологического материала плаценты человека на состояние кожи крысы в условиях эксперимента. Показано, что при его применении на мазевой основе в зоне нанесения мази индуцируются эндогенные механизмы ревитализации, проявляющиеся в значительном усилении пролиферативных и регенераторных процессов в соединительно-тканых образованиях дермы крысы с усилением ангио- и коллагеногенеза. Это проявлялось в виде выраженных фибробластических реакций с формированием новообразованных соединительно-тканых волокон в эпидермисе и дерме, ангиогенеза и расширении имеющихся в ней капилляров.

Ключевые слова: кожа, механоактивированный биологический материал, плацента человека, ревитализация.

Изучение проблем старения кожных покровов и потери их эластичности до сих пор остается важной проблемой биологии и медицины. Являясь не просто оболочкой тела, а мультифункциональным органом кожа защищает организм от вредного воздействия ультрафиолетовых лучей, выполняет дыхательную, выделительную и функцию детоксикации [1], а также является органом иммуногенеза [2]. Поэтому состояние кожи является индикатором внутренней составляющей организма. А поддержание ее в хорошем состоянии и правильный своевременный уход за ней дает возможность влиять на состояние внутреннего гомеостаза организма.

С возрастом в коже уменьшается количество активных клеток фибробластического ряда и одновременно снижается скорость разрушения волокнистого и аморфного компонентов межклеточного вещества соединительной ткани. В связи с этим нарушается баланс между синтезом и деструкцией межклеточного матрикса, понижается количество основного структурного компонента дермы – коллагена [3], [4], [5]. Внешними проявлениями данных процессов служат появление морщин, потери тургора и эластичности кожи, а также уменьшение ее толщины [6].

В качестве биологического материала для стимуляции биохимических процессов в коже и коррекции ее возрастных изменений в клинической практике и косметологии широко применяется плацента человека [7] и ее производные: экстракт плаценты [8] или ее гидролизат [9], [10], [11]. Однако применение данных форм плаценты человека несет непродолжительный

биологический эффект, что связано с усваиванием или разрушением введенных в организм производных плаценты. Поиск новых форм введения плаценты, способных вызывать продолжительные биологические эффекты за счет активирования эндогенных механизмов регенерации, по нашему мнению, остается актуальным.

Одним из методов увеличения биодоступности и биологической активности, сочетающейся с низкими антигенными свойствами и высоким энергетическим потенциалом, является повышение дисперсности материалов с применением механоактивации [12]. Методом механоактивации нами получен механоактивированный биологический материал (МБМ) плацентарного происхождения с размерами зерен в порошке от 40 до 100 нм [13].

Целью данной работы является изучение биологических эффектов взаимодействия кожи крысы с механоактивированным биологическим материалом плаценты человека на мазевой основе в условиях эксперимента.

Материалы и методы

Забор плаценты и пуповины производился в родильных домах не позднее 12 часов после родов. Консервацию осуществляли в отделении заготовки тканей БУЗ УР «РОКБ МЗ УР» по методике «Биопласт». Плаценту человека после отделения от амниона и промывании в изотоническом растворе натрия хлорида подвергали лиофильной сушке, затем производили механоактивацию в шаровой мельнице «Pulverezette 7» до аморфной взвеси, состоящей

из агломератов с размерами частиц в них от 40 до 100 нм [14].

Элементный количественный анализ на возможное привнесение примесей в образцы плаценты при механоактивации проводился методом атомной эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой на приборе Spectroflame Modula D фирмы Spectro Analytical Instrumets (Германия). Исследовалось содержание Fe, Cr, Ni, Mn, Mg, Si после двойной ионизации раствора в аргоновой плазме при 10000 К.

Исследования выполнены на беспородных белых крысах в возрасте от 5 дней с момента рождения. Производилось равномерное нанесение МБМ на мазевой основе на поверхность кожных покровов.

Гистология кожи изучалась на 1, 3, 5, 14 и 30 сутки от начала эксперимента. Кожу фиксировали в 10% нейтральном формалине. Применяли окраску гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон. Морфологическое изучение депарафинированных срезов толщиной 5 мкм производилось методами световой микроскопии, атомной силовой микроскопии (АСМ) с использованием сканирующей зондовой лаборатории Интегра Прима (NT-MDT, Россия), сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием микроскопа JSM-840 A (Япония).

Результаты и обсуждение

Было отмечено, что содержание Si в образцах как до, так и после механоактивации не превышает 0,005 масс.%, остальных элементов – 0,0002 масс.%. Проведенные ранее исследования методами рентгеновской дифракции и ИК-спектроскопии не выявили образования новых фаз и соединений в процессе механоактивации [14]. Таким образом, механическое измельчение не загрязняло обрабатываемую плаценту, в ней не происходило каких-либо существенных механоиндуцированных химических превращений и, соответственно, изменения ее химического состава.

На первые–третьи сутки (рис. 1, цветная вкладка) на поверхности эпидермиса были видны остатки нанесенной мази. В наружных 2/3 эпидермиса и дермы (в межклеточном веществе и клетках) находились пылевидные (рис. 2, цветная вкладка), полихроматофильно окрашенные агломераты, которые располагаются единично. При этом размеры частичек в агломератах (рис. 3, цвет-

ная вкладка) соответствовали размерам механоактивированной плаценты [15]. В эпидермисе, рядом со скоплениями агломератов МБМ были видны немногочисленные клетки моноцитарно-макрофагальной активности с проявлениями фагоцитоза частиц биологического материала. Отмечено умеренно выраженное полнокровие капилляров на границе эпидермиса и дермы, без проявления сладжирования. Вокруг отдельных микрососудов можно было выявить признаки незначительного периваскулярного отека и клеточной инфильтрации мононуклеарами.

На 5-е сутки эксперимента в межклеточном веществе и в клетках глубоких слоев дермы и эпидермиса, а также в подлежащей мышечной ткани и хрящах по-прежнему прослеживались мелкодисперсные агломераты МБМ. При этом наблюдался значительный макрофагально-клеточный ответ в зонах нанесения мази. В цитоплазме макрофагов отмечалось наличие зернистых включений аналогичных агломератам МБМ. Отмечалось существенное расширение и полнокровие капилляров дермы и эпидермиса, без признаков сладжирования. В посткапиллярах и венах нередко краевое стояние мононуклеаров. Это сопровождалось умеренными проявлениями периваскулярной инфильтрации лимфоцитов и клеток моноцитарно-макрофагического ряда. Однако проявлений значительного внутриклеточного набухания или отека межклеточного вещества, деструкции тканей, цитолиза в зонах нанесения препарата не выявлялось.

На 14-е сутки эксперимента макрофагальная инфильтрация уменьшалась в эпидермисе и дерме, тогда как в более глубоких слоях (перивазально, в мышечном слое, вокруг и в клетках хрящевой ткани) еще сохранялись клетки макрофагальной активности, содержащие гранулы плаценты. Отмечено расширение капилляров дермы, появление превазоидов, увеличение в ней фибробластических реакций.

На 30-е сутки (рис. 4, цветная вкладка) отмечено увеличение новообразованных соединительно-тканых волокон и количество капилляров в эпидермисе и в собственно дерме. Макрофагальная активность отсутствовала, были выражены фибробластические реакции.

По результатам проделанной работы можно говорить о возможности проникновения МБМ плаценты человека в глубокие слои кожных покровов животного начиная с 5-х суток

наблюдения. В конце экспериментального исследования (30-е сутки) выявлялись биологические эффекты в виде значительных фибробластических реакций с формированием новообразованных соединительно-тканых волокон в эпидермисе и дерме, ангиогенез и расширение

имеющихся в ней капилляров. Таким образом, нанесение МБМ плаценты человека на кожные покровы в виде мази индуцирует в них механизмы эндогенной ревитализации, тем самым может способствовать замедлению инволюционных процессов кожи.

23.09.2014

Список литературы:

1. Гладских, Л.В. Влияние экзогенных биокомпонентов на ауторегуляторные механизмы оздоровления и омоложения / Л.В. Гладских // Эстетическая медицина. – 2011. – №2. – С. 3–9.
2. Озерская, О.С. Мезотерапия в дерматокосметологии / О.С. Озерская. – СПб.: ГИПП «Искусство России», 2003. – 296 с.
3. Sorrell, M. Fibroblasts – a diverse population at the center of it all / M. Sorrell, A. I. Caplan // International Review of Cell and Molecular biology. – 2009. – Vol. 276. – P. 161–214.
4. Fisher, G. Looking older: Fibroblast Collapse and Therapeutic Implications / G. Fisher, J. Varani, J. Voorhees // Arch Dermatology. – 2008. – Vol. 144. – P. 666–672.
5. Decreased Collagen Production in Chronologically Aged Skin. Roles of Age-Dependent Alteration in Fibroblast Function and Defective Mechanical Stimulation / J. Varani [et al.] // American Journal of Pathology. – 2006. – Vol. 168. – P. 1861–1868.
6. Серов, В.В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В.В. Серов, А.Б. Шехтер. – М.: Медицина, 1981. – 312 с.
7. Мусина, Л.А. Функциональная морфология макрофагов при регенерации тканей, индуцированной аллогенными биоматериалами: дисс. д-ра биол. наук / Л.А. Мусина. – Уфа, 2007. – 269 с.
8. Гладских, Л.В. Новые подходы биомедицины к коррекции адаптационных механизмов оздоровления и омоложения / Л.В. Гладских // Пластическая хирургия и косметология. – 2011. – №2. – С. 321–325.
9. Ролик, И.С. Фетальные органопрепараты. Клиническое применение / И.С. Ролик. – М.: РегБиоМед, 2003. – 736 с.
10. Chandanwale, A. Comparative evaluation of human placental extract for its healing potential in surgical wounds after orthopaedic surgery: an open, randomised, comparative study / A. Chandanwale // Journal of the Indian Medical association. – 2008. – Vol. 106, №6. – P. 405–408.
11. Элементарный состав препарата Лаеннек и его ключевая роль в фармакологическом воздействии препарата / О.А. Громова [и др.] // Пластическая хирургия и косметология. – 2010. – №4. – С. 1–7.
12. Механохимия создания новых материалов: учеб. пособие / О.В. Андришкова [и др.]. – Новосибирск, 2007. – 385 с.
13. Пат. №2367448 Российская Федерация, МПК: А61К35/12, А61К9/14, А61L27/54, В82В3/00 Способ приготовления биофункционального трансплантата в виде наночастиц / В.В. Жаров [и др.]; заявл. 19.01.2008; опубл. 20.09.2009.
14. Наноструктурный биологический трансплантат для склеропластических операций / О.В. Карбань [и др.] // Нанотехнологии: наука и производство. – 2013. – №1. – С. 9–14.
15. Сканирующая зондовая микроскопия в изучении регенерации тканей при склеропластических операциях в офтальмологии / В.В. Жаров [и др.] // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2009. – №10. – С. 69–74.

Сведения об авторах:

Перевозчиков Петр Арсентьевич, заочный докторант кафедры офтальмологии Ижевской государственной медицинской академии Минздрава России, кандидат медицинских наук, заведующий операционным отделением Республиканской офтальмологической клинической больницы МЗ УР, e-mail: perev.petr@yandex.ru

Лялин Анатолий Николаевич, заместитель главного врача по науке Республиканской офтальмологической клинической больницы МЗ УР, кандидат медицинских наук, e-mail: rok@udm.net
426009, Ижевск, ул. Ленина, 98а

Жаров Виктор Владимирович, заведующий кафедрой офтальмологии Ижевской государственной медицинской академии Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор, e-mail: rok@udm.net

Васильев Юрий Геннадьевич, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии Ижевской государственной медицинской академии Минздрава России, доктор медицинских наук

426034, Ижевск, ул. Коммунаров, 281, e-mail: devugen@mail.ru

Карбань Оксана Владиславовна, старший научный сотрудник Физико-технического института УрО РАН, доктор физико-математических наук

426001, Ижевск, ул. Кирова, д. 132, e-mail: ocsa123@yahoo.com