

ВЕСТНИК ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ №3(43) (ИЮНЬ 2011)

Официальный печатный орган Ассоциации специалистов восстановительной медицины (АСВОМЕД) и Союза Реабилитологов России (СРР). Журнал включен в перечень рецензируемых изданий ВАК

Вестник восстановительной медицины

№ 3 (43) ИЮНЬ 2011

Regenerative Medicine Journal
ISSN 2078-1962 • Подписной индекс 82151

диагностика

оздоровление

реабилитация



Ассоциация Специалистов
Восстановительной Медицины.
РНЦ восстановительной медицины
и курортологии





Глубокоуважаемые коллеги – читатели нашего журнала!

Очередной номер посвящен дню медицинского работника. Сердечно и искренне поздравляем Вас с нашим замечательным праздником, и желаю все блага жизни – здоровья и благополучия.

Да здравствуют сердца российских медиков и всего российского народа! Мы празднуем наш профессиональный праздник не в лучшие времена. Страна испытывает социальный стресс, кризис здравоохранения, кризис медицины.

В ходе реформ населения России не только сокращаются, но и становится все менее здоровым и трудоспособным и наблюдается сверх высокая и сверххраняя смертность лиц трудоспособного возраста. Главной причиной этого является мощный социально психологический антропогенный стресс.

Такой стресс, прежде всего, проходит через сердце тружеников, поэтов, патриотов. Факторами сохраняющими жизнь являются такие чувства как печаль, унынье, малодушие, ненависть, зависть и зло. Верное утверждение, что «страдание людей - позор мира». Из всех преступлений самое тяжелое бессердечность. Решая многие социально - психологические проблемы мы должны помнить об морально- этических, нравственных составляющих нашей духовной жизни. Сердца наша душа. Сердце двуедино символизирует и дух и тело. В нем сосредоточие чувств и долея точка плоти. Мне представляется, что главное в человеке не мозг, не ум, а то что им управляет – сердце, добрые чувства. Мы оцениваем людей по сердцу, по добрым деяниям, а не по интеллекту. Ум просит успехов, материальных благ, а сердце любви и счастья просит. Только сердце делает человека человеком. В нашей стране существует Всероссийское общество кардиологов научный центр сердечно - сосудистой хирургии, Ассоциация сердечно-сосудистых хирургов России. В июне успешно прошел четвертый съезд аритмологов. В этих учреждениях работают специалисты высокого класса, работают можно сказать круглосуточно. Но поток больных с годами все растет и растет. Что-то неблагополучно с сердцами людей в нашем Отечестве. Большинство научных центров кардиологии находится в столице - в Москве. Но есть в нашей стране и уникальный Пермский институт сердца и его возглавляет профессор С.Г. Суханов профессионал высокого класса с поэтической душой, добрыми и красивыми поступками. Каждый его поступок, каждое письмо, каждая страна каждое биение его сердца будоражат ум и ласкают сердце. О таких людях надо писать книги.

Его праздничными пожеланиями хочу завершить свое повествование.

«Сегодня будет, как обычно, прост

Наш праздничный, наш медицинский пост:

За ту профессию, что нам легла на плечи,

За нас. За медиков! За тех, кто лечит!»

Дорогие российские медики!

Сейте разумное, доброе, вечное!

Сейте! Спасибо Вам скажет сердечное – российский народ!

Будьте здоровы и счастливы!

Академик РАМН

Агаджанян Н.А.

ВЕСТНИК ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

акад. РАМН, д.м.н.,
проф. А. Н. РАЗУМОВ

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА

акад. РАМН, д.м.н.,
проф. Н. А. АГАДЖАНЯН

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

д.м.н., проф. И. П. БОБРОВНИЦКИЙ

ОТВЕТСТВЕННЫЙ РЕДАКТОР

к.м.н. Д. В. КАЛУГИНА

Основан в 2002 году

•
Орган Ассоциации специалистов
восстановительной медицины

•
Учредители: Ассоциация специалистов вос-
становительной медицины

•
ФГУ «Российский научный Центр
восстановительной медицины
и курортологии Росздрава»

•
Журнал включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов ВАК

Ответственность
за достоверность сведений, содержащихся в ре-
кламных объявлениях, несут рекламодатели.
Все права данного издания защищены. Ни одна
из частей журнала не может быть воспроизве-
дена или передана ни в обычной форме, ни с
помощью любых средств, включая электронные
и механические, а также фотокопирование, без
предварительного письменного разрешения
его учредителей.

АДРЕС РЕДАКЦИИ

Россия, 125040, Москва,
ул. Правды, д. 8, корп. 35
Тел.: (495) 742-44-40, доб. 137
e-mail: info@asvomed.ru

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

БЕЗУГЛЫЙ А. П., к.м.н.
БЫКОВ А. Т., д.м.н., член-корр. РАМН
ВАСИЛЕНКО А. М., д.м.н., проф.
ДАМИНОВ В. Д., к.м.н.
ЗВОНИКОВ В. М., д.м.н., проф.
ЗИЛОВ В. Г., д.м.н., акад. РАМН
КАРГАНОВ М. Ю., д.б.н.
КОЧЕТКОВ А. В., д.м.н., проф.
КРУТЬКО В. Н., д.т.н., проф.
КУЗНЕЦОВ А. Н., д.м.н., проф.
КУРАШВИЛИ В. А., д.м.н.
ОВЕЧКИН И. Г., д.м.н., проф.
ОРЕХОВА Э. М., д.м.н., проф.
ПОЛЯЕВ Б. А., д.м.н., проф.
ПОРТНОВ В. В., д.м.н., проф.
ПРЕОБРАЖЕНСКИЙ В. Н., д.м.н., проф.
СКАЛЬНЫЙ А. В., д.м.н., проф.
СОКОЛОВ А. В., д.м.н., проф.
ТРУХАНОВ А. И., д.б.н.
ШАКУЛА А. В., д.м.н., проф.
ШАЛЫГИН Л. Д., д.м.н., проф.
ШЕНДЕРОВ Б. А., д.м.н., проф.
ЩЕГОЛЬКОВ А. М., д.м.н., проф.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

АРЕТИНСКИЙ В. Б., д.м.н., проф.
БЕЛЯКИН С. А., д.м.н.
БУГАНОВ А. А., д.м.н., член-корр. РАМН (г. Надым)
ВИССАРИОНОВ В. А., д.м.н.
ВЛАДИМИРСКИЙ Е. В., д.м.н., проф. (г. Пермь)
ГИЛЬМУТДИНОВА Л. Т., д.м.н., проф. (г. Уфа)
ГРИГОРЬЕВА В. Д., д.м.н., проф.
КРОШНИН С. М., д.м.н., проф.
КУЛИКОВ В. П., д.м.н., проф. (г. Барнаул)
ЛЯДОВ К. В., д.м.н., член-корр. РАМН
НОТОВА С. В., д.м.н., проф. (г. Оренбург)
ОРАНСКИЙ М. Е., д.м.н., проф. (г. Екатеринбург)
ПОНОМАРЕНКО Г. Н., д.м.н., проф. (г. С.-Петербург)
РАХМАНИН Ю. А., д.м.н., акад. РАМН
СИДОРОВ В. Д., д.м.н., проф.
СТУПАКОВ Г. П., д.м.н., акад. РАМН
ТУРОВА Е. А., д.м.н., проф.
ТУТЕЛЬЯН В. А., д.м.н., акад. РАМН
УШАКОВ И. Б., д.м.н., акад. РАМН, член-корр. РАН
ЧЕРНИКОВА Л. А., д.м.н., проф.
ШТАРК М. Б., д.м.н., акад. РАМН (г. Новосибирск)
ЮДИН В. Е., к.м.н.

Журнал зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации
по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.

Регистрационный номер ПИ № 77-13601 от 20 сентября 2002 г.

Подписано в печать 20.06.2011. Формат 60x84 1/8. Бумага офсетная № 1.

Печать офсетная. Объем 10,25 п. л. Тираж 1000 экз. Заказ № 6152.

Отпечатано ОАО «Смоленская городская типография»,

214000, г. Смоленск, ул. Маршала Жукова, 16, тел.: (4812) 59-99-07, 38-28-65, 38-14-53.



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЕ

РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ТКАНЕЙ КОЖИ КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

УДК: 57.017.35

¹Аксенова В.И., ²Шарипова М.М., ³Извольская М.С., ³Воронова С.Н., ³Мельникова В.И.

¹Научно-производственная компания ООО «ОПТИСАЛТ»;

²ГОУ ВПО «Московский Государственный Медико-Стоматологический Университет», г. Москва;

³Учреждение Российской Академии Наук «Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН», г. Москва

Аннотация.

Исследовано влияние растительных препаратов метосепта и витанорма на посттравматическую регенерацию тканей кожи крыс после нанесения им раны в межлопаточной области спины. Доказана эффективность локального использования препаратов, а также их применение внутрь в дозах 40-60 мг/крысу. Выявлено, что комплексное применение метосепта и витанорма стимулирует врожденный иммунитет, ускоряет восстановление дермы кожи и способствует раннему заживлению ран.

Введение.

В отличие от узконаправленного лиганд-рецепторного действия большинства известных химиопрепаратов, натуропатические лекарственные средства, как правило, характеризуются более широким спектром лечебно-профилактического действия вследствие их поликомпонентного состава и менее выраженными нежелательными побочными эффектами. Данное обстоятельство служит основанием для их приоритетного применения в восстановительной медицине. Развитие современных аналитических методов обеспечивает возможность строгого контроля содержания биологически активных веществ, входящих в состав натуропатических препаратов. Современные технологии позволяют заготавливать и перерабатывать лекарственное сырьё, максимально сохраняя все его полезные свойства и обеспечивая производство препаратов согласно всем требованиям фармакопей.

Повышенный исследовательский интерес к препаратам растительного происхождения способствует открытию у них ранее неизвестных свойств и механизмов лечебного действия. Растительный препарат «Метосепт» (регистрационное удостоверение 77.99.23.3.У.6252.6.05) изначально разрабатывался как противопаразитарное средство, а «Витанорм» (регистрационное удостоверение 77.99.23.3.У.6251.6.05К) – как средство, способствующее выведению из организма хозяина продуктов, образующихся при гибели паразитов. В дальнейшем были выявлены более широкие показания к комплексному применению этих двух препаратов [1]. Исходя из состава препаратов, можно предположить возможность их применения в качестве средств, ускоряющих заживление ран. Проверка этой рабочей гипотезы явилась целью представляемого исследования.

Материалы и методы.

Животные. Исследования выполнены на самцах крыс линии Вистар массой 180–200 г. Крыс содержали в стандартных условиях по 2 особи в клетке с контролируемым режимом температуры (24 °С) и освещения (в течение 12 ч), со свободным доступом к воде и пище.

Препараты. В исследованиях использовали смесь препаратов метосепт и витанорм. В состав метосепта

входят корень аира и одуванчика, гвоздика, полынь, тысячелистник, хвощ полевой. Наиболее активными веществами в препарате являются сапонины, фитохимикали иридоиды, горькие гликозиды (акорин), компоненты эфирных масел (азулены), алкалоидоподобное вещество ахиллен, а также микроэлементы: кремний, кобальт, ванадий, цинк, молибден. В состав витанорма входят корни лопуха, одуванчика и имбиря, содержащие эфирные и дубильные вещества, витамины А, Д, Е и группы В, камедь, и микроэлементы: марганец, медь, хром, железо, сера, цинк, селен, йод, кальций, фосфор, бор, магний. Отличительной особенностью комплекса обоих препаратов является наличие в них широкого спектра эссенциальных микроэлементов.

Суточную дозу препаратов (по 2 капсулы каждого) смешивали и рассчитывали терапевтическую дозу на 1 кг веса животного. Препараты смешивали с небольшим количеством пшеничного хлеба в виде шарика и ежедневно кормили животных в течение недели до и после нанесения раны до ее заживления (15-18 суток).

Схема эксперимента. Раневой процесс воспроизводили методом иссечения полнослойного кожного лоскута с повреждением подлежащей фасции и мышечного слоя в межлопаточной области (площадь раны 25 мм²) в проекции шейно-грудного отдела позвоночника. Все животные были разделены на 4 группы. Животные контрольной группы (1-ая группа – 30 крыс) препарат не получали. Одна опытная группа крыс (2-ая группа, 30 крыс) получала терапевтическую дозу препарата (4-6 мг/крысу в зависимости от веса животного). Другая опытная группа (3-я группа, 30 крыс) получала десятикратную дозу от терапевтической (40-60 мг/крысу), 4-ой группе опытных животных (30 крыс) ежедневно наносили препарат в область раневой поверхности. На 2-е, 5-ые, 8-ые и 14-е сутки у животных контрольной и опытной групп брали биопсийный материал (кожу) для цитоморфологического и иммуногистохимического исследования процесса регенерации соединительнотканной основы кожи и состояния эпителизации поверхности раны, по 6 животных на каждую точку. Все манипуляции с животными осуществляли под нембуталовым наркозом (50 мг/кг веса). Воздействие препаратов на рану животных оценивали по площади и скорости заживления ран, гистологическому анализу, наличию дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов и базофилов, а также по дифференцировке эпителиальных клеток кожи.

Площадь раневого поражения измеряли с помощью программы ImageJ. Результаты выражали в процентах от исходной площади. День нанесения ран считали нулевым днем эксперимента.

Фиксация, гистохимия, иммуногистохимия. Полнослойный фрагмент кожи иссекали в области раны и



Рис. 1. Динамика процесса заживления полнослойной кожной раны крысы при комплексном применении растительных препаратов метосепта и витанорма.

Группа 1 (контроль) – без воздействия препаратов; группа 2 – доза препаратов 4-6 мг/крысу; группа 3 – доза препаратов 40-60 мг/крысу; группа 4 – локальное нанесение препаратов на рану. День нанесения ран считали нулевым днем эксперимента.

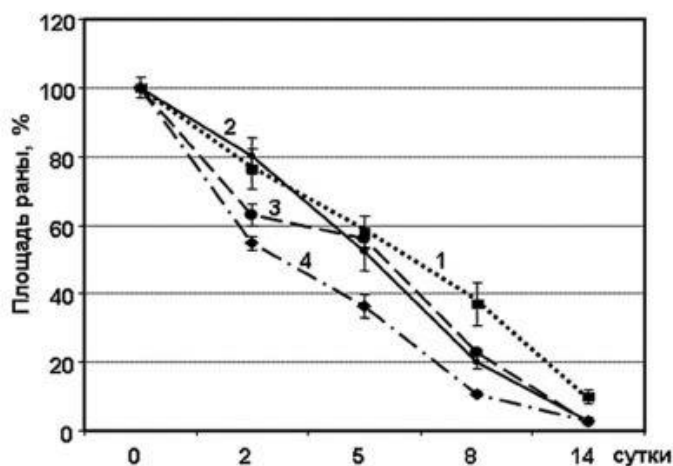


Рис. 2. Площадь кожной раны крыс в динамике процесса заживления под воздействием препаратов метосепта и витанорма. Результаты выражены в процентах от исходной площади.

1 – контрольная группа, без воздействия препаратов; 2 – группа крыс, принимавших препараты в дозах 4-6 мг/крысу; 3 – группа крыс, принимавших препараты в дозах 40-60 мг/крысу; 4 – локальное нанесение препаратов на рану. День нанесения ран считали нулевым днем эксперимента.

фиксируют в 4%-ном растворе параформальдегида в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS) в течение ночи при комнатной температуре. Далее фрагменты кожи инкубировали 24 ч в 15%-ном растворе сахарозы в PBS при 4°C и замораживали в изопентане при -40°C. Криостатные срезы кожи толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилин-эозином с последующим анализом изображения с помощью светового микроскопа.

Для иммуногистохимического окрашивания использовали моноклональные антитела к смеси кератинов 1, 4, 5, 6, 8, 10, 13, 18, 19 (Sigma, США), маркеров эпителиальных клеток, моноклональные антитела к поверхностному маркеру дендритных клеток крысы OX-62 (Cederlane, Канада) и моноклональные антитела к CD68 (Santa Cruz, США), выявляющие основные компоненты лизосомальных мембран макрофагов, моноцитов, нейтрофилов и базофилов. Для иммуногистохимического окрашивания срезы последовательно инкубировали в PBS, содержащем 0,1% Тритона X-100 и 3% нормальной сыворотки теллят в течение 30 мин при 20°C, затем с моноклональными антителами мыши к смеси кератинов (разведение 1:100), OX-62 и CD68 (разведение 1:500) в течение 18 ч при 4°C, а затем со вторыми антителами к иммуноглобулину (IgG, 1:1000) мыши, меченными Alexa 488 (1:100), в PBS в течение 2 ч при 20°C. Специфичность антител подтверждали с помощью контролей, в которых реакцию проводили в отсутствие первых антител. Отсутствие флуоресцентной метки свидетельствовало о специфичности реакции. Реакцию анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DMRXA2 (Германия), оснащенного соответствующим набором светофильтров и цифровой фотокамерой.

Результаты и обсуждение.

Влияние метосепта и витанорма на заживление раневой поверхности. Оценка площади раневой поверхности показала, что заживление полнослойной раны было более интенсивным в 4-й группе (препарат наносили на рану) и в 3-ей группе животных (десятикратно увеличенная доза по сравнению с терапевтической) чем в контрольной (рис. 1, 2). Уже на 2-е постоперационные сутки происходило значительное уменьшение раневой поверхности и отечности у опытных животных в 4-ой группе. Площадь раны составляла около 55%, а в 3-ей – около 62%, тогда как в контроле и в терапевтической дозе – около 80% от исходной (рис. 2). На 5-е сутки площадь раневой поверхности в 4-ой группе составляла около 38%, а на 8-е 10%. Во 2-й и 3-й группах, где животные принимали препарат внутрь, на 5-е сутки площадь раны составляла 60% и была сравнима с контролем. На 8-е сутки площадь ран во 2-й и 3-й опытных группах составляла 22%, а в контроле около 40%.

В заживление ран кожи включается процесс регенерации нарастающего на соединительнотканную основу эпителия [2]. Для оценки полноты эпителизации раны проводили сравнительный анализ гистоструктуры кожи животных разных групп (окраска гематоксилин эозином) и иммуногистохимическое окрашивание срезов кожи антителами ко всем кератинам, содержащимся в эпителиальных клетках кожи (кератины 1, 4, 5, 6, 8, 10, 13, 18, 19). Кератины представляют собой класс белков промежуточных филаментов эпителия, которые создают механическую стабильность и целостность эпителиальных клеток и тканей [3]. Известно, что 15-20 суток соответствуют третьей фазе заживления ран – фазе формирования рубца и его эпителизации [4]. Согласно нашим данным, анализ

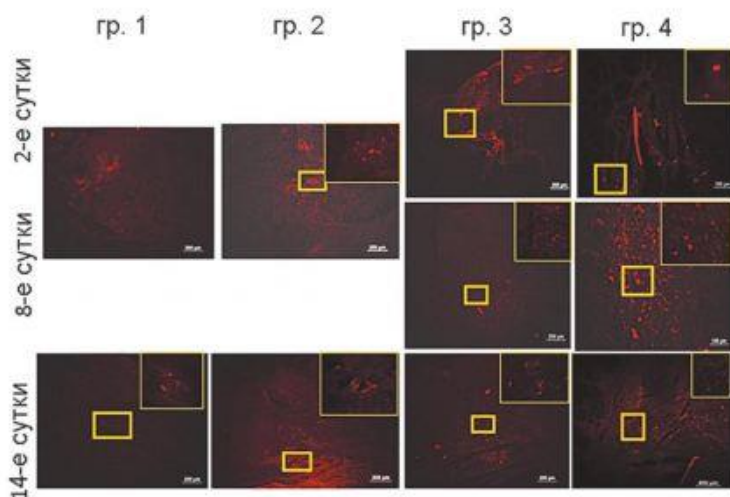


Рис. 3. Иммуногистохимическое окрашивание на OX-62 (маркер дендритных клеток) поперечных срезов кожи в области раны у животных, получавших препараты метосепт и витанорм, на 2, 8 и 14-е сутки после нанесения раны. 1 – контрольная группа, без воздействия препаратов; 2 – группа крыс, принимавших препараты в дозах 4-6 мг/крысу; 3 – группа крыс, принимавших препараты в дозах 40-60 мг/крысу; 4 – локальное нанесение препаратов на рану.

Иммунореактивные дендритные клетки окрашены красным цветом. В правом верхнем углу дендритные клетки при большом увеличении. Масштабный отрезок: 100 или 200 мкм.

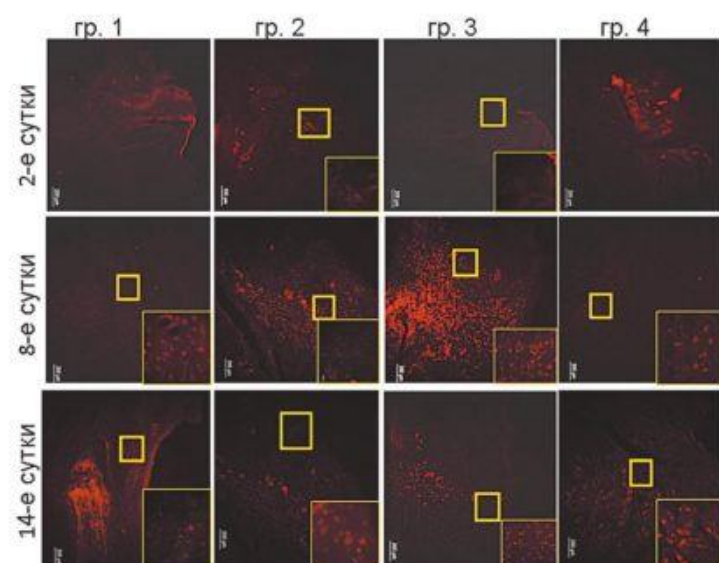


Рис. 4. Иммуногистохимическое окрашивание на CD68 (маркер макрофагов, моноцитов, базофилов) поперечных срезов кожи в области раны у животных, получавших препараты метосепт и витанорм, на 2, 8 и 14-е сутки после нанесения раны.

Иммунореактивные макрофаги окрашены красным цветом. В правом нижнем углу клетки при большом увеличении. Масштабный отрезок: 100 или 200 мкм.

гистоструктуры кожи и уровень кератинов на 14-е сутки не выявил ярко выраженных различий у опытных животных по сравнению с контрольными. Однако следует отметить, что при локальном нанесении препаратов (4-ая группа) на 14-е постоперационные сутки раны были практически очищены от струпа (рис. 1), а на 18-е сутки в 3-й и 4-ой опытных группах были полностью покрыты волосным покровом. В контрольной группе полное заживление ран наблюдалось к 20-22 суткам.

Таким образом, комплексное применение препаратов метосепта и витанорма ускоряет заживление ран. Регенерация ткани кожи под действием препаратов наиболее эффективно происходит при локальном их нанесении на рану, а также при их применении внутрь в дозах 40-60 мг/крысу.

Влияние метосепта и витанорма на иммунную систему кожи: на уровень дендритных клеток и макрофагов. Важную роль в процессах заживления ран играет местная иммунная система кожи. В коже локализуются дендритные клетки и макрофаги, количество которых значительно увеличивается при воспалении. Дендритные клетки локализуются в эпидермисе и дерме, где обеспечивают нейтрализацию и элиминацию проникающих в рану патогенов. Их относят к наиболее мощным антигенпредставляющим клеткам по сравнению с макрофагами [5, 6]. Дендритные клетки секретируют целый ряд веществ, необходимых для жизнедеятельности кожи, и в случае ее поражения и инфицирования продуцируют цитокины вос-

падения: интерлейкины-1 (ИЛ-1 β и ИЛ-6), фактор некроза опухолей (ФНО α), гамма-интерферон [7, 8, 9]. Под влиянием ИЛ-1 β и ФНО α эпидермальные дендритные клетки (в основе своей клетки Лангерганса) активно мигрируют в дерму, откуда выносятся тканевой жидкостью в афферентные лимфатические сосуды, а затем в регионарные лимфатические узлы [10, 11]. В дерме локализуются и собственно дермальные клетки, которые относятся, вероятно, к незрелым миелоидным дендритным клеткам [5].

При помощи иммуногистохимического окрашивания срезов кожи антителами к маркеру дендритных клеток крысы OX-62 выявлены дендритные клетки, как в опытной, так и контрольной группах животных. Однако у контрольных животных, не получавших препараты, они не были обнаружены на 2-е и 8-е сутки, небольшое их количество выявлялось только на 14-е сутки после нанесения раны (рис. 3). Наибольшее количество дендритных клеток определялось в 3-ей и 4-ой опытных группах животных, начиная с 8-х суток, что коррелировало с более быстрым заживлением ран в этих группах по сравнению с контролем. Следует отметить, что дендритные клетки в 3-ей и 4-ой опытных группах были выявлены уже на 2-ые сутки после нанесения раны, хотя и в меньшем количестве, чем на 8-е и 14-е сутки (рис. 3).

Таким образом, различные субпопуляции дендритных клеток, экспрессирующих маркер OX-62 [12], участвуют в процессах регенерации ткани кожи.