
УДК 616.5-001.4-005-02:615.243:[547.95:547.943].015.2:615.31:547.062.0

Ключевые слова: опиопептиды, заживление ран; регионарная и системная гемодинамика

О. С. Медведев, Г. Я. Хулун, С. Е. Спевак,
Л. П. Истранов, М. И. Титов, А. М. Демецкий

КРОВОТОК В ТКАНЯХ КОЖНОЙ РАНЫ И СИСТЕМНАЯ ГЕМОДИНАМИКА ПОД ВЛИЯНИЕМ КОЛЛАГЕН-ДАЛАРГИНОВОГО КОМПЛЕКСА

Институт экспериментальной кардиологии ВКНЦ АМН СССР, Москва

Представлена акад. АМН СССР В. Н. Смирновым

В последние годы благодаря интенсивному изучению биологических свойств пептидов были получены данные о новом фармакологическом эффекте опиопептидов — способности стимулировать регенеративные процессы многих тканей [1, 5—7, 15]. Универсальность репаративного ответа со стороны различных органов под влиянием опиоидных лигандов, с одной стороны, подтверждает ранее выдвинутую гипотезу об их участии в регуляции структурного гомеостаза [2, 3], а с другой — заставляет предположить наличие ведущего звена, единого механизма, лежащего в основе репарации. Основным показателем активности процесса заживления является интенсивность формирования капиллярного русла в местах повреждения [12]. Как правило, заживление протекает быстрее в тканях, лучше васкуляризованных, по сравнению с менее васкуляризованными [10].

В настоящей работе изучено влияние даларгина (Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg) — структурного аналога лей-энкефалина, обладающего опиоидными свойствами, в комплексе с коллагеном на капиллярный кровоток в отделах полнослойных кожных ран спины и показатели системной гемодинамики у крыс в различные сроки заживления.

Методика исследования. Работа выполнена на 23 белых крысах-самцах линии

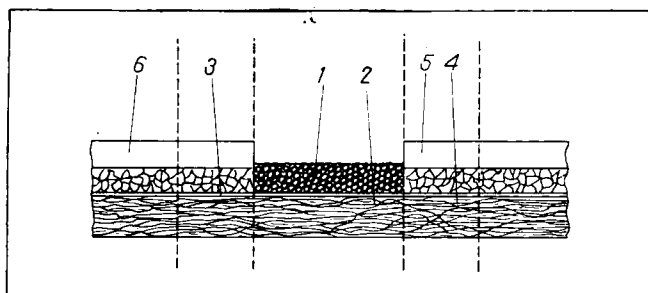


Схема изучавшихся участков кожной раны спины у крыс. 1 — грануляционная ткань дна раны; 2 — подгрануляционная мышечная ткань; 3 — прилежащая к ране мышечная фасция; 4 — прилежащая к ране мышечная ткань; 5 — участок кожи, прилежащий к ране; 6 — интактная кожа спины.

Вистар с начальной массой 260—300 г. Животные были разделены на 3 группы: 1-я — контроль, 2-я — крысам на рану накладывали коллаген в виде губки, 3-я — крысам апплицировали на рану комплекс коллаген — даларгин из расчета $2,4 \cdot 10^{-5}$ г даларгина на 1 кг массы. Для оценки параметров регионарной и системной гемодинамики использован метод радиоактивных микросфер [9, 11] в модификации [4]. Под нембуталовым наркозом в брюшную аорту через бедренную артерию и в левый желудочек через правую сонную артерию вводили полиэтиленовые катетеры PE10 («Portex», Англия), концы которых проводили в подкожном тоннеле и фиксировали на коже в межлопаточной области. Через 1 сут под эфирным наркозом на определен-

ном участке спины удаляли полнослойный лоскут кожи диаметром 22 мм. Для предотвращения контракции в края раны вшивали тефлоновые кольца соответствующего диаметра, которые закрывали крышками для фиксации коллагена и исключения возможности инфицирования. Животных содержали в индивидуальных клетках. Губку меняли 1 раз в сутки в течение 7 сут. У контрольных животных избыток экссудата удаляли стерильными салфетками. При проведении всех операций соблюдали правила асептики. У крыс в условиях свободного поведения на 3, 5, 7 и 10-е сутки регистрировали артериальное давление (АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) в аорте («Hellige», ФРГ). В эти же сроки в левый желудочек вводили взвесь отмытых от декстрана радиоактивных микросфер диаметром 15 мкм, меченных ^{141}Ce , ^{51}Cr , ^{95}Nb или ^{46}Sc (NEN, США). Однократно вводили около 100 000 микросфер. После последнего введения животных умерщвляли передозировкой нембутала и замораживали при -20°C для облегчения препаровки тканей. Участки регенерирующей раны (см. рисунок), а также внутренних органов и интактной кожи взвешивали и измеряли количество захваченных микросфер на гамма-счетчике «СотриГамма» модель 1281 (ЛКВ, Швеция). Все расчеты проводили по стандартным формулам [11] на компьютере «Лабтам 3015». Даларгин синтезирован в лаборатории синтеза пептидов Института экспериментальной кардиологии ВКНЦ АМН

Т а б л и ц а 1

Динамика кровотока (в мл/мин·г) в различных участках регенерирующей кожной раны под влиянием комплекса коллаген-даларгин ($M \pm m$)

Объект исследования	Срок исследования, сут	Контроль (8)	Коллаген (7)	Коллаген-даларгин (8)
Грануляционная ткань дна раны	3	$1,08 \pm 0,19$	$1,55 \pm 0,21$	$3,18 \pm 0,36^{a,6}$
	5	$2,16 \pm 0,24$	$3,44 \pm 0,47^a$	$1,86 \pm 0,24^6$
	7	$2,37 \pm 0,34$	$4,27 \pm 0,80^a$	$1,42 \pm 0,26^{a,6}$
	10	$1,25 \pm 0,28$	$2,31 \pm 0,61$	$1,14 \pm 0,20$
Подгрануляционная мышечная ткань	3	$0,91 \pm 0,11$	$0,94 \pm 0,14$	$1,20 \pm 0,12$
	5	$0,78 \pm 0,12$	$0,54 \pm 0,09$	$1,04 \pm 0,21$
	7	$0,74 \pm 0,13$	$0,47 \pm 0,10$	$0,84 \pm 0,25$
	10	$0,64 \pm 0,10$	$0,55 \pm 0,08$	$0,52 \pm 0,05$
Прилежащая к ране мышечная фасция	3	—	$0,70 \pm 0,16$	$0,75 \pm 0,12$
	5	—	$0,83 \pm 0,11$	$0,95 \pm 0,18$
	7	—	$0,85 \pm 0,35$	$0,65 \pm 0,15$
	10	—	$0,74 \pm 0,15$	$0,70 \pm 0,11$
Прилежащая к ране мышечная ткань	3	—	$0,56 \pm 0,05$	$0,45 \pm 0,04$
	5	—	$0,41 \pm 0,06$	$0,44 \pm 0,06$
	7	—	$0,35 \pm 0,05$	$0,38 \pm 0,03$
	10	—	$0,43 \pm 0,05$	$0,32 \pm 0,05$
Участок кожи, прилежащий к ране	3	$0,54 \pm 0,09$	$0,47 \pm 0,04$	$0,55 \pm 0,08$
	5	$0,52 \pm 0,06$	$0,51 \pm 0,08$	$0,48 \pm 0,05$
	7	$0,46 \pm 0,04$	$0,51 \pm 0,07$	$0,50 \pm 0,07$
	10	$0,40 \pm 0,05$	$0,62 \pm 0,11$	$0,59 \pm 0,04$
Интактная кожа спины	3	$0,35 \pm 0,06$	$0,41 \pm 0,06$	$0,40 \pm 0,05$
	5	$0,35 \pm 0,05$	$0,39 \pm 0,07$	$0,38 \pm 0,04$
	7	$0,30 \pm 0,03$	$0,33 \pm 0,04$	$0,33 \pm 0,04$
	10	$0,20 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,06^a$	$0,37 \pm 0,03^a$

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2: в скобках — число животных; а — $p < 0,05$ по сравнению с контролем, б — то же по сравнению с применением коллагена.

Показатели системной гемодинамики у крыс при лечении ран коллаген-даларгиновым комплексом

Показатель гемодинамики	Срок исследования, сут	Контроль (8)	Коллаген (7)	Коллаген-даларгин (8)
АД, мм рт. ст.	3	94,3±2,7	85,5±1,5 ^a	84,7±1,7 ^a
	5	89,5±2,7	85,2±1,6	82,7±1,5
	7	85,7±2,0	89,7±3,7	82,1±1,3
	10	88,3±2,1	87,8±2,2	83,0±1,8
ЧСС в 1 мин	3	480,8±12,4	440,8±4,7 ^a	430,1±11,3 ^a
	5	451,1±12,7	426,2±6,2	413,0±10,0 ^a
	7	448,1±7,2	428,7±9,2	413,1±9,6 ^a
	10	425,3±11,0	414,5±5,3	424,3±7,5
СВ, мл/мин	3	136,4±6,4	144,1±5,8	143,8±6,8
	5	142,7±8,7	142,2±7,8	147,3±6,9
	7	162,0±7,1	156,9±6,9	146,8±9,4
	10	141,8±9,0	157,2±4,9	149,9±8,0
СИ, мл/мин·100 г	3	49,7±2,3	51,3±1,7	48,4±2,0
	5	53,0±2,8	51,9±2,9	50,2±1,7
	7	60,6±3,0	57,0±2,6	50,0±2,2 ^a
	10	54,4±4,0	57,0±1,4	51,2±1,8 ^b
Общее периферическое сопротивление (АД/СИ)	3	1,92±0,08	1,68±0,07	1,78±0,10
	5	1,72±0,09	1,68±0,11	1,67±0,08
	7	1,43±0,05	1,57±0,09	1,67±0,07 ^a
	10	1,67±0,10	1,54±0,05	1,64±0,07

СССР, комплекс коллаген — даларгин получен в ЦНИЛ I ММИ им. И. М. Сеченова. Все результаты обработаны статистически с использованием *t* критерия Стьюдента.

Результаты исследования. Кровоток в грануляционной ткани животных, не получавших лечения, достигает максимума на 7-е сутки (табл. 1), что полностью согласуется с результатами, полученными на аналогичной модели открытой раны у крыс [13]. Этот период соответствует формированию грануляционной ткани с вертикальными сосудистыми петлями [8]. В дальнейшем, по мере созревания грануляционной ткани, количество капилляров уменьшается, снижается величина кровотока. Под влиянием коллагена на 5-е сутки после операции наблюдается достоверное увеличение кровотока в грануляционной ткани по сравнению с нелеченой раной и так же, как в контроле, достигает максимума на 7-е сутки, однако почти в 2 раза превышает контрольное значение. К моменту созревания грануляционной ткани (10-е сутки) кровоток несколько снижается. Отсюда ясно, что, хотя коллаген и усиливает кровоток, его эффект проявляется лишь в период естественно возникающего пика формирования капилляров в гранулирующей ране. Возможно, в этой реакции проявляется свойство коллагеновой губки не только стимулировать функцию фибробластов, но и абсорбировать избыток экссудата, содержащего сывороточные протеины, простагландины, фибринолитические факторы и др., подобно влиянию гидрофильных раневых покрытий, что, по мнению некоторых авторов [14], снижает проявление компонентов воспалительной реакции и способствует формированию коллагена и усилению кровотока.

Аппликация на раневую поверхность коллаген-даларгиновой губки уже на 3-и сутки после операции, т. е. на 4 сут раньше, чем у контрольных животных, приводит к значительному увеличению капиллярного кровотока в грануляционной ткани, что соответствует более раннему ее формированию и, следовательно, созреванию. Об этом свидетельствует снижение кровотока на 5-е сутки по сравнению с 3-ми и достоверное его уменьшение на 7-е сутки по сравнению с интактными ранами и лечеными коллагеном. Эти данные подтверждаются результатами гистологического и гистохимического изучения тканей гранулирующей раны под влиянием даларгина [8], демонстрирующих более выраженную на 2—4-е сутки пролиферацию фибробластов с увеличением числа митозов, быструю их дифференцировку и усиление секреции кислых гликозаминогликанов, коллагена, фибриллогенеза коллагена, более ранний и активный рост сосудистых элементов — эндотелиальных тяжей и капилляров.

Аналогичные изменения кровотока наблюдаются и в других отделах кожной раны в динамике заживления, в частности в мышечной ткани под слоем грануляций. При этом интенсивность кровотока в неповрежденных тканях не изменяется при лечении даларгином (см. табл. 1).

У животных под влиянием операции отмечается некоторая тахикардия в ранние сроки, нарастание сердечного выброса (СВ) и сердечного индекса (СИ) к 7-м суткам после операции (табл. 2). Местное применение коллаген-даларгиновой губки оказывает определенное стабилизирующее влияние на все эти параметры: средние значения АД, ЧСС, СВ и СИ в динамике

заживления сохранялись практически постоянными. Это позволяет заключить, что наблюдаемые изменения регионарного кровотока в тканях регенерирующей раны при применении даларгина не связаны с его влиянием на показатели системной гемодинамики.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что в механизме влияния даларгина как стимулятора репарации поврежденных тканей по крайней мере одним из звеньев может быть активация кровотока в регенерирующих тканях. Кровоток в грануляционной ткани является функцией степени вазодилатации и количества функционирующих кровеносных сосудов [13]. Анализ результатов, полученных методом радиоактивных микросфер и методами гистологии и гистохимии, дает основание считать, что в усилении кровотока в открытой ране в раннем периоде заживления под влиянием даларгина участвуют оба механизма, чем и обеспечивается в значительной степени ранозаживляющая активность даларгина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов В. А., Полонский В. М. // Бюл. экспер. биол. — 1985. — № 5. — С. 548.
2. Ильинский О. Б., Козлова М. В., Кондрикова Е. С., Каленчук В. У. // Журн. эволюц. биохим. — 1985. — № 5. — С. 511.
3. Ильинский О. Б., Спевак С. Е., Соловьева А. И. и др. // Нейропептиды: Их роль в физиологии и патологии. — Томск, 1985. — С. 58.
4. Медведев О. С., Мурашев А. Н., Меерцук Ф. Е., Дугин С. Ф. // Физиол. журн. СССР. — 1986. — № 2. — С. 253.
5. Полонский В. М., Тищенко В. А. // Нейропептиды: Их роль в физиологии и патологии. — Томск, 1985. — С. 147.
6. Слепушкин В. Д., Павленко В. С., Лишманов Ю. Б. и др. // Эпидемиология, диагностика, лечение и реабилитация сердечно-сосудистых заболеваний. — Каунас, 1984. — С. 514.
7. Смагин В. Г., Виноградов В. А., Булгаков С. А. и др. // Тер. арх. — 1984. — № 11. — С. 49.
8. Спевак С. Е., Соловьева А. И., Шехтер А. Б. // Бюл. Всесоюз. кардиол. науч. центра. — 1986. — № 2. — С. 78.
9. Hales Y. R. S. // Clin. exp. Pharmacol. Physiol. — 1974. Suppl. 1. — P. 31.
10. Hayes H. // J. derm. Surg. Oncol. — 1977. — Vol. 3. — P. 188.
11. Heymann M. A., Payne B. D., Hoffman J. I. E., Rudolph A. M. // Progr. cardiovasc. Dis. — 1977. — Vol. 20. — P. 55.
12. Lee B. Y., Trainor F. S., Kavner D. et al. // Surg. Gynec. Obstet. — 1979. — Vol. 148. — P. 233.
13. Lundberg C., Campbell D., Agerup B., Ulfendahl H. // Scand. J. plast. reconstr. Surg. — 1982. — Vol. 16. — P. 123.
14. Lundberg G. // Ibid. — 1985. — Vol. 19. — P. 11.
15. Zagon I. S., McLaughlin P. J. // Science. — 1984. — Vol. 221. — P. 1179.

Поступила 27.01.87

EFFECTS OF COLLAGEN-DALARGIN COMPLEX ON THE BLOOD FLOW IN SKIN WOUNDS AND SYSTEMIC HEMODYNAMICS

O. S. Medvedev, G. Ya. Khulup, S. E. Spevak, L. P. Istranov, M. I. Titov, A. M. Demetsky

USSR Cardiology Research Centre, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

It has been demonstrated that a collagen-dalargin complex increases blood flow in the granulation tissue (microsphere technique) due to the formation of new capillaries and a decrease in the vascular resistance. Dalargin had no effect on the capillary blood flow in the unaffected tissues. It has been concluded that the wound healing effect of dalargin may be related to its involvement in angiogenesis regulation.