

УДК 615,262.03:616- 005.98

И.В.Аветисян, А.С.Агабалян, Е.Г.Джанполадян

Влияние кальциевого преципитата двухспиральной РНК на постожоговые восстановительные процессы

(Представлено академиком Э.Г. Африкяном 5/II 2003)

Известно, что в клинике термических поражений наблюдается значительное увеличение частоты ожогового сепсиса, отличающегося высокой летальностью. Особенно тяжело протекают восстановительные процессы в ожоговых ранах, когда резорбция токсических веществ достигает критического уровня [1]. В последние годы в литературе широко обсуждается вопрос о роли иммуномодуляторов в лечении ран различного происхождения, в частности ожоговых [2-5]. Нами ранее было показано, что применение низкомолекулярной двухспиральной РНК в виде кальциевого преципитата (Ca^{2+} -дсРНК) в 2-3 раза ускоряло сроки заживления экспериментальной раны [2]. Представлялось целесообразным изучить влияние Ca^{2+} -дсРНК на динамику заживления ожоговой раны, а также на характеристику фосфолипидного состава крови при этой экспериментальной патологии.

Эксперименты по изучению влияния Ca^{2+} -дсРНК, используемой в составе мазевой композиции, на процессы заживления ожоговых ран, проводили на 100 белых беспородных крысах-самцах массой 160-180 г. Термический ожог у животных воспроизводили на депилированной области спины животных под легким эфирным наркозом аппликацией электронагревательного элемента размером $1.5 \times 1.5 \text{ см}^2$ с заданной температурой 150°C . Мазевые композиции, содержащие нуклеинат натрия (НН) и Ca^{2+} -дсРНК наносили на спину животного через 10-15 мин после воспроизведения ожогов. Препараты Ca^{2+} -дсРНК получали как описано ранее [2, 3]. Животные были подразделены на 4 группы (по 25 в каждой): 1-я - интактные животные, 2-я - животные с ожоговой раной, нелеченные, 3-я - животные с ожоговой раной, леченные мазевой композицией с нуклеинатом натрия, и наконец 4-я группа - животные с ожоговой раной, леченные мазевой композицией, содержащей Ca^{2+} -дсРНК.

Материал для гистоморфологического исследования отбирали в течение всего срока наблюдения. Биоптаты фиксировали в 10% растворе формалина и заливали в парафин. Срезы толщиной 7-8 мкм окрашивали гематоксилином и по Ван-Гизону.

Исследование фосфолипидного состава цельной крови подопытных животных проводили на 2-е и 30-е сутки, в качестве свидетелей использовали фосфолипиды (ФЛ) фирмы «Сигма»: лизофосфатидилхолин (ЛФХ), сфингомиелин (СФМ), фосфатидилинозит (ФИ), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), кардиолипин (КЛ).

Гистоморфологическое исследование раневых биоптатов, взятых на 2-3-е сутки после нанесения ожогов, выявило идентичность морфологической картины во всех трех опытных группах. Основной ее особенностью в эти сроки являлось преобладание коагуляционного некроза эпидермиса и поверхностного слоя дермы. В центральной части очага повреждения в связи с сильной коагуляцией отмечалось отсутствие мышечных волокон и клеток соединительной ткани, а сама рана была заполнена фибрином. В периферических и глубоких слоях мышечные волокна имели вид либо безъядерных, оксифильных, гомогенных или глыбчатых фрагментов, либо фрагментов, лишенных поперечной исчерченности, с частично лизированными ядрами. Среди них в большом количестве выявлялись сегментоядерные лейкоциты.

У животных 3-ей и 4-ой групп через двое суток после начала лечения преобладал выраженный коагуляционный некроз кожи, сопровождавшийся интенсивной полиморфноклеточной инфильтрацией. На третьи сутки наблюдалось разрушение сегментоядерных лейкоцитов, а также увеличение числа лимфоидных клеток, гистиоцитов и полибластов с выраженной макрофагальной функцией.

Первые признаки активации регенерационных процессов наблюдались на 8-е сутки в четвертой группе животных, леченных Ca^{2+} -дсРНК. В эти сроки преимущественно отмечалось формирование грануляций, в более поздние сроки наблюдения сопровождавшееся наличием новообразованного эпителия. В них выделялись признаки митотического деления клеток. Среди грануляционной ткани видны кровеносные капилляры синусоидного типа. В участках, богатых вытянутыми клетками, наблюдались упорядоченно расположенные коллагеновые волокна. Важно отметить, что на 8-е сутки в других группах животных доминировали изменения некротическо-воспалительного характера.

Начиная с 21-ых суток и до конца срока наблюдения (30-е сутки) результаты гистологического исследования в биоптатах четвертой группы животных, леченных Ca^{2+} -дсРНК, однозначно свидетельствовали о практически полной нормализации процесса регенерации: повсеместно отмечалась нормальная дифференцировка эпидермиса и восстановление кожных придатков. В то же время у животных всех групп в эти сроки сохранялись отек дермы, гиперимия и воспалительно-клеточная инфильтрация лимфоидными клетками. Во многих случаях просматривались очаги склерозированных грануляций.

При изучении фосфолипидного состава цельной крови опытных животных на 2-е и 30-е сутки после воспроизведения ожогов выявлено существенное отклонение этих показателей от их нормальных величин.

**Содержание фосфолипидов в цельной крови животных с ожоговыми ранами,
леченных НН и Ca^{2+} -дсРНК**

Фрак- ции ФЛ	Норма	Контроль (без лечения)		Ожоги + НН		Ожоги + Ca^{2+} -дс РНК	
		2 сутки	30 сутки	2 сутки	30 сутки	2 сутки	30 сутки
ЛФХ	4.3±0.6	12.3±0.9*	11.8±0.8*	12.2±0.6*	11.5±1.2*	11.1±1.8*	8.3±1.3*
ФИ	8.2±1.6	14.4±1.1*	13.1±1.1*	13.6±0.7*	13.7±0.6*	13.9±2.1*	9.6±0.7
СФМ	6.8±0.9	12.4±0.8*	14.0±1.2*	12.4±0.8*	15.4±1.9*	11.5±0.9*	12.8±2.1*
ФХ	44.3±6.8	32.7±2.7	30.6±3.8	33.3±2.6	30.8±3.3*	33.0±4.1	36.5±2.3
ФС	16.4±1.1	7.9±1.6*	9.7±1.2*	7.8±0.8*	10.4±1.8*	10.5±0.8*	13.2±0.5*
ФЭ	8.0±1.5	13.3±2.9	14.9±2.2*	14.7±1.8*	12.8±1.9	12.6±1.2*	10.8±1.8
КЛ	12.0±0.4	7.0±1.5*	5.9±0.3*	6.0±0.9*	5.4±0.5*	7.4±0.8*	8.8±0.8
	n = 25	n=25	n=10	n=25	n=14	n=25	n=20

Примечание: во всех случаях $P < 0.05^*$

Так, уменьшение количественного содержания ФХ на вторые сутки регистрировалось во всех трех группах опытных животных, что указывает на активацию процессов перекисного окисления липидов. Повышенный уровень ЛФХ в контрольной группе животных сохранялся на достаточно высоком уровне и в конце срока наблюдения. Необходимо отметить, что в эти же сроки в группе животных, леченных Ca^{2+} -дсРНК, этот показатель был на нормальном уровне или незначительно выше.

При исследовании количественного содержания СФМ в крови всех животных опытных групп как на 2-е, так и на 30-е сутки наблюдения установлено значительное повышение количественного баланса этого показателя. Довольно высокое содержание СФМ в его липидном компоненте клеточных мембран свидетельствует об их ригидности, а количественное увеличение ФИ в мембранах форменных элементов крови имеет, по-видимому, компенсаторный характер.

Особый интерес в наших исследованиях представляет снижение уровня ФС и КЛ в крови животных, не леченных Ca^{2+} -дсРНК в течение всего срока наблюдения. Как известно, термические ожоги в результате активации радикальных окислительных процессов приводят к изменению липидного состава мембран и стимуляции апоптоза [6]. Апоптоз играет значительную роль в развитии и регуляции иммунного ответа, связанного с повышенной гибелью клеток. В этом смысле при изучаемой патологии особое значение приобретает воздействие естественных скрытых аутоантител, обладающих цитотоксичностью для клеток различных тканей, в том числе и эпителиальных клеток [7]. В плазме крови они находятся в связанном состоянии. Их активность выявляется при воздействиях, вызывающих разрушение иммунных комплексов. В частности, было показано, что в результате ожогового шока повышается титр антител, взаимодействующих преимущественно с отрицательно заряженными антигенами - кардиолипином, фосфатидилсерином [8,9].

Исходя из сказанного можно предположить, что снижение количественного содержания ФС

и КЛ в контрольной группе и группе, леченной мазевой композицией, содержащей НН, является результатом активации натуральных аутоцелл и их способности взаимодействовать с мембранами клеток, приводящей к изменению их функций и гибели [10,11].

Лечение экспериментальных животных Ca^{2+} -дсРНК сразу же после нанесения ожогов приводит к изменению картины фосфолипидного состава крови в сторону нормализации. На 30-е сутки содержание ФС и КЛ в крови животных этой группы было значительно повышено, а содержание ФИ снижалось с тенденцией к нормализации. Летальность животных во второй группе составила 60%, в третьей - 55% и в четвертой - 20%, что также указывает на эффективность мазевой композиции, содержащей Ca^{2+} -дсРНК.

Таким образом, полученные результаты показывают, что однократное применение мазевой композиции, содержащей Ca^{2+} -дсРНК, сразу же после воспроизведения ожогов оказывает значительное иммуно- и биомодулирующее действие, приводя в конечном счете к ускорению процесса заживления ожоговой раны, о чем свидетельствуют морфологическая картина заживления раны, восстановление фосфолипидного состава крови животных и выраженное уменьшение процента летальности.

Ереванский государственный медицинский
университет им. М. Гераци

Литература

1. Пылаев С.И., Гординская Н.А., Вазина И.Р. и др. - Журн. микробиол. эпидемиол. иммунол. 2000. N1. С.72-75.
2. Агабалян А.С., Назаров Л.У., Акопян Э.Б. и др. - ДНАН Армении. 1993. Т.94. N3. С.173-177.
3. Агабалян А.С., Аветисян И.В., Баблоян Р.С. и др. - Биол. журн. Армении. 1998. Т. 51. N1-2. С.15-18.
4. Вазина И.Р., Бушуев Ю.И., Сосн Е.Ю. - Вест. хирургии. 1985. Т.135. С. 66-68.
5. Хмилевская И.Г. - Микробиол. журн. Киев. 2000. N 1. С. 48-51.
6. Кагап В.Е. - X Междунар. конф. по химии орган.и элемент. органич. пероксидов. 1998. С.3.
7. Yolan T.D., Yharavi A.E., Elkom K.V. et al. - J.Invest. Dermatol. 1993. V.100. P.316-322.
8. Абакушин Д.Н., Хлоповская Е.И., Будагов Р.С. и др. - Бюлл. экспер. биологии. 1996. Т.122. С.425-426.
9. Lekakh I.V., Kiseleva V.I., Poverennyi A.M. - FEBS Lett.1977. V.31. P.176.
10. Mohan C., Adams S., Stanik V. et al. - Ibid. 1977. V.31. P.1367-1381.
11. Zamulaeva I.A., Lekakh I.V., Kiseleva V.I. et al - Ibid. 1997. V.413. P.231-235.

Ի.Վ. Ավետիսյան, Ա.Ս. Աղաբալյան, Ե.Գ. Ջանփոլադյան

**Ca^{2+} եթ ՌՆԹ-ի ազդեցությունը հետալրվածքային վերականգնված
գործընթացի վրա**

Կատարված է նատրիումի նուկլեինատի և Ca^{2+} եթ ՌՆԹ-ի իմունակարգավորող ազդեցության հետազոտություն փորձարարական մեթոդով առաջացրած հետալրվածքային գործընթացի վրա:

Ցույց է տրված այդ միացությունների դրական ազդեցությունը առողջության գործընթացի ձևաբանական պատկերի մակարդակի և արյան ֆոսֆոլիպիդային բաղադրության դինամիկայի վրա: