

Пептидний склад екстрактів шкіри в залежності від її фізіологічного стану

Peptide Composition of Skin Extracts Depending on Its Physiological State

Вивчали вплив різного виду травм та уведення екстрактів шкіри новонароджених поросят або селезінки свиней на пептидний склад водно-сольових екстрактів шкіри щурів. Встановлено, що пептидний склад екстрактів шкіри залежить від виду травми. Уведення екстракту шкіри поросят або селезінки свиней в черевну порожнину щурів змінює пептидний склад екстракту нормальної шкіри, прискорює загоєння холодкових травм і нормалізацію молекулярно-масового спектра речовин пептидної природи в екстрактах травмованої шкіри.

Ключові слова: екстракт, травма шкіри, пептиди.

Изучали влияние различного вида травм и введения экстрактов кожи новорожденных поросят или селезенки свиней на пептидный состав водно-солевых экстрактов кожи крыс. Установлено, что пептидный состав экстрактов кожи зависит от вида травмы. Введение экстракта кожи поросят или селезенки свиней в брюшную полость крыс изменяет пептидный состав экстракта нормальной кожи, ускоряет заживления холодковых травм и нормализацию молекулярно-массового спектра веществ пептидной природы в экстрактах травмированной кожи.

Ключевые слова: экстракт, травма кожи, пептиды.

The effect of traumas of different types and injection of skin extracts of newborn piglets or pig's spleen on peptide composition of aqueous-saline extracts of rat's skin. It has been established that peptide composition of skin extracts depends on trauma type. Injection of piglets' skin extract or pigs' spleen in abdominal cavity of rats changes the peptide composition of normal skin extract, promotes regenerative of cold traumas and normalization of molecular-mass spectrum of the substances of peptide origin in extracts of traumatized skin.

Key-words: extract, skin trauma, peptides.

Усі клітини постійно підтримують в організмі функціонально необхідний рівень регуляторних пептидів [3]. Такі пептиди приймають активну участь в регуляції як фізіологічної, так і репаративної регенерації. Будь-яке відхилення від нормального функціонування органа чи тканини повинно супроводжуватися зміною молекулярно-масового спектра пептидів. В повній мірі це відноситься до шкіри. На даний час патофізіологічні механізми, що впливають на процес формування та швидкість репаративних реакцій в зоні ураження шкіри, вивчені недостатньо. Встановлено також, що водно-сольові екстракти кріоконсервованих фрагментів органів впливають на швидкість і вираженість процесів репарації та регенерації при різних патологічних станах [1].

Мета роботи – вивчити вплив травм різного виду та уведення екстрактів шкіри новонароджених поросят (ЕШНП) і селезінки свиней (ЕСС) на пептидний склад водно-сольових екстрактів шкіри щурів.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини
НАН України, м. Харків

* Автор, якому необхідно направляти кореспонденцію:
вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61015; тел.: +38 (057) 373-31-26, факс: +38 (057) 373-30-84, електронна пошта: cryo@online.kharkov.ua

Матеріали і методи

Експерименти проведено відповідно до “Загальних принципів експериментів на тваринах”, схвалених II Національним конгресом з біоетики (2004 р., Київ, Україна) і узгоджених з положеннями “Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і інших наукових цілей” (Страсбург, 1985).

Перед нанесенням травм шкіру епілювали в ділянці стегна. Три паралельні різані рани завглибшки 2 мм, завдовжки 10 мм наносили з інтервалом 5 мм. Термічні травми наносили мідним аплікатором діаметром 10 мм з температурою 100°C і –196°C, експозиція 35 і 60 с відповідно. Опромінення ультрафіолетом проводили еритемною лампою з відстані 10 см на протязі 10 хв.

Екстракт кріоконсервованих фрагментів шкіри новонароджених поросят і селезінки свиней одержували за методом [4] та уводили в черевну порожнину по 1 мл 1 раз на добу. Концентрація пептидів в екстрактах становила 100 мкг/мл. Всі маніпу-

*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 3126, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

ляції з тваринами проводили під поверхневим ефірним наркозом. Екстракти нативної шкіри після нанесення травм та уведення ЕШНП і ЕСС отримували інкубуванням фрагментів шкіри в фізіологічному розчині протягом 60 хв.

Для визначення молекулярно-масового розподілу речовин пептидної природи в екстрактах використовували високоефективну гельпроникаючу хроматографію.

Результати та обговорення

З розшифровки хроматограм екстрактів нативної шкіри щурів і після нанесення відповідних травм видно (табл. 1), що вони відрізняються за кількістю піків. Мінімальна їх кількість реєструється на хроматограмі нативної шкіри. Загальним для всіх видів травм, але відсутнім на хроматограмі нативної шкіри, є пік А, який відповідає речовинам пептидної природи з м.м. 8800. Але кількість цих пептидів у відсотковому відношенні при різних травмах різна. Можна припустити, що саме ці речовини регулюють неспецифічну відповідь шкіри на травму незалежно від виду пошкодження. Найбільша кількість піків спостерігається на хроматограмах екстрактів шкіри після холодової травми та ультрафіолетового опіку, а найменша – при опіковій травмі. Такий характер молекулярно-масового розподілу

речовин пептидної природи в екстрактах може свідчити про різні механізми та ступінь пошкодження тканинних структур, а отже і про різні механізми специфічної відповіді на травму, які проявляються в продукції необхідних в кожному випадку пептидів для регуляції протікання процесів запалення та регенерації.

При дослідженні процесу загоєння холодкових та опікових ран було встановлено, що при уведенні ЕШНП або ЕСС помітно збільшується швидкість та якість загоєння. При їх місцевому застосуванні не тільки прискорюється процес загоєння опікових ран, але й спостерігається більш рання ерадикація ран від мікроорганізмів, скорочується час проходження фази запалення, грануляційна тканина утворюється в більш ранні строки. Така дія екстрактів може бути пов'язана з наявністю в них регуляторних пептидів [3, 5].

В даній роботі ми дослідили, як уведення ЕШНП або ЕСС в черевну порожнину впливає на пептидний спектр нормальної шкіри. На хроматограмі нативної шкіри щурів реєструється пік, що відповідає пептидам з м.м., більшою за 10000, і два піки, що відповідають пептидам з м.м. 1438 і 1087 (табл. 2). На третю добу уведення екстрактів кількість піків на хроматограмах значно збільшується. Але якщо на 7-у добу уведення ЕШНП

Таблиця 1. Відсотковий вміст пептидних фракцій в екстрактах шкіри щурів в залежності від виду травми

Фракція	Молекулярна маса	Умови експерименту				
		Нативна шкіра	Різана рана	Холодова травма	Опікова травма	УФ травма
Р	10000	55,467	72,832	28,12	81,587	41,727
А	8800	–	0,627	19,36	8,43	4,627
А1	7700	–	–	–	–	5,677
А3	6000	–	–	5,939	–	3,231
А4	5100	–	–	3,12	–	3,4
А5	4500	–	–	4,517	–	4,047
А6	4000	–	–	–	0,386	–
В	3500	–	1,002	6,902	–	9,917
В1	2700	–	–	3,705	–	–
С	1600	–	–	9,406	–	8,515
F1	1438	17,87	7,601	–	–	–
Д	1200	–	–	18,929	9,598	18,828
Г	1087	26,663	17,121	–	–	–
Е	900	–	0,817	–	–	–

Таблиця 2. Відсотковий вміст пептидних фракцій в екстрактах шкіри щурів в залежності від уведення ЕШНП або ЕСС

Фракція	Молекулярна маса	Умови експерименту				
		Нативна шкіра	3-я доба уведення ЕШНП	7-а доба уведення ЕШНП	3-я доба уведення ЕСС	7-а доба уведення ЕСС
P	10000	55,457	20,427	24,778	40,120	44,320
A	8800	–	–	–	1,112	2,310
A2	6800	–	4,707	–	–	–
A4	5100	–	7,128	–	2,801	1,119
A6	4000	–	8,204	–	0,171	0,303
B	3500	–	–	–	–	0,237
B2	2200	–	5,395	–	1,828	0,811
C	1600	–	22,321	44,678	18,859	–
F1	1438	17,87	–	–	–	20,718
D	1200	–	22,29	30,554	35,109	–
G	1087	26,663	–	–	–	30,182
E	900	–	28,296	7,345	–	–

кількість піків зменшується до 3-х, то при уведенні ЕСС вона збільшується на один пік. Це може бути пов'язано з тим, що дія ЕШНП тканинспецифічна, а дія ЕСС опосередковується завдяки нормалізації кількості і функціональної активності лімфоцитів, які приймають активну участь в регуляції фізіологічної і репаративної регенерації. Експериментальні дані імунології і клітинної біології свідчать, що лімфоцитами, які регулюють проліферацію, можуть бути спеціалізовані Т-клітини стимулюючих і інгібуючих популяцій, що реагують в “сингенній змішаній культурі лімфоцитів” на власні клітини організму, що ростуть [2]. Але для підтвердження припущення, що вплив ЕСС опосередковується через нормалізацію специфічної регуляторної функції лімфоцитів, потрібні спеціальні дослідження.

Висновки

Одержані дані свідчать, що пептидний склад екстрактів шкіри залежить від її фізіологічного стану. Уведення екстракту шкіри та селезінки змінює пептидний склад екстракту шкіри щурів, прискорює процес загоєння холодних травм. При цьому в більш ранні строки нормалізується молекуляр-

но-масовий спектр речовин пептидної природи в екстрактах травмованої шкіри. Дані результати можуть бути використані при з'ясуванні механізмів розвитку і регулювання процесів запалення і загоєння ран речовинами пептидної природи.

Література

1. *Гальченко С.Є.* Екстракти кріоконсервованих фрагментів ксеноорганів: одержання та біологічна дія // Пробл. криобіології.– 2005.– Т.15, № 3.– С. 403–406.
2. *Донцов В.И.* Регуляция лимфоцитами клеточной пролиферации – альтернатива теории “противоопухолевого надзора”? // Иммунология.– 1989.– №5.– С. 94–96.
3. *Шатаева Л., Хавинсон В.Х., Ряднова И.Ю.* Пептидная саморегуляция живых систем (факты и гипотезы).– М.: Наука, 2003.– 222 с.
4. *Пат. 64381А Україна, МПК⁷ А61К35/12.* Спосіб отримання екстрактів ксеногенних органів/ С.Є. Гальченко, Н.Ю. Шкодовська, Б.П. Сандомирський, В.І. Грищенко. Заявл. 22.05.2003; Опубл. 16.02.2004, Бюл. № 2.
5. *Obminska-Mrukowicz B., Piekarska J., Szczyпка M. et. al.* Modulatory effects of calf thymus extract on the subset of T lymphocytes in Trichinella spiralis-infected mice // Pol. J. Vet. Sci.– 2002.– Vol. 5, N4.– P. 243–249.

Надійшла 05.06.2008