

*Байкулов А.К.,
Советов К. Т.*

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ (СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПЕПТИДЫ, МАЛОНОВЫЙ ДИАЛЬДЕГИД) В КРОВИ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ТЕРМИЧЕСКИМ ОЖОГОМ

Самаркандский медицинский институт

При ожогах в зоне термического поражения происходит образование большого количества биологически активных веществ, медиаторов (Yeou Kyu Youn et al, 1992), которые являются пусковым механизмом для развития местных сосудисто-мезинхимальных изменений, являющихся сутью воспаления. Они включают биогенные амины (гистамин, серотонин), кинины, оксиданты, метаболиты арахидоновой кислоты, цитокины и др. [1].

Известно, что ожоговая травма закономерно сопровождается активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ) в различных органах и тканях. В патогенезе глубоких нарушений клеточного метаболизма при ожоговой травме значительная роль отводится активации ПОЛ, сопровождающегося изменением липидного компонента клеточных мембран, а, следовательно, и проницаемости последних.

Среди оксидантов важная роль принадлежит кислородным радикалам - нестабильным метаболитам кислорода, имеющим непарный электрон и потому обладающим мощным окислительным потенциалом. Одним из основных таких радикалов является гидроксильный $\cdot\text{OH}$ (ОН $\cdot$). Он образуется в результате ферментативных реакций. Сразу после ожога образование (ОН $\cdot$) происходит в тканях при ишемии и ухудшении их перфузии вследствие нарушений микроциркуляции в области поражения. В результате действия ксантиноксидазы на субстраты ксантина и гипоксантина в присутствии кислорода происходит образование супероксида кислорода ($\text{O}_2^{\cdot-}$) и перекиси водорода (H_2O_2) [2].

Активация ПОЛ (которая еще начинается во время ожогового шока в силу того, что обожженные ткани, клетки, вовлеченные в воспалительный процесс, приводят к выбросу большого количества свободных кислородных радикалов, которые и запускают эту активацию), что приводит к нарушению структуры и функции клеточных мембран организма (липидов, белков, нуклеиновых кислот, углеводов). Защита клеток обеспечивается эндогенной антиоксидантной системой организма, которая подразделяется на ферментную (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза и др.) и неферментную, которая представлена макромолекулярными неферментативными компонентами (церулоплазмином и тому подобными) и низкомолекулярными компонентами (восстановленным глутатионом, альфа-токоферолом, аскорбиновой кислотой и др.)-

Максимальные изменения в антиоксидантной системе возникают при раннем ожоговом сепсисе, при мости клеточных мембран и мембранного транспорта, с мембранодеструктивным действием, которое предопределяет активацию процессов ПОЛ [3].

Кроме этого, МСМ способствуют гемолизу эритроцитов, тормозят утилизацию глюкозы в них, снижают синтез глобина и синтез ДНК в

развитии вторичного некроза в ожоговой ране и дегенеративно-дистрофических процессах в печени с возникновением печеночной недостаточности. Кроме того, дисбаланс в прооксидантной и антиоксидантной системах является сам одной из причин развития вторичного некроза в ожоговой ране, потому что именно свободнорадикальные вещества играют значительную роль в патогенезе экссудативно-деструктивных процессов при ожоговом воспалении.

Последующий рост в плазме и в эритроцитах продуктов ПОЛ. Повышено содержание гидрофобной и гидрофильной фракций МСМ (прежде всего МСМ-254 нм и МСМ-280 нм) - маркеров интоксикации.

Маркерами эндогенной интоксикации служат МСМ - вещества, в состав которых входят олигосахара, производные глюкуроновых кислот, полиамиды, глюкагон, витамины, нуклеотиды и еще не идентифицированные соединения. МСМ является продуктами катаболизма эндо- и экзогенных белков с относительной молекулярной массой 500-5000 дальтон. У здоровых людей МСМ являются обычными продуктами жизнедеятельности организма и около 95% их эффективно выводится почками. При нормальном состоянии организма небольшое их количество контролирует деятельность органов и систем. У здоровых людей уровень МСМ является относительно стабильным во всех возрастных группах, что позволяет использовать его как информативный тест оценки состояния организма и качества лечения.

В зависимости от спектрофотометрических характеристик выделяют две фракции МСМ. В состав первой фракции, что имеет максимум поглощения при длине волны 254 нм, входят фрагменты нуклеиновых кислот, высшие жирные кислоты, триглицериды, холестерин. Уровень этих веществ является скринингом азотемии, показателем степени интоксикации, уремии, и в целом характеризует функциональное состояние почек. Вторая фракция МСМ - пул, который содержит ароматические аминокислоты, составные альбумина, глобулина, коллагеновых волокон, и имеет максимум поглощения при длине волны 280 нм. Увеличение его уровня свидетельствует об активации катаболических процессов в организме. Большинство исследователей отмечают, что состав МСМ зависит не только от формы патологии, но и от степени нарушения функции органа или системы. МСМ в значительной степени определяют темп развития СЭИ в результате их влияния на основные системы гомеостаза. Их токсическое действие связано с разъединяющим влиянием на процессы окислительного фосфорилирования, с изменениями проницае

эритробластах.

Концентрация МДА в сыворотке крови в норме 1мкмоль/л (Winnefeld F. et al., 1995).

Одним из неблагоприятных последствий ПОЛ считают образования МДА в результате

обусловленного свободными радикалами разрыва полиненасыщенных жирных кислот. Этот альдегид образует шиффовые основания с аминокруппами белка, выступая в качестве «сшивающего» агента. В результате сшивки образуются нерастворимые липид-белковые комплексы называемые пигментами изнашивания или липофусцинами.

Концентрация МДА в сыворотке крови отражает активность процессов ПОЛ в организме больного и служит маркером степени эндогенной интоксикации (СЭИ). Повышения содержания МДА в сыворотке крови выявляю! при ожогах, острой дыхательной и печёночной недостаточности, остром панкреатите, сепсисе и др.

Существенная особенность МСМ заключается в их отчетливо выраженной высокой биологической активности. Накопление МСМ не только является маркером эндоинтоксикации, в дальнейшем они усугубляют течение патологического процесса, приобретая роль вторичных токсинов, оказывая влияние на жизнедеятельность всех систем и органов. Несмотря на большое количество работ, окончательно пул среднемолекулярных пептидов (СМП) не идентифицирован, однако, точно установлено, что состав МСМ включает в себя компоненты пептидной природы, а также производные олигоспиртов и глюкуроновой кислоты. СМП способны соединяться и блокировать рецепторы любой клетки, неадекватно влияя на её метаболизм и функции.

Согласно вышеперечисленным данным, концентрации МДА, СМП в сыворотке крови показывает уровень эндогенной интоксикации.

Материалы и методы. В качестве опытных животных использовали белых беспородных крыс с массой тела 140-160 г, которым под эфирным наркозом воспроизводили термический ожог на депонированной поверхности тела, которая составляла 20%.

Через 1 час после ожога наносили на раны препараты хитозана (хитозан+2% уксусная кистота + глутаровый альдегид + фурацилин - первая опытная группа; хитозан+2% уксусная кистота + глутаровый альдегид - вторая опытная группа), левомиколь (третья опытная группа), физиологический раствор (четвертая, контрольная группа). Препараты наносили однократно во весь срок эксперимента. На 3,7,10-сутки после нанесения ран, с каждой группы декапитировали по 3 животных.

Методы определения интенсивности ПОЛ. Принципом использованного метода определения малонового диальдегида явилось то, что тиобарбитуровая кислота в кислой среде взаимодействует с низкомолекулярными диальдегидами (главным образом, малоновым) с образованием окрашенного комплекса, имеющего максимум светопоглощения при длине волны 535 нм. Фотометрируют полученные в ходе определения пробы при длинах волн 535 и 580 нм против н-

бутанола в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Разницу экстинкций умножают на 53,2 (коэффициент перерасчета). Рост уровня ТБК-активных соединений в сыворотке крови является отражением активации процессов перекисидации липидов и служит неспецифическим маркером широкого ряда патологических состояний, в том числе инфекционных процессов. Расчет содержания продуктов, реагирующих с тио- барбитуровой кислотой, проводили с учетом молярной экстинкции .малонового пизльдеги- да, равного $1,56 \cdot 10^6$ моль см^{-1} в нмоль МДА/мг белка [4]

Среднемолекулярные пептиды (СМП) определяли по методу Н.И. Габриэляна (1982 г) детекцией надосадка, освобожденного от грубодисперсных белков, который осуществляли после предварительного разведения, при котором к 0,5 мл надосадочной жидкости добавляли 4,5 мл дистиллированной воды. Измерение проводили на спектрофотометре в УФ- свете при длине волны 254 нм. Уровень СМП выражали в единицах, количественно равных показателям экстинкции [5].

Обсуждения результатов. Проведенные эксперименты показали, что через 3 дня термической травмы у подопытных животных регистрировались серьезные сдвиги в изучаемых показателях сыворотки крови. Наименьшее увеличение из исследуемых показателей наблюдалось со стороны СМП.

На 7 сутки эксперимента, изучаемые показатели продолжали возрастать, превышая значения контрольных крыс на 113,7; 198,3% средних молекулярных пептидов.

Таким образом, экспериментальный термический ожог проявляется существенными сдвигами не только содержанием молекулярных пептидов, но и сорбционной способностью эритроцитов.

В наших экспериментах 3-дневный термический ожог приводил к увеличению МДА на 196,8% соответственно. К концу седьмого дня эксперимента термический ожог привел к увеличению содержания МДА в сыворотке крови на 198,3%. а на 10-сутки содержание МДА возросло на 205,1% соответственно со сроком семь дней.

Таким образом, полученные данные подтверждают, что экспериментальный термический ожог сопровождается накоплением конечного продукта ПОЛ в сыворотке крови. Наблюдаемая активация ПОЛ свидетельствует об увеличении образования реакционноспособных радикалов.

При коррекции экспериментальной термической травмы в 1-ой группе отмечалось снижение СМП на 10,4; 41,3 и 57,4% на 3-, 7- и 10-й день коррекции, в то время под действием препарата они уменьшились в эти же сроки на 2,1; 60,6 и 82,2% соответственно. Менее существенно изменялось содержание СМП во 2- и 3-й исследуемой группе. Коррекция препаратами 2- и 3-группы на 3-й день лечения было ниже

показателей контрольной группы в 1,09 и 1,05 раза, на 7-е сутки в 1,85, 1,12, на 10-й день коррекции в 13,0 и 5.7 раза соответственно.

В результате проведенных экспериментов установлено, что в первой опытной группе уже через 3- дня снижается конечный продукт ПОЛ в сыворотке крови на 41,6%, и его содержание составляло $10,14 \pm 1.61$ нмоль/мл, а

Средние показатели СМП через 7- и 10 дней лечения его снижение составляло 60.2 и 64,4% по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, лечение экспериментальной термической травмы хитозаном в течение 10 дней практически нормализует показатели средних молекулярных пептидов и ПОЛ, тогда как под действием левоментола лишь показатели средних молекулярных пептидов. Эти данные свидетельствуют, что эффективность антитоксического действия хитозана несколько выраженнее, чем у левоментола.

Наряду с этим у крыс с экспериментальной термической травмой второй опытной группы не вызывает выраженную стимуляцию содержания продуктов ПОЛ. На 3 день его применения содержание МДА в сыворотке крови снижается на 55,3. на 7-сутки на 38,6%, а через 10 дней лечения по сравнению с контрольной группой понижен на 40,0%.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что изучаемые препараты способствуют нормализации содержания МДА при воспроизведенном экспериментально процессе эндогенной интоксикации. Десятидневное применение хитозана полностью нормализует содержание конечного продукта перекисного окисления липидов - малонового диальдегида в сыворотке крови. Эффективность левоментола была менее выраженной, наблюдалась не полная нормализация малонового диальдегида лишь на 10-й день коррекции.

Таблица

и МДА по группам срокам

Сутки	СМП				МДА			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
3	0,151	0.102	0,130	0,230	13,2	10,35	6,95	7,26
7	0.023	0,069	0,026	0,058	13,99	11.68	10,13	17,23
10	0.280	0.235	0,210	0,281	6,35	10,63	7,87	7,75

Литература

1. Аронскинд, Е.В.З/ Оптимизация клиничко-лабораторных критериев диагностики полиорганной недостаточности у новорожденных детей: Автореф. дис. канд. мед. Наук. Екатеринбург, 2000. 23 с.
2. Васильева Л. А., Лопаткин О. П., Морозов Ю. Е. '7 Определение тяжести эндогенной интоксикации по уровню среднемолекулярных пептидов. Суд. мед. экспертиза. М .2004. -.Ns> 4,- С. 18 -21.
3. Афанасьева, А.Н. // Сравнительная оценка уровня эндогенной интоксикации у лиц разных возрастных групп А.Н.Афанасьева Клини. лаб. диагн 2004.-№6.-С. 11-12.
4. Коробейникова Э.Н. // Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой./Лабораторное дело.-1989.-С.8-10.
5. Арипов А.Н.. Фесенко Л.М. // Клиническая биохимия. Методы // Издательство медицинской литературы имени Абу Али ибн Сино.-2000. - с. 59-61.