

**ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТЕРМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ**

Байкулов А.К.

Ташкентская медицинская академия

При ожогах в зоне термического поражения происходит образование большого количества биологически высокоактивных веществ, медиаторов, которые являются пусковым механизмом для развития местных сосудисто-мезинхемальных изменений, являющийся 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 [2].

Среди оксидантов важная роль принадлежит кислородным радикалам – нестабильным метаболитам кислорода, имеющим непарный электрон и потому обладающими мощным окислительным потенциалом. Одним из основных таких радикалов является гидроксильный анион ($-\text{OH}^\cdot$). Он образуется в результате ферментативных реакций. Сразу после ожога образование ($-\text{OH}^\cdot$) 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). [6]

Изучения свойств полиглюкозаминных соединений природного происхождения является актуальной задачей медицины, так как данные вещества обладают широким спектром биологической активности. В частности представляет интерес – хитозан и его производные, получаемых из различных природных объектов. В связи вышеизложенным, цель исследований – изучение молекулярных механизмов антиоксидантного действия производных хитозана при термической травме.

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

Через 1 час после ожога наносили на раны препараты хитозана (хитозан+2% уксусная кислота + глутаровый альдегид + фурацилин 1-опытная группа; хитозан+2% уксусная кислота + глутаровый альдегид 2-опытная группа), левомеколь (3-опытная группа), физиологический раствор (4-контрольная группа). Препараты наносили однократно во весь срок эксперимента.

На 1, 3, 7 и 10 день эксперимента крыс с каждой группы забивали одномоментной декапитацией в холодной комнате при температуре 0 - +2 °С. Собирали кожу с ожоговой раной и кровь. На моделях кожи проводились морфологические и молекулярные исследования.

В сыворотке крови определяли интенсивность ПОЛ, СМП и ССЭ.

Методы определения интенсивности ПОЛ

О состоянии ПОЛ в сыворотке крови и гомогенате тканей судили по содержанию малонового диальдегида (МДА). Принцип метода основан на взаимодействии тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом, образующимся при перекислении ненасыщенных жирных кислот, имеющих 2-3 диеновые связи. Расчет содержания продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой проводили с учетом молярной экстинкции малонового диальдегида, равного $1,56 \cdot 10^6$ моль cm^{-1} в нмоль МДА/мг белка [3].

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 [4].

Сорбционную способность эритроцитов определяли с использованием реактива 0,025% метиленовый синий, который даёт окрашенный диазопроduct с максимумом поглощения при 630 нм. В качестве стандарта использовали физиологический раствор [5].

Обсуждения результатов. Проведенные эксперименты показали, что через 3 дня термической травмы у подопытных животных сопровождалось серьезными сдвигами в изучаемых показателях

сыворотки крови. Так, содержание ССЭ в сыворотке крови выросло на 102,9% по сравнению с контрольной группой, соответственно. 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 и 22,7% соответственно значениям сорбционной способностью эритроцитов, средних молекулярных пептидов. Причем, в большей степени это проявлялось в содержании средних молекулярных пептидов, значения которых выросло в 2,17 раза по сравнению с его уровнем на 3-й день эксперимента.

К концу 10 дня воспроизведения термического ожога отмечалось незначительное увеличение содержания средних молекулярных пептидов (на 0,1%), по сравнению с уровнем этих показателей, наблюдаемых на 7-й день эксперимента. Наблюдались изменения со стороны уровня сорбционной способности эритроцитов в сыворотке крови. Однако, изучаемые показатели достоверно превышали нормативные значения на 53,2; 60,2 и 472,9%, соответственно ССЭ, СМП (Таблица 1).

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

В наших экспериментах 3 - дневной термический ожог приводило к увеличению МДА на 196,8% соответственно. К концу седьмого дня эксперимента термического ожога привело к увеличению содержания МДА в сыворотке крови на 198,3%, а на 10-сутки содержания МДА возрос на 205,1% соответственно со сроком семь дней (Таблица 2).

Таким образом, полученные данные подтверждают, что экспериментальный термический ожог сопровождается накоплением конечного продукта перекисного окисления липидов в сыворотке крови. Наблюдаемая активация ПОЛ свидетельствует об увеличении образования реакционно-способных радикалов.

Как видно из представленных результатов в таблице 3 на 1 сутки эксперимента и после при 3 дневного лечения в первой группе содержание ССЭ уменьшается на 0,89% по сравнению с животными контрольной группы после 3-х дневного лечения. Отмечается явная тенденция к нормализации их уровня на 7-ой и 10-й день лечения. Уровень ССЭ у леченных животных 1-ой группы на 47,4 и 24,5% превышает таковой у контрольных животных. При лечении в течении 3-, 7- и 10-

Таблица – 1. Изменение показателей ССЭ, СМП и тимоловой пробы у животных с термическим ожогом ($M \pm m$, $n=10$)

Показатели	ССЭ	СМП
контрольная группа	$46,7 \pm 0,03$	$0,211 \pm 0,004$
3-й день термического ожога	$99,78 \pm 0,007^a$	$0,230 \pm 0,006$
7-й день термического ожога	$99,78 \pm 0,002^a$	$0,259 \pm 0,002$
10-й день термического ожога	$99,86 \pm 0,004^a$	$0,338 \pm 0,003^a$

Примечание: Достоверное отличие $P < 0,05$: а – от контрольной группы, б, в – от показателей 3-, 7-го дня соответственно

Таблица – 2. Изменение малонового диальдегида у животных с термическим ожогом ($M \pm m$, $n=10$)

Показатели	МДА
Контрольная группа	$5,85 \pm 0,49$
3-й день термического ожога	$17,36 \pm 0,23^a$
7-й день термического ожога	$17,45 \pm 0,71^a$

Примечание: Достоверное отличие $P < 0,05$: а – от контрольной группы

Таблица 3. Изменение сорбционной способности эритроцитов в сыворотке крови при коррекции экспериментальной термической травмы

Показатель	3 дня лечения	7 дней лечения	10 дней лечения
Интakтная группа	$46,7 \pm 0,02$		
Контрольная группа	$99,97 \pm 0,005^a$	$99,84 \pm 0,12^a$	$99,78 \pm 0,007^a$
1-я группа	$89,12 \pm 0,02^{a,б}$	$68,84 \pm 0,02^{a,б}$	$58,14 \pm 0,01^{a,б}$
2-я группа	$91,8 \pm 0,06^{a,б,в,г}$	$85,81 \pm 0,01^{a,б,в,г}$	$66,89 \pm 0,01^{a,б,в,г}$
3-я группа	$96,88 \pm 0,02^{a,б,в,г}$	$90,87 \pm 0,02^{a,б,в,г}$	$77,79 \pm 0,01^{a,б,в,г}$

Примечание: Достоверное отличие $P < 0,05$: а – от интактной группы, б, в, г – от показателей контрольной, 1-, 2-, 3-группы соответственно

дней животных второй группы, показатель ССЭ был ниже показателей контрольной группы на 8,1; 14,4 и 32,9% соответственно. Этот эффект отличается у животных группы сравнения – левомеколь. Снижение ССЭ под действием левомекolia у леченых крыс на 3-е сутки лечения составляет 2,9%. В тоже время сорбционная способность эритроцитов у крыс леченных левомекolем превышает уровень контрольных на 8,9 и 21,9% на 7- и 10-е сутки лечения соответственно.

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 у 2- и 3-ий исследуемой группы. 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 (Таблица 4).

В результате проведенных экспериментов установлено, что впервой опытной группе уже через 3- дня снижается конечный продукт ПОЛ в сыворотке крови на 41,6%, и составляло $10,14 \pm 1,61$ нмоль/мл, а 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 сорбционную способность эритроцитов, тогда как под действием левомекolia лишь показатели средних молекулярных пептидов. Эти данные свидетельствуют, что эффективность антиоксического действия хитозана несколько выраженное, чем у левомекolia.

Наряду с этим у крыс с экспериментальной термической травмой второй опытной группы не вызывает выраженную стимуляцию содержания продуктов перекисного окисления липидов. 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 группы понижен на 40,0%.

Отмечалось небольшое снижение содержания МДА на 3- и 7- дни эксперимента по сравнению с контрольной группой. Они достигали $17,32 \pm 1,74$ и $13,24 \pm 0,23$ нмоль/мл при коррекции левомекolем; $7,87 \pm 0,17$ нмоль/мл на 10-й день коррекции соответственно. Этот показатель у животных интактной группы составлял $5,85 \pm 0,49$ нмоль/мл, а у контрольной – $17,85 \pm 0,51$ нмоль/мл.

Снижение уровня МДА под действием исследуемых препаратов как на 3, так и 7- и 10 день применения было статистически достоверным по отношению к контрольной группе. Однако снижение уровня МДА под действием хитозана было более существенно по сравнению с левомиколом и эта разница была также статистически достоверна (Таблица 5).

Таким образом, проведенные исследования показывают, что изучаемые препараты способствуют нормализации нарушенных воспроизведенной экспериментальный процесс эндогенной инток-

Таблица 4. Изменение содержания средних молекулярных пептидов в сыворотке крови при коррекции экспериментальной термической травмы

Показатель	3 дня лечения	7 дней лечения	10 дней лечения
Интактная группа	$0,211 \pm 0,001$		
Контрольная группа	$0,230 \pm 0,006$	$0,259 \pm 0,002^a$	$0,338 \pm 0,003^a$
1-я группа	$0,206 \pm 0,006^a$	$0,152 \pm 0,005^{a,б}$	$0,144 \pm 0,006^{a,б}$
2-я группа	$0,210 \pm 0,002^a$	$0,140 \pm 0,014^{a,б,г}$	$0,026 \pm 0,008^{a,б,в,г}$
3-я группа	$0,220 \pm 0,005$	$0,238 \pm 0,047^г$	$0,059 \pm 0,002^{a,б,в,г}$

Примечание: Достоверное отличие $P < 0,05$: а – от интактной группы, б, в, г – от показателей контрольной, 1-, 2-, 3-группы соответственно

Таблица 5. Изменение содержания малонового диальдегида в сыворотке крови при коррекции экспериментальной термической травмы

МДА	3 дня лечения	7 дней лечения	10 дней лечения
Интактная группа	$5,85 \pm 0,49$		
Контрольная группа	$17,36 \pm 0,23$	$17,45 \pm 0,71^a$	$17,85 \pm 0,51^a$
1-я группа	$10,14 \pm 1,61^{a,б}$	$6,95 \pm 0,13^{a,б}$	$6,35 \pm 0,16^{a,б}$
2-я группа	$11,68 \pm 1,72^{a,б,в}$	$10,71 \pm 0,13^{a,б,в}$	$10,68 \pm 0,18^{a,б,в}$
3-я группа	$17,32 \pm 1,74^{a,в,г}$	$13,24 \pm 0,23^{a,б,в,г}$	$7,87 \pm 0,17^{a,б,в}$

Примечание: Достоверное отличие $P < 0,05$: а – от интактной группы, б, в, г – от показателей контрольной, 1-, 2-, 3-группы соответственно

сикации содержания МДА. Десятидневное применение хитозана полностью нормализует содержание конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида в сыворотке крови. Эффективность левомеколя была менее выраженной, наблюдалась и полная нормализация малонового диальдегида лишь на 10-й день коррекции.

Выводы. Полученные результаты показали, что коррекция экспериментального термического ожога у животных исследуемыми препаратами в течение 3-, 7- и, особенно, 10 дней приводит к существенному снижению показателей ССЭ, СМП, что указывает на более выраженный антиоксидантический эффект изучаемых препаратов.

Необходимо отметить, что коррекция изучаемой патологии в группах применяющие хитозан наиболее выражено, снижаются изучаемые показатели по сравнению с группой сравнения.

Из вышеуказанных показателей следует, изучаемые препараты наиболее эффективно действуют на содержание ССЭ, СМП при коррекции в течении 10 дней. Хитозан превосходит левомеколь по своему действию.

Полученные данные свидетельствуют, что хитозан и левомеколь на ПОЛ организма действует однонаправлено, но хитозан по сравнению с левомеколем, оказывает более выраженное антиоксидантическое действие при термическом ожоге, особенно при лечении в течении 10 дней его введения и оно выражалось в снижении содержания МДА.

Использованная литература:

1. Инчина В. И., Зорькина А. В., Ерофеева М. В., Морозов М. Ю. Перспективы применения антиоксидантов в клинической медицине // Наука и инновации в Республике Мордовия: Материалы IV Республиканской науч.- практич. конф. (22 – 24 декабря 2004 г.). – Саранск, 2005. – С. 367 – 370.
2. Афанасьева, А.Н. Сравнительная оценка уровня эндогенной интоксикации у лиц разных возрастных групп А.Н.Афанасьева Клини. лаб. диагн. 2004.-№6.-С. 11-12.
3. Коробейникова Э.Н. модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой.//Лабораторное дело.-1989.-С.8-10.
4. Арипов А.Н., Фесенко Л.М. Клиническая биохимия. Методы // Издательство медицинской литературы имени Абу Али ибн Сино. – 2000. – с. 59-61.
5. Тугайбаев Г.С. и соавт. Метод определения сорбционной способности эритроцитов // Лабораторное дело. – 1981. - №3. - С. 32-34.
6. Santos X., Castilla C., Martin M. et al. Role of leukotrienes in the physiopathology of the response to experimental burn. Ann. of burns and fire disasters, v.XIV - n.2- p.90-93, June 2000.