

## ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГРАНУЛЯЦИОННОЙ ТКАНИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ РАН В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Л.К. Куликов<sup>1</sup>, С.С. Казанков<sup>2</sup>, В.И. Гармашов<sup>2</sup>, А.А. Смирнов<sup>1</sup>, В.Ф. Соботович<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Иркутский институт усовершенствования врачей, ректор – д.м.н., проф. В.В. Шпрах, кафедра хирургии, зав. – д.м.н., проф. Л.К. Куликов; <sup>2</sup>Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск-пассажирский ОАО «РЖД», гл. врач – к.м.н. Е.А. Семенишева)

**Резюме.** В эксперименте изучены изменения биохимических показателей грануляционной ткани при лечении хронических ран препаратами, содержащими биологически активные вещества. В результате проведенных исследований установлено, что при лечении хронических ран препаратом «Антиран» в сочетании ультразвуковой кавитацией в ранние сроки уменьшается некробиотическая активность тканей, происходит увеличение белков коллагеновой и неколлагеновой природы, а также стимулируется репаративная активность тканей.

**Ключевые слова:** хронические раны, грануляционная ткань, биохимия.

### CHANG IN BIOCHEMICAL INDICES OF GRANULATION TISSUE IN THE TREATMENT OF CHRONIC WOUNDS IN ANIMAL MODEL

L.K. Kulikov, S.S. Kazankov, V.I. Garmashov, A.A. Smirnov, V.F. Sobotovich  
(Irkutsk State Institute for Medical Advanced Studies)

**Summary.** Biochemical signs of granulation tissue in chronic wound are researched in animal model treating by biologically active drugs. Treatment with "Antiran" plus ultrasonic cavitations of chronic wounds decrease necrobiotic activity, increase in level of collagen and not collagen protein, and rise reparative activity in early time of healing.

**Key words:** chronic wound, animal model, biochemical indices.

За последние два десятилетия структура заболеваемости хирургических больных претерпела существенные изменения за счет неуклонного увеличения гнойно-воспалительных заболеваний, в том числе и мягких тканей. Заживление осложненных ран мягких тканей является сложным и многостадийным процессом. Лечение гнойных и гнойно-некротических ран мягких тканей, имеющих хроническое течение, представляет значительные трудности и до настоящего времени, невзирая на появление большого ассортимента лекарственных препаратов [2,3].

Цель исследования состояла в изучении некоторых биохимических показателей грануляционной ткани при лечении хронических ран в эксперименте препаратами для наружного применения, содержащих биологически активные вещества.

#### Материалы и методы

В эксперименте были использованы 180 белых крыс массой тела 200-250 г. Животные находились в стандартных условиях содержания в виварии на обычном рационе. Эксперименты проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных МЗ ССР (Приложение к приказу МЗ СССР №775 от 12. 08. 1977 г.). Моделирование раны и перевод ее в хронический воспалительный процесс выполняли в соответствии с методическими рекомендациями Фармкомитета СССР (№4 от 12.09.1989 г.). Для забора грануляционной ткани животных выводили из эксперимента на 4, 8, 14, 21 и 28 сутки согласно ГОСТа методом мгновенной декапитации под легким эфирным наркозом. В грануляционной ткани определяли наиболее характерные биохимические показатели: оксипролин, тирозин, нуклеиновые кислоты и малоновый диальдегид.

Концентрацию оксипролина в грануляционной ткани определяли по методу Н. Stegemann (1958). Метод определения малонового диальдегида (МДА) был основан на спектрофотометрическом выявлении окрашенного комплекса, образовавшегося в результате реакции МДА с двумя молекулами тиобарбитуровой кислоты в кислой среде при  $t=100^{\circ}\text{C}$ . Максимум поглощения образовавшегося комплекса находился в пределах 532-535 нм. В проводимых исследованиях применялся спектрофотометр – 26 [4,6]. Концентрацию нуклеиновых кислот (НК) определяли, так же спектрофотометрически путем экстракции их

из биологического материала горячей хлорной кислотой с последующим определением поглощения экстрактов в ультрафиолетовой области спектра 270-290 нм [5]. Тирозин определяли по модифицированному методу [1,7].

Все животные были разделены на пять групп. В каждой группе было по шесть животных. В первой группе животных (контрольная) заживление хронической раны осуществлялось без лечения, спонтанно. У животных второй группы лечение хронических ран осуществляли препаратом «Абисил-1», являющегося 20% р-ром пихтового масла в рафинированном растительном. В третьей группе лечение хронических ран осуществляли «Куриозином», являющимся ассоциатом гиалуроновой кислоты и цинка. В четвертой группе животных лечение хронических ран осуществляли препаратом «Антиран», представляющим собой комплексное соединение, включающее в себя 10-15% изоборнилацетата (основной компонент, является природным стереоизомером борнилацетата, который входит в состав пихтового масла), 28-30% блоксополимера как поверхностно-активное вещество, 3-4 % бензилового спирта, остальной объем занимала дистиллированная вода. У животных пятой группы лечение хронических ран осуществляли «Антираном» в сочетании с ультразвуковой кавитацией (УЗК) (патент на изобретение № 2189814 от 13.03.2001 г.).

При статистической обработке данных для каждой выборки проверяли гипотезу о нормальности распределения. Для этого использованы тесты Колмогорова-Смирнова, Шапиро-Вилка и Лиллиефорса. При количестве наблюдений в выборке менее 20 или в случае ненормального распределения данные представляли в виде медианы с верхним и нижним квартилями (25-й и 75-й процентиля) – Me (25; 75). При нормальном распределении в выборке данные представлены в средних величинах со средней квадратической ошибкой (M(s)). Определение значимости различий полученных данных (p) в сравниваемых выборках при ненормальном распределении проводили по критерию Крускала-Уолиса (k-w), для связанных выборок – по критерию Вилкоксона (W). Корреляционный анализ данных в выборках проводили с применением непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (rs). Различия между показателями считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Статистическая обработка результатов произведена с помощью пакета программ Statistica 6.0 for Windows.

#### Результаты и обсуждение

Нами была сформирована нулевая гипотеза об отсутствии различий в изменении биохимических показателей зрелой грануляционной ткани между изучаемыми группами в указанные сроки заживления хронических ран.

На 4 сутки после формирования раны концентрация МДА в контрольной группе составила 15,05 (14,85; 15,25) мкмоль/г. В основных группах аналогичный показатель был ниже. Так, при лечении ран «Абисилом-1» концентрация МДА составила 14,88(14,62;15,14) мкмоль/г; при лечении «Антираном» – 14,19(14,0;14,9) мкмоль/г; при лечении «Антираном» в сочетании с УЗК – 13,88(12,92;14,15) мкмоль/г. Выявлено статистически значимое снижение концентрации МДА в группах №2 и №5 по сравнению с контрольной ( $p_{к-в} < 0,001$ ).

Концентрация оксипролина в грануляционной ткани в изучаемых группах животных составила: в контрольной группе – 8,7(8,4;9,0) мг/100 мг; при лечении «Абисилом-1» – 9,73(9,44;10,02) мг/100 мг; при лечении «Куриозином» – 9,87(9,62;10,12) мг/100 мг; при лечении «Антираном» + УЗК – 9,45(9,3;9,9) мг/100 мг. Обнаружено, что достоверно высокая концентрация оксипролина грануляционной ткани на 4 сутки обнаружена при лечении «Куриозином», а наименьшая при лечении «Антираном» ( $p_{к-в} < 0,001$ ).

Концентрация НК грануляционной ткани на 4 сутки в контрольной группе составила 2,3(2,25;2,35) мкг/100 мг; при лечении «Куриозином» – 2,94(2,87;3,08) мкг/100 мг; при лечении «Антираном» – 2,72(2,65;3,07) мкг/100 мг; при лечении «Антираном» + УЗК – 2,87(2,8;3,1) мкг/100 мг. Отмечена статистически значимая наибольшая концентрация НК в грануляционной ткани при лечении «Куриозином», а наименьшая – при лечении «Абисилом-1» ( $p_{к-в} = 0,003$ ).

На 4 сутки концентрация тирозина грануляционной ткани в контрольной группе составила 0,99(0,94;1,04) мг/100 мг; при лечении «Абисилом-1» – 0,91(0,84;0,98) мг/100 мг; при лечении «Куриозином» – 1,19(1,16;1,22) мг/100 мг; при лечении «Антираном» – 0,95(0,93;0,96) мг/100 мг; при лечении «Антираном» + УЗК – 1,22(1,21;1,29) мг/100 мг. Установлено, что достоверно высокая концентрация тирозина в грануляционной ткани, по сравнению с контролем, обнаружена при лечении «Антираном» + УЗК, наименьшая – при лечении «Абисилом» ( $p_{к-в} < 0,001$ ).

На 8 сутки статистически значимых различий концентрации МДА и оксипролина в изучаемых группах не выявлено ( $p_{к-в} = 0,13$  и  $p_{к-в} = 0,05$  соответственно). Однако, установлено, что концентрация НК была статистически значимой при лечении «Куриозином», а наименьшая при лечении «Абисилом-1» ( $p_{к-в} = 0,03$ ). Концентрация тирозина грануляционной ткани в этот период времени была наибольшей и статистически значимой при лечении ран «Антираном» + УЗК, а наименьшей – при лечении «Абисилом-1» ( $p_{к-в} = 0,03$ ).

На 14 сутки концентрация МДА и оксипролина значительно отличалась от контроля независимо от варианта лечения хронических ран ( $p_{к-в} = 0,02$  и  $p_{к-в} = 0,01$ ) со-

ответственно. В отличие от этого выявлена высокая концентрация НК и тирозина грануляционной ткани при лечении хронических ран «Антираном» + УЗК, а наименьшая – при лечении «Абисилом-1» ( $p_{к-в} < 0,001$  и  $p_{к-в} < 0,001$  соответственно).

На 21 сутки в грануляционной ткани концентрация МДА и оксипролина статистически достоверно была ниже в группе животных, получавших лечение «Антираном» + УЗК. В отличие от этого концентрации НК и тирозина была достоверно выше в группе животных, получавших лечение «Антираном» + УЗК ( $p_{к-в} < 0,001$ ), по сравнению с контролем и группами животных, получавших другие варианты лечения хронических ран.

На 28 сутки лечения хронических ран концентрация МДА в контрольной группе составила 12,42 (12,22;12,62) мкмоль/г; при лечении «Абисилом-1» – 12,04(11,98;12,1) мкмоль/г; «Куриозином» – 11,67(11,5; 11,84) мкмоль/г; «Антираном» – 11,45(9,98;11,64) мкмоль/г; «Антираном» + УЗК – 10,4(9,75;10,66) мкмоль/г. Статистически значимое различие в группах по сравнению с контролем отмечена и в группе животных, получавших лечение «Антираном» + УЗК ( $p_{к-в} < 0,01$ ). Концентрация оксипролина в грануляционной ткани контрольной группы составила 15,03(14,42;15,6) мг/100 мг; при лечении «Абисилом-1» – 14,21(13,99; 14,43) мг/100 мг; «Куриозином» – 13,98(13,84;14,12) мг/100 мг; «Антираном» – 10,95(10,52;11,14) мг/100 мг; при лечении «Антираном» + УЗК – 9,86(9,81;10,13) мг/100 мг.

Концентрация НК на 28 сутки в контрольной группе составила 1,81(1,76;1,88) мкг/100 мг; при лечении «Абисилом-1» – 1,87(1,85;1,89) мкг/100 мг; «Куриозином» – 1,98(1,9;2,06) мкг/100 мг; «Антираном» – 2,12(1,99;2,36) мкг/100 мг и при лечении «Антираном» + УЗК – 2,17(2,0;2,3) мкг/100 мг, что достоверно выше по сравнению с контролем.

Концентрация тирозина на 28-е сутки в контрольной группе составила 0,78(0,74;0,82) мг/100мг; при лечении «Абисилом-1» – 0,88(0,84;0,92) мг/100 мг; «Куриозином» – 0,92(0,89;0,95) мг/100 мг; «Антираном» – 0,95(0,8;1,05) и при лечении «Антираном» в сочетании с УЗК – 0,92(0,83;1,0) мг/100 мг.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что по сравнению с контролем снижение некробиотических процессов хронических ран наблюдается в течение первой недели при лечении «Антираном» в сочетании с ультразвуковой кавитацией. В последующий период времени у этой же группы животных отмечено активное формирование коллагенообразующих и неколлагенообразующих белков при активном нарастании репаративной активности в отличие от контроля, а также групп животных, получавших лечение хронических ран препаратами, содержащими другие биологически активные вещества.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилов В.Б., Лобко Н.Ф., Конев С.В. Определение тирозин- и триптофансодержащих пептидов в плазме крови по поглощению в УФ-области спектра // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С.12-16.
2. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция. – М.: Медицина, 1990. – С.298-311.
3. Никитин Г.Д., Карташев В.И., Рак А.В. и др. Пластическая хирургия хронических и нейротрофических язв. – СПб., 2001. – С.13-40.
4. Портяная Н.И., Осипенко Б.Г. и др. Биохимические исследования в токсикологическом эксперименте. – Иркутск, 1990. – С.108-110.
5. Северин С.Е., Соловьёва Г.А. Практикум по биохимии. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 162 с.
6. Симбирцев А.С., Конусова В.Г., Мчелидзе Г.Ш. и др. Соновая смола «Биопин»: влияние на свободнорадикальные процессы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 133, № 3. – С.309-311.
7. Слущкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. – Л.: Медицина, 1969. – 135 с.
8. Stegeman H. Mikrobestimmung von Hydroxyprolin mit Cloramin T und p- Dimethylaminobezaldehyd. Hoppl // Selers L.Physiol. Chem. – 1958. – Bd. 311. – S.41-45.

Адрес для переписки:  
г. Иркутск, ул. Подгорная, 54 «Б», кв. 2, Казанков Сергей Станиславович – врач-хирург, отделение гнойной хирургии НУЗ «Дорожная клиническая больница» ОАО «РЖД» р.т. 638123.

© ЛАВРЕНТЬЕВА О.В., ВОРОНИНА Л.П., ТАТЖИКОВА К.А. – 2009

## МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ – АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

О.В. Лаврентьева, Л.П. Воронина, К.А. Татжикова

(Астраханская государственная медицинская академия, ректор – д.м.н., проф. Х.М. Галимзянов, кафедра фармакологии, зав. – д.м.н., доц. Д.Ш. Дубина, кафедра внутренних болезней педиатрического факультета, зав. – д.м.н., проф. О.С. Полунина)

**Резюме.** Медикаментозная коррекция нарушений в системе свободнорадикальное окисление – антиоксидантная защита исследована у 82 больных бронхиальной астмой смешанного генеза на основе определения продуктов перекисного окисления белков (карбонильные группы), липидов (ТБК-активные продукты) и активности ферментативного звена антиоксидантной системы организма (супероксиддисмутаза). Установлено, что использование препаратов с антиоксидантными свойствами «Гипоксен» и «Элтацин» в составе комплексной патогенетической терапии обострения бронхиальной астмы эффективно нормализуют дисбаланс в системе свободнорадикальное окисление – антиоксидантная защита.

**Ключевые слова:** свободнорадикальное окисление белков и липидов, антиоксидантная защита, антиоксиданты, бронхиальная астма.

## MEDICAL CORRECTION OF IRREGULARITIES IN THE FREE-RADICAL OXIDATION/ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

O.V. Lavrentieva, L.P. Voronina, K.A. Tatjikova  
(Astrahan State Medical Academy)

**Summary.** Medical correction of irregularities in the free-radical oxidation/antioxidant protection system was studied in 82 patients with bronchial asthma of mixed genesis based on the identification of products of proteins' peroxidation (carbonyl groups), lipids (TBA-active products) and in the enzymatic activity link of an organism antioxidant system (superoxiddismutase). It was found that the use of "Hypoxen" and "Eltatsin" drugs with antioxidant properties as a part of a complex pathogenetic therapy of bronchial asthma exacerbation effectively leads to normalization of imbalance in the free-radical oxidation/antioxidant protection system.

**Key words:** free radical oxidation of fibers and lipids, antioxidative protection, antioxidizers, a bronchial asthma.

Бронхиальная астма (БА) является серьезной проблемой здравоохранения и наносит существенный урон здоровью людей всех возрастов [3]. Поэтому повышение эффективности лечения и реабилитации больных бронхиальной астмой является одной из наиболее актуальных задач современной медицины, решение которой тесно связано с уточнением этиологии и патогенеза этого заболевания.

В настоящее время установлено, что свободнорадикальные процессы играют существенную роль в патогенезе различных форм БА. Активные формы кислорода (АФК) в силу высокой токсичности могут участвовать в первичных процессах запуска БА. Они не только способствуют развитию оксидативного стресса, инициирующего бронхоспастическим синдромом, но и приводят к хронизации воспалительного процесса в бронхах и легких [1,2,5].

Особое значение в последнее время придается изучению роли АФК в процессах окисления белков. Различное влияние активных форм кислорода на белки приводит к сложным окислительным модификациям в структуре белковой молекулы и изменению ее физико-химических и биологических свойств. Именно с окислительной деструкцией белков, за счет свободнорадикального окисления (СРО), связано нарушение структуры клеточных мембран и изменение функциональной активности рецепторного аппарата [4,6].

Несмотря на активное изучение исследователями

процессов СРО при БА, остаются открытыми ряд вопросов, такие как: определение роли окислительной модификации белков (ОМБ), как одного из ранних индикаторов оксидативного повреждения тканей; поиск четкой взаимосвязи между процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификацией белков, а также разработка терапевтических подходов к коррекции данных нарушений у больных БА.

Поэтому целью нашего исследования стала оптимизация патогенетической терапии больных БА с помощью изучения продуктов ПОЛ и ОМБ, и выбор наиболее эффективного метода коррекции дисбаланса в системе свободнорадикальное окисление – антиоксидантная защита (АОЗ).

### Материалы и методы

Исследование проводилось в форме проспективного наблюдения за 82 больными БА. Динамическое наблюдение за больными осуществлялось в терапевтическом отделении МУЗ «Городская клиническая больница» №4 г. Астрахани. В качестве контрольной группы было обследовано 30 соматически здоровых жителей города Астрахани, которые были сопоставимы по полу и возрасту с обследованными больными.

В исследование включались больные с верифицированным диагнозом БА. Диагноз больным выставлялся на основании критериев GINA, с использованием материалов «Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы» под редакцией А.Г. Чучалина [3]. Из исследования исключались больные с наличием в анамнезе или по данным обследования тяжелой соматической патологии.

Средний возраст обследованных больных БА составил 42 года. Среди них мужчин было 33 (40,2%), женщин – 49