

На 14-е сутки после начала лечения в контрольной группе наблюдалась полная эпителизация раневой поверхности у большинства крыс. Образования плотной неоформленной ткани еще не происходило. Васкуляризация достаточно хорошо выражена. Эпидермис, нарастающий на поверхность раны, являлся полнослойным: имелся базальный, шиповатый, зернистый и роговой слои. На границе с нормальной кожей в грануляционной ткани появлялись волосяные фолликулы. У всех животных опытной группы произошла полная эпителизация раны. Грануляционная ткань заполняла всё ложе раны, волокна располагались более плотно и параллельно поверхности, между ними находились фибробласты. Васкуляризация была хорошо выражена, признаки воспаления отсутствовали. На границе с нормальной кожей в грануляционной ткани регистрировались волосяные фолликулы. Эпидермис, нарастающий на поверхность раны, являлся полнослойным: присутствовали базальный, шиповатый, зернистый и роговой слои; он лучше был связан с подлежащей соединительной тканью, чем у контрольных животных.

Выводы. Данные морфологического исследования свидетельствуют об ускоренном заживлении первично контаминированных полнослойных кожных ран при использовании раневых покрытий с нановолокнами природного биополимера хитозана растительного происхождения. Об этом свидетельствует ускоренная эпителизации раневой поверхности, формирование более мощного пласта эпидермиса, установление его более тесных связей с формирующейся дермой, ускоренное развитие дермы, меньшая выраженность воспалительных процессов в ране.

Литература

1. Руденко, А.В. Сорбционное действие Энтеросгеля в отношении различных видов микроорганизмов / А.В. Руденко, И.В. Багдасарова, А.П. Брудько // Провизор. - 2005. - № 10. - С. 42-43.
2. Абаев, Ю.К. Хирургическая повязка /Ю.К.Абаев. - Минск: Беларусь, 2005. - 150 с.
3. Borkow, G. Oxide impregnated wound dressing: biocidal and safety studies/ G. Borkow, N. Okon-Levy, J. Gabbay // Wounds. - 2010. - Vol. 22 (12). - P. 301-310.

ВЛИЯНИЕ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ С НАНОВОЛОКНАМИ ХИТОЗАНА НА СПЕКТР СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ КОЖНЫХ РАН В ЭКСПЕРИМЕНТЕ: ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ

Меламед В.Д., Дорошенко Е.М., Наумов А.В.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Актуальность. Спектр свободных аминокислот (ССА) плазмы крови, являясь индикатором метаболического статуса, может характеризовать течение широкого круга заболеваний, сопровождающихся нарушением азотистого баланса, синтеза белка или его деградации. При заживлении кожных ран основным белком, синтез и/или

деградация которого характеризует течение патологического процесса, является коллаген, аминокислотный состав которого существенно отличается от типичного аминокислотного состава биологических жидкостей. В частности, для коллагена характерно высокое содержание глицина и пролина, а часть последнего в процессе созревания коллагена гидроксيليруется. Поэтому перспективно использовать уровни этих аминокислот в качестве биохимических маркеров течения процесса для оценки эффективности применения раневых покрытий с нановолокнами хитозана при лечении кожных ран.

Цель исследования. Оценить влияние раневых покрытий с нановолокнами хитозана на ССА плазмы крови при лечении кожных ран у лабораторных крыс.

Материалы и методы. Исследование проведено на 14 крысах-самках массой 200-250 г. Всем животным под эфирным наркозом по закрытому контуру моделировали первично контаминированную кожную рану диаметром 1,5 см в межлопаточной области. Затем на рану в контрольной группе (9 крыс) накладывали повязку с водорастворимой мазью «Левомеколь», в опытной группе (5 крыс) – использовали раневые покрытия с нановолокнами хитозана с последующими перевязками. Забор крови осуществляли из яремной вены с последующим центрифугированием для получения плазмы.

Пробы плазмы крови депротеинизировали добавлением равных объемов 1М раствора хлорной кислоты, содержащей внутренний стандарт (δ -аминовалериановую кислоту), после чего центрифугировали на холоду при 16000 g в течении 15 мин. Супернатант немедленно отделяли от осадка. Пробы хранили при -18°C до анализа не более 14 суток, после размораживания повторно центрифугировали. Растворы стандартов, используемые для отработки разделения и калибровки хроматографической системы, обрабатывали аналогичным способом.

Определение проводили с помощью модифицированного метода обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с градиентным элюированием после предколоночной дериватизации аминокислот с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой (аминокислоты, содержащие первичную аминогруппу) и FMOС (вторичную).

Условия разделения: колонка Zorbax Eclipse Plus C18, 3,5 мкм, 3x150 мм. Подвижная фаза: 0,1 М Na-ацетатный буфер, pH 7,05, содержащий 20 мг/л ЭДТА (А); ацетонитрил/вода 7/3 (об./об.) (В), метанол/вода 7/3 (об./об.) (С), 0,1 М Na-ацетатный буфер, pH 5,85, содержащий 20 мг/л ЭДТА (D). Разделение проводили с градиентным элюированием оптимизированным профилем от 2 до 100 % В, с изменением соотношения В/С и А/D в ходе анализа, за 74 мин; темпе-

ратура колонки 35°C. Соотношение компонентов подвижной фазы в процентах приведено в таблице. Детектирование по флуоресценции, 231/445 нм. Оксипролин, саркозин и пролин определяли в отдельном анализе в виде FMOC-derivатов, детектирование при 265/313 нм [1,2].

Для всех исследованных показателей оценивали отклонение распределения значений показателя в выборке от нормального с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. В случае выявления статистически достоверных различий средних (с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок) его результаты проверялись медианным тестом Манна-Уитни.

При использовании раневых покрытий с нановолокнами хитозана в плазме крови крыс наблюдалось достоверное снижение уровней большинства исследованных аминокислот и их производных (см. табл.; показаны только достоверно изменяющиеся показатели). Особенно обращает на себя внимание снижение уровней глутамина и аспарагина, а также цитруллина и аргинина. Последний факт может означать снижение утилизации азота и скорости мочевинообразования, т.е. катаболизма белков. Из всех исследованных компонентов пула свободных аминокислот достоверно более высокими в опытной группе были уровни аминокислоты и бета-аланина, т.е. непротеиногенных соединений. Вероятно, основной вклад в снижение распада белков вносил коллаген или его незрелые формы, так как наиболее значительно снижался уровень оксипролина. Кроме этого, содержание глутамина и оксипролина в плазме крови опытных крыс коррелировало между собой ($r=0,90$, $p<0,05$), чего не наблюдалось в контрольной группе. Аналогично, в опыте коррелировали уровни пролина и аспартата, а в контроле – пролина и аспарагина. Имеющаяся в контроле положительная корреляция уровней пролина и глицина ($r=0,71$, $p<0,05$), содержание остатков которых в коллагене весьма высокое, отсутствовала в опыте ($r= -0,06$), свидетельствуя о снижении вклада коллагена в общий пул свободных аминокислот плазмы. Пролин и оксипролин могут рассматриваться как маркеры кислоторастворимого коллагена [3], однако уровень свободного оксипролина и, в меньшей степени, пролина, также, вероятно, могут быть информативными в биохимической оценке заживления ран, так как основная часть оксипролина является продуктом распада коллагена. Гиперпролинурия, вызванная недостаточностью пролидазы (пептидазы D), сопровождается нарушением заживления ран и образованием кожных язв [4]. Наши данные могут косвенно свидетельствовать о том, что применение раневых покрытий с нановолокнами хитозана способствует активации синтеза и созревания коллагена и препятствует его деградации

с высвобождением свободных аминокислот, в том числе, оксипролина.

Таблица - Содержание свободных аминокислот и их производных в плазме крови при лечении кожных ран, мкМ

	Контроль, n=9	Опыт, n=5
Asp	54,1570 ± 3,01960	34,9734 ± 0,96124*
Glu	161,1368 ± 10,74914	141,3971 ± 6,83592
Asn	35,8313 ± 3,26909	24,6217 ± 2,19769*
αAAA	1,1532 ± 0,20384	2,8839 ± 0,19874*
Gln	574,8365 ± 32,40899	365,4846 ± 18,42150*
His	59,3256 ± 3,61064	45,7672 ± 2,02622*
Ctr	76,7162 ± 3,95358	45,1726 ± 2,99702*
Arg	266,8689 ± 8,96518	215,3055 ± 9,34159*
βAla	1,7720 ± 0,46928	3,8578 ± 0,35532*
Ala	454,2884 ± 37,85330	294,7684 ± 22,61637*
Tau	241,8164 ± 15,94165	220,7062 ± 10,62325
Trp	55,6924 ± 3,80347	23,9106 ± 1,46336*
Phe	54,5848 ± 4,66334	34,9283 ± 1,75848*
Ile	60,3507 ± 5,14511	19,6809 ± 3,53150*
HPro	69,6144 ± 17,69431	16,2097 ± 1,51206*
Pro	912,8163 ± 70,79921	170,1488 ± 19,45512*

* $p < 0,05$ по отношению к контролю

Выводы. Применение нановолокон хитозана способно снизить катаболическую реакцию, имеющуюся при заживлении ран, что наиболее заметно по содержанию оксипролина.

Литература

1. Дорошенко, Е.М. Методика определения свободных аминокислот и их производных в тканях и биологических жидкостях человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е.М. Дорошенко, Л.И. Нефёдов, А.А. Глазев // МВИ. МН 806-98. Утв. БелГИМ, 2008.
2. Дорошенко, Е.М. Методологические аспекты и трудности анализа свободных (физиологических) аминокислот и родственных соединений в биологических жидкостях и тканях / Е.М. Дорошенко // Сборник тезисов Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2010», Минск, 14-15 мая 2010 г. - Минск, 2010. – С. 126.
3. Ramasamy, P. Characterization and wound healing property of collagen-chitosan film from *Sepia kobeensis* (Hoyle, 1885) / P. Ramasamy, A. Shanmugam // Int. J. Biol. Macromol. – 2015. – V. 74. – P. 93–102.
4. Kavala, M. Ulcus cruris associated with prolidase deficiency / M. Kavala [et al.] // Dermatol. Online J. – 2006. – V. 12, N. 7. – P.24.

ДИНАМИКА ЛАБОРАТОРНЫХ И ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КОЖНЫХ РАН ПОКРЫТИЯМИ С НАНОВОЛОКНАМИ ХИТОЗАНА

Меламед В.Д.¹, Лазаревич С.Н.², Юркевич С.В.², Жмайлик Р.Р.¹, Васько Т.П.²

1УО «Гродненский государственный медицинский университет»

2УЗ «ГКБСМП г. Гродно»

Актуальность. Важными показателями оценки течения раневого процесса при лечении кожных ран являются результаты лабо-