

УДК 612.018.11-02:616.5-001

DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i2.6674

Є. О. Лоза, М. І. Марущак, О. В. Денефіль

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ В ГОМОГЕНАТІ ШКІРИ ЩУРІВ ПРИ РІЗНИХ СПОСОБАХ ЗАКРИТТЯ РАН

За даними різних авторів, від 4 до 22 % пацієнтів, які звернулися до лікувальних закладів, мають патологічні рубці. Мета даної роботи – виявити особливості оксидативного стресу в гомогенаті шкіри щурів при різних способах закриття ран. Аналіз всіх показників дає змогу стверджувати, що у шкірі тварин, яким було нанесено клей, інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення значно нижча порівняно з накладанням вузлових швів. У подальших дослідженнях планується провести аналіз показників вільнорадикального окиснення, системи антиоксидантного захисту і репаративної здатності шкіри за умови використання ниток та біологічного клею при захворюванні на цукровий діабет.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вільнорадикальне окиснення, оксидативний стрес, патологічний рубець.

ВСТУП. За даними різних авторів, від 4 до 22 % пацієнтів, які звернулися до лікувальних закладів, мають патологічні рубці [1–3]. Вони розташовані на відкритих поверхнях тіла, формують косметичні дефекти, при локалізації у ділянці суглобів сприяють обмеженню їх рухомості й нерідко супроводжуються больовими відчуттями. Наявність рубців у ряді випадків призводить до інвалідизації і розвитку нервово-психічних розладів, неврозів та депресій. Проблема лікування і профілактики утворення келоїдних рубців досі залишається актуальною. Це пов'язано як з великою частотою розповсюдженості даного ускладнення, так і з відсутністю чіткого розуміння причин його розвитку. Остання обставина зумовлює неможливість проведення етіотропного лікування і пояснює різноманіття методів впливу та застосовуваних лікарських засобів. Гіпертрофічні рубці й келоїди утворюються в результаті надлишкового продукування колагену без його еквівалентної деградації. Крім того, патологічний рубцевий процес характеризується високим рівнем колагену III типу, тривалим існуванням ранніх форм фібробластів. Келоїд виходить за зону ушкодження, проникаючи в навколишні здорові тканини і підносячись над рівнем шкіри, зазвичай не регресує спонтанно, часто рецидивує після видалення. Гіпер-

© Є. О. Лоза, М. І. Марущак, О. В. Денефіль, 2016.

трофічний рубець залишається обмеженим травмованою ділянкою, спонтанно регресує протягом 12–18 місяців, хоча регрес необов'язково може бути повним. Загальновідомо, що необхідними умовами профілактики утворення рубцевих деформацій є мінімальна травматизація, точне зіставлення країв рани, доцільний вибір шовного матеріалу.

Відомо, що від якості, хімічного складу і структури матеріалу ниток залежить реакція тканин на їх імплантацію. Однією з таких реакцій є активація вільнорадикального окиснення (ВРО), що є важливим біохімічним процесом перетворення ліпідів, нуклеїнових кислот, білків та інших сполук під дією вільних радикалів, а пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) та білків – один з його наслідків [4]. ВРО на всіх етапах перебігу утворює численні продукти, які є результатом взаємодії вільних радикалів між собою й біологічними макромолекулами. Різноманітні продукти пероксидного окиснення при їх надлишку характеризуються вираженою цитотоксичною активністю. Вони пригнічують процеси енергоутворення в клітині, порушують синтез нуклеїнових кислот і білків [5, 12], що може бути однією з причин утворення патологічних рубцевих тканин.

Метою роботи було виявити особливості оксидативного стресу в гомогенаті шкіри щурів при різних способах закриття ран.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експеримент проведено на 60 щурах-самцях масою 210–240 г. Усім тваринам під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг маси щура) проводили повношарові прямолінійні розрізи довжиною 2 см у спинній ділянці. Для закриття післяопераційної рани у тварин 1-ї експериментальної групи (30 щурів) застосовували хірургічні нитки “Поліамід № 5”. Тваринам 2-ї експериментальної групи (30 щурів) було нанесено шкірний клей “Dermabond” (ETHICON, Inc. a Johnson&Johnson company, USA). Тварин виводили з експерименту на 3, 7, 28 доби після оперативного втручання під тіопенталовим наркозом (90 мг/кг маси щура).

Дослідженню підлягали гомогенат та супернатант гомогенату рубцевозміненої шкіри [6].

Для виявлення активації процесів ВРО визначали вміст активних форм кисню (АФК) [13], гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) [9], дієнових кон'югатів (ДК) і трієнових кон'югатів (ТК) [5], активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП) [7] та показників окисної модифікації білків плазми крові (ОМБ₃₇₀ і ОМБ₄₃₀) [10].

Для вивчення системи антиоксидантного захисту визначали активність супероксиддисмутазу (СОД) в отриманому супернатанті за методикою С. Чеварі та ін. [11]. Активність каталази визначали за методом М. А. Королюк [8], сульфгідрильних груп (SH-груп) – за G. L. Ellman [14].

Статистичну обробку отриманих даних проведено стандартними методами варіаційної статистики з використанням пакета статистичних

програм. Результати наведено як (M±m), де M – середнє значення показника, m – стандартна похибка. Достовірність розбіжностей між досліджуваними показниками визначали за допомогою критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження свідчили про те, що при рановому процесі зростала активність ВРО. Підвищення концентрації АФК виявлено у гомогенаті шкіри тварин 1-ї та 2-ї груп впродовж усіх термінів дослідження.

Вміст дієнових та трієнових кон'югатів перевищував показники в гомогенаті інтактної шкіри на 3 добу в обох експериментальних групах. У 1-й групі вміст ДК складав (4,69±0,21) %, ТК – (6,69±0,17) %, у 2-й – (6,39±0,27) % і (6,23±0,12) % відповідно. На 7 та 28 доби відбувалось лінійне зменшення вмісту первинних продуктів ПОЛ як у 1-й, так і в 2-й експериментальних групах (табл. 1).

Вміст ОМБ₃₇₀ і ОМБ₄₃₀ в гомогенаті шкіри тварин 1-ї групи був більшим у 2,5 раза за аналогічний в інтактній шкірі на 3 добу, водночас у 2-й групі – в 1,9 та 2,2 раза відповідно. Незначне зменшення цих показників відбулося в обох експериментальних групах на 7 добу, а на 28 добу вони практично досягли норми. Однак тоді, коли на 28 добу вміст ОМБ₄₃₀ у гомогенаті шкіри тварин, яким було нанесено клей, практично не відрізнявся від показників контролю, у 1-й групі виявили його перевищення в 1,4 раза (табл. 2).

Таблиця 1 – Показники вільнорадикального окиснення у гомогенаті шкіри щурів за умови використання ниток і шкірного клею в динаміці

Показник, %	АФК	ГПЛ	ДК	ТК	ТБК-АП	
Інтактні тварини	19,20±0,37	5,05±0,06	4,05±0,08	4,09±0,18	4,19±0,27	
3 доба	1-ша група	77,58±0,83*	6,28±0,21*	4,69±0,21*	4,69±0,21*	5,13±0,42*
	2-га група	64,93±0,88*^	7,80±1,19*	3,93±0,01*	6,23±0,12*	4,27±0,26*^
7 доба	1-ша група	65,83±0,73*	4,29±0,12*	3,93±0,01*	6,36±0,10*	6,66±0,21*
	2-га група	30,11±0,63*^	6,07±0,07*^	6,05±0,29*^	5,80±0,12*^	5,47±0,13*^
28 доба	1-ша група	21,83±1,01*	6,66±0,66*	4,63±0,55*	4,67±0,16*	4,96±0,14*
	2-га група	21,74±0,38^	4,11±0,27^	4,24±0,22	3,97±0,07^	4,22±0,19^

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

1. * – різниця достовірна стосовно даних інтактної групи.

2. ^ – різниця достовірна між 1-ю та 2-ю експериментальними групами в межах однієї доби.

Таблиця 2 – Показники окиснювальної модифікації білків у гомогенаті шкіри щурів за умови використання ниток і шкірного клею в динаміці

Показник, %	ОМБ ₃₇₀	ОМБ ₄₃₀	
Інтактні тварини	1,70± 0,06	0,33±0,46	
3 доба	1-ша група	2,69±0,59*	4,12±0,09*
	2-га група	2,06±0,27*^	1,59±0,12*^
7 доба	1-ша група	3,10±0,11*	2,75±0,38*
	2-га група	3,52±0,25*^	3,39±0,14*^
28 доба	1-ша група	1,28±0,08*	4,18±0,02*
	2-га група	1,56±0,27^	0,36±0,66^

Аналіз всіх показників дає змогу стверджувати, що у шкірі тварин, яким було нанесено клей, інтенсивність процесів ВРО значно нижча порівняно з накладанням вузлових швів (рис.). Враховуючи посилення в тканинах процесів ПОЛ, які зумовлюють явища первинної та вторинної альтерації при застосуванні ниток для закриття ран, відтермінується початок репаративних механізмів. Хоча й інтенсивність процесів ВРО в гомогенаті шкіри при використанні ниток і шкірного клею мала однакову спрямованість з максимумом на 7 добу, проте використання клею "Dermabond" достовірно зменшувало концентрацію продуктів тіобарбітурової кислоти.

На ранніх етапах формування рубця (на 3 добу) спостерігали підвищення показників активності системи антиоксидантного захисту в обох групах. При цьому в експериментальній

групі тварин, яким було накладено вузлові шви, активність СОД та каталази значно перевищувала показники інтактної шкіри і становила (154,86±5,45) ум. од. та (103,57±3,12) кат/кг відповідно. Такі дані свідчили про неминучий запуск вільнорадикального окиснення внаслідок дії травмувального фактора. Достовірно зменшення всіх показників визначалось у шкірі тварин обох груп на 7 добу експериментального дослідження. Однак різниця зміни даних активності СОД була вищою у 2-й групі щурів, яким наносили шкірний клей, і становила 75,3 % (показник знизився до (83,52±2,73) ум. од.), тоді як у 1-й групі – 28,9 % (показник зменшився до (106,66±5,21) ум. од.). Майже всі показники на 28 добу досягнули норми, за винятком активності СОД і каталази у рубцевозміненій шкірі тварин 1-ї групи, які становили (80,54±2,86) ум. од. та (72,21±3,39) кат/кг відповідно (табл. 3).

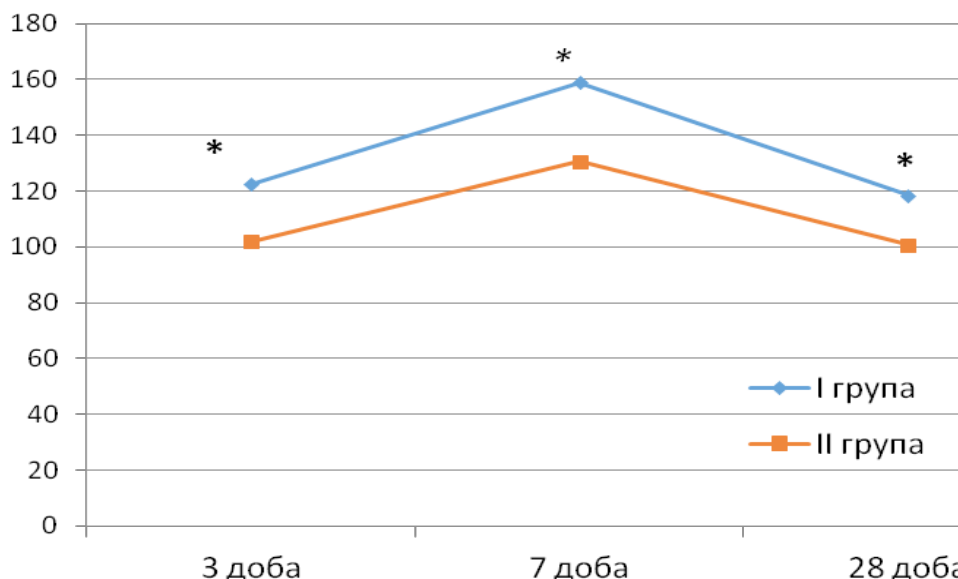


Рис. Зіставлення змін концентрації продуктів тіобарбітурової кислоти при різних способах закриття ран (* – різниця достовірна між 1-ю та 2-ю експериментальними групами в межах однієї доби).

Таблиця 3 – Показники системи антиоксидантного захисту в гомогенаті шкіри за умови використання ниток і шкірного клею

Показник		СОД, ум. од.	Каталаза, кат/кг	SH-групи, ммоль/л
Інтактні тварини		71,45±2,28	35,05±2,91	37,50±2,02
3 доба	1-ша група	154,86±5,45*	103,57±3,12*	71,88±1,78*
	2-га група	111,11±5,55 [^]	92,25±2,63 [^]	62,30±1,65 [^]
7 доба	1-ша група	106,66±5,21*	80,14±2,63*	61,42±2,40*
	2-га група	83,52±2,73 [^]	70,27±2,37 [^]	58,43±2,21*
28 доба	1-ша група	80,54±2,86*	72,21±3,39	51,43±3,02
	2-га група	72,32±2,04 [^]	70,73±2,87	54,33±2,19

ВИСНОВОК. Застосування шкірного клею знижує інтенсивність перебігу вільнорадикального окиснення у клітинах рубцевозмінених тканин післяопераційної рани порівняно з накладанням на неї вузлових швів.

Перспективи подальших досліджень. Планується провести аналіз показників вільнорадикального окиснення, системи антиоксидантного захисту і репаративної здатності шкіри за умови використання ниток та біологічного клею при захворюванні на цукровий діабет.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Герасименко М. Ю. Контрактубекс и физические факторы в комплексном лечении рубцовых деформаций / М. Ю. Герасименко, Е. В. Филатова, В. А. Стучилов // Сб. науч. тр. II съезда комбустиологов России. – М., 2008. – С. 187–188.
2. Денисенко О. Г. Дифференційна діагностика і лікування келоїдних та гіпертрофічних рубців / О. Г. Денисенко, Р. О. Чернишов // Галиц. лікар. вісн. – 2006. – **13**, № 1. – С. 112–115.
3. Проблемы диагностики и лечения патологических рубцов / В. Г. Мишалов, В. В. Храпач, И. А. Назаренко [и др.] // Хирургия Украины. – 2008. – № 4 (28). – С. 109–114.
4. Продукты вільнорадикального перекисного окиснення та методи їх ідентифікації (огляд літератури) / І. Ф. Бленічев, Є. Л. Левицький, С. І. Коваленко [та ін.] // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 4. – С. 9–13.
5. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма животных / В. С. Бузлама, М. И. Рецкий, Н. П. Мещеряков, Т. Е. Рогачева. – Воронеж, 1997. – 35 с.
6. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 911 с.
7. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.
8. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
9. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / [В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.] ; за ред. В. В. Влізла. – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 761 с.
10. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми крові / І. Ф. Мещишен // Буковин. мед. вісн. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156–158.
11. Чевари С. Роль супероксидредуктазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
12. Al-Delaimy W. K. Reliability of biomarkers of iron status, blood lipids, oxidative stress, vitamin D, C-reactive protein and fructosamine in two Dutch cohorts / W. K. Al-Delaimy, E. N. Jansen // Biomarkers – 2006. – **11** (4). – P. 370–382.
13. Li W. Caveolin-1 Inhibits Expression of Antioxidant Enzymes through Direct Interaction with Nuclear Erythroid 2 p45-related Factor-2 (Nrf2) / W. Li, H. Liu, J. S. Zhou [et al.] // J. Biol. Chem. – 2012. – **287**, № 25. – P. 20922–20930.
14. Moffat J. A. Investigations into the role of sulfhydryl groups in the mechanism of action of the nitrates / J. A. Moffat, P. W. Armstrong, G. S. Marks // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 1982. – **60**, № 10. – P. 1261–1266.

Е. А. Лоза, М. И. Марущак, О. В. Денефиль

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ГОМОГЕНАТЕ КОЖИ КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ЗАКРЫТИЯ РАН

Резюме

По данным различных авторов, от 4 до 22 % пациентов, обратившихся в лечебные учреждения, имеют патологические рубцы. Цель данной работы – выявить особенности оксидативного стресса в гомогенате кожи крыс при различных способах закрытия ран. Анализ всех показателей позволяет утверждать, что в коже животных, которым был нанесен клей, интенсивность процессов свободнорадикального окисления значительно ниже по сравнению с наложением узловых швов. В дальнейших исследованиях планируется провести анализ показателей свободнорадикального окисления, системы антиоксидантной защиты и репаративной способности кожи в условиях использования нитей и биологического клея при заболевании сахарным диабетом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: свободнорадикальное окисление, оксидативный стресс, патологический рубец.

FEATURES OF FREE SKIN LIPID HOMOGENATES IN RATS AT DIFFERENT WAYS OF WOUND CLOSURE

Summary

According to different authors from 4 % to 22 % of patients who applied to medical institutions have abnormal scars. The aim of our research was to identify the characteristics of oxidative stress in skin homogenate of rats with different methods of wound closure. Analysis of all indicators allows to assert that intensity of free radical oxidation in the skin of the animals after applying skin glue is much lower compared to the animals after suturing. In further research is planned to analyze indicators of free radical oxidation system antioxidation protection and reparative ability of the skin when used sutures and biological glue in rats with the diabetes.

KEY WORDS: **free radical oxidation, oxidative stress, abnormal scar.**

Отримано 28.04.16

Адреса для листування: Є. О. Лоза, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.