

СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА КРОВИ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ВОЗДУШНО-ПЛАЗМЕННОГО ПОТОКА, СОДЕРЖАЩЕГО NO

Соловьева А.Г., Дударь А.И., Голыгина Е.С.

ФГБОУ ВО "Приволжский исследовательский медицинский университет"

Министерства здравоохранения Российской Федерации

пл. Минина и Пожарского, д.10/1, г. Нижний Новгород, 603950, РФ; e-mail: sannag5@mail.ru

Поступила в редакцию: 02.07.2018.

Аннотация. Работа посвящена изучению активности оксидоредуктаз при экспериментальной комбинированной термической травме после воздействия холодной плазмы, содержащей NO. Исследование проведено на 30 крысах-самцах Wistar массой 200-250 г., которых разделили на 3 группы: 1 – интактные животные, 2 – контрольная, 3 – опытная. Животным контрольной и опытной групп моделировали комбинированную термическую травму (КТТ) путем нанесения контактного ожога и термоингаляционной травмы. Животных выводили из эксперимента на 14 сутки. Крысы опытной группы после операции ежедневно облучались потоком воздушной плазмы с помощью аппарата «ПЛАЗОН» на расстоянии 1 см от ожоговой поверхности в течение 2 минут. Концентрация молекул NO в плазменном потоке (на оси плазменного потока) составляла ~3000ppm. В эритроцитах оценивали активность альдегиддегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы, каталазы. Выявлено повышение удельной активности лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях, а также альдегиддегидрогеназы после применения экзогенной NO-терапии на ожоговую рану у крыс с комбинированной термической травмой. Отмечена активация работы антиоксидантных ферментов после применения «Плазона» при лечении комбинированной термической травмы.

Ключевые слова: термическая травма, лактатдегидрогеназа, альдегиддегидрогеназа, супероксиддисмутаза, каталаза, оксид азота.

Ожоги являются одним из широко распространенных видов травм в структуре бытового и производственного травматизма и представляют не только медицинскую, но и социально-экономическую проблему [1-3]. Патогенез ожоговой болезни включает в себя нарушения функционирования антиоксидантной системы защиты организма на фоне интенсификации свободнорадикального окисления, приводя к развитию окислительного стресса [4]. Поэтому исследование особенностей антиоксидантного звена при термической травме в крови и поиск путей их коррекции является актуальным.

Местное лечение ожоговой раны является важнейшим компонентом в комплексной терапии обожженных. При лечении ожогов помимо фармакологических препаратов и хирургического метода применяют различные физические методы [5, 6]. В настоящее время остается большой интерес к изучению свойств оксида азота (NO) для лечения ран, в том числе и ожоговых. Оксид азота обладает антимикробным, цитотоксическим и цитопротективным действием, стимулирует активность фибробластов, макрофагов и кератиноцитов, индуцирует цитокины, Т-лимфоциты и иммуноглобулины, взаимодействует с кислородосодержащими радикалами и воздействует на микроциркуляцию. Оксид азота (NO) представляет собой универсальный регулятор метаболических процессов как на клеточном, так и на тканевом уровне организма человека [7]. Экзогенный NO способен проникать как через раневую поверхность, так и через неповрежденную кожу и слизистые оболочки [8]. В исследованиях было подтверждено, что местное воздействие на раневую поверхность в первую очередь обеспечивало бактерицидный эффект [9]. Доказано, что NO в составе газового потока является фактором выраженной стимуляции раневого заживления [9]. В этом плане привлекает внимание использование аппарата «ПЛАЗОН». В основу используемого в исследованиях Скальпеля-коагулятора-стимулятора воздушно-плазменного СКВП/NO-01 «ПЛАЗОН» - регистрационное удостоверение №ФСР 2007/00583 от 21 марта 2012 г. – положено воздействие на ткани организма потока газа, образованного охлаждением воздушной плазмы и содержащего молекулы NO, образующегося вследствие плазмохимических реакций [9].

Целью исследования явилось изучение активности оксидоредуктаз при комбинированной термической травме после воздействия холодной плазмы, содержащей NO.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было проведено на 30 самцах крыс линии Wistar массой 200-250 г., полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (г. Москва). Все животные содержались в стандартных условиях вивария в клетках при свободном доступе к пище и воде на рационе питания, согласно нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ». Условия работы с животными соответствовали правилам Европейской Конвенции ET/S 129, 1986 и директивам 86/609 ESC. Животные были разделены на 3 группы: 1 – интактные животные, 2 – контрольная, 3 – опытная. Животным контрольной и опытной групп моделировали комбинированную термическую травму (КТТ) путем нанесения контактного ожога

нагретым телом на 20 % эпилированной поверхности тела (3с), и термоингаляционной травмы (10с) продуктами горения. Животных 2 и 3 групп выводили из эксперимента на 14 сутки. Крысы опытной группы после операции ежедневно облучались потоком воздушной плазмы с помощью аппарата «ПЛАЗОН» на расстоянии 1 см от ожоговой поверхности в течение 2 минут. Концентрация молекул NO в плазменном потоке (на оси плазменного потока) составляла ~3000ppm. В гемолизате отмытых эритроцитов оценивали активность альдегиддегидрогеназы (АлДГ) [10], лактатдегидрогеназы в прямой реакции (ЛДГ_{пр.}) и лактатдегидрогеназы в обратной реакции (ЛДГ_{обр.}) [11], супероксиддисмутазы (СОД) [12], каталазы [13]. Для расчета удельной активности оксидоредуктаз определяли концентрацию белка [14]. Для исследований использовали спектрофотометр Power Wave (Япония). Результаты исследований обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0, с помощью которой рассчитывалась средняя арифметическая величина показателей и ошибка среднего. Значимость различий между показателями определялась с помощью t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что при комбинированной термической травме удельная активность ЛДГ_{пр} уменьшилась в 2,44 раза ($p=0,023$), ЛДГ_{обр} – в 1,65 раза ($p=0,031$) по сравнению с показателями интактных крыс (табл. 1).

Расчет соотношения ЛДГ_{пр}/ЛДГ_{обр} показал его снижение (у здоровых крыс ЛДГ_{пр}/ЛДГ_{обр}=0,798, при КТТ ЛДГ_{пр}/ЛДГ_{обр}=0,539), что свидетельствует о накоплении в крови крыс с КТТ лактата, являющегося косвенным показателем тканевой гипоксии.

Под действием экзогенной NO-терапии активность ЛДГ_{пр} увеличилась в 1,78 раза ($p=0,029$) по сравнению с показателем крыс с КТТ. Однако удельная активность ЛДГ_{пр} после лечения была меньше в 1,34 раза ($p=0,033$) по сравнению с интактными животными. При этом удельная активность ЛДГ_{обр} после воздействия NO возросла в 1,87 раза ($p=0,032$) по сравнению с показателем животными с КТТ без лечения, но осталась выше в 1,13 раза ($p=0,024$) по сравнению с интактными крысами. Показано, что удельная активность АлДГ при термической травме уменьшилась в 1,85 раза ($p=0,033$) по сравнению с показателем интактных крыс. Уменьшение активности фермента ведёт к накоплению большого количества высокотоксичных альдегидов, которые ингибируют активность ферментов, нарушают детоксикационную функцию печени. Благодаря применению экзогенной NO-терапии на ожоговую поверхность крыс удельная активность АлДГ в крови увеличилась в 5,98 раза ($p=0,035$) по сравнению с животными с КТТ без лечения.

В результате эксперимента показано снижение удельной активности СОД и каталазы на 14 сутки после нанесения КТТ в 2,1 раза ($p=0,003$) и в 1,6 раза ($p=0,037$) по сравнению с показателем здоровых крыс (табл. 2), что свидетельствует об ослаблении антиоксидантных резервов. Полученные данные соответствуют картине развивающейся гипоксии, а также динамике показателей при токсемии, заканчивающейся между 7 и 14 сутками.

Отмечено, что применение холодной плазмы с NO на ожоговую поверхность увеличивает удельную активность СОД в 1,5 раза ($p=0,033$) и каталазы 6,7 раза ($p=0,032$) по сравнению с показателями активности крыс с КТТ без лечения (табл. 2).

Таким образом, применение «Плазона» при лечении термических травм позволяет восстановить антиоксидантный статус организма, активировать энергетические и детоксикационные системы крови, что способствует увеличению скорости заживления раны.

Таблица 1. Активность альдегиддегидрогеназы, лактатдегидрогеназы при КТТ после экзогенной NO-терапии

Условия эксперимента	ЛДГ _{пр} , нмоль НАДН/мин×мг белка	ЛДГ _{обр} , нмоль НАДН/мин×мг белка	АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка
Интактные крысы	73,45±3,21	91,97±4,01	20,25±1,21
КТТ	30,15±1,17*	55,88±0,494*	10,94±0,783*
КТТ+ NO-терапия	54,82±0,479*/**	104,22±1,94*/**	65,43±2,06*/**

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p \leq 0,05$); ** - различия статистически значимы по сравнению с животными с КТТ ($p \leq 0,05$).

Таблица 2. Активность супероксиддисмутазы, каталазы при КТТ после экзогенной NO-терапии

Условия эксперимента	СОД (усл.ед./мин×мг белка)	Каталаза (усл.ед./мин×мг белка)
Интактные крысы	1382,35±18,61	19,04±0,82
КТТ	670,15±1,17*	11,88±0,49*
КТТ+ NO-терапия	1041,85±21,71*/**	79,90±7,16*/**

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p \leq 0,05$); ** - различия статистически значимы по сравнению с животными с КТТ ($p \leq 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование показало, что применение экзогенной NO-терапии на ожоговую рану крыс с комбинированной термической травмой в течение 14 суток, вызвало повышение удельной активности ЛДГ в прямой и обратной реакциях. При этом отмечено резкое увеличение и удельной активности АДГ. Выявлена активация антиоксидантных ферментов после применения «Плазона» при КТГ.

Список литературы / References:

1. Еремина Т.В. *Показатели антиоксидантной системы эритроцитов при ожоговой травме*. Автореф дис. ... канд. биол. наук. Ростов-на-Дону, 1999, 23с. [Eremina T.V. *Pokazateli antioksidantnoj sistemy ehritroцитов pri ozhogovoj travme*. Avtoref dis. ... kand. biol. nauk. Rostov-na-Donu, 1999, 23 p. (in Russ.)]
2. *Здравоохранение в России 2017: Статистический сборник*. М.: Росстат, 2017, 48 p. [Zdravooxranenie v Rossii 2017: Statisticheskij sbornik. M.: Rosstat, 2017, 48 p. (in Russ.)]
3. Пономарева Н.А., Воробьев А.В., Жегалов В.А., Перетягин С.Н. История и этапы развития комбустиологической службы в России. *Здравоохранение Российской Федерации*, 2009, № 6, с. 45-48. [Ponomareva N.A., Vorob'ev A.V., ZHegalov V.A., Peretyagin S. N. Istoriya i ehtapy razvitiya kombustiologicheskoy sluzhby v Rossii. *Zdravooxranenie Rossijskoj Federacii*, 2009, no. 6, pp. 45-48. (in Russ.)]
4. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. *Ожоги: Руководство для врачей*. СПб.: СпецЛит, 2000, 480 с. [Paramonov B.A., Porembskij YA.O., YAblonskij V.G. *Ozhogi: Rukovodstvo dlya vrachej*. SPb.: SpecLit, 2000, 480 p. (in Russ.)]
5. Писаренко Л.В. *Применение плазменных потоков и жизнеспособных кожных аллотрансплататов в комплексном лечении ран*: дис. ... д-ра мед. наук. М., 2004, 328 с. [Pisarenko L.V. *Primenenie plazmennyh potokov i zhiznesposobnyh kozhnyh allotransplatatov v kompleksnom lechenii ran*: dis. ... d-ra med. nauk. M., 2004, 328 p. (in Russ.)]
6. Подойницына М.Г., Цепелев В.Л., Степанов А.В. Применение физических методов при лечении ожогов кожи. *Современные проблемы науки и образования*, 2015, № 5. [Podojnicyna M.G., Cepelev V.L., Stepanov A.V. Primenenie fizicheskikh metodov pri lechenii ozhogov kozhi. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 2015, no. 5. (in Russ.)]
7. Звягинцева Т.В., Кривошапка А.В., Желнин Е.В. Роль метаболитов оксида азота в механизмах развития экспериментального ожога. *Экспериментальная клиническая медицина*, 2011, т. 51, № 2, с. 5-9. [Zvyaginceva T.V., Krivoshapka A.V., ZHelnin E.V. Rol' metabolitov oksida azota v mekhanizmah razvitiya ehksperimental'nogo ozhoga. *Eksperimental'naya klinicheskaya medicina*, 2011, vol. 51, no. 2, pp. 5-9. (in Russ.)]
8. Василец В.Н., Шехтер А.Б. Медицинские и биологические применения плазменных источников окислов азота. *Известия высших учебных заведений. Серия: химия и химическая технология*, 2012, т. 55, № 4, с. 21-25. [Vasilec V.N., Shekhter A.B. Medicinskie i biologicheskie primeneniya plazmennyh istochnikov okislov azota. *Izvestiya vysshih uchebnyh zavedenij. Seriya: himiya i himicheskaya tekhnologiya*, 2012, vol. 55, no. 4, pp. 21-25. (in Russ.)]
9. *Скальпель-коагулятор-стимулятор воздушно-плазменный СКВП/NO-01 «Плазон»*. ТУ 9444-001-96571701-2007. Паспорт КРЛД 38642.001 ПС. Редакция от 22 сентября 2016 г. М., 2017, 28 с. [Skal'pel'-koagulyator-stimulyator vozduшно-plazmennyj SKVP/NO-01 «Plazon». TU 9444-001-96571701-2007. Passport KRLD 38642.001 PS. Redakciya ot 22 sentyabrya 2016g. M., 2017, 28 p. (in Russ.)]
10. Кершенгольц Б.М., Серкина Е.В. Некоторые методические подходы к изучению метаболизма этанола. *Лабораторное дело*, 1981, № 2, с. 126. [Kershengol'c B.M., Serkina E.V. Nekotorye metodicheskie podhody k izucheniyu metabolizma ehtanola. *Laboratornoe delo*, 1981, no. 2, p. 126. (in Russ.)]
11. Кочетов Г.А. *Практическое руководство по энзимологии*. Москва, 1980. [Kochetov G.A. *Prakticheskoe rukovodstvo po ehnzimologii*. Moskva, 1980. (in Russ.)]
12. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы. *Вопросы медицинской химии*, 1999, т. 45, № 3, с. 109-116. [Sirota T.V. Novyj podhod v issledovanii processa autookisleniya adrenalina i ispol'zovanie ego dlya izmereniya aktivnosti superoksiddismutazy. *Voprosy medicinskoj himii*, 1999, vol. 45, no. 3, pp. 109-116. (in Russ.)]
13. Сибгатуллина Г.В., Хаертдинова Л.Р., Гумерова Е.А. [и др.] *Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений: учебно-методическое пособие*. Казань: Казанский (Приволжский) Федеральный университет, 2011, 61 с. [Sibgatullina G.V., Haertdinova L.R., Gumerova E.A. [et al.] *Metody opredeleniya redoks-statusa kul'tiviruemyh kletok rastenij: uchebno-metodicheskoe posobie*. Kazan': Kazanskij (Privolzhskij) Federal'nyj universitet, 2011, 61 p. (in Russ.)]
14. Королева О.В. *Спектрофотометрические методы биохимических исследований*. Л: Ленинградский университет, 1979, 119 с. [Koroleva O.V. *Spektrifotometricheskie metody biohimicheskikh issledovanij*. L: Leningradskij universitet, 1979, 119 p. (in Russ.)]

STATE OF OXIDATIVE AND ENERGY METABOLISM OF THE BLOOD IN THERMAL INJURY UNDER THE INFLUENCE OF AIR-PLASMA FLOW CONTAINING NO**Soloveva A.G., Dudar A.I., Golgina E.S.**

Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
Nizhny Novgorod, Minin and Pozharsky square, 10/1, 603950, Russia; e-mail: sannag5@mail.ru

Abstract. The work was devoted to the study of the activity of oxidoreductases in experimental combined thermal trauma after exposure to cold plasma containing NO. The study was conducted on 30 Wistar rats weighing 200-250 g, which were divided into 3 groups: 1-intact animals, 2 – control, 3 – experimental. Animals of the control and experimental groups were modeled combined thermal trauma (CTT) by the application of the contact burn and thermoinsulation injury. Animals were taken out of the experiment on day 14. Rats of the experimental group were daily irradiated with air plasma flow after the operation using the PLASON device at a distance of 1 cm from the burn surface for 2 minutes. The concentration of NO molecules in the plasma flow was ~3000ppm. The activity of aldehyde dehydrogenase, lactate dehydrogenase, superoxide dismutase, catalase was evaluated in erythrocytes. The specific activity of lactate dehydrogenase in direct and reverse reactions, as well as aldehyde dehydrogenase was increased after exogenous NO-therapy for burn wound in rats with combined thermal injury. The activation of antioxidant enzymes after the use of PLAZON in the treatment of combined thermal injury was noted.

Key words: *thermal injury, lactate dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, superoxide dismutase, catalase, nitric oxide.*