

5. Cremers D.A., Radziemski L.J. *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*. New York: John Wiley and Sons, 2006, p. 264.

6. Bogaerts A., Chen Z. Effect of laser parameters on laser ablation and laser-induced plasma formation: A numerical modeling investigation. *Spectrochimica Acta. Part B*, 2005, vol. 60, pp. 1280-1307.

7. Хоанг Ч.Н., Патапович М.П., Тхи Ф.У., Пашковская И.Д., Булойчик Ж.И., Зажогин А.П. Исследование влияния гидроксидов К и Na на пространственное распределение Ca, Mg и Al в высохших каплях белка методом лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии. *Вестн. Бел. гос. ун-та, сер. 1*, 2013, № 1, с. 29-33. [Hoang T.N., Patarovich M.P., Thi P.U., Pashkovskaya I.D., Bulochik J.I., Zajogin A.P. Investigation into the effect of K and Na hydroxides on the spatial distribution of Ca, Mg, and Al in the dried albumin drops using the laser atomic-emission spectrometry method. *J. of BSU, Iss. 1*, 2013, no. 1, pp. 29-33. (In Russ.)]

8. Хоанг Ч.Н., Патапович М.П., Тхи Ф.У., Пашковская И.Д., Булойчик Ж.И., Зажогин А.П. Исследование влияния физико-химических свойств фосфатов калия на распределение катионов Ca, Mg и Al в высохших каплях альбумина методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии. *Вестн. Бел. гос. ун-та, сер. 1*, 2012, № 3, с. 12-15. [Hoang T.N., Patarovich M.P., Thi P.U., Pashkovskaya I.D., Bulochik J.I., Zajogin A.P. Investigation into the effect exerted by the physical and chemical properties of potassium phosphates on the distribution of Ca, Mg, and Al cations in the dried albumin drops with the use of local laser atomic-emission spectrometry. *J. of BSU, Iss. 1*, 2012, no. 3, pp. 12-15. (In Russ.)]

9. Lidin R.A., Andreeva L.L., Molochko V.A. *Constants of inorganic substances. Hand-book*. М.: Drofa, 2006, 389 p.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ УБИХИНОНА-10 ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Соловьева А.Г.¹, Перетьягин П.В.^{1,2}

¹Приволжский Федеральный медицинский исследовательский центр
Верхне-Волжская набережная, 18, г. Нижний Новгород, 603155, РФ

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
пр. Гагарина, 23, г. Нижний Новгород, 603950, РФ
e-mail: sannag5@mail.ru

Аннотация. Работа посвящена изучению влияния убихинона-10 на состояние микроциркуляции, про- и антиоксидантные системы крови при термической травме в эксперименте. Исследование проведено на белых крысах-самцах линии Wistar массой 180-220 г. Для оценки интенсивности перекисного окисления липидов и общей антиоксидантной активности использовали метод индуцированной биохемилуминесценции. Концентрацию малонового диальдегида в крови определяли спектрофотометрическим методом. Микроциркуляцию оценивали методом лазерной доплеровской флоуметрии. У животных с термической травмой отмечен рост перекисного окисления липидов на фоне снижения антиоксидантных резервов, что привело к развитию оксидативного стресса. Показано нарушение всех показателей микроциркуляции и рост количества шунтирующих сосудов в области ожоговой раны. Установлено, что использование убихинона-10 в комплексном лечении экспериментальной термической травмы приводит к снижению интенсивности свободнорадикальных процессов в плазме и эритроцитах крыс и повышению общей антиоксидантной активности. Убихинон-10 улучшает состояние микроциркуляции, оказывая положительный эффект в отношении активных и пассивных факторов микроциркуляции.

Ключевые слова: термическая травма, перекисное окисление липидов, микроциркуляция, убихинон-10.

THE CHANGE OF THE FUNCTIONAL-BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD UNDER THE EFFECT OF UBIQUINONE-10 IN EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA

Soloveva A.G.¹, Peretyagin P.V.^{1,2}

¹Volga Federal Medical Research Center
Verhne-Voljskaya emb., 18, Nizhny Novgorod, 603155, Russia

²Lobachevsky State University
Gagarin av., 23, Nizhny Novgorod, 603950, Russia
e-mail: sannag5@mail.ru

Abstract. The work is devoted to study the effect of ubiquinone-10 on the microcirculation, pro - and antioxidant blood systems in thermal injury in the experiment. The study was carried out on white Wistar rats weighing 180-220 g. The method of induced bioluminescence was used for the estimation of intensity of lipid peroxidation and total antioxidant activity. The concentration of malonic dialdehyde in the blood was determined by spectrophotometrically. Microcirculation was assessed by laser Doppler flowmetry. The increase of lipid peroxidation on the background of decrease of antioxidant reserves was marked in animals with thermal trauma, it was led to the development of oxidative stress. It was shown the violation of microcirculation and increase in the number of shunt vessels on the burn wound. It was installed that the use of ubiquinone-10 in complex treatment of experimental thermal injury leads to a decrease in

the intensity of free radical processes in plasma and erythrocytes of rats and increase of total antioxidant activity. Ubiquinone-10 improves microcirculation, providing a positive effect regarding passive and active factors of microcirculation.

Key words: thermal injury, lipid peroxidation, microcirculation, ubiquinone-10.

Проблема термических поражений занимает одно из центральных мест в травматологии. Ожоговая травма сопровождается усилением образования активных форм кислорода, резким возрастанием активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижением содержания антиоксидантов в крови, что приводит к развитию окислительного стресса и влечет за собой резкие изменения жизненно важных функций организма [1]. Поэтому проблема нормализации баланса про- и антиоксидантных систем организма после травмы является актуальной в современной комбустиологии. При этом накопленная информация по изменению системы кровообращения при термической травме отражает нарушения центральной гемодинамики и микроциркуляции [2], что диктует необходимость контроля за данными показателями, поиска путей улучшения микроциркуляции ожоговой раны и восстановления общего состояния организма после повреждения. Для коррекции метаболических нарушений у больных с тяжелыми ожогами может быть использован естественный антиоксидант убихинон-10 (Q10), который применяется в кардиологии, для лечения и профилактики различных патологий [3-5]. При этом на сегодняшний день не хватает источников, свидетельствующих о его корригирующих возможностях при термической травме.

Целью данной работы явилось изучение влияния убихинона-10 на про- и антиоксидантные системы крови и состояние микроциркуляции у крыс с термической травмой.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 29 белых крысах-самцах линии Wistar массой 180-220 г. Все животные содержались в стандартных условиях вивария в клетках при свободном доступе к пище и воде на рационе питания, соответствующем нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» (1978 год). Сформировано 3 группы животных: 1 – интактная группа (здоровые животные (n = 10)); 2 – контрольная группа (животные с термической травмой (n = 10)); 3 – опытная группа (животные с термической травмой, получавшие убихинон-10 (n = 9)).

Животным под наркозом (золетил+ксила) наносили ожог ШБ-IV степеней на предварительно депилированную поверхность спины на площади 20 % поверхности тела путём контакта изолированного участка кожи с нагревательным элементом, экспозиция составила 5 секунд.

В контрольной группе животных в течение 10 дней осуществляли стандартное лечение: внутривенно вводили 1 мл изотонического раствора хлорида натрия и местно применяли мазь «Левомеколь». Животным опытной группы, аналогично контрольной, проводилось инфузионное (физиологический раствор) и местное лечение, в дополнение к которому ежедневно скармливался убихинон в весовой дозе 15 мг/кг, смешанный с оливковым маслом. Использовали препарат порошкообразный Q-10 производства Кстовского завода БВК.

На 11-ый день животных выводили из эксперимента путем декапитации с предварительной перерезкой сонной артерии под наркозом (золетил + ксила). Исследование микроциркуляции осуществляли методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) [6] с помощью программно-аппаратного комплекса «ЛАКК-М» в околораневой зоне до нанесения ожога и на 10-е сутки после травмы. При исследовании микроциркуляции оценивали показатель микроциркуляции (ПМ), отражающий средний уровень перфузии (средний поток эритроцитов) в единице объема ткани за единицу времени. С помощью программных средств проводили «Вейвлет-анализ» (амплитудно-частотный спектр), который позволял производить подсчет медленных и высокочастотных колебаний кровотока для того, чтобы оценить роль пассивных (пульсовая волна и дыхательная волна) и активных факторов (миогенные, нейрогенные и эндотелиальные колебания) регуляции микрокровотока с вычислением показателя шунтирования микрокровотока (ПШ).

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов и оценку антиоксидантной системы организма проводили в плазме и эритроцитах крови крыс. Активность ПОЛ изучали с помощью метода индуцированной биохемиллюминесценции на БХЛ-06 (Н.Новгород). Оценивали следующие параметры хемиллюминограммы: $tg\ 2\alpha$ – показатель, свидетельствующий об антиоксидантной активности; S – светосумма хемиллюминесценции за 30 сек. отражает потенциальную способность биологического объекта к ПОЛ. Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по методу Mihara M. и Uchiyama M. [7].

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. Достоверность различий между группами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты показали, что у крыс с термической травмой светосумма хемиллюминесценции в плазме крови, характеризующая общий уровень ПОЛ, увеличилась на 5 % по сравнению с интактной группой животных (см. рис. 1). Отмечена тенденция к снижению интенсивности ПОЛ у животных, получавших убихинон-10, по сравнению с контрольной группой крыс.

Активация ПОЛ сочетается с развитием синдрома цитолиза, о чем свидетельствовало повышение интенсивности индуцированной хемиллюминесценции в эритроцитах после ожога на 6 % по сравнению со здоровыми животными. Использование убихинона-10 для лечения ожога привело к повышению устойчивости мембран эритроцитов, свободно-радикальное окисление в них снизилось на 17 % относительно группы животных с ожогом со стандартным типом лечения без применения Q-10 (см. рис. 1).

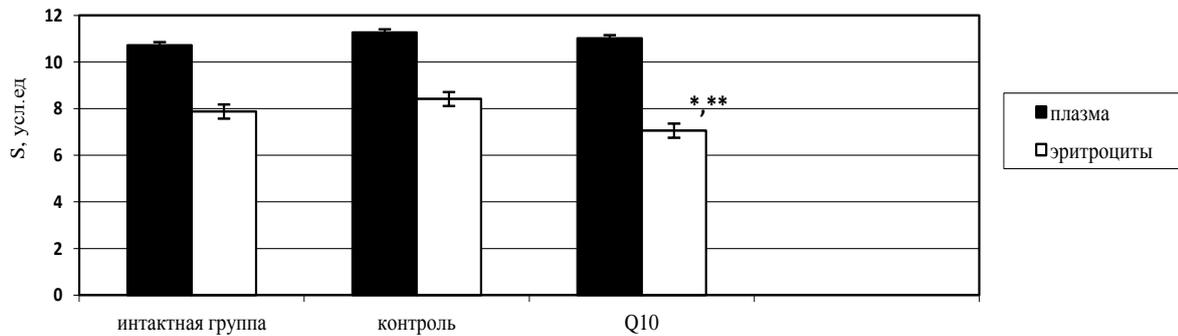


Рисунок 1 – Динамика изменения светосуммы хемилюминесценции в крови крыс с термической травмой при лечении убихиноном-10. *Примечание:* * - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$); ** - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Исследование вторичного продукта липопероксидации, МДА, при ожоге выявило статистически значимое его повышение в плазме крови на 45 % по сравнению со здоровыми животными (см. рис. 2), что также отражает усиление процессов перекисного окисления липидов. После лечения термической травмы с применением убихинона-10 содержание МДА в плазме статистически значимо уменьшилось на 58 % и 39 % по сравнению с контрольной и интактной группами соответственно.

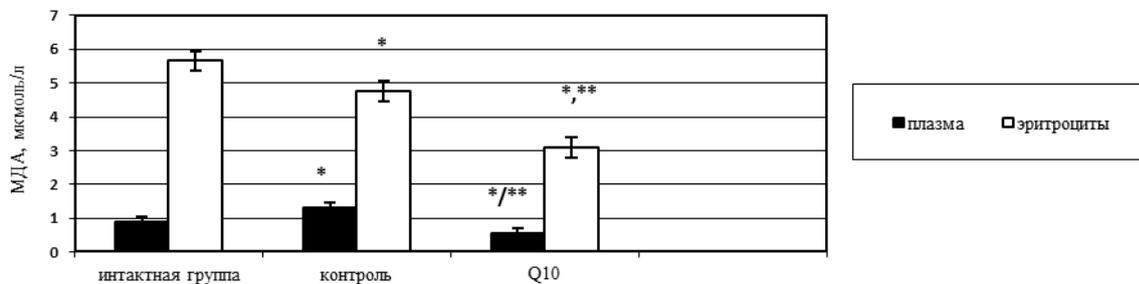


Рисунок 2 – Содержание малонового диальдегида в крови крыс с термической травмой при лечении убихиноном-10. *Примечание:* * - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$); ** - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

В эритроцитах крыс с ожогом обнаружено статистически значимое снижение концентрации МДА на 16 % по сравнению с интактной группой животных (см. рис. 2), что, вероятно, связано с изменением активности при ожоге ферментативных систем, участвующих в утилизации высокотоксичных альдегидов, в частности, альдегиддегидрогеназы [8]. Под воздействием убихинона-10 содержание МДА уменьшилось на 38 % и 45 % по сравнению с контрольной и интактной группами соответственно.

При термической травме отмечена тенденция к снижению общей антиоксидантной активности плазмы крови крыс на 13 % по сравнению со здоровыми животными (рис. 3). Убихинон-10 вызвал повышение показателя $tg\ 2a$ плазмы крови на 15 % и 32 % по сравнению со здоровыми животными и крысами с ожогом, снижая степень окислительного стресса в организме.

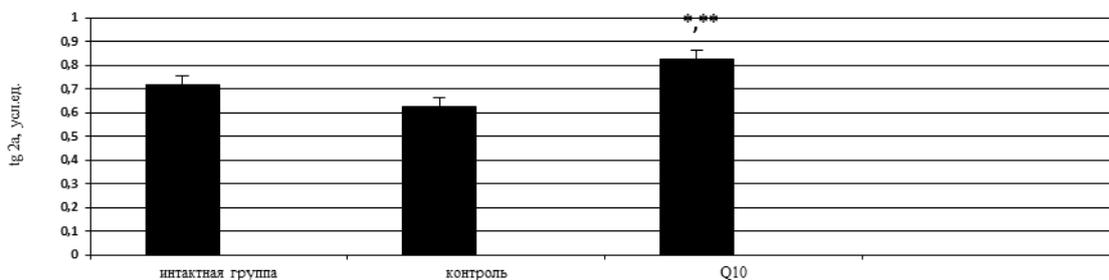


Рисунок 3 – Динамика изменения показателя $tg\ 2a$ в крови крыс с термической травмой при лечении убихиноном-10. *Примечание:* * - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$); ** - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

У крыс с термической травмой методом лазерной доплеровской флоуметрии было выявлено угнетение микроциркуляции на 22 % по сравнению со здоровыми животными (см. рис. 4). После применения убихинона-10 ПМ статистически значимо снизился по сравнению с контрольной группой в 2,5 раза.

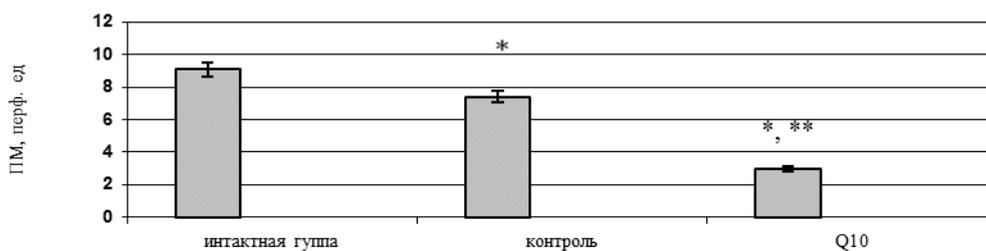


Рисунок 4 – Показатель микроциркуляции при лечении термической травмы убихиноном-10.
 Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$);
 ** - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Анализ активных факторов контроля микроциркуляции выявил стимуляцию эндотелиального и нейрогенного механизмов регуляции просвета и тонуса сосудов при ожоге (см. рис. 5). При оценке эндотелиальной дисфункции выявлено повышение амплитуды колебаний у животных с термической травмой на 19 % по сравнению с интактной группой. Нейрогенные колебания статистически значимо возросли у животных с термической травмой на 26 % по сравнению со здоровыми животными, что свидетельствует о снижении периферического сопротивления артериол и усилении кровотока по артериоло-венулярному шунту. После воздействия убихинона-10 эндотелиальный компонент микроциркуляции нормализовался по сравнению с контролем, отмечено снижение нейрогенных колебаний на 8 % относительно контрольной группы (см. рис. 5).

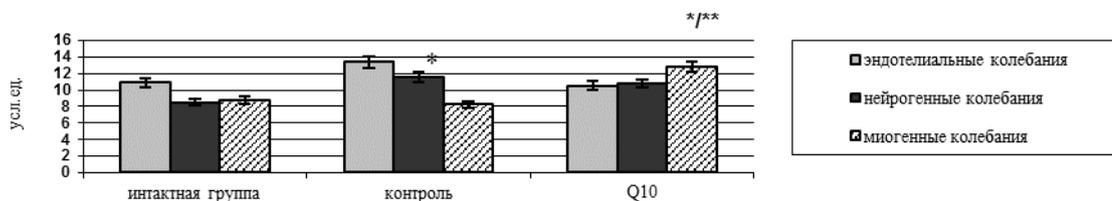


Рисунок 5 – Активные факторы регуляции микрокровотока при термической травме после терапии убихиноном-10. Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$); ** - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

При термической травме отмечена тенденция к угнетению миогенного механизма регуляции просвета и тонуса сосудов (см. рис. 5). При этом анализ данного фактора контроля регуляции микроциркуляции выявил повышение миогенных колебаний по сравнению с контрольной группой при терапии Q10 – статистически значимо на 34 %.

Анализ пассивных факторов микроциркуляции, отражающих колебания кровотока вне системы микроциркуляции, при термической травме показал статистически значимое снижение связанной с венулярным звеном дыхательной волны на 24 % по сравнению с интактной группой животных (см. рис. 6). Под влиянием Q10 отмечена тенденция к росту амплитуды дыхательной волны на 5 % по сравнению с контрольной группой крыс.

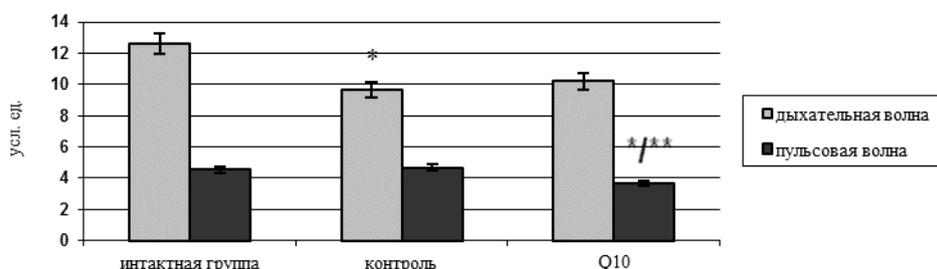


Рисунок 6 – Пассивные факторы регуляции микрокровотока при термической травме после терапии убихиноном-10. Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$); ** - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Другой пассивный фактор микроциркуляции, пульсовая волна, отражающий приток артериальной крови в микроциркуляторное русло, повысился на 3 % при термической травме по сравнению с интактной группой. В опытной группе крыс, убихинон-10, амплитуда пульсовой волны снизилась на 21 % по сравнению с контрольной группой животных.

Показатель шунтирования статистически значимо вырос после нанесения ожоговой травмы на 22 % по сравнению с интактной группой (см. рис. 7), что взаимосвязано с нарушением проницаемости капилляров, отеком эндотелия и нарушением регуляции гладкой мускулатуры прекапилляров. Следовательно, для перемещения крови из артериального в венозное русло потребовалось формирование дополнительного количества шунтирующих сосудов. Применение убихинона-10 способствовало снижению ПШ по сравнению с контрольной группой животных на 31 %. Значение ПШ меньше 1 (на фоне применения убихинона) означает поступление значительного объема крови в нутритивное звено на фоне спазма шунтов, например, при активации симпатического вазомоторного рефлекса.

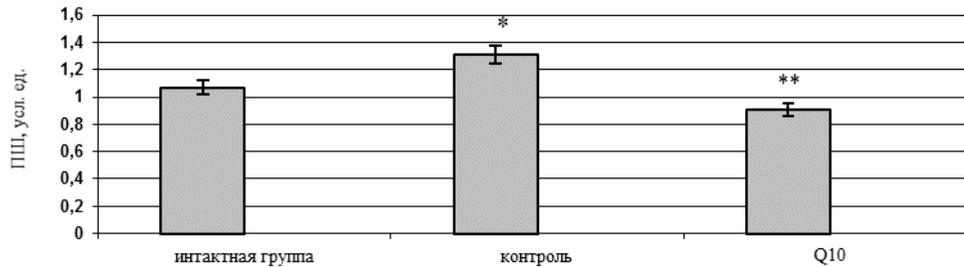


Рисунок 7 – Показатель шунтирования при термической травме после терапии убихиноном-10.

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$);

** - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Заключение. Таким образом, использование Q-10 оказывает положительный эффект в отношении активных и пассивных факторов микроциркуляции, улучшая кровообращение при термической травме. Полученные результаты по данным биофлуоресценции и концентрации МДА позволяют заключить, что использование убихинона-10 в комплексном лечении экспериментальной термической травмы приводит к снижению интенсивности свободнорадикальных процессов в плазме и эритроцитах крыс по сравнению с контрольной группой животных. Показано повышение общей антиоксидантной активности под влиянием Q-10 по сравнению со стандартным лечением. Экспериментальная термическая травма у крыс вызывает развитие оксидативного стресса, сопровождающегося усилением активности ПОЛ и ростом концентрации МДА в плазме и эритроцитах на фоне снижения общей антиоксидантной активности. Показано нарушение всех показателей микроциркуляции и рост количества шунтирующих сосудов в области ожоговой раны.

Список литературы / References:

1. Полутова Н.В., Чеснокова Н.П., Островский Н.В. Активация свободно-радикального окисления – эфферентное звено реализации цитопатогенных эффектов ожоговой травмы. *Вестник новых медицинских технологий*, 2009, № 2, с. 68-71. [Polutova N.V., Chesnokova N.P., Ostrovskij N.V. Activation of free radical oxidation – efferent link of implementation of cytopathogenic effects of burn injury. *Journal of New Medical Technologies*, 2009, no. 2, pp. 68-71. (In Russ)]
2. Гольдзон М.А., Долгих В.Т. Влияние тяжелой термической травмы на сократимость и метаболизм сердца. *Общая реаниматология*, 2011, т. 7, № 1, с. 11-14. [Gol'dzon M.A., Dolgih V.T. The influence of severe thermal injury on the contractility and metabolism of the heart. *Obshchaya Reanimatologiya*, 2011, vol. 7, no. 1, pp. 11-14. (In Russ)]
3. Ключников С.О., Гритнева Е.С. Убихинон (коэнзим Q10). Клинические аспекты. *Лечащий врач*, 2007, № 7, с. 103-110. [Kljuchnikov S.O., Gritneva E.S. Ubiquinone (coenzyme Q10). Clinical aspects. *Lechashhij vrach*, 2007, no. 7, pp. 103-110. (In Russ)]
4. Rosenfeldt F., Haas S.J., Krum H., Hadj A., Leon J.Y., Watts G.F. Coenzym Q10 in the treatment of hypertension: a meta-analysis of clinical trials. *Journal of Human Hypertension*, 2007, vol. 21, pp. 297-306.
5. Rosenfeldt F., Hilton D., Pepe S., Krum H. Systematic review of effect of coenzyme Q10 in physical exercise, hypertension and heart failure. *Biofactors*, 2003, vol. 18, pp. 91-100.
6. Крупаткина А.И., Сидорова В.В. *Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови*. М: Медицина, 2005, 256 с. [Krupatkina A.I., Sidorova V.V. *Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation*. Moscow: Medicine, 2005, 256 p. (In Russ)]
7. Mihara M., Uchiyama M. *Biochemistry*. N.Y.: Med., 1980, 271 p.
8. Кирпичева А.Г., Зимин Ю.В. Влияние молекул средней массы на альдегиддегидрогеназную систему печени и эритроцитов в эксперименте. *Успехи современного естествознания*, 2004, № 4, с. 21-23. [Kirpicheva A.G., Zimin Ju.V. The influence of molecules of average weight on aldehyde dehydrogenase system of liver and erythrocytes in the experiment. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya*, 2004, no. 4, pp. 21-23. (In Russ)]