

БИОХИМИЯ

УДК 616-001.17+612.115+547.95.953

**С. С. Овакимян, О. М. Амирханян, Г. В. Гаспарян,
Сур. С. Овакимян**

**Влияние некоторых лечебных мазей на перекисное
окисление липидов и свертывающую систему крови при
термических ожогах**

(Представлено чл.-кор. НАН РА В. О. Топузяном 16/IX 2015)

Ключевые слова: *ожоги, свертывающая система крови, перекисное окисление липидов.*

Известно, что многие патологические состояния, в том числе и ожоговая травма, сопровождаются развитием дисбаланса между интенсивностью свободнорадикальных процессов и функциональной активностью антиоксидантной системы. В нормальном состоянии стимуляция свободнорадикального окисления (СРО) липидов компенсируется адекватным повышением активности антиоксидантной системы [1, 2]. При ожоговой травме происходит активация процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) и достаточно быстрое истощение антиоксидантного потенциала [3, 4]. За счет усиления процессов СРО наступает декомпенсация мембранных структур клетки [5, 6]. При таком длительном стрессорном воздействии на организм, каким является ожоговая болезнь, очень важно вовремя установить истощение компенсаторно-восстановительных механизмов. Некроз, возникающий в результате термического действия, способствует нарушению целостности мембран клеток и высвобождению биологически активных веществ – факторов, стимулирующих агрегацию тромбоцитов и запускающих каскадный механизм свертывания крови [7, 8].

Последние два десятилетия характеризуются пристальным вниманием отечественных и зарубежных исследователей к изучению особенностей изменения в системе гемостаза у больных с ожогами. При легкой степени ожога развиваются явления гиперкоагуляции, а при большей площади поражения тканей может возникнуть ДВС-синдром, развитие которого обусловлено массивным выбросом из поврежденных тканей в кровеносное русло больших доз тканевого тромбопластина.

Длительное стрессорное воздействие на организм сопровождается энергетическим дефицитом и использованием в качестве метаболического

топлива жирных кислот триглицеридов, с одновременной активацией сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза, депрессией фибринолиза.

Важность исследования системы гемостаза при ожоговой болезни обусловлена тем, что среди причин гибели больных с ожогами значительная доля принадлежит тромбоэмболическим состояниям [9].

Природа внутрисосудистого свертывания крови при термической травме многокомпонентна со сменой ведущего фактора в течение ожоговой болезни; болевой фактор, раневая поверхность как зона активации тромбоцитов и прокоагулянтов, сгущение крови и гемолиз эритроцитов, нарушения процессов перекисного окисления, ацидоз, всасывания продуктов распада пораженных тканей, нарушения микроциркуляции могут выступать и причиной, и следствием внутрисосудистого свертывания крови.

Учитывая вышепредставленные литературные данные, мы решили провести серию исследований по изменению системы гемостаза и перекисного окисления липидов (ПОЛ) при ожоговой болезни под действием некоторых лекарственных соединений. К ним относятся: дермафен (мазь и крем), фецилин, левомиколь и синтомицин.

Материалы и методы. Для выявления противоожоговой активности использована предложенная нами мазь, в состав которой входили активное вещество 6-(1-фецилциклопентил-1-карбамида)-натриевая соль пенициллина (фецилин), синтезированная в ИТОХ НАН РА, и известный в медицинской практике местноанестезирующий препарат анестезин. Для приготовления мази использовали ланолиновую основу, где кристаллы фецилина и анестезина составляли по 5% соответственно. Полученная нами мазь апробировалась под условным названием дермафен.

Для оценки противоожоговой активности мази дермафен исследования проводились на половозрелых крысах линии Вистар массой 180-200 г. Все группы животных содержались на едином пищевом рационе. Как стереотип использовали известные в медицинской практике противоожоговые мази – левомиколь и синтомицин.

Термический ожог осуществляли прибором, состоящим из сверхточного электронного терморегулятора, соединенного с металлическим стер-жнем. Ожоги наносили в течение 5-6 с при $70\pm 5^{\circ}\text{C}$.

В результате животные получали термические ожоги II-III степени.

Подопытных животных подразделяли на следующие группы:

- 1) интактная группа – здоровые животные;
- 2) контрольная группа (термический ожог без лечения);
- 3) термический ожог + ежесуточное смазывание синтомицином;
- 4) термический ожог + ежесуточное смазывание левомиколем;
- 5) термический ожог + ежесуточное смазывание мазью дермафен;
- 6) термический ожог + ежесуточное смазывание кремом дермафен;
- 7) термический ожог + ежесуточное смазывание фецилином.

В каждую группу входило по 8 белых крыс. Кровь для исследования брали на 3-й, 7-й, 15-й и 21-й день после ожога. Определяли

следующие параметры системы свертывания крови на гемокоагуляторе французской фирмы STAGO - "Start-4":

- 1) активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ);
- 2) протромбиновое время (ПВ);
- 3) тромбиновое время (ТВ);
- 4) количество фибриногена (Ф-ген).

Для изучения процессов ПОЛ изолированную печень промывали физ. раствором для удаления остатков крови и гомогенизировали в трис-НСI буфере (рН 7.4).

Количественное определение малонового диальдегида (МДА) как конечного продукта СРО липидов производилось спектрофотометрически [10, 11]. Об антиоксидантной активности (АОА) исследованных лечебных мазей судили по их способности тормозить процесс ПОЛ. Иницирование СРО липидов проводилось добавлением к 10% гомогенату печени раствора соли Мора. АОА лечебных мазей определяли в неферментативной аскорбатзависимой системе процентным изменением количества МДА в опытных пробах по сравнению с контрольными (ожоги без лечения) из расчета на 1 мг предварительно определенного количества белка [12].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия достоверности Фишера–Стьюдента.

Результаты и обсуждения. Согласно данным, представленным в табл. 1, вышеуказанные соединения проявляют существенную АОА, подавляя процесс СРО в основном на третий и седьмой день после ожога. Наибольшее подавление ПОЛ наблюдается со стороны фецилина (на 73.0 и 59.2% соответственно) по отношению к контролю. Несколько меньшее подавление СРО липидов происходит под действием дермафен крема и мази.

Таблица 1
Изменение содержания МДА (нМ/мг белка) в печеночной ткани после трех- и семидневных термических ожогов под действием различных лечебных мазей

Лечебная мазь	3-й день после ожога			7-й день после ожога	
	Контроль (ожог без лечения), n=8	Опыт, n=8	% разницы от контроля	Опыт, n=8	% разницы от контроля
Фецилин	6.25±0.36	1.68±0.12	-73.0*	2.55±0.18	-59.2*
Дермафен крем	-/-	2.13±0.14	-65.9*	3.28±0.24	-47.6*
Дермафен мазь	-/-	2.38±0.16	-61.9*	3.04±0.22	-46.7*
Синтомицин	-/-	3.50±0.26	-44.0*	4.58±0.28	-26.7**
Левомиколь	-/-	4.70±0.28	-24.8**	4.92±0.30	-21.3**

Примечание: P* < 0.001; P** < 0.01; P*** < 0.5.

Наименьшая АОА проявляется со стороны синтомицина и левомиколя.

Результаты опытов, приведенные в табл. 2, показывают, что на 15-й и 20-й день после ожога действие отмеченных мазей на процесс подавления ПОЛ постепенно замедляется. При этом фецилин, дермафен крем и мазь еще проявляют достаточно высокую АОА, особенно на 15-й день после ожогов (47.6, 41.7 и 39.2% соответственно) по отношению к контролю.

Таблица 2

Изменение содержания МДА (нМ/мг белка) в печеночной ткани после 15- и 21- дневных термических ожогов под действием различных лечебных мазей

Лечебная мазь	15-й день после ожога			21-й день после ожога	
	Контроль (ожог без лечения), n=8	Опыт, n=8	% разницы от контроля	Опыт, n=8	% разницы от контроля
Фецилин мазь	6.25±0.36	3.28±0.23	-47.6*	4.58±0.26	-26.8**
Дермафен крем	-//-	3.64±0.24	-41.7*	4,85±0.28	-22.4**
Дермафен мазь	-//-	3.80±0.26	-39.2*	5.00±0.30	-20.0**
Синтомицин	-//-	4.58±0.28	-26.7**	5.79±0.32	-7.3***
Левомиколь	-//-	5.60±0.30	-10.4***	6.05±0.34	-3.2***

Незначительное замедление процесса СРО наблюдается со стороны синтомицина и левомиколя, действие которых к 21-му дню ожога практически прекращается.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что при термических ожогах в печеночной ткани процесс липидной пероксидации под действием вышеперечисленных лечебных мазей значительно замедляется. Среди них самыми эффективными являются фецилиндермафен, некоторая АОА которых к 21-му дню термического ожога еще сохраняется.

В табл. 3 приведены данные, согласно которым термическая травма сопровождается значительными изменениями в системе свертывания крови.

В первые часы после ожога наблюдается увеличение тромбинового времени и снижение концентрации фибриногена. Употребление синтомицина и левомиколя незначительно улучшает состояние свертывающей системы. Только на 15-й день лечения количество фибриногена и показатели тромбинового времени доходят до нормы после лечения синтомицином и на 21-й день после левомиколя. Протромбиновое время уменьшается при ожогах начиная с 3-го дня, что говорит о гиперфункции свертывающей системы. Левомиколь и синтомицин незначительно нормализуют протромбиновый индекс начиная с 15-го дня лечения, а фецилин и дермафен – с 3-го дня лечения.

Активированное частичное тромбопластиновое время – это тест, который позволяет оценить состояние внутреннего пути свертывания крови, процесса образования тромба при отсутствии повреждения тканей. Исходя из литературных данных термическая травма сопровождается изменением функционального состояния стенки сосудов. Особого внимания заслу-

живает тот факт, что антитромботические свойства сосудистой стенки значительно снижаются.

Синтомицин и левомиколь почти не меняют АЧТВ. Дермафен приводит к нормализации АЧТВ начиная с 7-го, а фецилин – с 3-го дня.

Таблица 3

Изменение некоторых параметров системы свертывания крови при ожогах под действием различных лечебных мазей

	Конт- роль	Ожоги без леч.	Синто- мицин	Левоми- коль	Дерма- фен мазь	Дерма- фен крем	Феци- лин
3-й день							
ПВ	16,7"	15,1	15,3	15,2	15,8	16,0	16,8
ТВ	14,7"	13,1	13,2	13,5	14,8	14,5	14,8
АЧТВ	30"	26,0	26,5	26,0	26,6	28,5	30,0
Ф-ген	325мг	291,0	282,0	278,0	378,0	360,0	325,0
7-й день							
ПВ	16,7"	14,7	14,8	14,8	16,2	16,0	16,5
ТВ	14,7"	13,7	13,8	13,8	14,8	14,5	14,6
АЧТВ	30"	26,5	27,5	26,0	29,0	29,0	31,5
Ф-ген	325мг	285	300,0	275,0	360,0	370,0	328
15-й день							
ПВ	16,7"	14,3	16,4	16,2		16,8	16,8
ТВ	14,7"	13,3	14,6	14,0	14,8	14,5	14,6
АЧТВ	30"	25,8	27,5	27,0	29,0	29,0	30,5
Ф-ген	325мг	280,0	320,0	280,0	330,0	328,0	327,0
21-й день							
ПВ	16,7"	14,5	16,5	16,6	16,8	16,7	16,75
ТВ	14,7"	13,2	14,5	14,3	14,7	14,5	14,9
АЧТВ	30"	26,0	28,0	28,0	29,0	29,03	30,5
Ф-ген	325мг	290,0	330,0	330,0	325,0	328,0	322,0

Исходя из результатов наших исследований можно прийти к выводу, что ожоговая травма индуцирует диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови и спонтанную агрегацию тромбоцитов, которые влияют на тяжесть ожоговой болезни.

Левомиколь и синтомицин оказывают незначительное воздействие на систему свертывания крови начиная с 15-го дня лечения. Все виды дермафена имеют высокое лечебное свойство. Эффективнее и быстрее на все параметры действует фецилин уже с 3-го дня лечения.

Таким образом, в результате термической травмы развивается синдром хронического диссеминирования внутри сосудистого свертывания крови, который является компонентом патогенеза ожоговой болезни и вносит значительный вклад в ее проявления.

Резюмируя, следует отметить, что фецилин и дермафен являются эффективными препаратами для коррегирования процессов СРО и свертывающей системы крови при термических ожогах и их применение создает оптимальные условия для процесса регенерации ткани.

Научно-технологический центр органической
и фармацевтической химии НАН РА
Институт тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна

**С. С. Овакимян, О. М. Амирханян, Г. В. Гаспарян,
Сур. С. Овакимян**

Влияние некоторых лечебных мазей на перекисное окисление липидов и свертывающую систему крови при термических ожогах

Изучены некоторые параметры системы свертывания крови и перекисного окисления липидов в печеночной ткани при ожоговой болезни под действием лечебных мазей, синтезированных в ИТОХ НАН РА. Установлено, что дермафен мазь и крем и особенно фецилин проявляют высокую антиоксидантную активность, вследствие чего процессы липидной пероксидации значительно замедляются. При изучении некоторых параметров процесса свертывания крови мы пришли к выводу, что фецилин лучше всех исследуемых мазей нормализирует систему свертывания крови начиная с 3-го дня лечения.

**Ս. Ս. Հովակիմյան, Ն. Մ. Ամիրխանյան, Հ. Վ. Գասպարյան,
Սուր. Ս. Հովակիմյան**

Որոշ բուժիչ քսուկների ազդեցությունը լիպիդների գերօքսիդացման և արյան մակարդելիության համակարգի վրա ջերմային այրվածքների ժամանակ

Ուսումնասիրվել է արյան մակարդելիության մի քանի գործոնների և լյարդում ընթացող օքսիդացման գործընթացների վրա ՀՀ ԳԱԱ ՆՕՔ-ի ինստիտուտում սինթեզված բուժիչ քսուկների ազդեցությունը ջերմային այրվածքների ժամանակ: Հետազոտությունների արդյունքները պարզեցին, որ ֆեցիլինը և դերմաֆենը (հատկապես ֆեցիլինը) ցուցաբերում են բարձր հակաօքսիդանտային ակտիվություն, ինչի հետևանքով լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացները ճնշվում են: Արյան մակարդելիության որոշ գործոնների հետազոտությունները հանգեցնում են այն եզրակացության, որ բոլորից առավել ֆեցիլինն է կարգավորում արյան մակարդելիության համակարգը, սկսած արդեն բուժման 3-րդ օրվանից:

**S.S. Hovakimyan, H.M. Amirkhanyan, H. V. Gasparyan,
Sur. S. Hovakimyan**

Influence of Some Medicinal Ointments on Lipid Peroxidation and Blood Coagulating System in Thermal Burns

During burn disease we have studied some parameters of blood coagulation and lipid peroxidation in liver tissue, under the influence of medicinal ointments synthesized in IFOC NAS RA. Our results led us to the conclusion that dermafen ointment and cream, and especially feacylin exhibit high antioxidant activity, owing to what lipid

peroxidation processes are considerably slowed down. When studying some parameters of the process of blood coagulation, we concluded that the fecylinis best of all the studied ointments normalizes blood coagulation system, starting from the 3-rd day of treatment.

Литература

1. *Бабская Ю. Е., Лавров В. А., Олюнина Н. А. и др.* – Хирургия. 1985. № 11. С. 95-97.
2. *Conner E. M., Grisham M. B.* – Nutrition. 1996. V. 12. № 4. P. 274-277.
3. *Агаева Р. К.* Роль лимфатической системы в нарушении процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты в патогенезе ожогового шока. Автореф. канд. дис. 14. 00. 16. Агаева Рашида Камилевна. Саратов. 2003. 23 с.
4. *Перетягин С. П.* Индивидуальный выбор антиоксиданта при проведении комплексной терапии ожоговых больных: метод, рекомендации. Н. Новгород. 2001. 16. с.
5. *Быстрова Н. А., Мельников А. А., Прокопенко Л. Г.* – Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1995. № 4. С. 24-27.
6. *Мавмотов Т. Г.* - Детская хирургия. 2002. № 5. С. 22-25.
7. *Кузник Б. И., Витковский Ю. А., Сизоненко В. А. и др.* – Гематология и трансфузиология. 2002. Т. 47. № 1. С. 17-21.
8. *Обыденко В. И.* Влияние вилона на иммунитет, гемостаз и регенерацию кожи после термической травмы на фоне иммобилизационного стресса. Автореф. канд. дис. 14. 00. 16. Обыденко Валентина Игоревна. Чита. 2003. с.22.
9. *Oremus M., Hanson M.D., Whitlock R. et al.* – J. Bum Care Res. 2007. V. 28. № 6. P. 794-804.
10. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М. Наука. 1972. 252 с.
11. *Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И., Козлов А. В.* В кн.: Свободные радикалы в живых системах. ВИНТИ. 1991. Т. 29. С.126-130.
12. *Lowery D. H., Razenbough N. J., Farr A.L., Rohdall R. J.* – J. Biol.Chem. 1951. V. 193. P.265-269.