

# ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ ПЕЧЕНИ КАК ПОКАЗАТЕЛЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ ОЖГОВОЙ ТРАВМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

УДК 616.001.6-001.17-08:577.151.4  
Поступила 21.06.2012 г.



**А.Г. Соловьева**, к.б.н., научный сотрудник отделения экспериментальной медицины;

**Ю.В. Зимин**;

**С.П. Перетягин**, д.м.н., руководитель отделения экспериментальной медицины;

**Н.В. Диденко**, лаборант-исследователь отделения экспериментальной медицины;

**А.К. Мартусевич**, к.м.н., старший научный сотрудник отделения экспериментальной медицины;

**К.Д. Ларионова**, младший научный сотрудник детского ожогового отделения

Нижегородский НИИ травматологии и ортопедии Минздрава России, Н. Новгород, 603155,  
Верхне-Волжская набережная, 18

В патогенезе ожоговой болезни важной составляющей является энергетическая и белковая недостаточность, снижающая адапционно-компенсаторный и регенераторный потенциал организма.

**Цель исследования** — изучить изменение активности оксидоредуктаз печени крыс с термической травмой при различных вариантах местного лечения.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на 60 белых крысах линии Wistar. Активность ферментов определяли в гомогенатах печени на 3, 7 и 10-е сутки после нанесения термической травмы при местном лечении ожоговых ран.

**Результаты.** Выявлено увеличение активности лактатдегидрогеназы в обратной реакции и значимое снижение активности ферментов детоксикации в печени крыс на 3, 7 и 10-е сутки после термической травмы. Установлено, что скорость и степень восстановления активности оксидоредуктаз определяют тактику местного лечения ожога.

**Ключевые слова:** термическая травма; оксидоредуктазы; ферментные системы печени; лечение ожогов.

## English

## Status of Liver Enzymes as an Indicator of Local Treatment of Burn Trauma in Experiment

**A.G. Solovyeva**, PhD, Research Worker, the Experimental Medicine Division;

**Y.V. Zimin**;

**S.P. Peretyagin**, D.Med.Sc., the Head of the Experimental Medicine Division;

**N.V. Didenko**, Clinical Research Assistant, the Experimental Medicine Division;

**A.K. Martusevich**, PhD, Senior Research Worker, the Experimental Medicine Division;

**K.D. Larionova**, Junior Research Worker, the Children Burn Unit

Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Ministry of Health of the Russian Federation,  
Verkhne-Volzhskaya naberezhnaya St., 18, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603155

The energy and protein failure reducing adaptable compensation and regeneration potential of the body is an essential component in the pathogenesis of a burn disease.

**The aim of the investigation** was to study the activity of liver oxidoreductases of rats with heat injury in various options of local treatment.

**Materials and Methods.** The researches were carried out on 60 white rats of Wistar line. The activity of enzymes was determined in liver homogenates on day 3, 7 and 10 after the heat injury and local treatment of burn wounds.

**Results.** There was revealed the increase in lactic dehydrogenase activity in retroaction and significant decrease of the activity of detoxication enzymes in the liver of rats on 3, 7 and 10 days after a thermal trauma. The rate and extent of oxidoreductases restoration activity were found to determine the local burn treatment modality.

**Key words:** thermal trauma; oxidoreductases; liver enzymes; burn treatment.

Для контактов: Соловьева Анна Геннадьевна, тел. раб. (831)436-25-31, тел. моб. +7 904-903-37-49; e-mail: sannag5@mail.ru

В патогенезе ожоговой болезни важной составляющей является энергетическая и белковая недостаточность, снижающая адаптационно-компенсаторный и регенераторный потенциал организма [1]. В то же время особенности нарушений функционирования оксидоредуктаз при термической травме, а также возможности полноценного восстановления их активности при местном и системном лечении остаются недостаточно изученными. С этих позиций оценка изменения данных параметров при использовании разных вариантов местного лечения ожоговой раны позволяет патогенетически обосновать целесообразность подбора лекарственных средств для задач комбустиологии [2].

**Цель исследования** — изучить изменение активности оксидоредуктаз печени крыс с термической травмой при различных вариантах местного лечения.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на 60 белых крысах линии Wistar массой 180–250 г. Животным под эфирным наркозом наносили ожог кипящей водой на 20% поверхности тела (участок предварительно эпилировали, экспозиция — 3 с). Сформированы четыре основные группы по 10 животных в каждой: в 1-й группе крыс лечили «Левомеколем» (ОАО «Нижфарм», Россия, стандартная терапия); во 2-й группе — композицией «Тизоль» (ф. «ОЛИМП», Россия) + озонированное масло («ОТРИ-суперозонид», ф. «Медозонс», Россия); в 3-й группе — «Тизоль» + хлоргексидин (1:200); в 4-й группе — «Тизоль» + «Левоксим» (компонит ксимедона — 8%, янтарной кислоты — 1% и Левомецетина — 1%). Контрольные группы представлены животными интактными и с термической травмой (ожогом) без лечения (n=10 в каждой). Крыс выводили из эксперимента на 3, 7 и 10-е сутки после травмы.

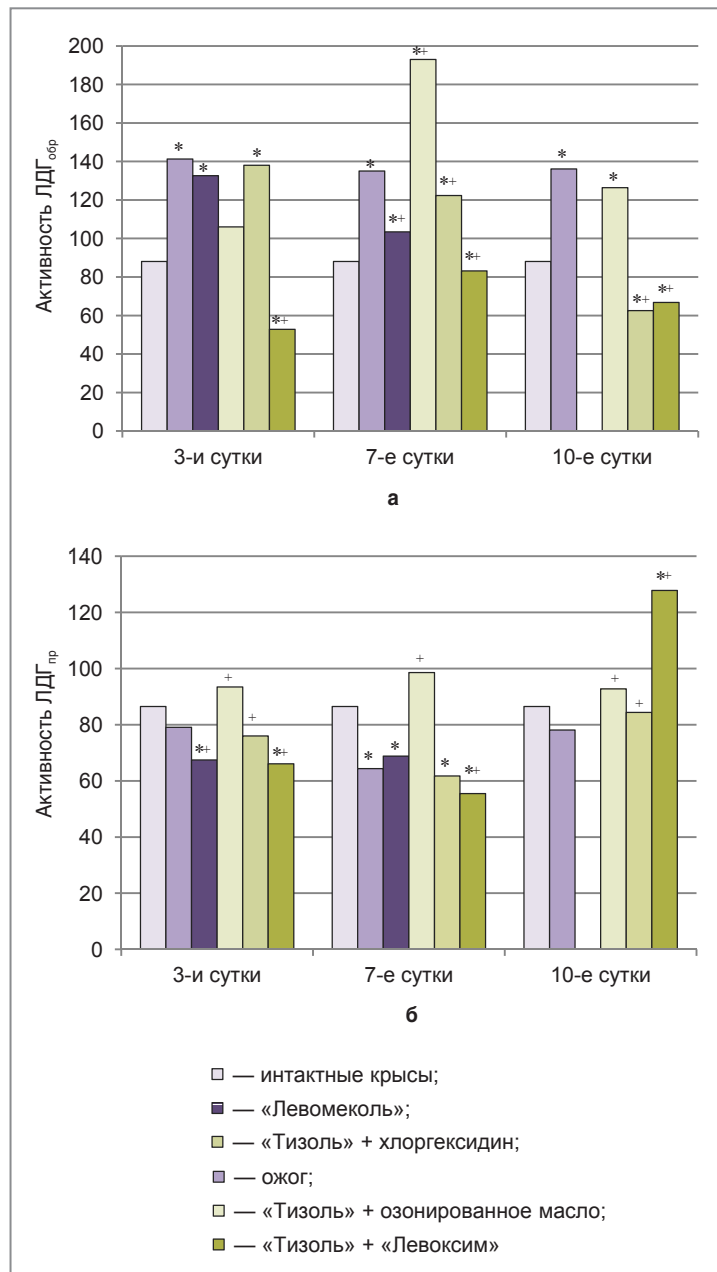
При проведении исследования неукоснительно соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.).

Активность ферментов исследовали в гомогенате печени крыс на 3, 7 и 10-е сутки после нанесения ожога. Активность альдегиддегидрогеназы (АлДГ) определяли по Б.М. Кершенгольц и Е.В. Серкиной [3]; активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) определяли по Г.А. Кочетову [4] с использованием в качестве субстрата молочной кислоты для прямой реакции (ЛДГ<sub>пр</sub>) и пировиноградной кислоты — для обратной реакции (ЛДГ<sub>обр</sub>); активность алкогольдегидрогеназы (АДГ) — по E. Koivusalo с соавт. [4] с применением в качестве субстрата этанола для прямой реакции (АДГ<sub>пр</sub>) и ацетальдегида — для обратной реакции (АДГ<sub>обр</sub>).

Статистический анализ результатов иссле-

дований выполнен с использованием программы Statistica 6.0.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что при термической травме в печени происходит значимое увеличение активности ЛДГ в обратной реакции — на 3, 7 и 10-е сутки после поражения на 60, 53 и 55% соответственно по сравнению с интактными животными (рис. 1). При этом активность данного фермента в прямой реакции при ожоге остается практически неизменной. Это способствует накоплению лактата, который в высоких концентрациях может служить косвенным показателем развития тканевой гипоксии и ацидоза [5, 6].



**Рис. 1.** Активность лактатдегидрогеназы печени крыс (нмоль НАДН/мин) в обратной (а) и прямой (б) реакции при различных вариантах местного лечения ожога; \* — различия статистически значимы по сравнению с интактными животными ( $p \leq 0,05$ ); + — по сравнению с обожженными животными ( $p \leq 0,05$ )

Увеличение активности ЛДГ<sub>обр</sub> на 3-и сутки после травмы в период острой ожоговой токсемии может быть связано с развитием гиперметаболического синдрома, включающего активацию процессов липопероксидации и нарастание уровня молекул средней молекулярной массы [5].

При ожоге кипятком у животных во все сроки наблюдения обнаружено значимое снижение активности ферментов детоксикации в печени (АлДГ и АДГ; рис. 2, 3), приводящее к накоплению высокотоксичных альдегидов и кетонов, а также этанола, промежуточным продуктом метаболизма которого является ацетальдегид. Последний, в свою очередь, ингибирует активность многих ферментов, нарушает структуру и функции плазматических мембран, активирует процессы липопероксидации [3].

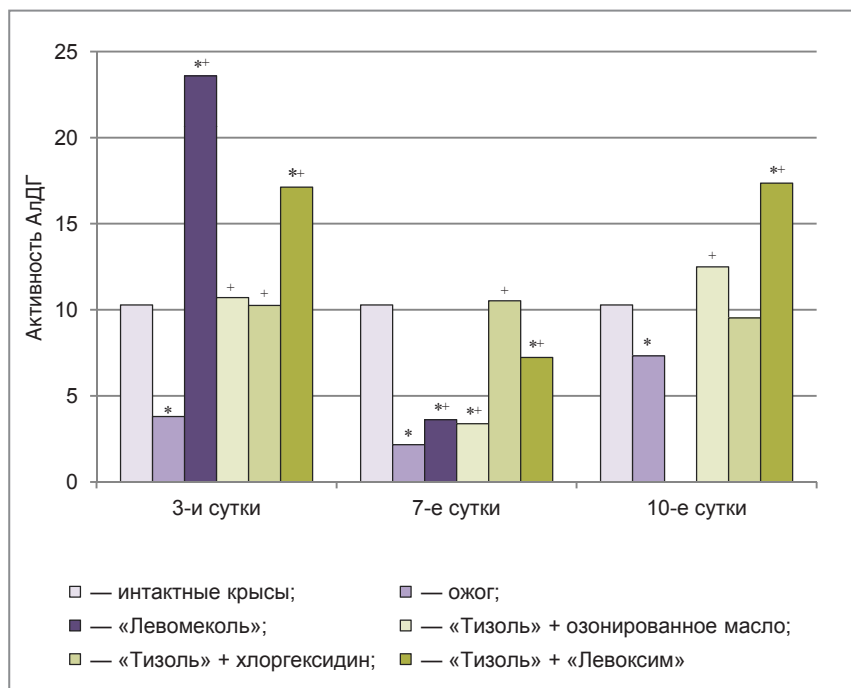
При исследовании активности ферментов в процессе лечения ожоговых ран установлено, что применяемые композиции на основе «Тизоля» не оказывают существенного влияния на активность ЛДГ<sub>пр</sub> (см. рис. 1, б). В то же время лечение животных «Левомеколем» способствует снижению активности ЛДГ<sub>обр</sub> на 3-и сутки после поражения и приводит к значимому уменьшению активности данного фермента на 7-е сутки (на 24% по сравнению с термической травмой,  $p < 0,05$ ), приближаясь к значениям контрольной группы животных. Падение активности ЛДГ<sub>обр</sub> под влиянием «Левомеколя» можно объяснить неселективным ингибирующим действием входящего в него антибиотика (Левомецетина) на активность фермента в обратной реакции [7]. Однако дальнейшую динамику активности ЛДГ отследить не удалось вследствие гибели всех животных в данной группе к 10-м суткам наблюдения.

Активность ЛДГ<sub>обр</sub> после травмы при использовании композиции «Тизоль» + хлоргексидин по сравнению

с нелечеными животными также значимо снижается на 7-е и на 10-е сутки (на 10 и 54% соответственно,  $p < 0,05$ ). Можно предположить, что механизм действия хлоргексидина в этом случае двойной — блокирование ионного канала и аллостерическая модуляция активного центра фермента [8, 9].

Наиболее выраженное уменьшение активности ЛДГ<sub>обр</sub> в печени при термической травме наблюдается при использовании композиции «Тизоль» + «Левоксим»: на 3-и сутки после травмы активность фермента снижается на 62%; на 7-е сутки — на 38% и на 10-е сутки — на 51% по сравнению с аналогичной у обожженных крыс без лечения, что значимо меньше показателей у интактных животных на 3-и и 10-е сутки после ожога ( $p < 0,05$ ; см. рис. 1, а). С одной стороны, такое ярко выраженное позитивное влияние этой композиции на активность ЛДГ<sub>обр</sub> может быть обусловлено свойствами входящих в состав «Левоксима» компонентов: Левомецетина и янтарной кислоты. С учетом того, что в основе репаративного эффекта «Левоксима» лежит действие янтарной кислоты, механизм влияния данного препарата рассматривался с позиций его молекулярно-клеточных эффектов. По нашему мнению, эффект действия янтарной кислоты, входящей в состав «Левоксима», опосредуется через дыхательную цепь и нормализацию энергетического метаболизма и реализуется за счет ее способности ингибировать свободно-радикальное окисление липидов клеточных мембран. Янтарная кислота оказывает модулирующее воздействие на мембраносвязанные антиоксидантные ферменты [10]. С другой стороны, необходимо учитывать вклад геля «Тизоль», обеспечивающего повышение биодоступности лекарственных компонентов «Левоксима».

Композиция «Тизоль» + озонированное масло спо-



**Рис. 2.** Активность альдегиддегидрогеназы печени крыс (нмоль НАДН/мин) при различных вариантах местного лечения ожога. \* — различия статистически значимы по сравнению с интактными животными ( $p \leq 0,05$ ); + — по сравнению с обожженными животными ( $p \leq 0,05$ )

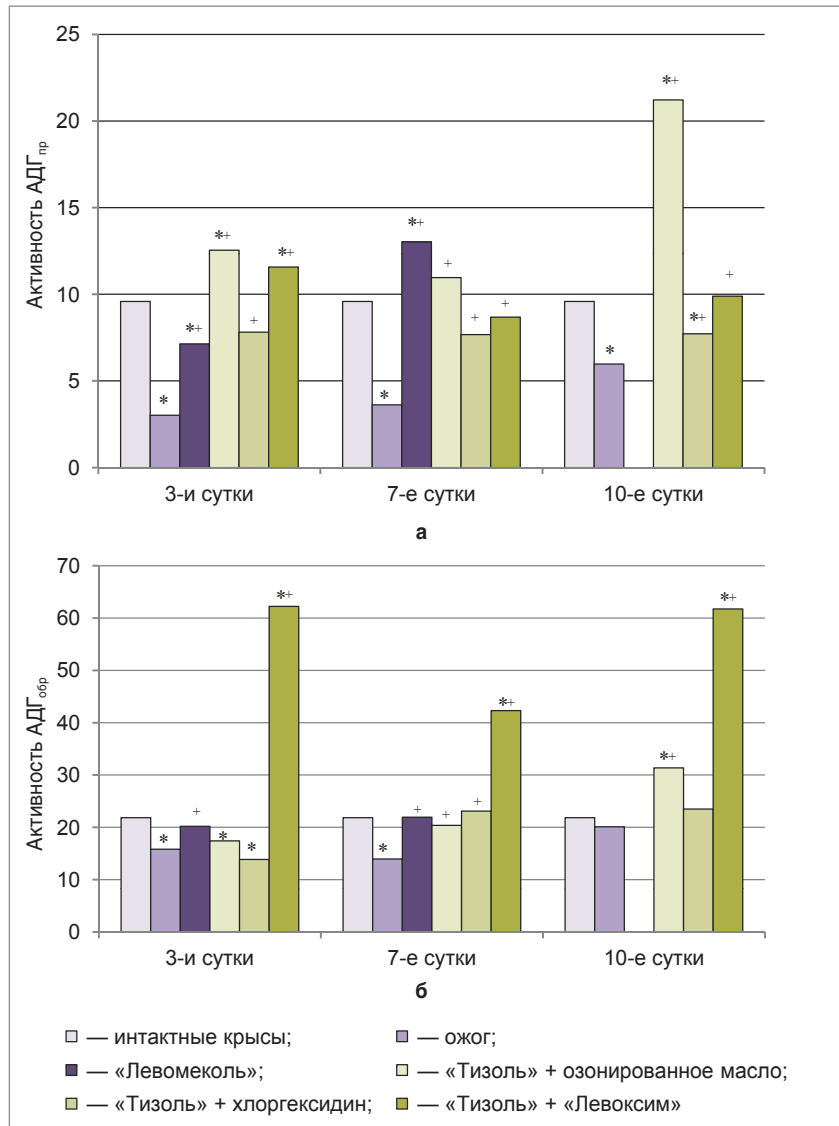
способствует статистически значимому снижению активности АДГ<sub>обр</sub> на 3-и сутки после травмы на 25% по сравнению с крысами, которым лечение ожога не проводилось.

Установлено, что все примененные варианты местного лечения способствуют восстановлению активности АДГ<sub>пр</sub>, сниженной при термической травме, однако степень нормализации функционирования энзима зависит от используемых лекарственных препаратов (см. рис. 3, а). При этом значение активности на протяжении всего периода наблюдения выше физиологического уровня только при использовании схемы «Тизоль» + озонированное масло. По степени значимости действия на активность АДГ<sub>пр</sub> используемый ряд препаратов выглядит следующим образом: «Тизоль» + озонированное масло > «Тизоль» + «Левоксим» > «Тизоль» + хлоргексидин > «Левомеколь» (см. рис. 3, а).

Наиболее эффективно при термической травме повышается активность АлДГ и АДГ в обратной реакции под влиянием композиции «Тизоль» + «Левоксим» (см. рис. 2 и 3, б): активность АлДГ значимо увеличивается на 3-и сутки после поражения — на 350%, на 7-е сутки — на 233%, на 10-е сутки — на 137%; активность АДГ<sub>обр</sub> статистически значимо возрастает на 3-и сутки — на 293%, на 7-е сутки — на 204%, на 10-е сутки — на 207% по сравнению с нелечеными крысами ( $p < 0,05$ ). Механизм влияния сукцината, компонента «Левоксима», на активность АлДГ и АДГ, по всей вероятности, состоит в восстановлении окислительной способности печени с последующим выведением этанола и ацетальдегида за счет стимуляции цикла Кребса данным метаболитом [10].

Менее эффективно активность АлДГ повышается под влиянием композиции «Тизоль» + хлоргексидин (на 3-и сутки — на 170%, на 7-е сутки — на 385% по сравнению с нелечеными животными;  $p < 0,05$ ). При использовании сочетания «Тизоль» + озонированное масло активность АлДГ значимо повышается на 3-и сутки — на 181%, на 7-е сутки — на 56%, на 10-е сутки — на 70% по сравнению с нелечеными животными ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Установлено, что выраженность изменений активности ферментов энергетического обмена (лактатдегидрогеназы) и системы биотрансформации (альдегиддегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы) печени животных при ожоге зависит от выбранного варианта местного лечения. Таким образом, оценка катали-



**Рис. 3.** Активность алкогольдегидрогеназы печени крыс (нмоль НАДН/мин) в прямой (а) и обратной (б) реакции при различных вариантах местного лечения ожога; \* — различия статистически значимы по сравнению с интактными животными ( $p \leq 0,05$ ); + — по сравнению с обожженными животными ( $p \leq 0,05$ )

тических свойств данных оксидоредуктаз может выступать в качестве метаболического маркера системного действия препаратов для местного лечения термической травмы и дополнительного показателя их эффективности.

**Литература**

1. Ушакова Т.А. Адаптивные реакции у тяжелообожженных в условиях интенсивной терапии. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М.; 2008.
2. Смагина Т.А., Москвина Л.М., Туркина Ю.В. Определение скорости высвобождения лекарственных веществ из Тизоля. В кн.: Новые технологии в медицине и фармации. Тизоль. Материалы межрегион. научно-практ. конференции. Екатеринбург; 2003; с. 49–56.
3. Кершенгольц Б.М., Серкина Е.В. Некоторые методические подходы к изучению метаболизма этанола. Лабораторное дело 1981; 2: 126.

4. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М: Высшая школа; 1980; 272 с.
5. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги. СПб: СпецЛит; 2000; 488 с.
6. Кузин М.И. Синдром системного ответа на воспаление. Хирургия 2000; 2: 54–59.
7. Сопуев А.А., Маматов Н.Н., Овчаренко К.Е. и др. Оценка эффективности мази левомеколь при интраоперационной профилактике спаечного процесса брюшной полости. Хирургия Кыргызстана 2011; 2: 39–43.
8. Дружинина О.С., Скоринкин А.И. Исследование механизмов действия хлоргексидина и димефосфона на водный транспорт в эритроцитах. Структура и динамика молекулярных систем: электронный журнал 2009; 7А: 53–64.
9. Шайхутдинова А.Р. Механизмы модуляции работы никотинового рецепторно-канального комплекса хлоргексидином. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Казань; 2005.
10. Зарубина И.В., Лукк М.В., Шабанов П.Д. Антигипоксические и антиоксидантные эффекты экзогенной янтарной кислоты и аминотиоловых сукцинатсодержащих антигипоксантов. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2012; 153(3): 313–317.
3. Kershengol'ts B.M., Serkina E.V. Nekotorye metodicheskie podkhody k izucheniyu metabolizma etanola [Some technical approaches to ethanol metabolism study]. *Laboratornoe delo — Laboratory Science* 1981; 2: 126.
4. Kochetov G.A. *Prakticheskoe rukovodstvo po enzimologii* [Practical guide on enzymology]. Moscow: Vysshaya shkola; 1980; 272 p.
5. Paramonov B.A., Porembskiy Ya.O., Yablonskiy V.G. *Ozhogi* [Burns]. Saint Petersburg: SpetsLit; 2000; 488 p.
6. Kuzin M.I. Sindrom sistemnogo otveta na vospalenie [Syndrome of systemic response to inflammation]. *Khirurgiya — Surgery* 2000; 2: 54–59.
7. Sopusuev A.A., Mamatov N.N., Ovcharenko K.E., et al. Otsenka effektivnosti mazi levomekol' pri intraoperatsionnoy profilaktike spaechnogo protsessa bryushnoy polosti [The assessment of Levomekol efficiency in intraoperative prevention of an adhesive process of the abdominal cavity]. *Khirurgiya Kyrgyzstana — Kyrgyzstan Surgery* 2011; 2: 39–43.
8. Druzhinina O.S., Skorinkin A.I. Issledovanie mekhanizmov deystviya khlorgeksidina i dimefosfona na vodnyy transport v eritrotsitakh [The study of mechanisms of chlorhexidine and dimephosphon effect on water transport in erythrocytes]. *Struktura i dinamika molekulyarnykh sistem: elektronnyy zhurnal — Structure and Dynamics of Molecular Systems: Electronic Journal* 2009; 7A: 53–64.
9. Shaykhutdinova A.R. *Mekhanizmy modulyatsii raboty nikotinovogo retseptorno-kanal'nogo kompleksa khlorgeksidinom*. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk [Modulation mechanisms of nicotinic receptor-canal complex functioning by chlorhexidine. Abstract for Dissertation for the degree of Candidate of Biological Science]. Kazan; 2005.
10. Zarubina I.V., Lukk M.V., Shabanov P.D. Antigipoksesicheskie i antioksidantnye efekty ekzogennoy yantarnoy kisloty i aminotiolovykh suksinatsozderzhashchikh antigipoksantov [Antihypoxic and antioxidant effects of exogenic amber acid and aminothiol succinate-containing antihypoxic agents]. *Bull Eksp Biol Med — Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2012; 153(3): 313–317.

## References

1. Ushakova T.A. *Adaptivnye reaktsii u tyazheloobozhzhennykh v usloviyakh intensivnoy terapii*. Avtoref. dis. ... dokt. med. nauk [Adaptive reactions in severe burn patients under intensive care conditions. Abstract for Dissertation for the degree of Doctor of Medical Science]. Moscow; 2008.
2. Smagina T.A., Moskvina L.M., Turkina Yu.V. Opredelenie skorosti vysvobozhdeniya lekarstvennykh veshchestv iz Tizolya. V kn.: *Novye tekhnologii v meditsine i farmatsii. Tizol. Materialy mezhtregion. nauchno-prakt. konferentsii* [Determination of drug release rate from Tisolium. In: New technologies in medicine and pharmacy. Tisolium. Proceedings of interregional research and practice conference]. Ekaterinburg; 2003; p. 49–56.