УДК 612. 014.32

ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КОМПОЗИЦИЙ С ТРАНСКУТАННОЙ АКТИВНОСТЬЮ НА МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АДАПТАЦИЮ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ

Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Зимин Ю.В., Мартусевич А.К., Ларионова К.Д.

ФГБУ «ННИИТО» Минздравсоцразвития России, Нижний Новгород, e-mail: sannag5@mail.ru

Целью работы явилось изучение влияния фармакологических композиций, обладающих транскутанной активностью, на каталитические свойства и регуляцию оксидоредуктаз печени крыс при местном лечении локальных и распространенных ожогов. Эксперименты были проведены на 40 крысах линии Wistar массой 180–250 г. Животным под наркозом наносили ожог кипятком на площади 5 % (1 группа животных) или 20 % (2-я группа животных) поверхности тела. В каждой группе были сформированы две подгруппы: в первой подгруппе крыс лечили гелем «Левоксим», во второй – композицией «Тизоль + Левоксим». Контрольные группы представлены интактными и обожженными животными (n = 10 в каждой). Животных выводили из эксперимента на 10-е сутки после нанесения травмы путем декапитации под общей анестезией. В гомогенате печени крыс всех групп исследовали активность оксидоредуктаз (альдегиддегидрогеназы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и алкогольдегидрогеназы (АДГ) в прямой и обратной реакциях). Для уточнения особенностей функционирования ЛДГ и АДГ рассчитывали балансовое соотношение. Установлено, что использование композиции «тизоль + левоксим» более эффективно по сравнению с применением только левоксима, что наиболее показательно реализуется при лечении обширных ожогов. При локальных ожогах эффект комбинации, по-видимому, проявляется только в очаге повреждения, не оказывая значимого системного метаболического эффекта. Следовательно, использование композиции «тизоль + левоксим» при местном лечении обширных ожогов влияет на каталитические и регуляторные свойства оксидоредуктаз печени, непосредственно определяющих метаболическую адаптацию печени.

Ключевые слова: оксидоредуктазы печени, метаболическая адаптация, ожог, тизоль, левоксим

INFLUENCE OF PHARMACOLOGICAL COMPOSITIONS WITH TRANSCUTANEOUS ACTIVITY ON HEPATIC METABOLIC ADAPTATION DURING EXPERIMENTAL BURN TRAUMA

Soloveva A.G., Peretyagin S.P., Zimin Y.V., Martusevich A.K., Larionova K.D.

Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopaedy, Nizhny Novgorod, e-mail: sannag5@mail.ru

The aim of this work is investigation of influence of pharmacological compositions with transcutaneous activity on catalitic properties and regulation of oxydoreductases of rats liver at management of local and wide burns. Experiments were executed with 40 Wistar rats. Animals of first main group was burned locally (5 bsp), and rats of second main group got a wide burns (40 bsp). These main groups were divided at two subgroups, first of it was treated by «Levoxym» hel and second subgroup got a composition, including «Levoxym» amd «Tizol». Control groups included healthy and burned animals without treatment (n = 10 in each group). We estimated activitity of oxydoreductases (aldehyde dehydrogenase, lactate dehydrogenase and alcohol dehydrogenase) in rats liver homogenates. For investigation of specialties of indicated enzymes functioning we used balance indexes. It was stated, that use of combination «Tizol + Levoxym» is more effective as comparison with single «Levoxym» management. It is most demonstrative at wide experimental burns. So, local treatment with used composition with transcutaneous activity caused clear dynamics of catalytic and kinetic properties of liver oxydoreductases, which supplied metabolic adaptation of this organ.

Keywords: liver oxydoreductases, metabolic adaptation, burn, tizol, levoxym

В последнее время значительное внимание уделяется созданию биологически активных лекарственных средств на основе кремний- и титан-содержащих органических соединений (полиолаты кремния и глицеролаты титана), обладающих противовоспалительной, транскутанной и дерматопротекторной активностью. Одним из подобных средств является тизоль – аквакомплекс глицеросольвата титана, который в композициях с другими лекарственными средствами может служить проводником при нанесении их на кожу вследствие наличия у него высокой транскутанной активности [1–3, 10, 12]. Применение таких средств может существенно расширить возможности лекарственной терапии, в частности в комбустиологии, поскольку дополняет ассортимент средств коррекции системных функционально-метаболических сдвигов, возникающих при ожоговой болезни [2, 3, 9, 11].

Важными составляющими в патогенезе ожоговой болезни являются энергетическая недостаточность и нарушение детоксикационной функции, снижающие адаптационно-компенсаторный потенциал организма [8, 11]. В то же время особенности нарушений функционирования оксидоредуктаз, играющих ведущую роль в механизмах энергообеспечения тканей, а также полноценность восстановления их активности при применении местного и системного лечения ожогов остаются недостаточно изученными. Кроме того, следует заметить, что

состояние ферментативных систем печени отражает метаболическую адаптацию органа в изучаемых условиях [5]. В связи с этим целью работы явилось изучение влияния фармакологических композиций, обладающих транскутанной активностью, на каталитические свойства и регуляцию оксидоредуктаз печени крыс при местном лечении локальных и распространенных ожогов.

Материал и методы исследований

Эксперименты были проведены на 40 белых крысах линии Wistar массой 180–250 г. Животным под наркозом наносили ожог кипятком на площади 5% (1 группа животных) или 20% (2-я группа животных) поверхности тела (участок предварительно эпилирован, экспозиция контакта с кипящей жидкостью – 3 с). В каждой группе были сформированы две подгруппы: в первой подгруппе крыс лечили гелем «Левоксим» (композит ксимедона, янтарной кислоты и левомицетина), во второй – композицией «Тизоль (регистрационный № 001667/01-2002) + Левоксим». Контрольные группы представлены интактными и обожженными животными ($n = 10$ в каждой). Животных выводили из эксперимента на 10-е сутки после нанесения травмы путем декапитации под общей анестезией (эфирный наркоз).

В гомогенате печени крыс всех групп исследовали активность ферментов-оксидоредуктаз. Активность альдегиддегидрогеназы (АлДГ) определяли по Б.М. Кершенгольц и Е.В. Серкиной [6], лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакции ($ЛДГ_{пр.}$ и $ЛДГ_{обр}$ соответственно) – по Г.А. Кочетову, активность алкогольдегидрогеназы (АДГ) – по Koivusalo et al. (1989) [7]. Для уточнения особенностей функционирования ЛДГ и АДГ рассчитывали балансовое соотношение (БС) по формулам:

$$БС(ЛДГ) = \frac{ЛДГ_{обр}}{ЛДГ_{пр}};$$

$$БС(АДГ) = \frac{АДГ_{обр}}{АДГ_{пр}}.$$

Статистический анализ результатов выполнен с использованием Statistica 6.0.

Результаты исследований и их обсуждение

Изучение каталитических свойств оксидоредуктаз печени на фоне тяжелого ожога (на площади 20% п.т.) показало, что на 10-е сутки после травмы происходит значимое изменение их функционирования (таблица). Так, выявлено увеличение активности $ЛДГ_{обр}$ на 55% по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$), при этом активность данного фермента в прямой реакции имеет тенденцию к снижению. Увеличение активности $ЛДГ_{обр}$ после травмы, вероятно, связано с активацией процессов липопероксидации и нарастанием уровня молекул средней массы, инициирующих развитие гиперметаболического синдрома [8, 9].

Активность оксидоредуктаз печени при местном лечении обширных и локальных ожогов на 10 сутки после нанесения травмы (в нмоль НАДН/мин)

Показатель	Интактные животные	Ожог 20% п.т.	ожог 5% п.т.		ожог 20% п.т.	
			Левоксим	Тизоль + левоксим	Левоксим	Тизоль + левоксим
$ЛДГ_{пр}$	86,5 ± 3,8	78,1 ± 6,5	58,5 ± 5,2*	60,5 ± 5,6*	74,3 ± 6,2*	114,4 ± 8,2*+
$ЛДГ_{обр}$	88,1 ± 2,7	136,1 ± 5,1*	109,1 ± 8,8*	101,1 ± 7,6	110,8 ± 9,1*+	138,5 ± 10,2*
АлДГ	10,3 ± 0,7	7,33 ± 1,1*	6,8 ± 0,4*	6,0 ± 0,4*	7,7 ± 0,6*	13,6 ± 0,8*+
$АДГ_{пр}$	9,6 ± 0,6	5,9 ± 0,3*	4,4 ± 0,2*	3,8 ± 0,2*	6,7 ± 0,4*	13,5 ± 2,2+
$АДГ_{обр}$	21,8 ± 1,8	21,0 ± 2,1	14,2 ± 1,2*	41,3 ± 3,6*	18,1 ± 1,4	36,0 ± 2,6*+

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с интактными животными ($p \leq 0,05$); + – различия статистически значимы по сравнению с обожженными (20% п.т.) нелеченными животными ($p \leq 0,05$).

Кроме того, при изучаемом варианте обширного ожога обнаружено значимое снижение активности ферментов детоксикации в печени (активность АлДГ снижается на 29%, активность алкогольдегидрогеназы в прямой реакции – на 38% по сравнению с интактными животными), приводящее к увеличению высокотоксичных альдегидов и кетонов, а также этанола, промежуточным продуктом метаболизма которого является ацетальдегид. Последний, в свою очередь, ингибирует деятельность ферментов, нарушает структуру и функции плазматических мембран, стимулируя процессы липопероксидации [4, 6].

На следующем этапе работы нами проведена оценка системного метаболического эффекта примененных вариантов местного лечения экспериментального ожога. Установлено, что применяемая при лечении обширных ожогов композиция «тизоль + левоксим» вызывает существенное нарастание активности $ЛДГ_{пр}$ в печени крыс (на 32% по сравнению с интактными животными и на

45% – по сравнению с животными с термической травмой; $p < 0,05$). В то же время активность $ЛДГ_{пр}$ в печени на 10 сутки после нанесения указанного ожога при лечении только левоксимом ниже показателя интактных животных ($p < 0,05$), соответствуя значению $ЛДГ_{пр}$ животных с ожогом.

Выявлено, что использование композиции «тизоль + левоксим» на 10 сутки после нанесения обширного ожога способствует значимому увеличению активности АлДГ как по сравнению с интактными, так и обожженными животными (на 32 и 86% соответственно; $p < 0,05$). При лечении только левоксимом активность АлДГ существенно ниже показателя интактных крыс и не отличается от уровня параметра, характерного для нелеченных животных (см. таблицу).

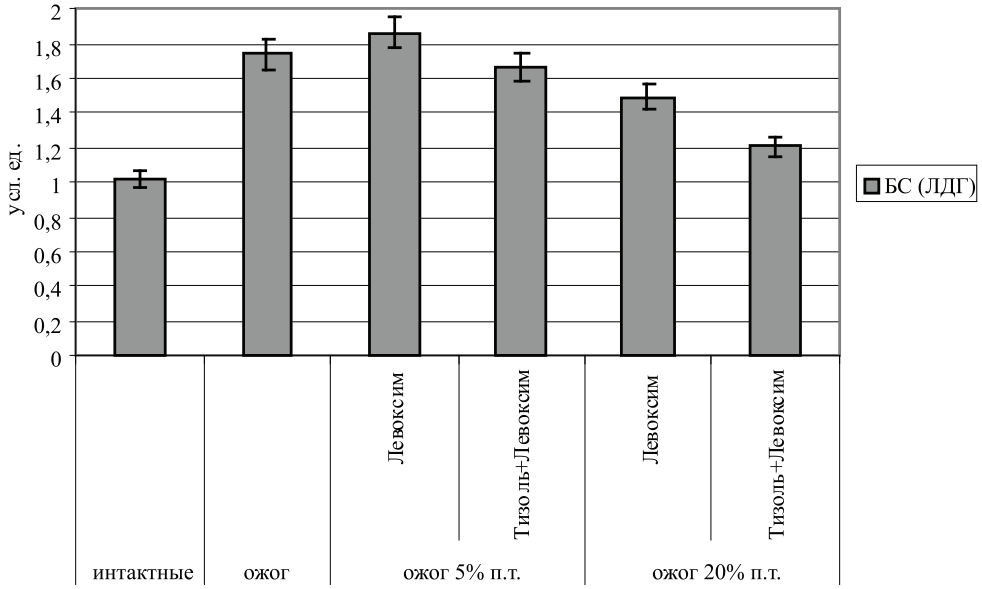

Рис. 1. Уровень балансового соотношения ЛДГ печени в зависимости от примененного варианта местного лечения термической травмы

Оценка состояния печеночных систем детоксикации позволила установить, что активность АлДГ и АДГ существенно зависят от применяемой тактики местного лечения экспериментального ожога. Так, активность $АДГ_{пр}$ при использовании композиции «тизоль + левоксим» значимо возрастает на 10 сутки после ожога как относительно нелеченных, так и интактных животных (на 129 и 41% соответственно; $p < 0,05$). При этом протекание обратной реакции энзима в этих условиях также стимулируется, достигая 179% от уровня, зарегистрированного для обожженных крыс ($p < 0,05$), и 165% от нормы ($p < 0,05$). По нашему мнению, механизм влияния сукцината, компонента левоксима, на активность АлДГ и АДГ связан с восстановлением окислительной способности печени с последующим выведением этанола и ацетальдегида за счет стимуляции цикла Кребса данным метаболитом [4]. Следует отметить, что использование левоксима при местном лечении обширного ожога на 10 сутки после травмы не вызвало существенных изменений активности $АДГ_{обр}$.

С целью изучения метаболического эффекта обнаруженных сдвигов функционирования ферментных систем печени нами были вычислены балансовые соотношения для ЛДГ и АДГ, указывающие на направленность преобладающих реакций (рис. 1 и 2). На основании данных расчетов установлено, что соотношение «$ЛДГ_{обр}/ЛДГ_{пр}$» на 10 сутки после поражения в отсутствие лечения составляет 1,74 усл. ед., тогда как у интактных животных этот показатель существенно ниже (1,02 усл. ед.; $p < 0,05$) (см. рис. 1). Подобное смещение параметра указывает на тенденцию к накоплению лактата, который в высоких концентрациях может служить косвенным показателем развития тканевой гипоксии и ацидоза [8, 9]. Обнаружено, что соотношение «$АДГ_{обр}/АДГ_{пр}$» на 10 сутки после ожога также значительно превышает уровень, характерный для здоровых животных (2,27 усл. ед), составляя 3,41 усл. ед. и косвенно свидетельствуя о накоплении токсических продуктов метаболизма, прежде всего ацетальдегида (см. рис. 2).

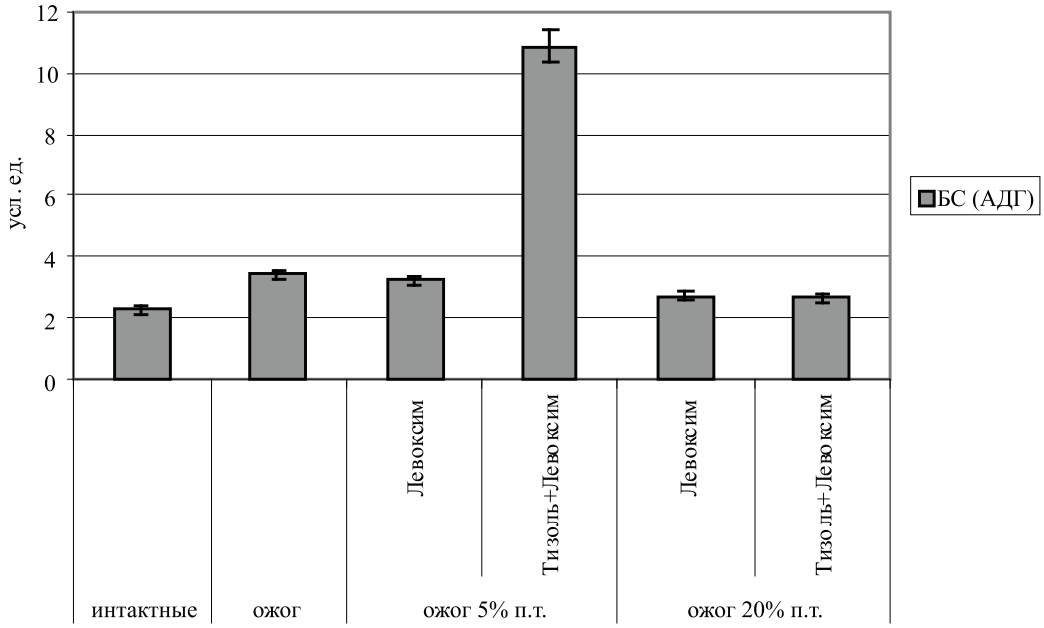

Рис. 2. Балансовое соотношение АДГ печени с учетом использования препарата с перкутанной активностью

Установлено, что применение в качестве местного лечения обширного ожога композиции «тизоль + левоксим» способствует снижению балансового соотношения лактатдегидрогеназы до уровня 1,21 усл. ед. без его полной нормализации ($p < 0,05$ по сравнению со значением показателя, обнаруженным для здоровых крыс), что обусловлено тяжестью полученной животным травмы (см. рис. 1). При лечении только левоксимом подобной тенденции не наблюдали, причем соотношение «$ЛДГ_{обр}/ЛДГ_{пр}$» падало лишь до 1,49 усл. ед. С наших позиций, более выраженный эффект композиции «тизоль + левоксим» по сравнению с монотерапией обусловлен проводниковыми свойствами тизоля, обеспечивающего повышение биодоступности левоксима в организм. Кроме того, следует подчеркнуть, что действие сукцината натрия, входящего в состав левоксима, опосредуется через дыхательную цепь и нормализацию энергетического метаболизма, реализующихся за счет его способности ингибировать свободно-радикальное окисление липидов клеточных мембран, модулирующего воздействия на мембраносвязанные антиоксидантные ферменты [4].

В отношении алкогольдегидрогеназы тенденции, выявленные для ЛДГ, также регистрируются. Так, при обширном ожоге использование композиции «тизоль + левоксим» способствует частичной нормализации балансового соотношения данного фермента, снижая его уровень до 2,67 усл. ед., однако физиологический диапазон значений (2,27 ± 0,19 усл. ед.) в этом случае также не достигается (см. рис. 2). Тактика лечения, включающего только применение левоксима, демонстрирует аналогичный результат (БС(ЛДГ) = 2,70 усл. ед.).

Дизайн проведенного исследования предусматривал оценку системных реакций печени на применение различных схем местного лечения не только обширного, но и локального ожога (на площади 5% п.т.). Установлено, что применение левоксима в форме монотерапии и в сочетании с тизолем дифференцированно изменяет балансовые соотношения изучаемых ферментов (см. рис. 1 и 2). В частности, соотношение «$ЛДГ_{обр}/ЛДГ_{пр}$» при тактике монотерапии по завершении лечения составляет 1,86 ± 0,17 усл. ед., а при комбинированном ведении экспериментальной ожоговой раны – 1,67 ± 0,15 усл. ед., в обоих случаях не достигая контрольных значений (см. рис. 1).

Использование левоксима и композиции «тизоль + левоксим» для местного лечения локального ожога вызывает выраженные сдвиги балансового соотношения алкогольдегидрогеназы по сравнению с интактными животными (2,27 ± 0,19 усл. ед.). Так, при применении только левоксима БС (АДГ) составило 3,23 ± 0,28 усл. ед., а в случае использования комбинации «тизоль + левоксим» – 10,87 ± 0,98 усл. ед. (см. рис. 2).

С учетом того, что активность АлДГ на 10 сутки после нанесения локального ожога, значимо снижаясь как при монотерапии, так и при применении комбинации «левоксим + тизоль» (на 34 и 42% соответственно;

$p < 0,05$ по сравнению со здоровыми животными), несущественно зависит от варианта лечения, можно заключить, что тактика ведения локальной ожоговой раны не оказывает существенного влияния на активность альдегиддегидрогеназы (см. таблицу).

Заключение

Исследованиями А.О. Войнара установлено, что титан в организме человека также выполняет жизненно важные функции, в том числе и при построении эпителиальной ткани [10]. В этой связи сотрудниками «Общества лабораторных исследований медицинских препаратов» (г. Екатеринбург) Г.П. Лопатиной, И.В. Емельяновой и др. создано новое уникальное средство на основе титана под торговым названием «Тизоль», представляющее собой аквакомплекс глицеросольвата титана $(TiO_4(C_3H_7O_2)_4(C_3H_8O_3)_{10}(H_2O)_{40})$ [10].

Результаты показали высокую степень высвобождения вещества из лекарственных комплексов с тизолем [1, 2, 10], причем уникальным свойством тизоля является его высокая транскутанная проводимость [1]. Важно, что тизоль в качестве основы лекарственных веществ сохранял фармакологическую активность, оказывая положительное влияние на репаративные процессы в тканях. С точки зрения практической фармации тизоль интересен тем, что он обладает дифильными свойствами, вследствие чего устойчиво сочетается как с гидрофильными, так и с гидрофобными лекарственными веществами, не образуя токсических соединений [10]. Исследователями показано, что тизоль как металлокомплексное соединение обладает противовоспалительным действием, а наличие в нем связанных молекул глицерина и атома титана обеспечивает протекторное, дегидратирующее, противоотечное и местное анальгезирующее действие. Установлено, что аквакомплекс глицеросольвата титана при смешивании с лекарственными веществами образует с ними устойчивые гели и способствует повышению их активности за счет транскутанных свойств и транспортировки к патологическому очагу [1–+3].

Проведенные нами исследования позволяют заключить, что использование композиции «тизоль + левоксим» более эффективно по сравнению с применением только левоксима, что наиболее показательно реализуется при лечении обширных ожогов. При ведении локальных ожогов эффект комбинации, по-видимому, проявляется только в очаге повреждения, не оказывая значимого системного метаболического эффекта. На основании этого можно заключить, что транскутанный проводник гель «Тизоль» способствует более полному проявлению саногенетических эффектов изучаемой лекарственной композиции, повышая биодоступность левоксима при местном лечении обширных ожогов. В нашем исследовании установлено, что применение изучаемой композиции нормализует энергообеспечение тканей, определяемое по характеру изменения балансового соотношения лактатдегидрогеназы. Следовательно, использование композиции «тизоль + левоксим» при местном лечении обширных ожогов влияет на каталитические и регуляторные свойства оксидоредуктаз, непосредственно определяющих метаболическую адаптацию печени.

Список литературы

1. Бояковская Т.Г., Ларионов Л.П., Хонина Т.Г. Исследование транскутанной активности кремнийорганического глицерогидрогеля // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2009. – № 2. – С. 267–268.

2. Волков А.А., Ларионов Л.П., Забокрицкий Н.А. с соавт. Разработка и доклиническое изучение инновационных композиций мягкой лекарственной формы на основе диметилдиглицероксисилана при термической травме // Биомедицина. – 2010. – № 5. – С. 71–73.

3. Разработка фармацевтической композиции мягкой лекарственной формы на основе кремнийтитанорганического глицерогидрогеля и изучение ее влияния на локомоторные функции экспериментальных животных при термическом ожоге / А.А. Волков, Л.П. Ларионов, Т.Г. Хонина и др. // Клиническая фармакология и терапия. – 2009. – № 6. – С. 257–259.

4. 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. – Т. 153, № 3. – С. 313–317.

5. Зимин Ю.В., Сяткин С.П., Березов Т.Т. Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите // Вопросы медицинской химии. – 2001. – № 3. – С. 346–352.

6. Кершенгольц Б.М., Серкина Е.В. Некоторые методические подходы к изучению метаболизма этанола // Лабораторное дело. – 1981. – № 2. – С. 126.

7. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – М.: ВШ., 1980. – 272 с.

8. Кузин М.И. Синдром системного ответа на воспаление // Хирургия. – 2000. – № 2. – С. 54–59.

9. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги: руководство для врачей. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 488 с.

10. Смагина Т.А., Москвина Л.М., Туркина Ю.В. Определение скорости высвобождения лекарственных веществ из Тизоля // Новые технологии в медицине и фармации. Тизоль: Мат. межрегион. научно-практ. конф. – Екатеринбург, 2003. – С. 49–56.

11. Ушакова Т.А. Адаптивные реакции у тяжелообожженных в условиях интенсивной терапии: автореф. дис. … д-ра мед. наук. – М., 2008. – 56 с.

12. Khonina T.G., Safronov A.P., Shadrina E.V. et al. Mechanism of structural networks in hydrogels based on silicon and titanium glycerolates // J. of Colliod and Interface Science. – 2012. – Vol. 365. – P. 81–89.

References

1. Bojakovskaja T.G., Larionov L.P., Honina T.G. *Vestnik Ural'skoj medicinskoj akademicheskoj nauk*i, 2009, no 2, pp. 267–268.

2. Volkov A.A., Larionov L.P., Zabokrickij N.A. et al. *Biomedicina*, 2010, no 5, pp. 71–73.

3. Volkov A.A., Larionov L.P., Honina T.G. et al. *Klinicheskaja farmakologija i terapija*, 2009, no 6, pp. 257–259.

4. Zarubina I.V., Lukk M.V., Shabanov P.D. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*, 2012, Vol. 153, no 3, pp. 313–317.

5. Zimin Ju.V., Sjatkin S.P., Berezov T.T. *Voprosy medicinskoj himii*, 2001, no 3, pp. 346-352.

6. Kershengol'c B.M., Serkina E.V. *Laboratornoe delo*, 1981, no 2, pp. 126.

7. Kochetov G.A. Prakticheskoe rukovodstvo po jenzimologii. [Practical course of enzymology] Moscow, 1980. 272 p.

8. Kuzin M.I. *Hirurgija*, 2000, no 2, pp. 54–59.

9. Paramonov B.A., Porembskij Ja.O., Jablonskij V.G. Ozhogi: rukovodstvo dlja vrachej [Burns: Guide for doctors]. Sankt-Petersburg, 2000. 488 p.

10. Smagina T.A., Moskvina L.M., Turkina Ju.V. *Novye tehnologii v medicine i farmacii. Tizol': Mat. mezhregion. nauchno-prakt. konf.* Ekaterinburg, 2003, pp. 49-56.

11. Ushakova T.A. Adaptivnye reakcii u tjazheloobozhzhennyh v uslovijah intensivnoj terapii. [Adaptive reactions at intensive care of burned patients] Avtoref. diss. … d. m. n. M., 2008. 56 p.

12. Khonina T.G., Safronov A.P., Shadrina E.V. et al. *J. of Colliod and Interface Science*, 2012, Vol. 365, pp. 81–89.

Рецензенты:

Корягин А.С., д.б.н., профессор кафедры физиологии и биохимии человека и животных ГОУ ВПО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород;

Мухина И.В., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой нормальной физиологии им. Н.Ю. Беленкова ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» МЗСР РФ, г. Нижний Новгород.

Работа поступила в редакцию 14.09.2012.