

Oleshko I.M. Our experience of using low molecular weight heparins for preventing complications of microsurgical interventions. *Travma*. 2002; 3 (2): 158–159. (In Russ.)]

3. Крылов В.С. Микрохирургия в России. Опыт 30 лет развития. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. — 391 с. [Krylov V.S. *Mikrokhirurgiya v Rossii. Opyt 30 let razvitiya*. (Microsurgery in Russia. 30 years of development.) Moscow: GEOTAR-Media. 2005; 391 p. (In Russ.)]

4. Лобов Г.И., Гурков А.С. Модуляция кровотока в микроциркуляторном русле пальцев кисти после формирования радиоцефалической артериовенозной фистулы // Нефрол. — 2014. — Т. 16, №3. — С. 364–371. [Lobov G.I., Gurkov A.S. Modulation of blood flow in the microvasculature of fingers after the formation a radiocephalic arteriovenous fistula. *Nefrologiya i dializ*. 2014; 16 (3): 364–371. (In Russ.)]

5. Петровский Б.В., Крылов В.С., Степанов Г.А.

и др. Актуальные вопросы микрохирургии // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. — 1981. — №12. — С. 35–38. [Petrovskiy B.V., Krylov V.S., Stepanov G.A. et al. Actual questions of microsurgery. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 1981; 12: 35–38. (In Russ.)]

6. Розенталь Р.Л. Лечение хронической почечной недостаточности. — Рига, 1984. — 235 с. [Rozenal' R.L. *Lechenie khronicheskoy pochechnoy nedostatochnosti*. (Treatment of chronic renal failure.) Riga. 1984; 235 p. (In Russ.)]

7. Стецюк Е.А. Современный диализ. — М.: МИА, 2008. — 208 с. [Stetsyuk E.A. *Sovremennyy dializ*. (Modern dialysis.) Moscow: MIA. 2008; 208 p. (In Russ.)]

8. Yang C., Wu T., Huang C. Low molecular heparin reduces triglyceride, VLDL and cholesterol/HDL levels in hyperlipidemic diabetic patients on hemodialysis // *Am. J. Nephrol.* — 1998. — Vol. 18. — P. 384–390.

УДК 612.015.11: 616-002.3: 616-089.819.82-036.7-06: 615.468

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

Тагир Зайтунович Закиев<sup>1\*</sup>, Салават Расулевич Туйсин<sup>2</sup>, Олег Владимирович Галимов<sup>2</sup>, Азат Раимович Гильфанов<sup>2</sup>, Ринат Дамирович Сагдиев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Медико-санитарная часть ОАО «Татнефть» и г. Альметьевска, г. Альметьевск, Россия;

<sup>2</sup> Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

### Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-302

**Цель.** Изучение воздействия комбинированных перевязочных материалов на процессы свободнорадикального окисления у пациентов с гнойными ранами.

**Методы.** Исследовали показатели люминол-зависимой хемилуминесценции цельной крови у 30 здоровых доноров и 122 пациентов с гнойными ранами, показатели хемилуминесценции гомогенатов тканей гнойных ран до и после лечения. Для оценки состояния свободнорадикального окисления *in vitro* использованы следующие методы: измерение спонтанной и индуцированной зимозаном хемилуминесценции цельной крови, оценка железоиндуцированной хемилуминесценции гомогенатов тканей гнойных ран. Было изучено распределение показателей хемилуминесценции относительно нормального ожидаемого распределения с целью выявления однородности группы по данным признакам.

**Результаты.** Группа доноров оказалась однородной по составу, что позволило рассчитать средние значения. По изменению хемилуминесценции цельной крови у больных с гнойными ранами мягких тканей были выделены две группы, в которых отмечалось либо увеличение изучаемых показателей, либо их снижение. Усиление люминол-зависимой хемилуминесценции крови свидетельствует об избыточной генерации свободных радикалов фагоцитами и характерно для острого воспалительного процесса. Уменьшение интенсивности хемилуминесценции крови отмечено у больных, у которых было выявлено снижение функциональной активности фагоцитов, что вместе с клиническими особенностями указывало на наличие у них длительного вялотекущего воспалительного процесса. Дана сравнительная характеристика влияния лекарственных форм «Полидерм», «Воскопран», «Полисорб», «Левомеколь», используемых при местном лечении гнойных ран на свободнорадикальное окисление в модельных системах *in vitro*.

**Вывод.** В острой фазе воспалительного процесса происходит усиление интенсивности хемилуминесценции крови более чем в 3 раза (что свидетельствует о повышении генерации радикалов активных форм кислорода, обладающих микробицидным действием); при длительных вялотекущих процессах хемилуминесценция крови угнетается в 2 раза (что указывает на снижение эффективности защитных механизмов).

**Ключевые слова:** люминол-зависимая хемилуминесценция, местное лечение гнойных ран, перевязочные материалы, свободнорадикальное окисление, повязка «Полидерм».

## STUDYING THE PROCESSES OF FREE-RADICAL OXIDATION IN PATIENTS WITH PURULENT-INFLAMMATORY DISEASES OF SOFT TISSUES

T.Z. Zakiev<sup>1</sup>, S.R. Tuysin<sup>2</sup>, O.V. Galimov<sup>2</sup>, A.R. Gil'fanov<sup>2</sup>, R.D. Sagdeev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medical and sanitary unit of JSC «Tatneft» and the city of Almet'yevsk, Almet'yevsk, Russia;

<sup>2</sup>Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

**Aim.** To study the effects of combined dressings on the processes of free radical oxidation in patients with purulent wounds.

**Methods.** The performance of luminol-dependent chemiluminescence of whole blood from 30 healthy donors and 122 patients with purulent wounds, as well as tissue chemiluminescence of festering wounds tissue homogenates were

examined before and after the treatment. To assess the free radical oxidation *in vitro*, spontaneous and zymosan-induced whole blood chemiluminescence measurement, iron-induced chemiluminescence assessment of festering wounds tissue homogenates were performed. The distribution of chemiluminescence parameters compared to normal expected distribution was analyzed to group homogeneity on these criteria.

**Results.** Group of donors was homogeneous in composition that allowed the calculation of mean values. By changing in whole blood chemiluminescence of patients with soft tissue festering wounds, they were allocated to two groups, in which a marked increase or decline of the investigated parameters was seen. Increased luminol-dependent blood chemiluminescence indicates excessive free radicals generation by phagocytes and is characteristic of acute inflammation. Decreased intensity of chemiluminescence was observed in the blood of patients who showed reduced functional activity of phagocytes, which, together with the clinical features indicate a long-term smoldering inflammation. The comparative assessment of «Poliderm», «Voskopran», «Polysorb», «Levomekol» medications, used for local treatment of suppurative wounds, influence on free radical oxidation in model systems *in vitro*, was performed.

**Conclusion.** There is a triple increase in chemiluminescence intensity in the acute phase of the inflammatory process, marking increased production of reactive oxygen radicals with microbicide activity); in long-term smoldering processes, chemiluminescence decreases by half, indicating reduced efficiency of protective mechanisms

**Keywords:** luminol-dependent chemiluminescence, local treatment of purulent wounds, dressings, free radical oxidation, «Poliderm» bandage.

Особенностями течения хирургической инфекции в современных условиях являются увеличение числа тяжело протекающих и не поддающихся стандартному лечению осложнённых форм гнойно-воспалительных заболеваний, учащение случаев атипичного и длительного течения заболевания [6]. Биохимические, иммунологические, эндокринные и другие процессы в организме прямо или косвенно связаны со структурой и функционированием биологических мембран. Именно повреждения клеточных мембран становятся одним из пусковых механизмов развития многих патологических процессов. Основу повреждения клеточных мембран составляет процесс перекисидации, или процесс перекисного свободнорадикального окисления липидов, которое совместно с другими токсическими метаболитами и медиаторами воспаления оказывает повреждающее действие на клетки органов и тканей [4, 5].

Воспалительные процессы в тканях сопровождаются изменением количества свободных радикалов на фоне снижения антиокислительной активности. Фагоцитирующие клетки вырабатывают активные формы кислорода, обладающие микробицидным действием. Скопление недоокисленных перекисных продуктов в периферических тканях ран приводит к изменению сосудистого тонуса, тромбозу капилляров, нарушению проницаемости мембранных барьеров, а также к активации лизосомальных ферментов [1].

Поиск новых средств, позволяющих поддерживать скорость свободнорадикального окисления на оптимальном уровне и контролировать состояние данного процесса, может играть исключительную роль в лечении и профилактике осложнений гнойных ран [2, 3].

Целью данного исследования было изучение воздействия комбинированных перевязочных материалов на процессы свобод-

норадикального окисления у пациентов с гнойными ранами.

Изучали показатели люминол-зависимой хемилюминесценции цельной крови у доноров и пациентов с гнойными ранами, показатели хемилюминесценции гомогенатов тканей гнойных ран до и после лечения.

Оценку состояния свободнорадикального окисления *in vitro* проводили следующими методами: измерением спонтанной и индуцированной зимозаном хемилюминесценции цельной крови, определением железоиндуцированной хемилюминесценции гомогенатов тканей гнойных ран.

Дана сравнительная характеристика воздействия лекарственных форм «Полидерм», «Воскопран», «Полисорб», «Левомеколь», используемых при местном лечении гнойных ран, на свободнорадикальное окисление в модельных системах *in vitro*. Изучена антиоксидантная активность компонентов, входящих в состав повязки «Полидерм». Исследуемые препараты в дозе от 0,01 до 1,0 мг/мл добавляли в тест-системы, в которых инициировали реакции свободнорадикального окисления.

Была исследована люминол-зависимая хемилюминесценция цельной крови у 122 пациентов с гнойными ранами, спонтанная и стимулированная добавлением зимозана, которая характеризует пул активных форм кислорода в фагоцитах, обладающих микробицидным воздействием. В качестве контроля определяли показатели нормы у 30 здоровых доноров.

Было изучено распределение показателей хемилюминесценции относительно нормального ожидаемого распределения с целью выявления однородности группы по данным признакам. Группа доноров оказалась однородной по составу, что позволило рассчитать их средние значения.

Полученные данные обрабатывали с применением программы «Primer of Biostatistics,

Трансформация показателей люминол-зависимой хемилюминесценции цельной крови до лечения, М±м

Группа	Показатели люминол-зависимой хемилюминесценции стимулированной крови		Показатели люминол-зависимой хемилюминесценции спонтанной крови	
	СС, отн.ед.	МС, отн.ед.	СС, отн.ед.	МС, отн.ед.
Здоровые	46±1,04	6,48±0,91	18,97±1,0542	2,57±0,25
Больные первой группы, n=92	125,58±8,07*	16,05±3,2*	75,36±7,24*	11,83±2,03*
Больные второй группы, n=30	15,25±1,4**	3,36±0,52**	8,98±1,1**	1,27±0,12**

Примечание: МС — максимальная светимость клеток крови; СС — среднее значение вспышки светимости; \*р < 0,05 между больными первой группы и здоровыми донорами; \*\*р < 0,05 между больными второй группы и здоровыми донорами.

version 4.03» на базе персональной ЭВМ «Pentium III — 800». Были использованы параметрические и непараметрические методы статистической обработки. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови и данные измерения хемилюминесценции статистически обработаны с использованием однофакторного дисперсионного и корреляционного анализа, результаты других методов исследования — с применением пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Нормальность распределения выборочной совокупности оценивали критерием согласия  $\chi^2$ . Статистическую значимость различий между сравниваемыми средними значениями в контрольной и основной группах устанавливали с использованием критерия Стьюдента.

Среднее значение спонтанной хемилюминесценции цельной крови доноров составило 1,38±0,06 отн.ед., максимальной светимости (МС) клеток крови — 2,57±0,25 отн.ед., среднее значение вспышки светимости (СС) цельной крови — 18,97±1,05 отн.ед., спонтанной светимости (СпС) индуцированной хемилюминесценции клеток крови доноров — 1,40±0,16 отн.ед. Среднее значение МС клеток крови — 6,48±0,91 отн.ед., СС цельной крови составило 42,46±1,04 отн.ед. Разница между интенсивностью индуцированного и

спонтанного свечения свидетельствует о резервных возможностях фагоцитов.

По изменению хемилюминесценции цельной крови у пациентов с гнойными ранами мягких тканей были выделены две группы, в которых были зарегистрированы либо рост изучаемых показателей, либо их снижение (табл. 1).

Усиление люминол-зависимой хемилюминесценции крови свидетельствует об избыточной генерации свободных радикалов фагоцитами и характерно для острого воспалительного процесса [7]. Уменьшение интенсивности хемилюминесценции крови зарегистрировано у больных, у которых отмечено снижение функциональной активности фагоцитов, что вместе с клиническими особенностями указывало на наличие у них длительного вялотекущего воспалительного процесса [6].

При исследовании хемилюминесценции гомогенатов тканей у больных с гнойными ранами мягких тканей обращает на себя внимание тот факт, что интенсивность свечения в области поражённой ткани выше, чем в участке здоровой. Это свидетельствует об избыточном накоплении свободных радикалов и ускорении процессов свободнорадикального окисления в зоне гнойной раны (рис. 1).

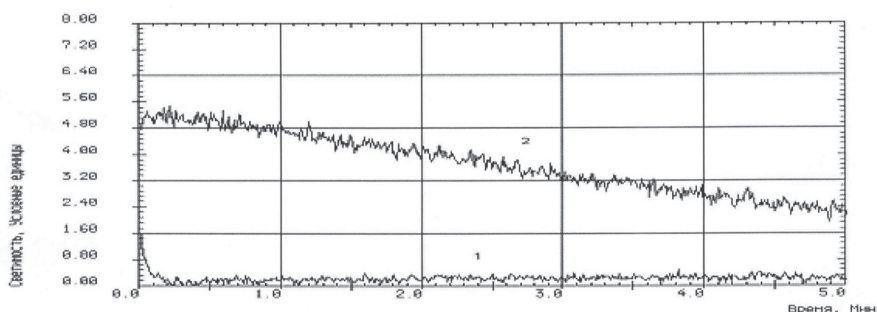


Рис. 1. Запись хемилюминесценции гомогенатов ран: 1 — здоровая ткань; 2 — ткань гнойной раны

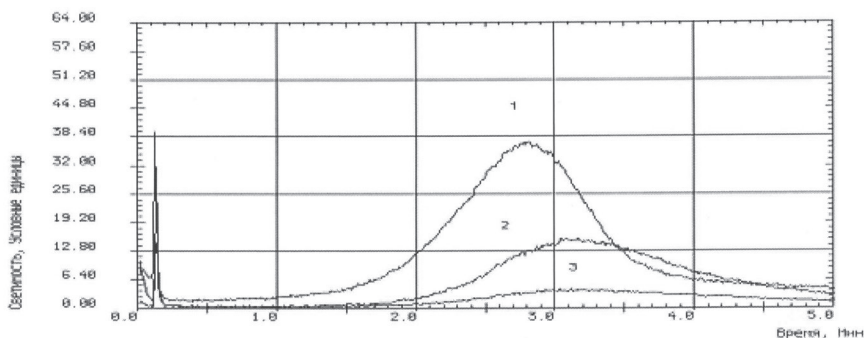


Рис. 2. Определение антиокислительной активности гомогенатов тканей: 1 — хемилюминесценция модельной системы; 2 — хемилюминесценция при добавлении гомогената ткани, взятой из гнойной раны; 3 — хемилюминесценция при добавлении гомогената здоровой ткани

Таблица 2

**Влияние препаратов на показатели хемилюминесценции модельных систем**

Препарат	Система фагоцитирующих клеток цельной крови человека, СС, % по сравнению с контролем	Система перекисного окисления липидов СС, % по сравнению с контролем	Система, генерирующая активные формы кислорода, СС, % по сравнению с контролем
Контроль	100	100	100
«Полисорб»	104	129*	115*
«Воскопран»	103	103	102
«Полидерм»	130*	24*	37*
Мазь «Левомеколь»	106	165*	158*
Экстракт прополиса масляный	238*	21*	18*
Диметилсульфоксид	103	100,6	101
Винилин	9*	65*	65*
Цианкобаламин	19*	21*	86*
Глицерин	86*	57*	43*
Поливинилпирролидон	102	96*	96*

Примечание: СС — среднее значение вспышки светимости; \*статистическая значимость различий показателей хемилюминесценции модельных систем по сравнению с контролем при  $p < 0,05$ .

Средние значения СС гомогенатов здоровых тканей составили  $1,2 \pm 0,48$  отн.ед., МС —  $0,49 \pm 0,02$  отн.ед. Средние значения СС гомогенатов гнойных ран составили  $18,53 \pm 2,07$  отн.ед., МС —  $5,21 \pm 0,97$  отн.ед.

Определение антиокислительной активности ткани осуществляли по её способности подавлять генерацию радикалов в модельной системе. Добавление в модельную систему гомогената, полученного из участка здоровой ткани, вызвало угнетение хемилюминесценции. Гомогенаты тканей, полученные из гнойных ран, наоборот, вызывали усиление свечения. Это свидетельствует о том, что в гнойной ране происходит снижение антиокислительной активности и увеличиваются прооксиданты, способные инициировать образование свободных радикалов (рис. 2).

Проведено сравнение антиокислительной активности препаратов, традиционно используемых при лечении гнойных ран: «Полисорб», «Воскопран», «Полидерм»,

«Левомеколь». В модели, генерирующей активные формы кислорода в присутствии «Полидерма», наблюдалось снижение светосуммы свечения на 64,2%, внесение в систему «Воскопрана» практически не влияло на интенсивность свечения, а «Полисорб» и мазь «Левомеколь» повышали хемилюминесценцию на 15 и 58% соответственно.

В модельной системе, в которой инициировались процессы перекисного окисления липидов, «Левомеколь» усиливал свечение на 65%, «Полисорб» — на 29%, «Воскопран» не влиял на показатели хемилюминесценции, «Полидерм» снижал светосумму свечения на 75,8%, (табл. 2).

Интерес представляет изучение действия препаратов на генерацию активных форм кислорода фагоцитирующими клетками. Известно, что данный процесс характеризует функциональные возможности фагоцитов, их микробицидные свойства. Добавленные в систему «Воскопран», «Полисорб», «Левомеколь».

меколь» практически не влияли на хемилюминесценцию, а добавление «Полидерма» увеличивало светосумму хемилюминесценции на 130%.

Проведённые исследования показали, что лекарственные вещества, входящие в состав «Полидерма», обладают антиоксидантным эффектом во всех модельных системах. Препарат «Полидерм» имеет более высокую антиоксидантную активность по сравнению с «Полисорбом», «Воскопраном» и «Левомеколем».

Уникальность экстракта прополиса масляного и «Полидерма» заключается в одновременной стимуляции образования активных форм кислорода фагоцитирующими клетками крови. Данная особенность выгодно отличает их от антиоксидантов синтетического происхождения, которые снижают микробицидное действие фагоцитов, что нежелательно при местном лечении гнойных ран [7].

## ВЫВОДЫ

1. У больных с гнойными ранами существует два типа нарушения свободнорадикального окисления. При длительных вялотекущих процессах хемилюминесценция крови угнетается в 2 раза, что указывает на снижение эффективности защитных механизмов. В острой фазе воспалительного процесса происходит усиление интенсивности хемилюминесценции крови более чем в 3 раза, что свидетельствует о повышении генерации радикалов активных форм кислорода, обладающих микробицидным действием.

2. В гнойной ране происходит ускорение процессов свободно радикального окисления. Выявлено снижение антиокислительной активности в 3 раза и повышение интенсивности хемилюминесценции содержимого гнойных ран в 5 раз.

3. Наибольшей антиокислительной активностью в модельных системах, имитирующих реакции свободнорадикального окисления, среди изученных средств, при-

меняемых для местного лечения гнойных ран, обладает повязка «Полидерм».

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абаев Ю.К. Современные особенности хирургической инфекции // Вестн. хир. им. И.И. Грекова. — 2005. — Т. 164, №3. — С. 107–111. [Abaev Yu.K. Current features of surgical infection. *Vestnik khirurgii imeni I.I. Grekova*. 2005; 164 (3): 107–111. (In Russ.)]
2. Анисимов В.Н., Арутюнян А.В., Опарина Т.И. и др. Возрастные изменения активности свободнорадикальных процессов в тканях и сыворотке крови крыс // Рос. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. — 1999. — Т. 85, №4. — С. 502–507. [Anisimov V.N., Arutiunian A.V., Oparina T.I. Age-related changes in the activity of free-radical processes in rat tissues and blood serum. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 1999; 85 (4): 502–507. (In Russ.)]
3. Владимиров Ю.А., Шерстнёв М.П., Азимбаев Т.К. Оценка антиокислительной и антирадикальной активности веществ и биологических объектов // Биофизика. — 1992. — Т. 37, №4 — С. 1041–1047. [Vladimirov Yu.A., Sherstnev M.P., Azimbaev T.K. Estimating antioxidative and anti-radical activity of substances and biological objects. *Biofizika*. 1992; 37 (6): 1041–1047. (In Russ.)]
4. Руденко П.А. Роль свободнорадикального окисления липидов в патогенезе гнойной раны // Вісник ДАУ. — 2011. — №2 (19). — С. 245–250. [Rudenko P.A. The role of free-radical lipid peroxidation in the pathogenesis of purulent wound. *Visnyk Dnipropetrovs'kogo derzhavnogo agrarnogo universytetu*. 2011; 2 (19): 245–250. (In Russ.)]
5. Зайцев В.В., Польский О.Г., Шакин Д.Ю., Зайцева Н.Б. Индикация свободнорадикального перекисного окисления липидов // Тезисы докладов VIII Международной конференции «Биоантиоксидант». — М., 2010. — С. 185–186. [Zaytsev V.V., Pol'skiy O.G., Shakin D.Yu., Zaytseva N.B. Indication of free-radical lipid peroxidation, in *Tezisy dokladov VIII Mezhdunarodnoy konferentsii «Bioantioksidant»*. (Abstract book of «Bioantioxidant» VIII international conference.) Moscow. 2010; 185–186. (In Russ.)]
6. Туйсин С.Р., Богданов И.В. Коррекция свободнорадикальных процессов в ходе лечения гнойных ран // Фундамент. исслед. — 2010. — №4 — С. 81–85. [Tuysin S.R., Bogdanov I.V. Correction of free-radical processes while treating purulent wounds. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2010; 4: 81–85. (In Russ.)]
7. Хамитова З.А., Наркевич О.В., Галимов О.В., Наркевич В.В. Возможности современных перевязочных материалов в лечении гнойных ран // Мед. вестн. Башкортостана. — 2006. — №1. — С. 136. [Khamitova Z.A., Narkevich O.V., Galimov O.V., Narkevich V.V. Effects of modern dressing materials in treating purulent correction of free-radical processes while treating festering wounds. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2006; 1: 136. (In Russ.)]