

УДК 617.7–001.37:617.713–07+577.11–085–039.73

Динамика содержания аминного азота и оксипролина в роговице кроликов при применении внутривенных инъекций цитофлавина в лечении щелочного ожога

Р. И. Чаланова, д-р мед. наук, С. Г. Коломийчук, ст. науч. сотр, С. В. Пархоменко, ст. лаборант, М. Мбарки, аспирант

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины»

Вступ. Актуальність роботи заключається у вивченні ефективності включення інфузійної терапії в вигляді внутрішньовенних інфузій цитофлавіну в комплексну терапію опіків очей з метою стимуляції репаративних процесів в рогівці.

Мета роботи — вивчити динаміку вмісту аміноного азоту і оксипроліну в рогівці кроликів при застосуванні внутрішньовенних інфузій цитофлавіну в лікуванні лужного опіку.

Результати. В умовах експериментального опіку застосування цитофлавіну сприяє нормалізації вмісту амінокислот на 21 добу, в той же час в контрольній групі (без препарату) він значно зростає тільки після 45 доби. Після 21 доби експерименту при застосуванні цитофлавіну відмічається нормалізація оксипроліну в рогівці.

Висновки. В умовах експериментального опіку застосування цитофлавіну сприяє прискоренню зростання рівня аміноного азоту рогівки. Вміст амінокислот в цих умовах практично нормалізується до 21 доби, в той же час в контролі (без препарату) він значно зростає тільки після 45 доби.

Після 21 доби з моменту нанесення опіку в групі тварин, одержавших цитофлавін, відмічається нормалізація оксипроліну в рогівці, в контролі спостерігається більш високий рівень цієї амінокислоти, що може бути обумовлено в першу чергу надлишковим рубцюванням і переважним накопиченням білків обпеченої рогівки.

Ключевые слова: роговица, ожог, аминный азот, оксипролин, цитофлавин

Ключові слова: рогівка, опік, аміний азот, оксипролін, цитофлавін

Content of amine nitrogen and hydroxyproline in the cornea when using an intravenous infusion of cytoflavin in the treatment of alkaline burn

Chalanova R. I., Kolomiychuk S. G., Parkhomenko S. V., Mbark M.

SI «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of NAMS of Ukraine»

Introduction: The actuality of the work is to study the efficacy of infusion therapy of intravenous injection of cytoflavin in the complex therapy of eye burns aimed at stimulation regenerative processes in the cornea.

Objective: To study the dynamics of content of amine nitrogen and hydroxyproline in the rabbit cornea using an intravenous infusion of cytoflavin in the treatment of alkaline burn.

Material and methods. Investigations were carried out on two groups of rabbits (basic and control), which reproduced the heavy insulated alkaline corneal burn (10 % NaOH with an exposure of 10 seconds) by Chechin's method (1983). The content of amine nitrogen and hydroxyproline in the cornea of experimental animals was determined.

Results. The using of cytoflavin in the experimental burn normalizes the concentration of amino acids to 21st days, whereas in the control group (without drug) it is significantly increased only after 45 days. Oxyproline comes almost normal levels in the cornea in the experimental group which used cytoflavin in the period after 21 days.

Conclusions: 1. Cytoflavin promotes faster level rise of amino nitrogen in the cornea at experimental burn. The concentration of amino acids in these conditions comes practically normal to 21st days, whereas in the control group (without drug) is significantly increased only after 45 days.

Key words: cornea, burn, amino nitrogen, hydroxyproline, cytoflavin.

2. The normalization of hydroxyproline in the cornea observed in the period after 21 days after the burn in the group of animals who treated by cytoflavin while in the control group of rabbits higher levels of this amino acid observed that may be due primarily to excessive scarring and accumulation of connective tissue proteins in burned cornea.

Актуальность. Особенностью ожогового повреждения является дезорганизация соединительной ткани морфо-функциональных структур переднего отдела глаза, наиболее уязвимых для воздействия альтерирующего агента. Первичный некроз обожженных тканей как следствие непосредственного воздействия альтеранта, в динамике ожогового процесса инициирует и прогрессивно углубляет трофические расстройства, проявления которых рассматриваются как вторичный некроз [2, 3]. Структурная дезорганизация обожженных тканей сопровождается расстройством ее белковых компонентов, а угнетение метаболических процессов характеризуется нарушением белкового обмена. Установлено, что в поврежденной ожогом роговице выявляются изменения в соотношении аргинина, цистеина и глутаминовой кислоты, снижение содержания рибонуклеиновой кислоты [1]. Экспериментальными исследованиями при моделированном ожоге было показано значительное снижение в роговице аминного азота [9]. В обожженных тканях глаза отмечается угнетение и других видов обмена веществ (углеводного, липидного), снижение уровня аэробного окисления и усиление анаэробных процессов, следствием которых является накопление недоокисленных продуктов, дополнительно повреждающих клетку и замедляющих процесс регенерации [4, 7, 8].

Стимуляция восстановительных процессов в обожженных тканях глаза является одной из основных задач, решаемых в процессе лечения ожогов. Для коррекции метаболизма и активации регенерации может быть использован препарат, представляющий собой комбинацию универсальных клеточных метаболитов: янтарной кислоты, рибоксина и двух коферментов — рибофлавина (B_2) и никотиамида (PP). Влияние такого препарата на восстановление компонентов белкового обмена, принимающих участие в осуществлении регенераторных процессов в тканях при ожоговом повреждении глаза, до настоящего времени не изучено.

Цель работы: изучить динамику содержания аминного азота и оксипролина в роговице кроликов при применении внутривенных инфузий цитофлавина в лечении щелочного ожога.

Материал и методы

Исследования проведены на двух группах кроликов, у которых воспроизводили тяжелый изолированный щелочной ожог роговицы (10 % NaOH с экспозицией 10 секунд) по методике П. П. Чечина.

Местное лечение осуществляли инстилляциями дезинфицирующих средств и тобрадекса. В основной группе (12 кроликов, 24 глаза) с 10 по 14 сутки с момента воспроизведения моделированного щелочного ожога лечение дополнено внутривенными инфузиями 2,5 мл цитофлавина (5 инъекций). В контрольной группе (12 кроликов, 24 глаза) в эти же сроки внутривенно вводили такой же объем физиологического раствора. Наблюдение за экспериментальными животными проводили на протяжении 45 суток. Учитывали уровень воспалительной реакции в баллах, площадь помутнения и дефекта роговицы в мм^2 , сроки купирования признаков воспаления и заживления роговицы. Для проведения биохимических исследований животных выводили из эксперимента на 3, 7, 21, 30, 45 сутки с момента ожога в состоянии этиминал-натриевого наркоза. В процессе проведения биохимических исследований в роговице экспериментальных животных определяли содержание аминного азота и оксипролина [5].

Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета SPSS 11.0 [6].

Результаты и их обсуждение

Данные о содержании аминного азота в роговице кроликов контрольной группы, получавших в процессе наблюдения инстилляцию дезинфицирующих средств и тобрекса в оба глаза, и основной экспериментальной группы, с включением в курс лечения пяти внутривенных инфузий цитофлавина, представлены в таблицах 1 и 2.

Как видно из представленных данных, содержание аминного азота в роговице контрольной группы кроликов до ожога составило $(0,92 \pm 0,06)$ мг/г, а в основной группе — $(0,94 \pm 0,07)$ мг/г.

На протяжении трех суток с момента ожога отмечается значительное снижение содержания аминного азота в роговицах кроликов обеих групп. В контрольной группе животных содержание аминного азота было равно $(0,67 \pm 0,05)$ мг/г, что составило 72,8 %, в основной группе — $(0,68 \pm 0,05)$ мг/г, т. е. 72,3 % по отношению к данным до ожога роговицы.

После 7 суток наблюдений содержание аминного азота в роговице кроликов обеих экспериментальных групп оставалось сниженным. В контрольной группе этот показатель составлял $(0,71 \pm 0,06)$ мг/г (77,2 % исходного уровня), а в основной группе — $(0,73 \pm 0,05)$ мг/г (77,7 % по отношению к данным до ожога).

При анализе данных биохимических исследований выявились различия между показателями уровня содержания аминного азота обеих групп после проведенного в основной группе кроликов лечения цитофлавином. Препарат вводили вну-

Таблица 1. Содержание аминного азота (мг/г) в роговице кроликов контрольной (без лечения) и основной (применение цитофлавина) групп в условиях щелочного ожога роговицы кроликов

Сроки наблюдения	Стат. показатели	Контрольная группа	Основная группа
До ожога	n	12	12
	M±m	0,92±0,06	0,94±0,07
	p	–	–
	%	100,0	100,0
	p1	–	>0,05
3 сутки	n	10	10
	M±m	0,67±0,05	0,68±0,05
	p	<0,05	<0,05
	%	72,8	72,3
	p1	–	>0,05
7 сутки	n	10	10
	M±m	0,71±0,06	0,73±0,05
	p	<0,05	<0,05
	%	77,2	77,7
	p1	–	>0,05
	%1	100,0	102,8

Примечание: p — уровень значимости различий по отношению к данным до ожога; p1 — уровень значимости различий при сравнении контрольной и основной групп в зависимости от срока.

Таблица 2. Содержание аминного азота (мг/г) в роговице кроликов контрольной (без лечения) и основной (применение цитофлавина) групп в условиях щелочного ожога роговицы кроликов

Сроки наблюдения	Стат. показатели	Контрольная группа	Основная группа
До ожога	n	12	12
	M±m	0,92±0,06	0,94±0,07
	p	–	–
	%	100,0	100,0
	p1	–	>0,05
21 сутки	n	10	10
	M±m	0,73±0,04	0,87±0,04
	p	<0,05	>0,05
	%	79,3	92,6
	p1	–	<0,05
30 сутки	n	10	10
	M±m	0,75±0,04	0,89±0,04
	p	<0,05	>0,05
	%	81,5	94,7
	p1	–	<0,05
45 сутки	n	10	10
	M±m	0,78±0,04	0,91±0,05
	p	>0,05	>0,05
	%	85,8	96,8
	p1	–	>0,05
	%1	100,0	116,7

Примечания: p — уровень значимости различий по отношению к данным до ожога; p1 — уровень значимости различий при сравнении контрольной и основной групп в зависимости от срока.

тривенно животным основной экспериментальной группы с 10 по 14 сутки с момента ожога. Так, на 21 сутки наблюдений содержание аминного азота в контрольной группе оставалось пониженным до (0,73±0,04) мг/г (79,3 % к показателю нормы), а в основной группе отмечено повышение уровня его содержания до (0,87±0,04) мг/г, что составило 92,6 % по сравнению с данными до ожога роговицы (p<0,05). После 30 суток наблюдений отмечено незначительное повышение уровня аминного азота в роговице кроликов контрольной группы до (0,75±0,04) мг/г (81,5 % от показателя нормы), в то время как в группе с применением цитофлавина этот показатель повысился до (0,89±0,04) мг/г, что по отношению к данным до ожога роговицы составило 94,7 %, (p<0,05)

К концу срока наблюдения, на 45 сутки с момента ожога, в роговицах кроликов контрольной группы содержание аминного азота оставалось пониженным до (0,78±0,04) мг/г (85,8 % исходного уровня). В основной группе животных отмечалась тенденция к дальнейшему повышению содержания аминного азота в роговице до (0,91±0,05) мг/г, что составило 96,8 % по сравнению с уровнем до ожога.

Данные о содержании оксипролина в роговице кроликов контрольной и основной групп в динамике экспериментального ожогового процесса отражены в таблицах 3 и 4. Как видно из данных

Таблица 3. Содержание оксипролина (мкг/г) в роговице кроликов контрольной (без лечения) и основной (применение цитофлавина) групп в условиях щелочного ожога роговицы кроликов

Сроки наблюдения	Стат. показатели	Контрольная группа	Основная группа
До ожога	n	12	12
	M±m	148,24±9,25	150,90±9,54
	p	–	–
	%	100,0	100,0
	p1	–	>0,05
3 сутки	n	10	10
	M±m	112,23±7,34	108,97±7,90
	p	<0,05	<0,01
	%	75,7	72,2
	p1	–	>0,05
7 сутки	n	10	10
	M±m	95,32±6,50	93,45±6,72
	p	<0,01	<0,01
	%	64,3	61,9
	p1	–	>0,05
	%1	100,0	98,0

Примечания: p — уровень значимости различий по отношению к данным до ожога; p1 — уровень значимости различий при сравнении контрольной и основной групп в зависимости от срока.

Таблица 4. Содержание оксипролина (мкг/г) в роговице кроликов контрольной (без лечения) и основной (применение цитофлавина) групп в условиях щелочного ожога роговицы кроликов

Сроки наблюдения	Стат. показатели	Контрольная группа	Основная группа
До ожога	n	12	12
	M±m	148,24±9,25	150,90±9,54
	p	—	—
	%	100,0	100,0
	p1	—	>0,05
21 сутки	n	10	10
	M±m	196,56±13,34	172,34±12,60
	p	<0,05	>0,05
	%	132,6	114,2
	p1	—	<0,05
30 сутки	n	10	10
	M±m	205,16±13,50	164,12±11,35
	p	<0,01	>0,05
	%	138,4	108,8
	p1	—	<0,05
45 сутки	n	10	10
	M±m	193,96±13,17	156,92±10,12
	p	<0,05	>0,05
	%	130,8	104,0
	p1	—	<0,05
	%1	100,0	80,9

Примечания: p — уровень значимости различий по отношению к данным до ожога; p1 — уровень значимости различий при сравнении контрольной и основной групп в зависимости от срока.

таблицы 3, содержание оксипролина в роговице кроликов в контрольной группе до ожога составило (148,24±9,25) мкг/г, а в основной группе — (150,90±9,54) мкг/г (p>0,05).

На 3 сутки после воспроизведения ожога роговицы содержание оксипролина понизилось в обеих группах наблюдения. В контрольной группе животных этот показатель составлял (112,23±7,34) мкг/г (75,7 % по отношению к исходным данным), а в основной группе — (108,97±7,90) мкг/г (72,2 % по отношению к данным до ожога роговицы) (p>0,05).

Дальнейшее снижение содержания оксипролина в обожженной роговице было отмечено на 7 сутки наблюдения. В контрольной группе кроликов этот показатель составлял (95,32±6,50) мкг/г (64,3 %), а в основной группе — (93,45±6,72) мкг/г (61,9 %) (p>0,05).

Анализ результатов биохимических исследований показал, что в течение ожогового процесса после трех недель с момента ожога, содержание оксипролина в роговице экспериментальных животных повышается, однако отмечаются различия в динамике показателя между группами сравне-

ния. На 21 сутки наблюдений содержание оксипролина в контрольной группе экспериментальных животных было повышено до (196,56±13,34) мкг/г, что составило 132,6 % по сравнению с нормой. В основной группе после проведенного лечения внутривенными инфузиями цитофлавина содержание оксипролина в роговице повысилось до (172,34±12,60) мкг/г, составляя по сравнению с данными до ожога роговицы — 114,2 % (p<0,05). После 30 суток наблюдений содержание оксипролина в роговице кроликов в условиях щелочно-го ожога в контрольной группе было повышено до (205,16±13,50) мкг/г, что составило — 138,4 %, а в группе с применением цитофлавина до (164,12±11,35) мкг/г, или 108,8 %, (p<0,05) по отношению к данным до ожога роговицы.

На 45 сутки наблюдений в контрольной группе животных содержание оксипролина было повышено до (193,96±13,17) мкг/г (130,8 % к исходному показателю) а в основной группе — до (156,92±10,12) мкг/г, т. е. 104 % (p<0,05).

Общий анализ результатов исследования концентрации аминокислотных групп и уровня оксипролина в роговице кроликов после экспериментального ожога свидетельствует, что в опытах с применением цитофлавина отмечается более быстрая нормализация уровня аминного азота. Полученные данные свидетельствуют о том, что после 21 суток показатели содержания аминокислот были выше 90 %, а на 45 сутки наблюдения содержание аминного азота составило 96,8 %. В то же время, в контрольной группе животных выраженная тенденция к повышению уровня содержания аминного азота в роговице наблюдалась только к 45 суткам с момента ожога. На этом основании можно заключить, что цитофлавин оказывает регуляторное воздействие на репаративные процессы в роговице в послеожоговом периоде, т. е. не только стимулирует метаболические процессы, но и ограничивает избыточный синтез соединительнотканых белков коллагена. Вероятно, значительное повышение содержания оксипролина у кроликов контрольной группы после 21 суток наблюдения (свыше 130 % по отношению к показателю нормы) свидетельствует о повышенной склонности регенераторных процессов к рубцеванию обожженной роговицы. В основной группе кроликов увеличение содержания оксипролина в роговице выявлено на 21 сутки наблюдения, когда оно составило 114,2 % по отношению к исходным данным и 87,7 % к показателю контрольной группы на этот срок. В процессе дальнейшего наблюдения до 45 суток с момента ожога этот показатель постепенно снижался до уровня нормы и составил к концу наблюдения 104 %. Выявленную тенденцию в динамике показателя оксипролина в обожженной роговице в основной группе кроликов можно расценивать как позитивный

эффект примененной инфузионной терапии цитофлавином в отношении процессов репаративной регенерации.

В целом, изучение содержания аминного азота и оксипролина в роговице после ожога выявило выраженное нормализующее влияние цитофлавина на их уровень, что можно рассматривать как элемент патогенетически направленного позитивного воздействия изучаемого препарата на процессы синтеза и транспорта аминокислот в эту ткань в послеожоговом периоде. В механизме такого влияния цитофлавина, несомненно, важную роль играет стимуляция биоэнергетических процессов в послеожоговом периоде, что было установлено нами в предыдущих исследованиях [7, 8].

Литература

1. Андрушкова О. А. Экспериментальное обоснование применения гидролизата РНК (ЭНКАД) при химическом ожоге роговицы / О. А. Андрушкова, В. П. Плевинский, С. А. Якименко // Офтальмол. журн. — 1990 — № 6. — С. 338–343
2. Волков В. В. О звеньях патогенеза ожоговой болезни глаз // «Симпозиум в лечении ожогов глаз»: Тез. докл. — М., 1989. — С. 3–4.
3. Гундорова Р. А. Особенности патогенеза тяжелых ожогов глаз / Р. А. Гундорова, И. П. Маслова, Г. Г. Бординкова // Мат. III Всесоюз. конф. «Современные средства первой помощи и методы лечения ожоговой болезни». — М., 1986. — С. 328–328
4. Метеліцина І. П. Процеси перекисного окислення ліпідів і антиоксидантний потенціал крові й рогівки при хімічних опіках без і на тлі застосування ербісолом / І. П. Метеліцина, О. М. Панько, С. А. Якименко, О. Г. Гусева // Фармакол. вісник — 1999. — № 1. — С. 65–71
5. Новые методы биохимического анализа. // Изд. Ленинградского универ. — 1991. — 395 с.

References

1. Andrushkova OA, Plevinskis VP, Yakimenko SA. Experimental substantiation of application of RNA hydrolyzate (ENKAD) in a chemical burn of the cornea. Ophthalmol Zh. 1990;6:338–43. Russian.
2. Volkov VV. On pathogenesis of burn disease. Symposium in eye burns treatment: theses. M.; 1989. 3–4.
3. Gundorova RA, Maslova IP, Bordyugova GG. Peculiarities of severe eye burns pathogenesis. Proceedings of III All Union conference «Advanced first aid and treatments of burn disease». M.; 1986: 328.
4. Metelitsina IP, Panko OM, Yakimenko SA, Guseva OG. Lipid peroxidation and antioxidant capacity of blood and corneas with and without chemical burns during Erbisol treatment. Farmakol. Vestnik. 1999;1:65–71. Ukrainian.
5. New methods of biochemical analysis. Izd. Leningradskogo univer.; 1991. 395 p.

Выводы

1. В условиях экспериментального ожога применение цитофлавина ускоряет подъем уровня аминного азота роговицы. Концентрация аминокислот в этих условиях практически нормализуется к 21 суткам, тогда как в контрольной группе (без препарата) она значительно возрастает только после 45 суток.

2. В период после 21 суток с момента нанесения ожога в группе животных, получавших цитофлавин, отмечается нормализация оксипролина в роговице, в то время как в контрольной группе кроликов наблюдается более высокий уровень этой аминокислоты, что обусловлено, в первую очередь, избыточным рубцеванием и чрезмерным накоплением соединительнотканых белков обожженной роговицы.

6. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: Медиа Сфера, 2002. — С. 312.
7. Чаланова Р. И. Исследование активности окислительно-восстановительных ферментов (лактатдегидрогеназы и глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы) в камерной влаге при лечении экспериментального ожога роговицы внутривенными инфузиями цитофлавина / Р. И. Чаланова, С. Г. Коломийчук, М. Мбарки // 36 наук. праць. Проблеми військової охорони здоров'я — Київ. — 2013. — в. № 38. Т.1 С. 404–416
8. Чаланова Р. И. Активность лактатдегидрогеназы и глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы в крови при экспериментальном ожоге глаза в процессе применения внутривенных инфузий цитофлавина / Р. И. Чаланова, С. Г. Коломийчук, М. Мбарки // Офтальмол. журн. — 2013. — № 4. — С. 81–86
9. Якименко С. А. Некоторые биохимические показатели в динамике ожогового процесса в глазу и их значение / С. А. Якименко, Р. И. Чаланова, С. Г. Коломийчук, Т. И. Гладуш // Офтальмол. журн. — 2002. — № 3. — С. 5–11

6. Rebrova OYu. Statistical analysis of medical data. Application software package STATISTICA. M.: Media Sfera; 2002. 312 p.
7. Chalanova RI, Kolomiichuk SG, Mbarki M. Investigation of the activity of redox enzymes (lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase) in chamber moisture in treatment of experimental corneal burn with intravenous cytoflavin. Collection of papers: Problems of the military health care. Kiev. 2013;1(38):404–16. Russian.
8. Chalanova RI, Kolomiichuk SG, Mbarki M. Activity of lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphate in the blood in experimental eye burns during the application of intravenous cytoflavin. Ophthalmol Zh. 2013;4:81–6. Russian.
9. Yakimenko SA, Chalanova RI, Kolomiichuk SG, Gladush TI. Some biochemical parameters in the dynamics of the burn process in the eye and their significance. Ophthalmol Zh. 2002;3:5–11. Russian.