

УДК: 616–001.166 + 616.5 + 59.082 + 615.32 + 547.96: 615.03

Изменения неспецифических протеиназ и их ингибиторов у крыс после термического ожога кожи при применении экспериментальных методов коррекции

Алиев Л.Л., Писарева О.А., Арутюнян А.А., Чегодарь Д.В., Кубышкин А.В., Фомочкина И.И.

Медицинская академия имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского». 295000, Симферополь, б-р Ленина, д. 5/7

Актуальность. Ожоговые повреждения кожи, в частности термические ожоги, во всем мире являются общепризнанной социально-медицинской проблемой. Согласно данным ВОЗ, на долю термических ожогов кожи и ассоциированных с ними осложнений приходится около 15% среди общего числа травматических повреждений мирного времени. Несмотря на быстрое внедрение новых методов лечения ожогов кожи, вопрос эффективности этиопатогенетически обоснованной терапии остается актуальным и дискуссионным. **Цель.** Определить степень и характер изменений неспецифических протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и супернатантах гомогенатов кожи у крыс линии Wistar с моделью термического ожога кожи II степени, а также на фоне применения биокомпозиции на основе наночастиц серебра, стабилизированных в растворе альгината натрия, и ингибитора протеиназ апротинина для оценки модификации течения воспалительного процесса. **Методы.** Проведено две серии экспериментальных исследований на белых крысах самцах линии Wistar: в первой серии оценивали динамику изменений в протеиназ-ингибиторной системе сыворотки крови и супернатантах гомогенатов кожи крыс без коррекции, а во второй серии изучали вышеперечисленные изменения на фоне медикаментозной коррекции. В сыворотке и супернатантах гомогенатов энзиматическими методами определяли трипсिनоподобную активность (ТПА), эластазоподобную активность (ЭПА), антитриптическую активность (АТА) и кислотостабильные ингибиторы (КСИ); белок определяли методом Лоури. **Результаты.** В статье представлены результаты динамических изменений показателей неспецифических протеиназ и их ингибиторов при моделировании термического ожога II степени на 100 белых крысах линии Wistar. Наиболее эффективным вариантом экспериментальной коррекции нарушений протеиназ-ингибиторного гомеостаза является сочетанное применение аппликаций с раствором наносеребра и апротинина. **Заключение.** Полученные данные изменений протеолитической активности отражают характер выраженности воспалительного процесса и могут свидетельствовать о развитии деструктивных изменений в кожных покровах крыс. Установлено, что на локальном уровне дисбаланс неспецифических протеиназ и их ингибиторов характеризуется активацией протеиназ на фоне истощения ингибиторного потенциала, в то время как на системном – повышение протеолитической активности сопровождается ростом уровней ингибиторов, что подтверждает целесообразность локальной терапии ожогов с применением ингибиторов протеиназ. Наиболее эффективным вариантом коррекции нарушений протеиназ-ингибиторного гомеостаза является сочетанное применение аппликаций с раствором наносеребра и апротинина.

Ключевые слова: термический ожог; протеиназы; апротинин; наносеребро.

Для цитирования: Алиев Л.Л., Писарева О.А., Арутюнян А.А., Чегодарь Д.В., Кубышкин А.В., Фомочкина И.И. Изменения неспецифических протеиназ и их ингибиторов у крыс после термического ожога кожи при применении экспериментальных методов коррекции. Патогенез. 2018; 16(4):43-50

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.43-50

Для корреспонденции: Фомочкина Ирина Ивановна, e-mail: fomochkina_i@mail.ru

Финансирование: Исследования выполнены в рамках научного проекта №17-415-92011, поддержанного Советом министров Республики Крым и РФФИ, по теме «Патогенетические механизмы реэпителизации и ремоделирования ожоговых ран и оптимизация процессов репарации посредством потенцирования противовоспалительных эффектов наночастиц серебра и апротинина», код конкурса «р_а».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 27.07.2018

Changes in nonspecific proteinases and their inhibitors in rats with thermal skin burn during the use of experimental treatments

Aliiev L.L., Pisareva O.A., Arutyunyan A.A., Chegodar D.V., Kubyshkin A.V., Fomochkina I.I.

S.I. Georgievsky Medical Academy of the V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

Bulvar Lenina 5/7, Simferopol 295000, Russian Federation

Background. Burn injuries of the skin, specifically thermal burns, are internationally recognized as an important social and medical issue. According to statistical data of the World Health Organization thermal skin burns and their complications account for approximately 15% of all peacetime traumatic injuries. Despite the rapid development of new therapies for skin burns the effectiveness of etiologically and pathogenetically substantiated therapy remains a relevant and controversial issue. **Aim:** To determine the degree and nature of changes in nonspecific proteinases and their inhibitors in serum and supernatants of skin homogenates from Wistar rats with second degree deep thermal burn wounds and during the use of a biocomposition based on silver nanoparticles stabilized in a solution with sodium alginate and a proteinase aprotinin inhibitor for modification of the inflammatory process. **Methods.** Two series of experiments were performed on Wistar male rats: 1) evaluating the dynamics of changes in proteinases and their inhibitors in blood serum and supernatants of rat skin homogenates without correction and 2) studying the above-listed changes during a pharmaceutical correction.

The trypsin-like activity (TLA), elastase-like activity (ELA), antitryptic activity (ATA), and acid-stable inhibitors (ASI) were measured in serum and supernatants of homogenates using enzymatic methods; protein concentration was determined by the Lowry method. **Results.** The article presents dynamic changes in nonspecific proteinases and their inhibitors studied on a model of second degree deep thermal burn wounds in 100 Wistar rats. Combination applications with a solution of nanosilver and aprotinin was the most effective experimental treatment of the proteinase and inhibitor homeostasis disorders. **Conclusions.** The observed changes in proteolytic activity reflect the nature of inflammatory process and may indicate development of destructive changes in the rat skin and alleviation of inflammation using the experimental treatment. At the local level, the imbalance of nonspecific proteinases and their inhibitors was characterized by activation of proteases associated with depletion of the inhibitory potential while at the systemic level, the increase in proteolytic activity was associated with a reactive increase in levels of inhibitors, which confirms the advisability of local therapy for burns with proteinase inhibitors. The most effective experimental therapy for the proteinase and inhibitor homeostasis disorders was the combined use of applications with a solution of nanosilver and aprotinin.

Key words: thermal burn; proteinases; aprotinin; nanosilver.

For citation: Aliev L.L., Pisareva O.A., Arutyunyan A.A., Chegodar D.V., Kubyshkin A.V., Fomochkina I.I. [Changes in nonspecific proteinases and their inhibitors in rats with thermal skin burn during the use of experimental treatments]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(4): 43-50 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.43-50

For correspondence: Fomochkina Iryna, e-mail: fomochkina_i@mail.ru

Funding: Research grant No. 17-415-92011 "Pathogenetic mechanisms of reepithelization and remodeling of burn wounds and optimization of repair processes through potentiation of anti-inflammatory effects of silver nanoparticles and aprotinin", code «p_a», supported by the Council of Ministers of the Republic of Crimea and the Russian Foundation of Basic Research.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received: 27.07.2018

Введение

Ожоги занимают третье место в структуре всех травм, при обширных и/или глубоких повреждениях сопровождаются тяжелым течением, высокой частотой развития осложнений, высокой летальностью и инвалидизацией [1-3]. Основной причиной развития осложнений и смертельных исходов при ожогах является инфекция, которая задерживает нормальный процесс заживления ран, продлевая воспалительную фазу иммунного ответа и способствуя протеолитической деструкции [4, 5]. По данным современной литературы в очаге ожогового повреждения наблюдается высвобождение таких медиаторов воспаления, как фактор некроза опухоли (TNF- α) и интерлейкин-6 (IL-6), липидные медиаторы [6, 7], секвенирование лейкоцитов и макрофагов в поврежденные ткани, и развитие очага гиперметаболизма, который включает в себя увеличение образования реакционно-способных радикалов кислорода и азота [4, 6].

Среди маркеров эффективной репарации в последние годы большое значение придается протеиназам, которые, как известно, принимают участие во всех стадиях процесса заживления ран после ожогов [8-10]. Однако окончательно роль протеиназ и их эндогенных ингибиторов в патогенезе ожогов с учетом динамики заживления не установлена, что, в свою очередь, не позволяет в полной мере использовать подходы, направленные на коррекцию этого важного патогенетического механизма.

На современном этапе интерес исследований при изучении ожоговых повреждений направлен не столько на системные влияния, сколько на локальные эффекты – свойства ожоговой жидкости. Так, установлена ее способность стимулировать процессы неоваскуляризации, увеличивать темпы пролиферации эндотелиоцитов, интенсивность миграции фибробластов [11]. Вместе с тем, практически нет данных об изменении уровня протеолитической активности blisterной жидкости, хотя следует ожидать, что протеиназы и их ингибиторы должны быть представлены в ее составе. Изучение состояния

компонентов протеиназ-ингибиторной системы не только на системном уровне, но и локально – в ожоговом экссудате может существенно расширить представления об их участии в формировании ожогов, что позволит разработать новые подходы к их патогенетической терапии.

В настоящее время тактика местного лечения ожогов направлена на очищение раны от некротических тканей и борьбу с инфекцией [12]. При этом следует учитывать, что уровень протеиназ, высвобождающихся из лейкоцитов, поврежденных тканей и микроорганизмов может оставаться высоким в течение длительного времени и способствовать поддержанию деструкции. Помимо непосредственной угрозы для жизни больного, инфекция приводит к задержке образования грануляционной ткани при глубоких ожогах, лизису вновь образованного эпителиального покрова, углублению ран и избыточному рубцеванию при поверхностных ожогах [13].

Таким образом, формируются две проблемы, влияющие на скорость регенерации послеожоговых ран и развитие осложнений, одна из которых – контроль уровня протеиназ в фазе формирования грануляций, другая – борьба с инфекционными агентами. Исходя из этого, можно считать, что ингибирование чрезмерной протеолитической активности ферментов, а также профилактика раневой инфекции, являются ключевыми направлениями в создании новых препаратов для ускорения регенерации послеожоговых ран.

Материалы и методы исследования

Экспериментальная модель термического ожога кожи выполнена на 80 белых крысах-самцах линии Wistar массой 180-200 г, содержащихся в идентичных условиях. Серия поставленных исследований проведена в асептических условиях операционной вивария и лаборатории кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадско-

го». Эксперимент был одобрен комитетом по этике ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского» (протокол № 2 от 11 сентября 2015 г.).

Экспериментальное моделирование термического ожога кожи II степени осуществлялось после внутривенной наркотизации тиопенталом натрия 20 мг/кг. Ожог производили путём аппликации к ранее депилированному участку кожи в области спины, ограниченному деревянным трафаретом размером 1,5 × 1,0 см, при помощи тонкостенной резиновой ёмкости с водой температуры 90°C на 10 с [14]. Предварительные испытания показали, что именно данная методика позволяет получить стандартный по размеру и глубине ожог II степени. На всем протяжении экспериментального исследования рана оставалась открытой.

Для достижения поставленных целей лабораторные животные были распределены на следующие экспериментальные группы:

- 1 группа – 10 крыс, группа интактных животных (контроль).

- 2 группа – 10 крыс с моделью ожогового повреждения II степени, находящиеся под наблюдением в течение 3 суток.

- 3 группа – 10 крыс с моделью ожогового повреждения II степени, находящиеся под наблюдением в течение 7 суток.

- 4 группа – 10 крыс с моделью ожогового повреждения II степени, находящиеся под наблюдением в течение 14 суток.

- 5 группа – 10 крыс с моделью ожога II степени, которым с момента нанесения ожоговой травмы в течение 7 дней в качестве местного лечения применяли антибиотик эритромицин. Для этого эритромицин 0,5 г измельчали в фарфоровой ступке до мелкодисперсного порошка и смешивали с 10 мл альгината натрия (0,6 %). Затем 1 мл полученного 10% раствора применяли в виде местных аппликаций ожоговой раны.

- 6 группа – 10 крыс с моделью ожога II степени, которым с момента нанесения ожоговой травмы в течение 7 дней в качестве местного лечения применяли водорастворимую композицию наночастиц серебра (0,1 %) в матрице полисахарида морских водорослей альгината натрия (0,6%), изготовленную на бидистиллированной воде (99,3 %).

- 7 группа – 10 крыс с моделью ожога II степени, которым с момента нанесения ожоговой травмы в течение 7 дней в качестве местного лечения применяли ингибитор протеиназ апротинин. Для этого 1 мл раствора альгината натрия 0,6% смешивали с 1 мл «Гордокс», где в 1 мл содержится 10 тысяч КИЕ.

- 8 группа – 10 крыс с моделью ожога II степени, которым с момента нанесения ожоговой травмы в течение 7 дней в качестве местного лечения применяли комбинацию раствора наносеребра с ингибитором протеиназ апротинина. Для этого 1 мл препарата «Гордокс» в котором содержится 10 тыс. КИЕ, смешивали с 1 мл раствора наночастиц серебра (0,1 %).

На 3-е, 7-е и 14-е сутки под тиопенталовым наркозом производилась эвтаназия и взятие образцов сыворотки крови и гомогенатов кожного лоскута для оценки из-

менений протеиназ-ингибиторной системы [15]. Проведено две серии экспериментальных исследований: в первой серии оценивали изменения в протеиназ-ингибиторной системе сыворотки крови и супернатантах гомогенатов кожи экспериментальных животных без медикаментозной коррекции, а во второй серии исследований изучали вышеперечисленные изменения на фоне медикаментозной коррекции. В сыворотке и супернатантах гомогенатов энзиматическими методами определяли трипсиноподобную активность (ТПА), эластазоподобную активность (ЭПА), антитриптическую активность (АТА) и кислотостабильные ингибиторы (КСИ); белок определяли методом Лоури [15].

Все измерения и исследования производили с использованием средств измерительной техники, прошедших метрологическую поверку, и вспомогательного оборудования, прошедшего аттестацию в Медицинской академии им. С.И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».

Статистическая обработка полученных данных проведена методами вариационной статистики с использованием параметрических и непараметрических критериев в программе «StatMed». Количественные параметры величин представляли с помощью среднего выборочного значения с указанием стандартной ошибки средней величины. При нормальном гауссовском законе распределения статистическую гипотезу о равенстве средних величин проверяли с помощью параметрического *t*-критерия Стьюдента, а при отклонении распределения от нормального – с помощью непараметрического *W*-критерия Вилкоксона для независимых выборок. Тест на нормальность распределения проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез был равен 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено, что экспериментальное моделирование термического ожога II степени сопровождается системными нарушениями протеиназ-ингибиторного гомеостаза в сыворотке крови (рис. 1). Наиболее значимым сдвигом в системе протеолиза явилось прогрессивное повышение уровня ТПА в сыворотке крови на всех этапах исследования. Так, на 3-и сутки после термической травмы уровень ТПА был на 41,7% ($p < 0,001$) выше контрольных значений, на 7-е сутки – на 44,4 % ($p < 0,001$). К 14-м суткам рост активности трипсиноподобных ферментов продолжился и составил 66,7% ($p < 0,001$) по отношению к контролю, что статистически достоверно превышало аналогичные показатели более ранних сроков.

Динамика ЭПА в сыворотке крови крыс с моделью термического ожога характеризовалась нестабильной и часто недостоверной тенденцией к повышению на разных этапах послеожогового периода. Так, к 3-м суткам уровень ЭПА недостоверно снизился на 16,1 % ($p > 0,1$) по сравнению с контролем, а на 7-е сутки повысился на 28,4% ($p < 0,001$) по отношению к показателям 3-х су-

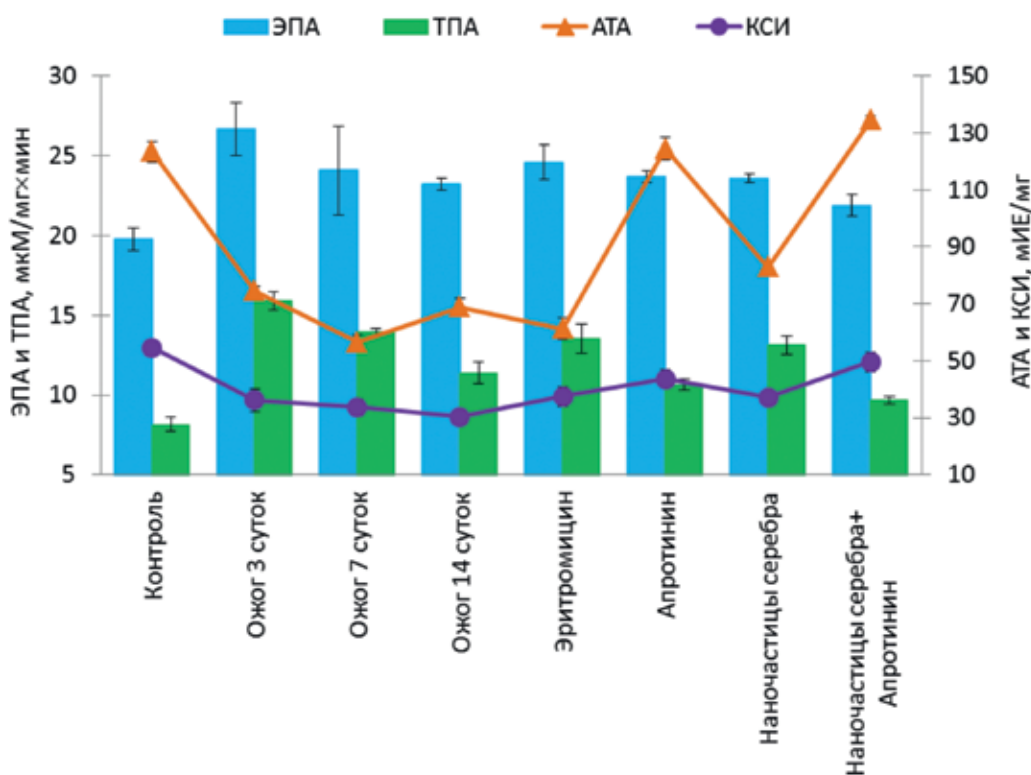


Рис. 1. Состояние протеиназ-ингибиторного гомеостаза сыворотки крови крыс при термическом ожоге и на фоне местной терапии в эксперименте (левая ось ординат – ЭПА и ТПА, мкМ/мл; мин; правая ось ординат – АТА и КСИ, мИЕ/мл). Статистическая значимость отличий от контроля и эффективности терапии указана в тексте.

ток, и недостоверно превысил контрольные значения. Изменения уровня ЭПА к 14-м суткам также были статистически недостоверными.

Проведенные исследования показали, что повышение протеолитической активности в сыворотке крови крыс с моделью термического ожога сопровождалось реактивным повышением системного ингибиторного потенциала. Так, к 3-м суткам АТА повысилась на 57,4 % ($p < 0,01$), а на 7-е сутки – на 46 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. К 14-м суткам рост АТА продолжился и составил 76,4 % ($p < 0,001$).

Сходная картина наблюдалась и в отношении динамики сывороточных уровней локально синтезируемых кислотостабильных ингибиторов. Через 3 суток после моделирования ожоговой травмы уровень КСИ повысился на 75 % ($p < 0,001$), через 7 суток – был выше на 67,9 % ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными значениями. К 14-м суткам уровень КСИ в сыворотке крови практически не изменился и остался на 64,0 % ($p < 0,001$) выше контроля.

Таким образом, изменения состояния неспецифических протеиназ и их ингибиторов сыворотки крови при термическом ожоге характеризуются системной активацией ингибиторного потенциала в ответ на прогрессивное повышение активности неспецифических протеиназ. Такая мобилизация ингибиторного потенциала оказывается эффективной для сдерживания системного повышения активности эластолитических ферментов, но определенно недостаточной для ограничения пато-

генного действия трипсиноподобных протеиназ. При этом, наиболее выраженный дисбаланс протеиназ-ингибиторной системы наблюдался на 7-е сутки исследования, когда активность неспецифических протеиназ достигала максимальных значений, а сывороточные уровни ингибиторов были, напротив, близки к минимуму.

Не меньший интерес представляет состояние протеиназ-ингибиторной системы на локальном уровне – в супернатантах гомогенатов кожи, пораженной термическим воздействием, поскольку неспецифические протеиназы – одна из основных групп медиаторов биохимической альтерации, обладающих прямым деструктивным воздействием на компоненты поврежденных тканей.

В результате проведенных исследований было установлено, что моделирование термического ожога приводит к достоверному повышению уровня активности трипсиноподобных протеиназ в супернатантах гомогенатов кожи на всех этапах исследования (рис. 2). Через 3 суток после моделирования ожоговой травмы уровень ТПА повысился почти в 2 раза ($p < 0,001$), достигнув максимальных значений за весь период исследования. Повышение уровней ТПА по отношению к контрольным значениям через 7 и 14 суток было несколько менее выраженным и составило 71,4 % ($p < 0,001$) и 39,8 % ($p < 0,001$) соответственно.

На начальных этапах ожогового процесса неспецифические протеиназы играют в определенном смысле саногенетическую роль, осуществляя ферментативный

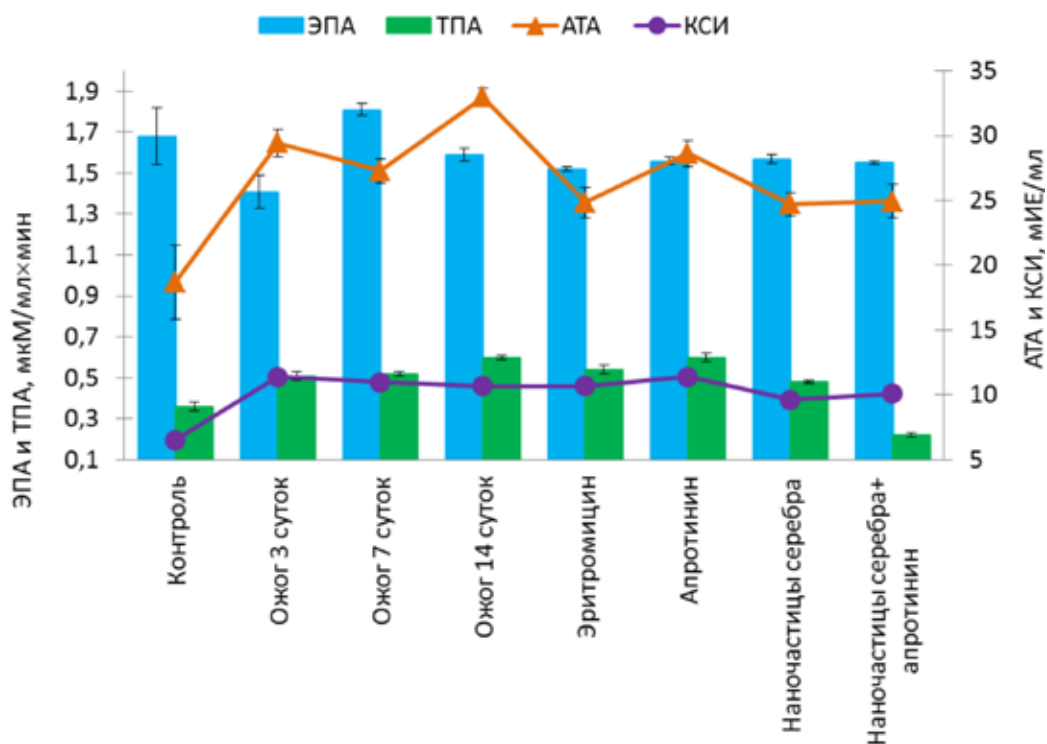


Рис. 2. Изменения неспецифических протеиназ и их ингибиторов в супернатантах гомогенатов кожи крыс при термическом ожоге и на фоне местной экспериментальной терапии. (левая ось ординат – ЭПА и ТПА, мкМ/мл × мин; правая ось ординат – АТА и КСИ, МИЕ/мл). Статистическая значимость отличий от контроля и эффективности терапии указана в тексте.

гидролиз денатурированных белков. В то же время значительное повышение активности трипсиноподобных ферментов в поврежденных термическим воздействием тканях является патогенным фактором, поскольку сопровождается активацией медиаторных каскадов, усиливающих вторичную альтерацию, нарушают микроциркуляцию, оказывают повреждающее воздействие на белковые компоненты регенерирующих тканей.

Уровень ЭПА в супернатантах гомогенатов кожи крыс также повышался. Через 3 суток после моделирования термического ожога ЭПА возросла на 34,9 % ($p < 0,001$), к 7-м суткам повышение ЭПА было недостоверным, а к 14-м суткам оно составило 17,4 % ($p < 0,001$).

Локальное повышение активности неспецифических протеиназ сопровождалось прогрессивным истощением локального ингибиторного потенциала на всех этапах исследования. Так, через 3 суток АТА снизилась на 40 % ($p < 0,001$) по отношению к контролю, а к 7-м суткам – более чем в 2 раза ($p < 0,001$). Снижение уровня АТА через 14 суток составило 44,3 % ($p < 0,001$).

Сходная динамика наблюдалась и в отношении КСИ. Через 3 суток после моделирования ожоговой травмы этот показатель достоверно снизился на треть. В последующем падение КСИ продолжилось. К 7-м суткам оно составило уже 38,2 % ($p < 0,001$), а к 14-м – 44,5 % ($p < 0,001$) по сравнению с показателями контрольной группы.

Таким образом, состояние неспецифических протеиназ и их ингибиторов в супернатантах гомогенатов кожи крыс с моделью термического ожога характери-

зовалось выраженным локальным гиперпротеолизом на фоне прогрессирующего истощения ингибиторного потенциала. Это играет ведущую роль в развитии вторично-альтеративного процесса, создает условия для протеолитической деструкции соединительнотканых волокон, гистогематических барьеров, развития отека, нарушения микроциркуляции и, следовательно, замедлению и нарушению репаративных процессов.

В этих условиях представляется целесообразным изучение возможностей медикаментозной коррекции нарушений протеиназ-ингибиторной системы как на системном, так и на локальном уровнях. Кроме того, показатели протеиназ-ингибиторной системы могут рассматриваться в качестве критерия эффективности медикаментозной терапии. В качестве экспериментальной терапии использовали эритромицин, апротинин, раствор наносеребра, а также их комбинацию в качестве компонентов локальных аппликаций. Поскольку наиболее характерные изменения показателей протеиназ-ингибиторной системы как в сыворотке крови, так и в супернатантах гомогенатов кожных лоскутов наблюдались к 7-м суткам после моделирования ожоговой травмы, было принято решение осуществлять медикаментозную коррекцию, начиная с 7-х суток.

Проведенные исследования показали, что локальное применение эритромицина для коррекции термического ожога к 7-м суткам исследования не приводило к достоверным изменениям уровня ТПА в сыворотке крови в сравнении с животными, подвергавшимися аналогичному воздействию, но без введения препарата (рис. 1).

Изолированное локальное применение апротинина также не привело к статистически значимой динамике активности трипсиноподобных ферментов. В то же время экспериментальная терапия с использованием местных аппликаций раствора наносеребра сопровождалось снижением ТПА на 7,7 % ($p < 0,01$) по сравнению с моделью ожоговой травмы без коррекции. При этом, сывороточный уровень ТПА оставался на 33,3 % ($p < 0,001$) выше контроля. Наиболее эффективным вариантом коррекции оказалось комбинированное применение раствора наносеребра и апротинина. Значения уровня ТПА в сыровотке крови, при этом снизились более чем в 2 раза ($p < 0,001$) по отношению к опытной группе без коррекции и на 38,9 % ($p < 0,001$) ниже контрольных значений интактной группы.

Все варианты экспериментальной коррекции оказались эффективными в отношении нормализации сывороточных уровней активности эластазоподобных ферментов при ожоговой травме. Местные аппликации с применением эритромицина снизило уровень ЭПА на 16,0 % ($p < 0,001$) по сравнению с термическим ожогом без коррекции, с использованием апротинина – на 13,8 % ($p < 0,001$), с раствором наносеребра – на 13,2 % ($p < 0,001$). Вероятно, это связано с бактерицидным эффектом примененных препаратов, и, следовательно, со снижением нейтрофильной реакции, которая характеризуется экзоцитозом нейтрофильной эластазы. Сходные результаты показала и комбинация апротинина и наносеребра – снижение уровня ЭПА на 14,4 % ($p < 0,001$). При этом, значения ЭПА в группах со всеми примененными вариантами экспериментальной коррекции не имели статистически достоверной разницы с показателями интактных крыс.

Экспериментальная коррекция с локальным применением препаратов не оказало существенного влияния на уровни ингибиторов протеиназ в сыровотке крови крыс с моделью термического ожога II степени. Так, применение всех вариантов патогенетической коррекции не привело к статистически достоверным изменениям уровня АТА в сыровотке крови по отношению к показателям опытной группы без коррекции. Полученные данные говорят об аутохтонности системного ответа на повреждение, который характеризуется устойчивым повышением ингибиторов протеиназ в сыровотке. Сходные результаты были получены и в отношении сывороточных уровней КСИ. Только изолированное применение раствора наносеребра сопровождалось умеренным снижением резко возросшей при моделировании ожоговой травмы активности КСИ. Уровень этой группы ингибиторов в сыровотке на фоне аппликаций с наносеребром снизился на 12,0 % ($p < 0,05$).

Таким образом, локальное применение выбранных препаратов способствует снижению протеолитической активности сыровотки крови крыс с моделью термического ожога II степени. Наиболее эффективным в этом отношении является сочетанное применение апротинина с раствором наносеребра. В то же время примененные методы экспериментальной коррекции не оказывали существенного влияния на ингибиторный потенциал сыровотки крови.

Примененные варианты экспериментальной коррекции с разной степенью эффективности приводили к изменениям протеиназ-ингибиторного баланса и на локальном уровне – в супернатантах гомогенатов кожи. Так, к достоверному снижению локального уровня ТПА приводило только применение аппликаций с апротинином и его комбинации с раствором наносеребра – на 23,7 % ($p < 0,001$) и 30,1 % ($p < 0,001$) соответственно, что, очевидно, объясняется прямым ингибиторным эффектом апротинина (рис. 2). В то же время, ни один из примененных вариантов экспериментальной коррекции не вызвал статистически достоверного снижения локальной активности эластазоподобных протеиназ.

Влияние медикаментозных аппликаций на локальный ингибиторный потенциал было более значительным. На уровень АТА в супернатантах гомогенатов кожи статистически достоверного влияния не оказало только применение аппликаций с эритромицином. Локальное применение апротинина повышало АТА более чем в 2 раза ($p < 0,001$) по отношению к аналогичному показателю опытной группы без коррекции. При этом изучаемый показатель достиг нормальных значений. Использование в качестве экспериментальной коррекции аппликаций с раствором наносеребра приводило к статистически достоверному повышению уровня АТА на 40,4 % ($p < 0,001$) по сравнению с моделью термического ожога без коррекции. В то же время, уровень АТА в этой группе оставался на 33,0 % ($p < 0,001$) ниже контрольных значений. Наиболее эффективным в отношении нормализации локальной активности антитриптических ингибиторов оказалось сочетанное применение апротинина с раствором наносеребра. Уровень АТА в этой группе был на 134,6 % ($p < 0,001$) выше, чем в группе с термическим поражением без коррекции и незначительно превысил уровень интактной группы. Статистически достоверное воздействие на локальный уровень КСИ оказало только применение аппликаций с апротинином и его комбинацией с наносеребром. В первом случае активность КСИ повысилась на 29,4 % ($p < 0,05$), во втором – на 47,0 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями опытной группы без коррекции. При этом уровень КСИ в опытной группе с сочетанным применением наносеребра и апротинина статистически не отличался от контрольных значений.

Таким образом, наиболее эффективным подходом к коррекции локального дисбаланса протеиназ-ингибиторной системы является применение аппликаций, содержащих комбинацию раствора наносеребра и апротинина.

Выводы

1. Моделирование термического ожога II степени у крыс сопровождается выраженными сдвигами протеиназ-ингибиторного гомеостаза как на системном уровне – в сыровотке крови, так и локально – в супернатантах гомогенатов пораженных участков кожи.

2. На локальном уровне дисбаланс неспецифических протеиназ и их ингибиторов характеризуется активацией протеаз на фоне истощения ингибиторного потенциала, в то время как на системном – повышение проте-

олитической активности сопровождается реактивным ростом уровней ингибиторов, что подтверждает целесообразность локальной терапии ожогов с применением ингибиторов протеиназ.

3. Наиболее эффективным вариантом экспериментальной коррекции нарушений протеиназ-ингибиторного гомеостаза является сочетанное применение аппликаций с раствором наносеребра и аprotинина.

Список литературы

1. Унижаева А. Ю., Мартыничук С. А. Медико-экономическая оценка затрат и качества стационарной помощи при ожоговой травме. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2012; 28(6): 8.
2. Глуткин А.В., Ковальчук В. И. *Термический ожог кожи у детей раннего возраста (опыт эксперимента и клиники)*. Гродно: ГрГМУ, 2016.
3. Eser T., Kavalci C., Aydogan C., Kayipmaz A.E. Epidemiological and cost analysis of burn injuries admitted to the emergency department of a tertiary burn center. *Springerplus*. 2016; 5(1):1411. DOI: 10.1186/s40064-016-3107-3
4. Nielson C.B., Duethman N.C., Howard J.M., Moncure M., Wood J.G. Burns: Pathophysiology of Systemic Complications and Current Management. *J. Burn Care Res*. 2017; 38(1): 469-481. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000355
5. Barajas-Nava L.A., López-Alcalde J., Roqué i Figuls M., Solà I., Bonfill Cosp X. Antibiotic prophylaxis for preventing burn wound infection. *Cochrane Database Syst. Rev*. 2013; 6(6): CD008738. DOI: 10.1002/14651858.CD008738.pub2
6. Ravat F., Payre J., Pésalges P., Fontaine M., Sens N. Burn: An inflammatory process *Pathol. Biol. (Paris)*. 2011; 59(3): 63-72. DOI: 10.1016/j.patbio.2009.12.001
7. Vaughn L., Beckel N. Severe burn injury, burn shock, and smoke inhalation injury in small animals. Part 1: burn classification and pathophysiology. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)*. 2012; 22(2): 179-186. DOI: 10.1111/j.1476-4431.2012.00727.x
8. Рыжакова О.С., Гуреева Т.А., Агеев А. Н., Мошетова Л.К., Яровая Г. А., Алексеев И.Б., Воробьева И. В., Соловьева Н.И. Коллагенолитическая и трипсиноподобная активности слезной жидкости больных с ожоговой травмой глаза. *Офтальмологические ведомости*. 2012; 5(1): 75-84.
9. Meyer F.J., Burnand K.G., Abisi S., Tekoppele J.M., van Els B., Smith A. Effect of collagen turnover and matrix metalloproteinase activity on healing of venous leg ulcers. *Br. J. Surg*. 2008; 95(3): 319-325.
10. Ladwig G.P. Ratios of activated matrix metalloproteinase to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers. *Wound. Repair Regen*. 2002; 10(1): 26-37.
11. Douaiher J., Succar J., Lancerotto L., Gurish M.F., Orgill D.P., Hamilton M.J., Krilis S.A., Stevens R.L. Development of mast cells and importance of their tryptase and chymase serine proteases in inflammation and wound healing. *Adv. Immunol*. 2014; 122: 211-252. DOI: 10.1016/B978-0-12-800267-4.00006-7
12. Jewo P.I., Fadeyibi I.O. Progress in burns research: a review of advances in burn pathophysiology. *Ann. Burns Fire Disasters*. 2015; 28(2): 105-115.
13. Rafla K., Tredget E.E. Infection control in the burn unit. *Burns*. 2011; 37(1): 5-15. DOI: 10.1016/j.burns.2009.06.198
14. Суракова Т.В., Жидоморов Н.Ю., Гришина Т.Р., Кодин А.А., Чибисов И.В., Илларионова Е.Э., Коробова О.Р., Торшин И.Ю., Лепяхина Л.Э., Громова О.А. Влияние оротата магния на регенерацию кожи. *Российский медицинский журнал*. 2012; 20(11): 575-581.
15. Кубышкин А.В., Харченко В.З., Семенец П.Ф., Алиев Л.Л., Фомочкина И.И., Анисимова Л.В. *Методы определения активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и биологических жидкостях (методические рекомендации)*. Киев, 2010.

References

1. Unizhayeva A.Yu., Martynchik S.A. [Medical economic evaluation of hospital costs linked to quality of inpatient care for burning injury]. *Social'nye aspekty zdorov'ya naseleniya [Social Aspects of Public Health]*. 2012; 28 (6): 8. (In Russian)
2. Glutkin A.V., Kovalchuk V.I. [*Thermal burn of the skin in infants (experimental and clinical experience)*]. Grodno: State Medical University, 2016. (In Russian)
3. Eser T., Kavalci C., Aydogan C., Kayipmaz A.E. Epidemiological and cost analysis of burn injuries admitted to the emergency department of a tertiary burn center. *Springerplus*. 2016; 5(1):1411. DOI: 10.1186/s40064-016-3107-3
4. Nielson C.B., Duethman N.C., Howard J.M., Moncure M., Wood J.G. Burns: Pathophysiology of Systemic Complications and Current Management. *J. Burn Care Res*. 2017; 38(1): 469-481. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000355
5. Barajas-Nava L.A., López-Alcalde J., Roqué i Figuls M., Solà I., Bonfill Cosp X. Antibiotic prophylaxis for preventing burn wound infection. *Cochrane Database Syst. Rev*. 2013; 6(6): CD008738. DOI: 10.1002/14651858.CD008738.pub2
6. Ravat F., Payre J., Pésalges P., Fontaine M., Sens N. Burn: An inflammatory process *Pathol. Biol. (Paris)*. 2011; 59(3): 63-72. DOI: 10.1016/j.patbio.2009.12.001
7. Vaughn L., Beckel N. Severe burn injury, burn shock, and smoke inhalation injury in small animals. Part 1: burn classification and pathophysiology. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)*. 2012; 22(2): 179-186. DOI: 10.1111/j.1476-4431.2012.00727.x
8. Ryzhakova O.S., Gureeva T.A., Ageev A.N., Moshetova L.K., Yarovaya G.A., Alekseev I.B., Vorobyev I.V., Solovyeva N.I. [Collagenolytic and trypsin-like activities of the tear fluid in patients with burn injury]. *Oftal'mologicheskie vedomosti [Ophthalmic Records]*. 2012; 5(1):75-84. (In Russian)
9. Meyer F.J., Burnand K.G., Abisi S., Tekoppele J.M., van Els B., Smith A. Effect of collagen turnover and matrix metalloproteinase activity on healing of venous leg ulcers. *Br. J. Surg*. 2008; 95(3): 319-325.
10. Ladwig G.P. Ratios of activated matrix metalloproteinase to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers. *Wound. Repair Regen*. 2002; 10(1): 26-37.
11. Douaiher J., Succar J., Lancerotto L., Gurish M.F., Orgill D.P., Hamilton M.J., Krilis S.A., Stevens R.L. Development of mast cells and importance of their tryptase and chymase serine proteases in inflammation and wound healing. *Adv. Immunol*. 2014; 122: 211-252. DOI: 10.1016/B978-0-12-800267-4.00006-7
12. Jewo P.I., Fadeyibi I.O. Progress in burns research: a review of advances in burn pathophysiology. *Ann. Burns Fire Disasters*. 2015; 28(2): 105-115.
13. Rafla K., Tredget E.E. Infection control in the burn unit. *Burns*. 2011; 37(1): 5-15. DOI: 10.1016/j.burns.2009.06.198
14. Surakova T.V., Zhidomarov N.Ju., Grishina T.R., Kodin A.A., Chibisov I.V., Illarionov E.Je. [Effect of magnesium orotate on skin regeneration]. *Rossiiskii medicinskii zhurnal [Russian Medical Journal]*. 2012; 11: 575-581. (In Russian)
15. Kubyskhin A.V., Kharchenko V.Z., Semenets P.F. Aliev L.L., Fomochkina I.I., Anisimova L.V. [*Methods of determination of the nonspecific proteinases and their inhibitors activity in blood serum and biological fluids. (Methodical recommendation)*]. Kiev, 2010. (In Russian)

Сведения об авторах

Алиев Леонид Леонидович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Писарева Ольга Анатольевна – аспирант кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Арутюнян Андрей Андреевич – студент кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Чегодарь Денис Владимирович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Кубышкин Анатолий Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Фомочкина Ирина Ивановна – доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»