

*На правах рукописи*

**Ноздрунова Анастасия Алексеевна**

**АНТИОКСИДАНТНОЕ И РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ  
ЖИДКИХ ПРОДУКТОВ ТЕРМИЧЕСКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ  
САПРОПЕЛЕЙ**

**03.00.04 – биохимия**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

**Нижний Новгород - 2009**

Работа выполнена на кафедре биохимии и технологии продуктов животноводства Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет».

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
**Высокогорский Валерий Евгеньевич**

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Конторщикова Клавдия Николаевна**

доктор медицинских наук, профессор  
**Терёхина Наталья Александровна**

**Ведущая организация:** ГОУ «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по образованию и социальному развитию»

Защита диссертации состоится 14 мая 2009 г. в 15 часов на заседании диссертационного совета Д 212.166.12 при Нижегородском государственном университете им. Н. И. Лобачевского по адресу: 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ННГУ

Автореферат разослан 25 марта 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор биологических наук, профессор



Корягин А.С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Раневой процесс является одним из распространенных видов патологии, характеризующийся изменением активности свободнорадикального окисления (Гайворонская Т.В. с соавт, 2006; Клебанов Г.И. с соавт, 2006). Недостаток продукции свободных радикалов в области пораженного участка кожи приводит к микробной инвазии. Избыток усиливает воспалительный процесс, усугубляет метаболические расстройства, приводит к дальнейшему нарушению функций биологических мембран и увеличивает сроки заживления (Клебанов Г. И., 2006; Хамитова З.А., 2007). Для эффективной коррекции окислительно-восстановительного статуса необходимо постоянно расширять спектр фармакологических средств изменяющих интенсивность процессов свободнорадикального окисления. Перспективным сырьем для получения новых препаратов служат природные ресурсы, одним из которых являются сапропели - донные отложения пресных водоемов, сформировавшиеся в результате разложения органического сырья растительного и животного происхождения (Буркова В.Н., 1998; Терехина Н.А., 2003; Хасанов В.В., 2006). Рациональное использование озерных пелоидов, достижение максимального биологического эффекта при их применении затруднено присутствием в составе сапропелей балластных веществ (Кривонос О.И., Плаксин Г.В. 2007). С целью извлечения, концентрирования органических и минеральных компонентов используются различные способы переработки. Установлено, что отгоны, отжимы, экстракты, грязевые растворы, продукты терморастворения и фармакопейные формы на основе сапропеля обладают более выраженными свойствами, чем нативные грязи (Ступникова Н.А., 2006). Полученные в ходе термической переработки сапропеля жидкие продукты не рассматриваются и не используются в качестве действующих компонентов в медицине, ветеринарии, фармации, бальнеологии, так как мало изучена их биологическая активность. Проведенный ретроспективный анализ литературы, позволил установить, отсутствие данных об

антиоксидантном и ранозаживляющем действии жидких продуктов термической переработки (ЖПТП) сапропелей.

Таким образом, исследование свойств сапропелей и препаратов на их основе позволит расширить список субстанций с доказанными антиокислительными свойствами и научно обосновать возможность дальнейшего применения ЖПТП в качестве компонентов ранозаживляющих препаратов.

*Работа выполнена в рамках целевой научно-исследовательской программы «Омский сапропель 2005-2008» Правительства Омской области.*

**Цель исследования:**

Определить антиокислительную активность жидких продуктов термической переработки сапропелей Омской области для обоснования возможности их использования в качестве одного из компонентов ранозаживляющих препаратов.

**Задачи:**

1. Сравнить антиокислительные свойства сапропелей и продуктов их переработки.
2. Изучить интенсивность  $Fe^{2+}$ -индуцированной хемилюминесценции жидких продуктов термической переработки сапропелей.
3. Оценить воздействие жидких продуктов термической переработки донных органоминеральных отложений на активность свободнорадикального окисления в полнослойной плоскостной ране.
4. Установить влияние жидких продуктов термической переработки сапропелей на активность основных ферментов антиоксидантной системы в раневом отделяемом и скорость заживления раневой поверхности.

**Научная новизна.** Впервые выявлена антиокислительная активность ЖПТП сапропелей Омской Области. Методами корреляционного и регрессионного анализов определена связь окислительной и антиокислительной активности ЖПТП озерных пелоидов с содержанием в их составе двух основных групп веществ, способных замедлять реакции

свободнорадикального окисления: доноров протонов (фенолов, азотсодержащих гетероциклических соединений) и соединений с ненасыщенными связями ( $-C=C-$ ,  $-C\equiv C-$ ).

Установлено, что обработка раневой поверхности ЖПТП донных органоминеральных отложений пресных озер способствует ускорению процесса заживления полнослойных плоскостных ран, снижению активности свободнорадикальных процессов, которое проявляется в уменьшении светосуммы железо- и пероксид-индуцированной хемилюминесценции (ХЛ), увеличении длительности латентного периода железо-индуцированной ХЛ и активации ферментов антиоксидантной системы в раневом отделяемом.

**Теоретическая и практическая значимость.** Результаты экспериментальной работы расширяют фундаментальные представления о биологических эффектах жидких продуктов термической переработки сапропелей и обосновывают возможность их использования в качестве одного из компонентов ранозаживляющих препаратов, снижающих чрезмерную активацию процессов свободнорадикального окисления в ране.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Жидкие продукты термической переработки сапропелей обладают более выраженными антиоксидантными свойствами по сравнению с исходными сапропелями.

2. Интенсивность  $Fe^{2+}$ -индуцированной хемилюминесценции жидких продуктов термической переработки сапропелей зависит от месторождения и температуры фракционирования.

3. Обработка раневой поверхности жидкими продуктами термической переработки сапропелей приводит к изменению интенсивности  $Fe^{2+}$ - и  $H_2O_2$ -индуцированной хемилюминесценции в ране и ускорению процесса заживления.

**Апробация работы.** Основные положения работы изложены на II теоретико-методологической конференции аспирантов и соискателей «Методология в науках агропромышленного комплекса» (Омск, 2006),

Международной научно-практической конференции «Интеграция науки и образования - решающий фактор устойчивого развития государства» (Семипалатинск, 2006); межвузовской научно-практической конференции аспирантов «Молодежь, наука, творчество» (Омск, 2007); научно-практической конференции «Современные аспекты гистогенеза и вопросы преподавания гистологии в вузе» (Москва, 2007); межвузовской научно-практической конференции «Роль свободнорадикальных процессов в физиологии и патологии» (Омск, 2007); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной биохимии» (Киров, 2007); VII Международной научной конференции «Наука и образование» (Белово, 2008); IV съезде Российского общества биохимиков и молекулярных биологов (Новосибирск, 2008); Международной гистологической конференции «Морфогенезы в эволюции, индивидуальном развитии и эксперименте» (Тюмень, 2008); IX конгрессе Международной ассоциации морфологов (Москва, 2008); Международной научно-практической конференции «Сапропель и продукты его переработки» (Омск, 2008).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 5 в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобразования и науки РФ. Получен патент на изобретение «Линимент бальзамический сапропелевый» № 23203320 от 20.08.2007.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, библиографического списка, включающего 305 источников: 157 – отечественных и 148 – иностранных.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Материалом для исследования послужили водные экстракты нативных, абсолютно сухих сапропелей озер Мезенино, Молодавское, Жилой Рям, водные растворы гуминовых и фульвокислот сапропелей Омской области, а

также фракционно-разделенные жидкие продукты термической переработки сапропелей данных озер, полученные в лаборатории каталитического превращения углеводов Института проблем переработки углеводов СО РАН (г. Омск). В качестве объектов сравнения использовали 10% водный раствор концентрата водорастворимых биологически активных компонентов сапропелей Томской области (препарат «Эсобел», производства ООО «Биолит», г. Томск) и 10% грубодисперсный коллоидный раствор голубой глины (производства ООО «Стимул», г. Москва). Антиокислительную активность определяли по методу Г.И. Клебанова (1999) в модельной системе из желточных липопротеинов. Свободнорадикальные процессы, протекающие в исследуемых препаратах, оценивали методом железо-индуцированной хемилюминесценции (Фархутдинов Р.Р. с соавт., 2005) с помощью хемилюминомера ХЛ-003 (Россия). Анализировали следующие параметры ХЛ:

- светосумма - определяет способность компонентов системы подвергаться процессам окисления;
- тангенс угла наклона кривой ХЛ - характеризует скорость СРО;
- амплитуда быстрой вспышки – отражает концентрацию гидроперекисей;
- амплитуда медленной вспышки – определяет максимально возможную интенсивность СРО;
- латентный период времени между быстрой и медленной вспышкой, зависит от соотношения анти- и прооксидантов в пробе (Владимиров Ю.А., 2001).

Анализ полученных результатов позволил выбрать фракцию ЖПТП сапропеля, обладающую максимальными антиокислительными свойствами, для проведения дальнейших исследований антиоксидантного действия ЖПТП на 80 беспородных белых крысах обоего пола массой 120-180 г. Эффект ЖПТП сапропелей исследовали на модели полнослойной раны, которую наносили путем удаления участка кожи с подкожной клетчаткой площадью 200 мм<sup>2</sup> (Владимиров Ю.А., 1999; Клебанов Г.И. с соавт., 2005; 2006). Животные были разделены на две группы. Группу сравнения (группа

К) составили животные с полнослойной плоскостной раной, не подвергшиеся лечению. Животным экспериментальной группы (группа Сап) раневую поверхность ежедневно обрабатывали ЖПТП сапропеля. О состоянии СРО судили по показателям Fe- и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированной ХЛ раневого отделяемого, статусу ферментативного звена антиоксидантной системы – по активности супероксиддисмутазы (Т.В. Сирота, 1999) и каталазы (М.А. Королюк, 1988) раневого отделяемого. Ранозаживляющее действие ЖПТП сапропелей оценивали по показателям площади раневой поверхности и скорости заживления ран (Даценко Б.М., 1985).

Статистическую обработку результатов исследований осуществляли с помощью компьютерных программ Statistica 6.0 и SPSS 11.5 (Жижин К.С., 2007; Наследов А.Д., 2007). При нормальном типе распределения количественных переменных рассчитывали среднюю арифметическую (M) и статистическую ошибку среднего (m), в случае отличного от нормального типа распределения – медиану (Me), нижний 25-й (LQ) и верхний 75-й (HQ) квартили. Оценку статистической значимости различий проводили с использованием параметрического t-критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна-Уитни (U) для двух независимых выборок (Платонов А.Е., 2000). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Измерение связи между переменными проводили с помощью корреляционного и регрессионного анализов.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Антиокислительные свойства сапропелей Омской области и продуктов их переработки**

Антиокислительную активность донных органоминеральных отложений пресных водоемов и продуктов их переработки оценивали по способности подавлять генерацию свободных радикалов в модельной системе из желточных липопротеинов (рис. 1).



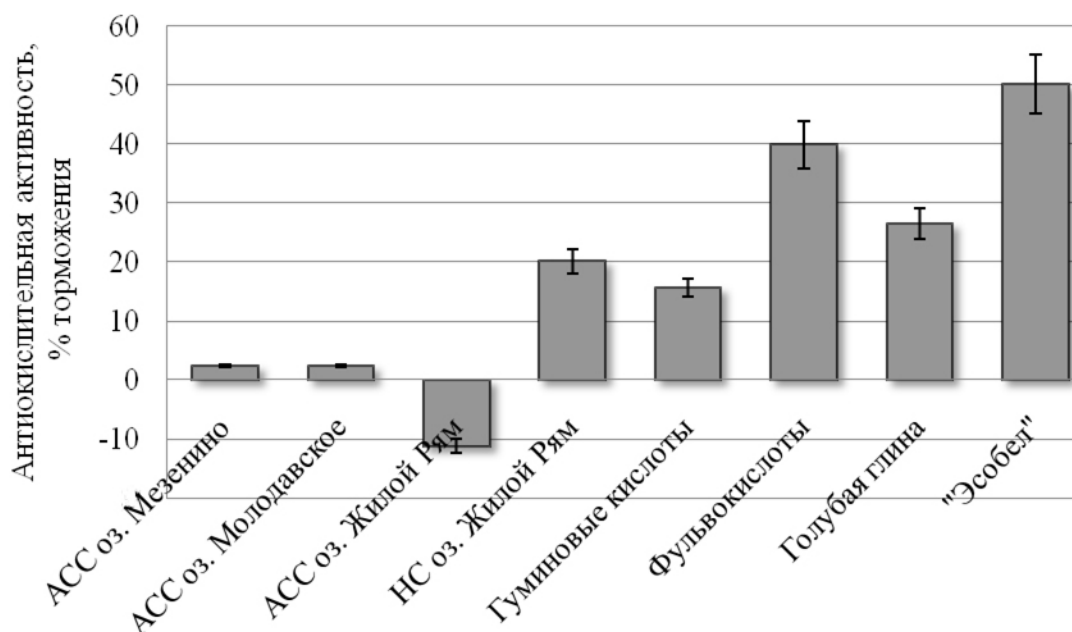
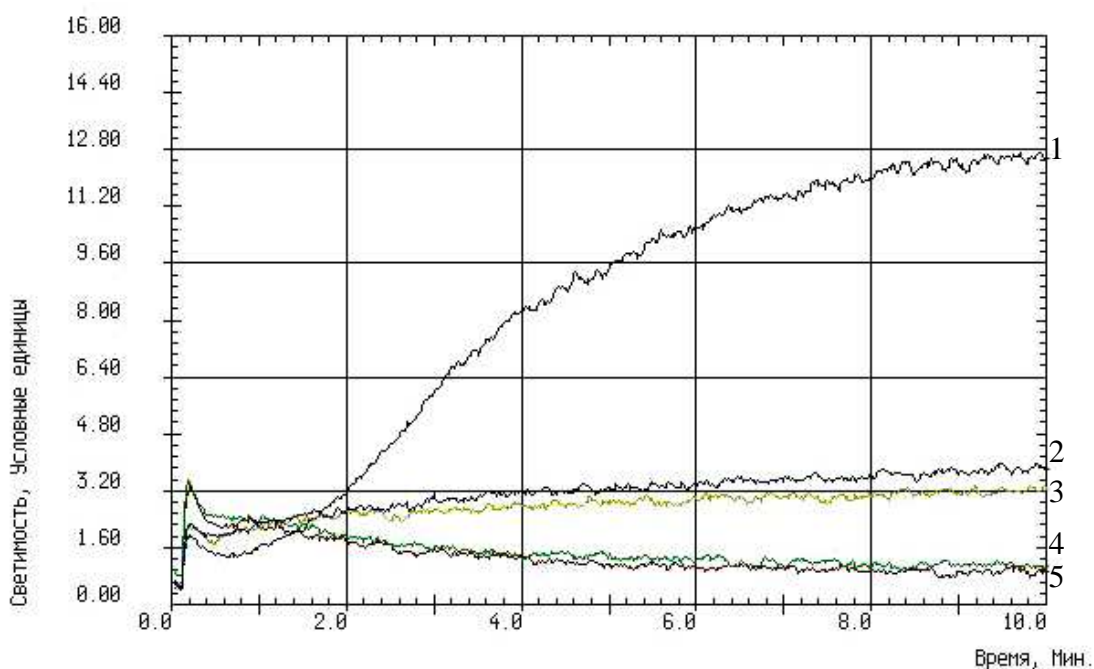


Рис. 1. Антиокислительная активность сапропелей и продуктов его переработки

Примечание: АСС – водный экстракт абсолютно сухого сапропеля, НС – водный экстракт нативного сапропеля.

Добавление водного экстракта нативного сапропеля оз. Жилой Рям вызывает угнетение свечения модельной системы на  $20,1 \pm 1,37\%$ , раствора гуминовых кислот на  $15,6 \pm 1,41\%$ , фульвокислот на  $39,9 \pm 3,12\%$ , суспензии голубой глины на  $26,5 \pm 2,33\%$ , «Эсобела» на  $50,2 \pm 2,76\%$ , что свидетельствует о проявлении данными препаратами антиоксидантных свойств. Добавление абсолютно сухого сапропеля оз. Жилой Рям, напротив, усиливает свечение на  $11,2 \pm 1,37\%$ , а добавление сапропелей оз. Мезенино и оз. Молодавское не влияет на ХЛ липопротеинов модельной системы. Следовательно, высушивание сапропеля при  $110^{\circ}\text{C}$  приводит к потере антиоксидантных или к приобретению прооксидантных свойств.

Добавление в модельную систему ЖПТП сапропелей приводило к снижению интенсивности хемилюминесценции модельной системы (рис. 2).



*Рис. 2. Определение антиокислительной активности жидких продуктов термической переработки сафропеля оз. Жилой Рям в модельной системе*  
*Примечание: 1 – хемилюминесценция модельной системы (ХЛ МС); 2 – ХЛ МС при добавлении ЖПТП с  $t_{\text{вык}} 25-100^{\circ}\text{C}$ ; 3 – ХЛ МС при добавлении ЖПТП с  $t_{\text{вык}} 100-140^{\circ}\text{C}$ ; 4 – ХЛ МС при добавлении ЖПТП с  $t_{\text{вык}} 140-230^{\circ}\text{C}$ ; 5 – ХЛ МС при добавлении ЖПТП с  $t_{\text{вык}} 230-300^{\circ}\text{C}$ .*

Установлено, что антиокислительная активность жидких продуктов термической переработки сафропелей оз. Мезенино Омской области варьирует в зависимости от температуры выкипания в пределах от  $37,7 \pm 1,03$  до  $64,5 \pm 0,35\%$ , оз. Молодавское от  $53,4 \pm 0,49$  до  $73,6 \pm 0,14\%$ , а оз. Жилой Рям от  $61,5 \pm 0,99$  до  $86,0 \pm 0,09\%$  торможения хемилюминесценции модельной системы (рис. 3).

Таким образом, термическая переработка позволяет получить ряд жидких продуктов на основе сафропеля, обладающих более выраженными антиоксидантными свойствами, чем исходный сафропель и водный раствор концентрата минеральных солей и органических веществ: фульвовых и гуминовых кислот, аминокислот и простагландинов, выделенных из состава сафропелей Томской области (препарат «Эсобел»).

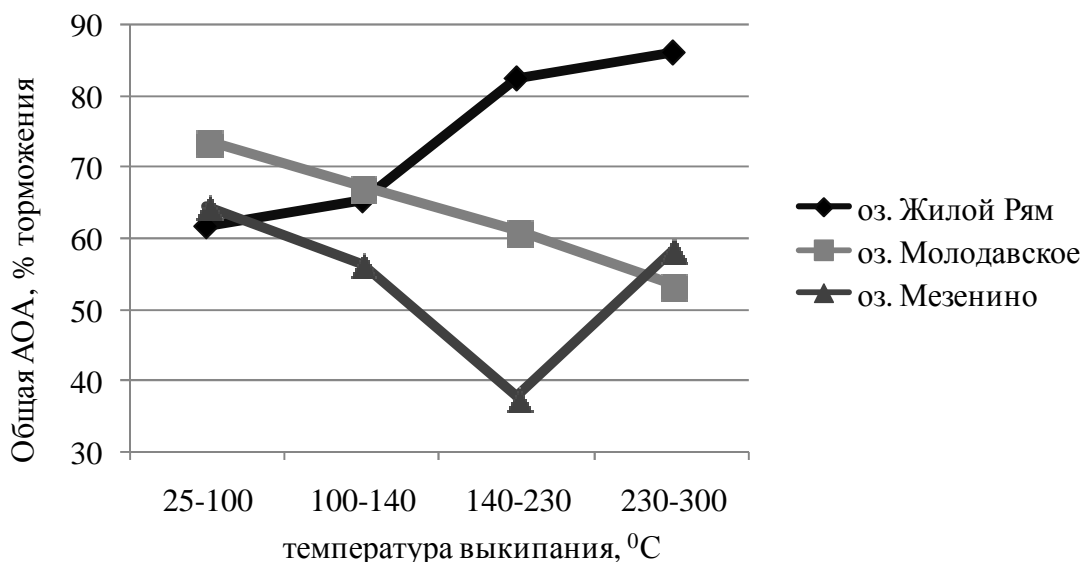


Рис. 3. Антиокислительная активность жидких продуктов термической переработки сапропелей

Максимальной АОА среди исследуемых образцов обладают ЖПТП сапропелей озера Жилой Рям Омской области с  $t_{\text{вык}}$  140-230<sup>0</sup>С и 230-300<sup>0</sup>С. Сотрудниками Института проблем переработки углеводов СО РАН определен химический состав ЖПТП (Плаксин Г.В. с соавт., 2006). В ЖПТП сапропеля оз. Жилой Рям с  $t_{\text{вык}}$  230-300<sup>0</sup>С обнаружено вещество N-нитрозодиметиламин, относящееся к группе высокотоксичных и канцерогенных соединений (Букин Ю.В., 2000; Дурнев А.Д., 1998; Хесина А.Я., 1999). В связи с вышеизложенным, дальнейшее изучение свойств фракции с  $t_{\text{вык}}$  230-300<sup>0</sup>С оз. Жилой Рям, несмотря на высокие значения антиоксидантной активности, не проводилось.

Методом корреляционного анализа установлена сильная связь ( $r > 0,8$ ) между антиоксидантными свойствами ЖПТП сапропелей и наличием в составе фракций органических веществ, являющихся донорами протонов – это, прежде всего, фенол и производные фенола (метил-, этил-, метоксипроизводные); азотсодержащие гетероциклические соединения и органические вещества с ненасыщенными связями.

Распределение веществ, способных замедлять процессы СРО, по фракциям ЖПТП сапропелей озера Жилой Рям с температурами фракционирования в диапазоне от 25 до 230<sup>0</sup>С, представлено на рис. 4.

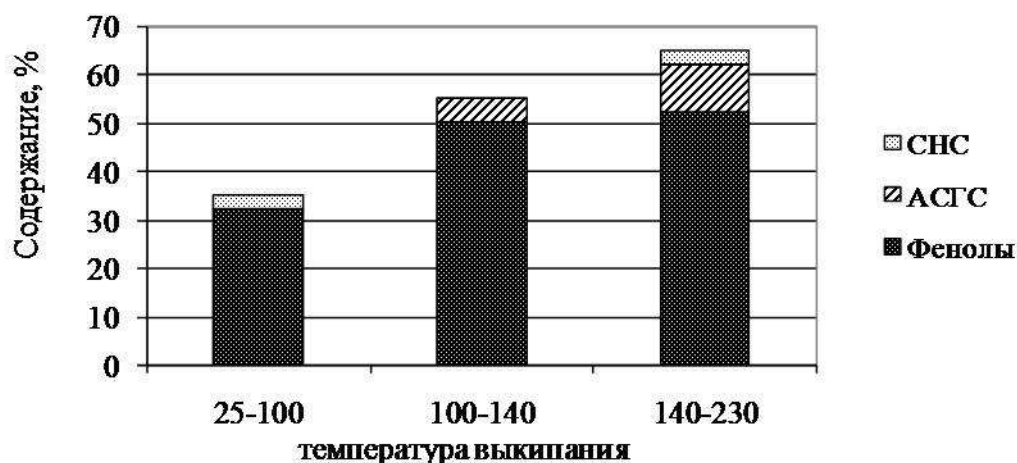


Рис. 4. Распределение веществ с АОА для ЖПТП сапропеля оз. Жилой Рям

Примечание: СНС – соединения с ненасыщенными связями, АСГС – азотсодержащие гетероциклические соединения.

Максимальное содержание веществ, обладающих антиоксидантной активностью, наблюдается у ЖПТП сапропеля оз. Мезенино с  $t_{\text{фрак}}=25-100^{\circ}\text{C}$  и ЖПТП сапропеля оз. Жилой Рям с  $t_{\text{фрак}}=140-230^{\circ}\text{C}$ . Выявлена прямо пропорциональная связь между содержанием веществ, обладающих антиоксидантными свойствами и АОА для ЖПТП сапропеля оз. Мезенино ( $r=0,865$ ,  $p=0,001$ ) и оз. Жилой Рям ( $r=0,796$ ,  $p=0,002$ )

Таким образом, максимальной АОА среди исследуемых продуктов обладает фракция ЖПТП сапропеля оз. Жилой Рям с  $t_{\text{вык}} 140-230^{\circ}\text{C}$ , среди компонентов с антиоксидантной активностью в составе ЖПТП преобладают вещества фенольной природы.

Вместе с тем, использование метода термической переработки сапропелей наряду с повышением антиокислительной активности может привести к увеличению концентрации или изменению свойств веществ, способных подвергаться процессам свободнорадикального окисления. Для более полной характеристики свойств полученных ЖПТП проведено определение и анализ различных параметров  $\text{Fe}^{2+}$ -индуцированной хемиллюминесценции.

## Хемилюминесцентный анализ жидких продуктов термической переработки сапропелей Омской области

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о статистически значимом снижении светосуммы, амплитуды медленной вспышки, тангенса угла наклона кривой  $\text{Fe}^{2+}$ -индуцированной хемилюминесценции ЖПТП сапропелей по сравнению с нативными гязями (табл. 1). Исключение составляют фракции сапропеля оз. Жилой Рям ( $t_{\text{фрак}}=25-100^{\circ}\text{C}$ ), оз. Мезенино ( $t_{\text{фрак}}=140-230^{\circ}\text{C}$ ) и оз. Молодавское ( $t_{\text{фрак}}=230-300^{\circ}\text{C}$ ). ЖПТП сапропелей оз. Мезенино с температурой выкипания в диапазоне от 140 до  $230^{\circ}\text{C}$  и ЖПТП сапропелей оз. Молодавское с  $t_{\text{фрак}}>100^{\circ}\text{C}$  отличаются от нативных сапропелей повышенным содержанием гидроперекисей (амплитуды быстрой вспышки), поэтому ЖПТП могут обладать более выраженным антибактериальным действием, чем исходный сапропель.

Установлено, что увеличение температуры фракционирования ЖПТП сапропелей озер Жилой Рям, Мезенино и Молодавское сопровождается изменением интенсивности  $\text{Fe}^{2+}$ -индуцированной хемилюминесценции.

С увеличением температуры фракционирования наблюдается уменьшение содержания гидроперекисей в ЖПТП сапропелей оз. Жилой Рям, снижение способности подвергаться процессам окисления, переокисления, и, как следствие, замедление скорости СРО ( $t_{\text{g}\alpha}$ ). Однако повышение температуры фракционирования ЖПТП сапропелей оз. Молодавское наоборот сопровождается статистически значимым повышением всех исследуемых параметров хемилюминесценции. Рост температуры фракционирования ЖПТП сапропелей оз. Мезенино происходит одновременно с ростом светосуммы, амплитуды медленной вспышки и тангенса угла наклона кривой хемилюминесценции. Увеличение температуры фракционирования от  $140^{\circ}\text{C}$  до  $300^{\circ}\text{C}$  ЖПТП сапропелей оз. Мезенино приводит также к росту амплитуды быстрой вспышки.

**Параметры Fe<sup>2+</sup>-индуцированной хемилюминесценции сапропелей  
Омской области и жидких продуктов их термической  
переработки (M±m)**

Месторождение	Температура выкипания, °С	Показатели хемилюминесценции			
		СС, у.е.×мин	МВ, у.е.	БВ, у.е.	tga, у.е./мин
Жилой Рям	нативный сапропель	<b>39,4±1,50</b>	<b>4,8±0,22</b>	<b>16,1±2,12</b>	<b>14,4±1,89</b>
	25-100	<b>32,4±0,48</b>	<b>5,2±0,13</b>	<b>17,8±0,41</b>	<b>8,9±0,45</b>
	p <sub>1</sub>	0,0001	0,632	0,441	0,011
	100-140	<b>29,7±0,37</b>	<b>3,9±0,14</b>	<b>15,6±0,30</b>	<b>7,1±0,13</b>
	p <sub>1</sub>	0,0001	0,003	0,818	0,001
	p <sub>2</sub>	0,002	0,0001	0,0001	0,0001
	140-230	<b>15,6±0,19</b>	<b>1,4±0,06</b>	<b>14,3±0,35</b>	<b>3,4±0,07</b>
	p <sub>1</sub>	0,0001	0,0001	0,413	0,0001
p <sub>2</sub>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	
Молодавское	25-100	<b>15,9±0,12</b>	<b>2,3±0,11</b>	<b>11,7±0,10</b>	<b>3,2±0,19</b>
	p <sub>1</sub>	0,0001	0,0001	0,053	0,0001
	100-140	<b>24,3±0,49</b>	<b>2,8±0,07</b>	<b>22,7±0,76</b>	<b>3,7±0,18</b>
	p <sub>1</sub>	0,0001	0,0001	0,009	0,0001
	p <sub>2</sub>	0,0001	0,004	0,0001	0,006
	140-230	<b>31,9±0,79</b>	<b>3,6±0,28</b>	<b>36,7±0,31</b>	<b>4,6±0,17</b>
	p <sub>1</sub>	0,0001	0,003	0,0001	0,0001
	p <sub>2</sub>	0,0001	0,005	0,0001	0,0001
Мезенино	25-100	<b>22,5±0,50</b>	<b>1,7±0,08</b>	<b>20,1±0,15</b>	<b>4,2±0,20</b>
	p <sub>1</sub>	0,001	0,0001	0,076	0,0001
	100-140	<b>25,9±0,26</b>	<b>2,5±0,08</b>	<b>18,4±0,26</b>	<b>5,0±0,22</b>
	p <sub>1</sub>	0,0001	0,0001	0,296	0,0001
	p <sub>2</sub>	0,001	0,0001	0,0001	0,01
	140-230	<b>40,2±0,58</b>	<b>3,5±0,14</b>	<b>29,4±0,33</b>	<b>6,9±0,25</b>
	p <sub>1</sub>	0,625	0,0001	0,0001	0,0001
	p <sub>2</sub>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Мезенино	230-300	<b>33,0±0,55</b>	<b>4,2±0,10</b>	<b>20,1±0,36</b>	<b>5,8±0,13</b>
	p <sub>1</sub>	0,0001	0,023	0,079	0,0001
	p <sub>2</sub>	0,0001	0,0001	0,988	0,0001

*Примечание: СС – светосумма, БВ – амплитуда быстрой вспышки, МВ – медленной вспышки ХЛ, tga – тангенс угла наклона кривой ХЛ;*

*p<sub>1</sub> – критерий Стьюдента в сравнении с водным раствором нативного сапропеля; p<sub>2</sub> – в сравнении с ЖПТП сапропеля исследуемого озера с температурой выкипания 25-100°С.*

Таким образом, интенсивность  $Fe^{2+}$ -индуцированной хемилюминесценции ЖПТП сапропелей зависит от месторождения и температуры выкипания фракций.

Установлена обратно пропорциональная связь между показателями светосуммы Fe-индуцированной ХЛ ЖПТП сапропелей и содержанием веществ, обладающих антиокислительными свойствами (рис. 5).

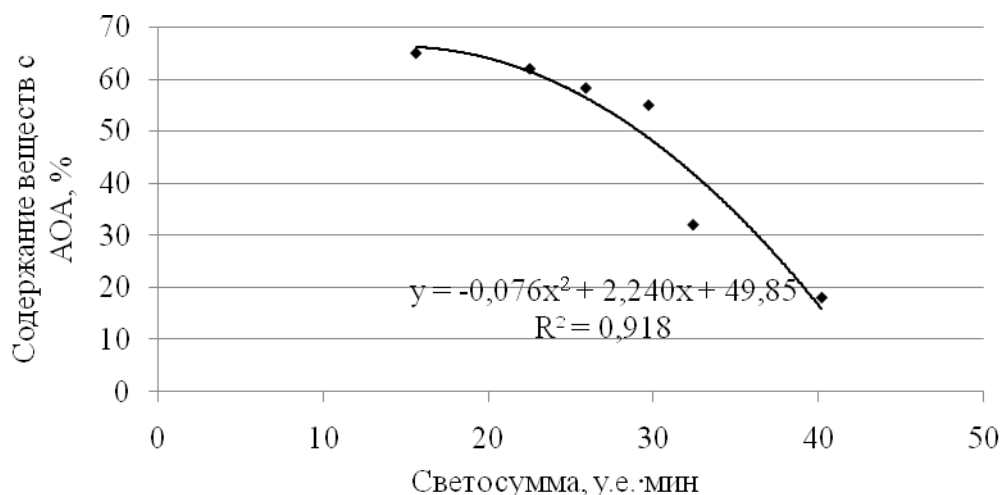


Рис 5. Связь между содержанием веществ с АОА\* и светосуммой Fe-индуцированной хемилюминесценции ЖПТП сапропелей

\* - фенолы, азотсодержащие гетероциклические соединения, соединения с ненасыщенными связями

Высокие антиокислительные свойства, минимальная светосумма и амплитуда медленной вспышки ХЛ (табл.1) ЖПТП сапропеля оз. Жилой Рям с  $t_{\text{фрак}}=140-230^{\circ}C$  позволяют рассматривать их в качестве источника природных антиоксидантов. Учитывая полученные результаты, для проведения дальнейших исследований была выбрана данная фракция ЖПТП сапропелей.

### **Влияние жидких продуктов термической переработки сапропелей на процессы свободнорадикального окисления в экспериментальной плоскостной ране**

Выявленные антиокислительные свойства в модельной системе не всегда означают способность исследуемых субстанций изменять активность процессов СРО на уровне живого организма (Halliwell В., 1990). Для

подтверждения предположения о влиянии ЖПТП сапропелей на активность СРО в полнослойной плоскостной ране определены показатели Fe- и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированной хемилюминесценции раневого экссудата.

Через 1 сутки после механического повреждения кожи отмечается интенсификация свободнорадикальных процессов в ране, которая выражается увеличением светосуммы хемилюминесценции раневого отделяемого в группе животных с полнослойной плоскостной раной, не подвергшихся лечению на 104,3%, в группе животных, раневая поверхность, которых обрабатывалась ЖПТП сапропелей на 25,1% (pW<0,02) (рис. 6).

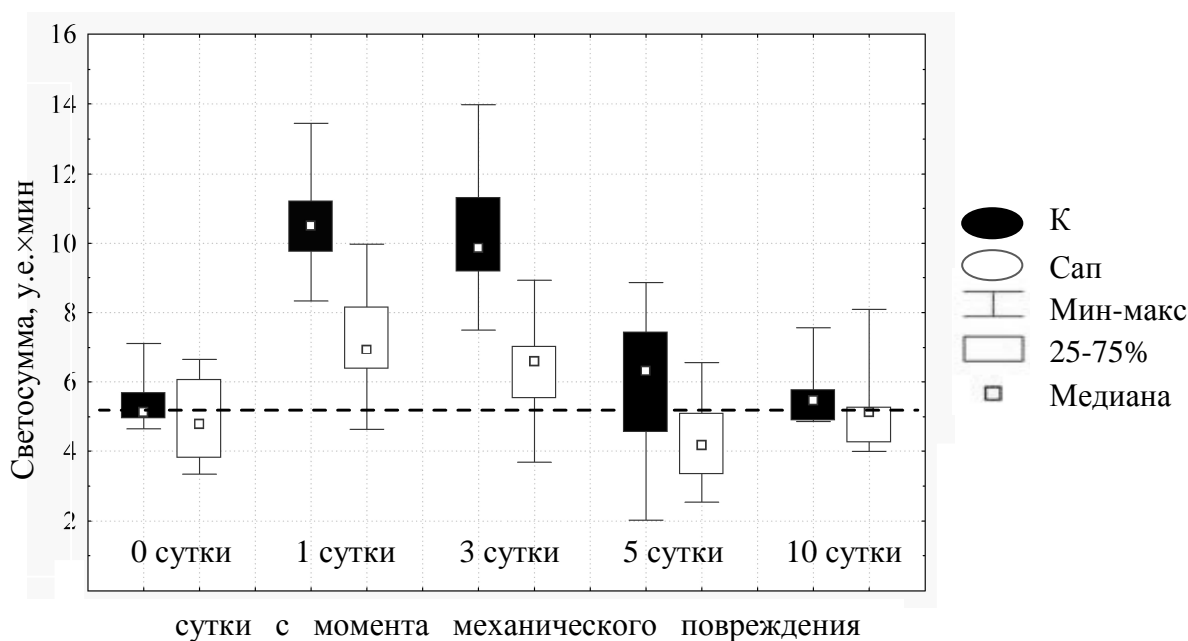


Рис. 6. Светосумма Fe<sup>2+</sup>-индуцированной ХЛ раневого отделяемого

*Примечание:* К – контрольная группа животных (без лечения); Сап – экспериментальная группа животных (обработка раневой поверхности ЖПТП сапропеля).

Об активации свободнорадикальных процессов свидетельствует статистически значимое увеличение амплитуды быстрой вспышки в обеих группах животных, а, следовательно, накоплению перекисей в ране (рис. 7). Рост амплитуды медленной вспышки на 42,6 % в группе К указывает на повышение способности компонентов раневого отделяемого к переоксислению (pW<0,02).



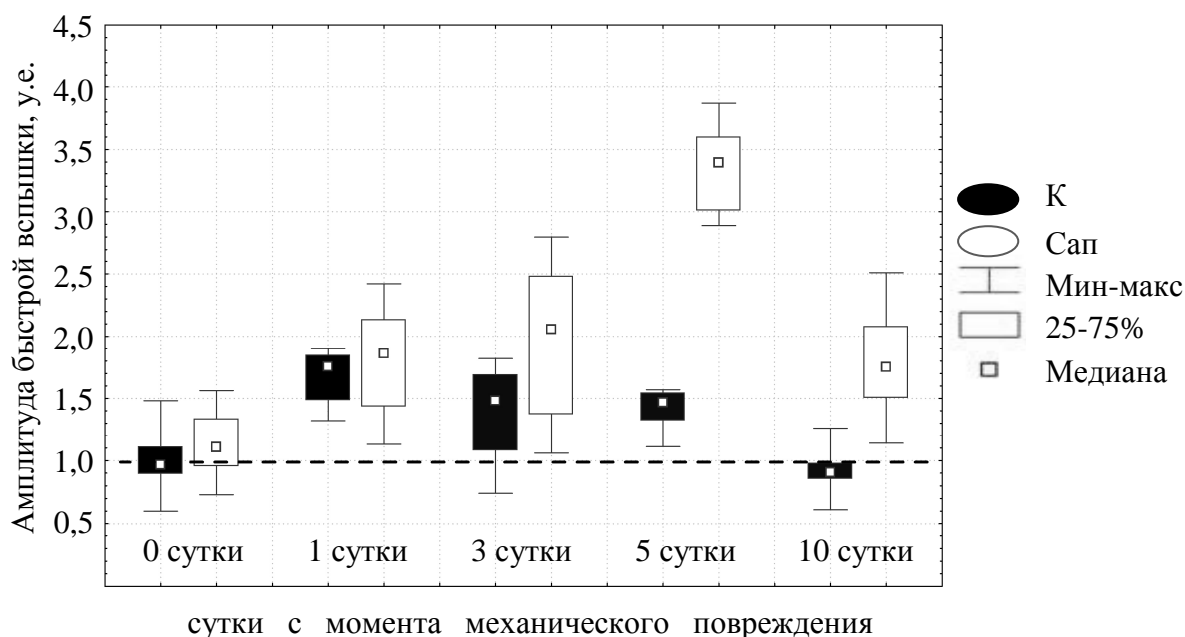


Рис. 7. Амплитуда быстрой вспышки  $\text{Fe}^{2+}$ -индуцированной ХЛ раневого отделяемого

Примечание: см. рис 6.

Однократная обработка раневой поверхности ЖПТП сапропелей способствует сохранению амплитуды медленной вспышки на исходном уровне ( $pW \leq 0,08$ ). Усиление СРО можно рассматривать в качестве универсального ответа клеток и тканей в ответ на повреждение их структурной организации.

Через 3 суток после механического повреждения кожи уровень процессов СРО остается повышенным и держится на уровне 1 суток, что отражается в отсутствии статистически значимых изменений светосуммы, амплитуды быстрой и медленной вспышек ХЛ ( $pW > 0,05$ ) в обеих группах животных. Уменьшение латентного периода в контрольной группе на 27,3% ( $pW \leq 0,012$ ) свидетельствует о превалировании прооксидантов в ране и указывает на возникающий дефицит антиоксидантов (рис. 8). Трехкратная обработка раневой поверхности ЖПТП сапропелей позволяет сохранить длительность латентного периода экссудата на уровне 1 суток ( $pW > 0,05$ ).

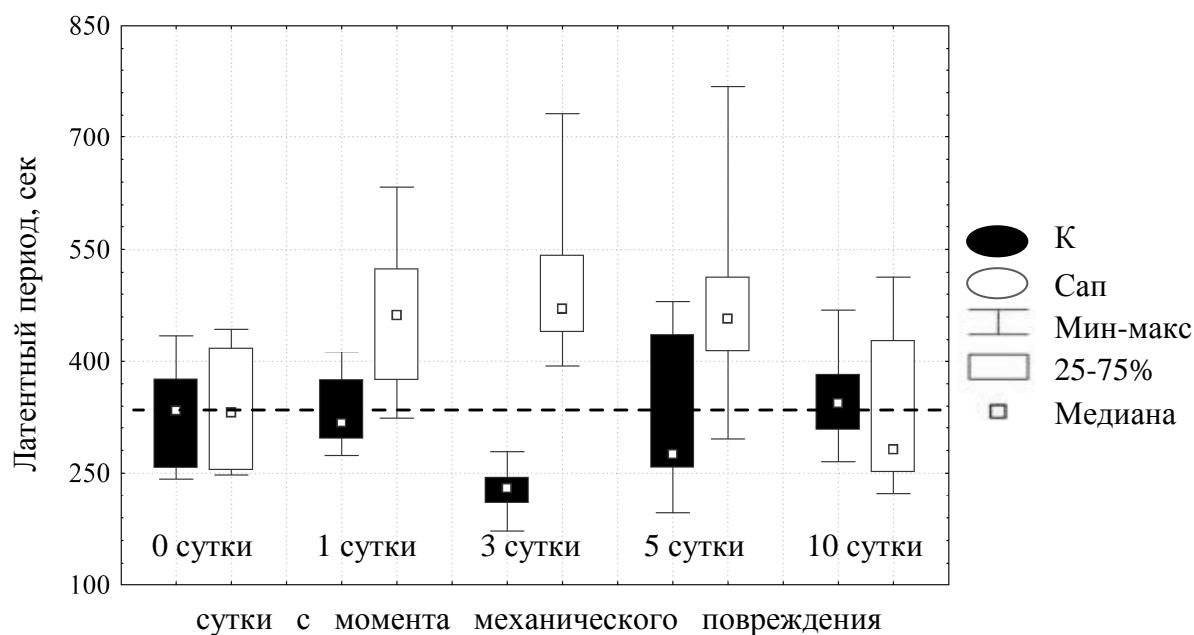


Рис. 8. Латентный период времени Fe<sup>2+</sup>-индуцированной ХЛ раневого отделяемого

Примечание: см. рис 6.

На 5 сутки после механического повреждения кожи отмечается тенденция к нормализации большинства параметров ХЛ раневого отделяемого животных. По сравнению с 3 сутками зафиксировано статистически значимое снижение светосуммы на 56,4%, амплитуды медленной вспышки на 36,4% экссудата животных контрольной группы ( $pW \leq 0,012$ ). Наблюдается тенденция к изменению соотношения прооксиданты/антиоксиданты в РО в сторону последних ( $pW \leq 0,017$ ). Обработка раневой поверхности ЖПТП сапропелей приводит на 5 сутки к снижению светосуммы на 57,7% ( $pW < 0,04$ ) и росту быстрой вспышки на 65,0% в сравнении с показателями контрольной группы. Изменений со стороны остальных показателей не зафиксировано ( $pW > 0,05$ ).

Через 10 суток после механического повреждения кожи отмечается окончательная нормализация всех параметров ХЛ раневого отделяемого животных контрольной группы и возвращение их на исходный уровень ( $pW > 0,05$ ). В группе Сап остается повышенной только амплитуда быстрой вспышки, хотя по сравнению с 5 сутками она снижается на 94,3%.

Таким образом, одно- и трехкратная обработка раневой поверхности ЖПТП сапропелей сопровождается снижением светосуммы, амплитуды медленной вспышки, увеличением длительности латентного периода  $Fe^{2+}$ -индуцированной ХЛ эксудата. Пяти- и десятикратная обработка раневой поверхности ЖПТП сапропеля приводит к увеличению амплитуды быстрой вспышки ХЛ, то есть увеличению содержания гидроперекисей в эксудате, по сравнению с показателями контрольной группы ( $pU < 0,005$ ).

Для уточнения роли пероксидов в активации свободнорадикальных процессов в раневом отделяемом нами проведено определение параметров  $H_2O_2$ -индуцированной ХЛ, активности супероксиддисмутазы и каталазы.

Использование препарата сапропеля для обработки раневой поверхности приводит через 3 суток к статистически значимому снижению светосуммы  $H_2O_2$ -индуцированной ХЛ по сравнению с контролем, что может указывать на превалирование в раневом отделяемом веществ, нерадикально разлагающих пероксид водорода, над веществами, которые обуславливают свободнорадикальный путь его распада. На 3 сутки одновременно с увеличением активности супероксиддисмутазы в раневом отделяемом происходит активация каталазы по сравнению с показателями контрольной группы. На 5 сутки зафиксировано только увеличение активности супероксииддисмутазы, которое сопровождается также ростом амплитуды быстрой вспышки (рис. 7), но не приводит к уменьшению длительности латентного периода  $Fe^{2+}$ -индуцированной хемилюминесценции по сравнению с контрольной группой (рис. 8).

Таким образом, обработка раневой поверхности ЖПТП сапропелей способствует уменьшению активации свободнорадикального окисления в ране, вероятно за счет активации супероксиддисмутазы и каталазы.

Помимо антиоксидантного действия ЖПТП сапропелей обладают ранозаживляющим эффектом, который проявляется в увеличении скорости заживления ран на 88,4% ( $n=32$ ) по сравнению с показателями контрольной группы. Площадь раневой поверхности в группе Сап статистически значимо

уменьшается по сравнению с контрольной группой с 3 суток с начала эксперимента. На 5 сутки процент от исходной площади раны в группе Сап составил 39,5%, в контроле 77,5% (рис. 9).

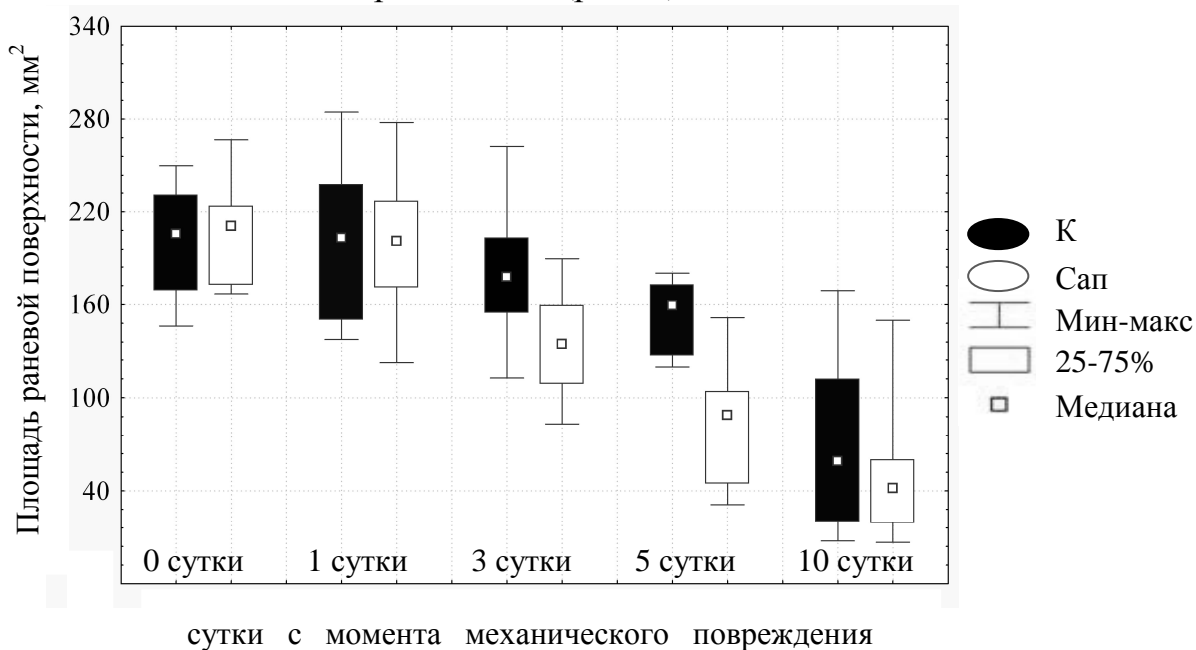


Рис. 9. Площадь раневой поверхности

Примечание: см. рис. 7.

Таким образом, в проведенных экспериментальных исследованиях установлено выраженное воздействие ЖПТП сапропеля оз. Жилой Рям с  $t_{\text{фрак}}=140-230^{\circ}\text{C}$  на свободнорадикальные процессы. Полученные данные позволяют рассматривать сапропели в качестве доступного вида сырья для получения препаратов, корригирующих дисбаланс прооксидантов и антиоксидантов в области пораженного участка кожи и оказывающего ранозаживляющий эффект.

## ВЫВОДЫ

1. Жидкие продукты термической переработки сапропелей, за исключением фракций оз. Мезенино с  $t_{\text{фрак}}=140-230^{\circ}\text{C}$  и оз. Молодавское с  $t_{\text{фрак}}=230-300^{\circ}\text{C}$ , обладают более выраженными антиокислительными свойствами по сравнению с исходными сапропелями. Наибольшей антиокислительной активностью среди исследуемых сапропелей и продуктов их переработки обладает фракция ЖПТП сапропеля озера Жилой Рям Омской области с  $t_{\text{фрак}}=140-230^{\circ}\text{C}$ .

2. Жидкие продукты термической переработки сапропелей характеризуются статистически значимым снижением светосуммы, амплитуды медленной вспышки, тангенса угла наклона кривой  $Fe^{2+}$ -индуцированной хемилюминесценции по сравнению с нативными гязями (исключение составляют ЖПТП сапропеля оз. Жилой Рям с  $t_{фрак}=25-100^{\circ}C$ , оз. Мезенино с  $t_{фрак}=140-230^{\circ}C$  и оз. Молодавское с  $t_{фрак}=230-300^{\circ}C$ ).
3. Установлена высокая степень корреляции ( $0,796 \leq r \leq 0,865$ ) антиокислительной активности ЖПТП сапропелей с концентрацией фенолов, азотсодержащих гетероциклических соединений и соединений с ненасыщенными связями.
4. Обработка раневой поверхности ЖПТП сапропелей способствует снижению интенсивности  $Fe^{2+}$ - и  $H_2O_2$ -индуцированной хемилюминесценции раневого отделяемого и поддержанию баланса между про- и антиоксидантами в ране.
5. Воздействие ЖПТП сапропелей на свободнорадикальные процессы проявляется в повышении активности супероксиддисмутазы, каталазы в раневом отделяемом и ускорении заживления полнослойных плоскостных ран.

#### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Ноздрунова А.А. Антиокислительная активность жидких продуктов термической переработки сапропеля Омской области / А.А. Ноздрунова, О.И. Кривонос, В.Е. Высокогорский, Г.В. Плаксин // Сб. матер. междунар. науч.-практ. конф. «Интеграция науки и образования - решающий фактор устойчивого развития государства». – Семипалатинск, 2006. – С. 304-307.
2. Ноздрунова А.А. Хемилюминесцентный анализ продуктов термической переработки сапропелей Омской области / А.А. Ноздрунова // Сб. матер. науч. –практ. конф. студентов и аспирантов «Молодежь, наука, творчество». – Омск: ОГИС. – 2007. – С. 363-364.
3. Мкртчян О.З. Влияние антиоксидантов сапропеля на репаративную регенерацию кожного эпителия / О.З. Мкртчян, А.А. Ноздрунова, Л.Ю. Петросян, В.Е. Высокогорский // **Морфология**. – 2007. – Т. 131. - № 3.– С.82;
4. Ноздрунова А.А. Влияние жидких продуктов термолиза сапропелей на процессы свободнорадикального окисления в полнослойной ране / А.А. Ноздрунова, В.Е. Высокогорский // Вятский медицинский вестник. – 2007. - № 4. – С.138-139.

5. Ноздрунова А.А. Окислительные свойства жидких продуктов термолиза сапропелей Омской области / А.А. Ноздрунова, В.Е. Высокогорский, Г.Д. Воронова // **Труды Кубанского государственного аграрного университета**. – 2007. - №5(9). – С.122-125.

6. Ноздрунова А.А. Оценка свободнорадикальных процессов в полнослойной ране при воздействии высокотемпературной фракции сапропеля / А.А. Ноздрунова // IV съезд Российского общества биохимиков и молекулярных биологов : Сб. трудов. – Новосибирск: изд-во «Арта», 2008. – С. 457.

7. Петросян Л.Ю. Влияние сапропеля на процессы регенерации кожи и печени крыс / Л.Ю. Петросян, А.А. Ноздрунова, О.З. Мкртчян, В.Е. Высокогорский // **Морфология**. – 2008. – Т.133, № 2. – С. 106.

8. Ноздрунова А.А. Жидкие продукты термолиза сапропелей замедляют процессы свободнорадикального окисления *in vitro* и *in vivo* / А.А. Ноздрунова, В.Е. Высокогорский // Матер. междунар. науч. конф. «Наука и образование». – Белово: ООО «Канцлер», 2008. – Ч.1. – С. 622-625.

9. Петросян Л.Ю. Регенерация кожного эпителия при воздействии жидких продуктов термолиза сапропелей Омского Прииртышья / Л. Ю. Петросян, А. А. Ноздрунова, В. Е. Высокогорский // **Морфология**. – 2008. – Т. 133, № 3. – С. 88-89.

10. Кривонос О.И. Обоснование возможности использования жидких продуктов полукоксования сапропелей Омской области в качестве источника природных антиоксидантов / О.И. Кривонос, А.А. Ноздрунова, Г.В. Плаксин, В.Е. Высокогорский // Матер. междунар. науч.-практ. конф. «Сапропель и продукты его переработки». – Омск, 2008. – С. 87-89.

11. Высокогорский В.Е. Антиокислительная активность продуктов углубленной переработки сапропеля Омского Прииртышья / В.Е. Высокогорский, А.А. Ноздрунова, А.Г. Плаксина, О.И. Кривонос, А.К. Чернышев // Матер. междунар. науч.-практ. конф. «Сапропель и продукты его переработки». – Омск, 2008. – С. 89-90.

12. Ноздрунова А.А. Химический состав и окислительные свойства жидких продуктов термической переработки сапропелей / А.А. Ноздрунова, О.И. Кривонос, В.Е. Высокогорский, Г.В. Плаксин, А.К. Чернышев // **Химия растительного сырья**. - 2008.- №4. - С. 141-146.

Патент:

А 61К 9/06, А 61К 35/04, А 61К 47/44, RU 2320320 С2 Линимент бальзамический сапропелевый / Чернышев А.К., Насырова И.А., Плаксин Г.В., Кривонос О.И., Завершинская Ю.А., Ноздрунова А.А., Майоров А.М. (Омская государственная медицинская академия). - № 2006105052/15; заявл. 20.08.2007 // Изобретения (Заявки и патенты). – 2008. - № 9. – 5с.

#### **СПИСОК СОКРЕЩЕНИЙ**

**АОА** – антиокислительная активность; **СРО** – свободнорадикальное окисление; **ЖПТП** – жидкие продукты термической переработки; **t<sub>фрак</sub>** – температура фракционирования; **ХЛ** – хемилюминесценция.