

## БІОХІМІЧНА ОЦІНКА ЗАГОЄННЯ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНИХ РАН НА ФОНІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ В ЩУРІВ ПРИ РІЗНИХ СПОСОБАХ ЗАКРИТТЯ РАН

**Вступ.** За сучасними уявленнями, загоєння ран – це скоординований процес, який проходить через певні стадії з участю різних клітин і продуктів їх життєдіяльності, що регулюють процес загоєння. У хворих на діабет порушується процес ранового загоєння, хоча досі до кінця не вивчено всіх особливостей захворювання, що лежать в основі схильності.

**Мета дослідження** – виявити особливості оксидативного стресу на фоні цукрового діабету в гомогенаті шкіри щурів при різних способах закриття ран.

**Методи дослідження.** Експеримент проведено на 60 щурах-самцях масою 280–320 г, яким попередньо змоделювали цукровий діабет та операційні рани. Для виявлення активації процесів вільнорадикального окиснення визначали вміст активних форм кисню, гідропероксидів ліпідів, дієнових і трієнових кон'югатів та показників окисної модифікації білків. З метою вивчення системи антиоксидантного захисту визначали активність супероксиддисмутази. Також визначали активність каталази і сульфгідрильних груп.

**Результати й обговорення.** При рановому процесі на фоні цукрового діабету зростала активність вільнорадикального окиснення. Однак у гомогенаті шкіри тварин, яким нанесли клей "Dermabond", усі показники були достовірно нижчими, ніж у групі щурів, яким наклали вузлові шви, впродовж усіх термінів дослідження. На ранніх етапах формування рубця (на 3-тю добу) спостерігали зростання показників активності системи антиоксидантного захисту в обох групах. При цьому в експериментальній групі тварин, яким наклали вузлові шви, активність супероксиддисмутази і каталази значно перевищувала показники у шкірі щурів, яким нанесли клей, і становила  $(199,81 \pm 7,59)$  ум. од. та  $(175,02 \pm 8,31)$  кат/кг відповідно.

**Висновки.** Застосування шкірного клею знижує інтенсивність перебігу вільнорадикального окиснення у клітинах рубцевозмінених тканин післяопераційної рани за умов цукрового діабету порівняно з накладанням на неї вузлових швів: у гомогенаті шкіри тварин, яким нанесли клей "Dermabond", усі показники достовірно нижчі, ніж у групі щурів, яким наклали вузлові шви, впродовж усіх термінів дослідження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: загоєння ран; цукровий діабет; шкірний клей; вузлові шви.

ВСТУП. Цукровий діабет (ЦД) у всьому світі визнаний одним із найбільш важливих неінфекційних захворювань, а також є однією з найсерйозніших проблем охорони здоров'я XXI ст. [1]. Він займає четверте місце серед перших причин смертності в розвинених країнах [2]. В Україні невпинно зростає поширеність цього захворювання – з 1,8 % у 2009 р. до 2,9 % у 2012 р., а кількість хворих на ЦД наприкінці 2012 р. вже досягла 1 303 157 осіб. Однак реальна кількість хворих в Україні, як показують результати епідеміологічних досліджень, у 2–2,5 раза вища через не діагностовані випадки хвороби. Розвиток пізніх ускладнень зумовлює суттєве зниження якості життя, втрату працездатності, зменшення на 10–30 % тривалості життя, підвищення у 2–3 рази смертності хворих та значні витрати бю-

джету країн на їх лікування. Щорічно кількість хворих на ЦД збільшується на 5–7 %.

За сучасними уявленнями, загоєння ран – це скоординований процес, який проходить через певні стадії з участю різних клітин і продуктів їх життєдіяльності, що регулюють процес загоєння. У хворих на діабет порушується процес ранового загоєння, хоча досі до кінця не вивчено всіх особливостей захворювання, що лежать в основі такої схильності.

У свою чергу, від якості, структури матеріалу, хімічного складу шовних матеріалів залежить реакція тканин на їх імплантацію, а доволі часто – й кінцевий результат операції. Однією з таких реакцій є активація вільнорадикального окиснення (ВРО) – важливого біохімічного процесу перетворення ліпідів, нуклеїнових кислот, білків та інших сполук під дією вільних радикалів,

а пероксидне окиснення ліпідів і білків – один з його наслідків [3, 4]. Вільнорадикальне окиснення на всіх етапах перебігу утворює численні продукти, які є результатом взаємодії вільних радикалів між собою та біологічними макромолекулами. Різноманітні продукти пероксидного окиснення за їх надлишку характеризуються вираженою цитотоксичною активністю. Вони пригнічують процеси енергоутворення в клітині, порушують синтез нуклеїнових кислот і білків, що може бути однією з причин утворення патологічних рубцевих тканин.

Мета дослідження – виявити особливості оксидативного стресу на фоні цукрового діабету в гомогенаті шкіри щурів при різних способах закриття ран.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експеримент проведено на 60 щурах-самцях масою 280–320 г, яким попередньо змодельовали цукровий діабет стрептозотоцином (“Sigma”, США) (внутрішньочеревно – 65 мг/кг) з попереднім (за 15 хв) введенням нікотинамідом (інтраперитонеально – 230 мг/кг). На фоні ожиріння, яке викликали, утримуючи тварин на високожировій дієті впродовж 4 тижнів, розвиток ЦД 2 підтверджували шляхом визначення концентрації глюкози в крові із застосуванням глюкометра “Contour Next” (США). У подальшому використовували щурів з рівнем глюкози не менше 13,1 ммоль/л. Усім тваринам під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг маси щура) проводили повношарові прямолінійні розрізи довжиною 2 см у передньобічній ділянці живота. Для закриття післяопераційної рани у тварин 1-ї експериментальної групи (30 щурів) застосовували хірургічні нитки “Вікрил 5/0”. Тваринам 2-ї експериментальної групи (30 щурам) було нанесено шкірний клей “Dermabond” (ETHICON, Inc. а Johnson&Johnson company, США). Тварин виводили з експерименту на 3-тю, 7-му, 28-му доби після оперативного втручання під тіопенталовим наркозом (90 мг/кг маси щура).

Дослідженню підлягали гомогенат та супернатант гомогенату рубцевозміненої шкіри.

Таблиця 1 – Показники вільнорадикального окиснення в гомогенаті шкіри щурів на фоні цукрового діабету за умови використання ниток і шкірного клею в динаміці

Доба	Група	Показник			
		АФК, %	ГПЛ, ум. од./г	ДК, ум. од./кг	ТК, ум. од./кг
3-тя	1-ша	90,76±1,26	11,49±0,55	10,77±0,23	9,72±0,41*
	2-га	74,67±1,06*	9,71±0,19*	7,66±0,37*	7,53±0,37*
7-ма	1-ша	88,27±2,08	9,29±0,39	9,88±0,56	7,20±0,38*
	2-га	43,93±1,31*	7,84±0,20*	6,82±0,29*	6,24±0,35*
28-ма	1-ша	50,1±3,21	8,76±0,26	5,65±0,26	5,13±0,21
	2-га	29,07±0,95*	6,51±0,26*	5,46±0,16	4,93±0,23*

Примітка. Тут і в таблицях 2, 3: \* – різниця достовірна між 1-ю та 2-ю експериментальними групами в межах однієї доби.

Для виявлення активації процесів ВРО визначали вміст активних форм кисню (АФК) [5], гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [5], дієнових (ДК) і трієнових (ТК) кон'югатів [6] та показників окисної модифікації білків плазми крові (ОМБ<sub>370</sub> і ОМБ<sub>430</sub>) [7].

Для вивчення системи антиоксидантного захисту визначали активність супероксиддисмутази (СОД) в отриманому супернатанті за методикою С. Чеварі та співавт. [8]. Активність каталази визначали за методом М. А. Королюк [9], сульфгідрильних груп (SH-груп) – за методом G. L. Ellman [10].

Статистичну обробку отриманих даних проведено стандартними методами варіаційної статистики з використанням пакета статистичних програм. Результати наведено як (M±m), де M – середнє значення показника, m – стандартна похибка. Достовірність розбіжностей між досліджуваними показниками визначали за допомогою критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як свідчать результати проведених досліджень, при рановому процесі на фоні цукрового діабету зростала активність ВРО. Однак у гомогенаті шкіри тварин, яким нанесли клей “Dermabond”, усі показники були достовірно нижчими, ніж у групі щурів, яким наклали вузлові шви, впродовж усіх термінів дослідження.

На 3-тю добу вміст дієнових і трієнових кон'югатів у гомогенаті шкіри щурів 1-ї групи перевищував аналогічний показник тварин 2-ї групи. У 1-й групі вміст ДК становив (10,77±0,23) ум. од./кг, ТК – (9,72±0,41) ум. од./кг, у 2-й – (7,66±0,37) і (7,53±0,37) ум. од./кг відповідно. На 7-му та 28-му доби спостерігали лінійне зменшення вмісту первинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів як у 1-й, так і в 2-й експериментальних групах (табл. 1).

На 3-тю добу вміст ОМБ<sub>370</sub> і ОМБ<sub>430</sub> у гомогенаті шкіри тварин 1-ї групи був більшим у 2,3 та 1,5 раза відповідно за аналогічний показник у шкірі тварин 2-ї групи. На 7-му добу спостерігали незначне зменшення цих показників в обох

експериментальних групах. На 28-му добу вміст  $OMB_{370}$  у гомогенаті шкіри тварин 1-ї групи був більшим у 3,6 раза за аналогічний показник у шкірі щурів 2-ї групи (табл. 2).

Аналіз усіх показників дає змогу стверджувати, що у шкірі тварин, яким нанесли клей, інтенсивність процесів ВРО значно нижча порівняно з накладанням вузлових швів. Враховуючи посилення в тканинах процесів пероксидного окиснення ліпідів, які зумовлюють явища первинної та вторинної альтерації при використанні ниток для закриття ран на фоні цукрового діабету, відтермінується початок репаративних механізмів.

На ранніх етапах формування рубця (на 3-тю добу) спостерігали зростання показників актив-

ності системи антиоксидантного захисту в обох групах. При цьому в експериментальній групі тварин, яким наклали вузлові шви, активність СОД і каталази значно перевищувала показники у шкірі щурів, яким нанесли клей, і становила  $(199,81 \pm 7,59)$  ум. од. та  $(175,02 \pm 8,31)$  кат/кг відповідно. Такі дані свідчили про неминучий запуск вільнорадикального окиснення через травмувальний фактор на фоні цукрового діабету. Достовірно зменшення всіх показників визначалось у шкірі тварин обох груп на 7-му добу експериментального дослідження. Однак різниця зміни активності СОД була вищою у тварин 2-ї групи, яким нанесли шкірний клей, показник зменшився в 1,4 раза, тоді як у щурів 1-ї групи – в 1,15 раза (табл. 3).

Таблиця 2 – Показники окиснювальної модифікації білків у гомогенаті шкіри щурів на фоні цукрового діабету за умови використання ниток і шкірного клею в динаміці

Доба	Група	Показник, %	
		$OMB_{370}$	$OMB_{430}$
3-тя	1-ша	$7,25 \pm 0,20$	$2,79 \pm 0,10$
	2-га	$3,12 \pm 0,10^*$	$1,84 \pm 0,09^*$
7-ма	1-ша	$6,78 \pm 0,17$	$2,10 \pm 0,11$
	2-га	$2,67 \pm 0,11^*$	$1,42 \pm 0,09^*$
28-ма	1-ша	$5,83 \pm 0,26$	$1,69 \pm 0,06$
	2-га	$1,62 \pm 0,04^*$	$1,02 \pm 0,06$

Таблиця 3 – Показники системи антиоксидантного захисту в гомогенаті шкіри щурів на фоні цукрового діабету за умови використання ниток і шкірного клею

Доба	Група	Показник		
		СОД, ум. од.	каталаза, кат/кг	SH-групи, ммоль/л
3-тя	1-ша	$199,81 \pm 7,59$	$175,02 \pm 8,31$	$90,44 \pm 2,00$
	2-га	$118,57 \pm 3,51^*$	$96,05 \pm 2,43^*$	$68,50 \pm 1,42^*$
7-ма	1-ша	$173,19 \pm 7,05$	$146,72 \pm 7,19$	$71,50 \pm 2,77$
	2-га	$84,72 \pm 1,81^*$	$74,28 \pm 1,83^*$	$62,90 \pm 1,27^*$
28-ма	1-ша	$140,51 \pm 5,93$	$111,12 \pm 5,13$	$64,18 \pm 2,25$
	2-га	$83,18 \pm 2,29^*$	$73,02 \pm 1,40^*$	$62,27 \pm 1,33^*$

**ВИСНОВКИ.** Застосування шкірного клею знижує інтенсивність перебігу вільнорадикального окиснення у клітинах рубцевозмінених тканин післяопераційної рани за умов цукрового діабету порівняно з накладанням на неї вузлових швів: у гомогенаті шкіри тварин, яким нанесли клей "Dermabond", усі показники до-

стовірно нижчі, ніж у групі щурів, яким наклали вузлові шви, впродовж усіх термінів дослідження. Зокрема, у віддалений термін дослідження (28-ма доба) вміст ГПЛ у 1-й експериментальній групі становив  $(8,76 \pm 0,26)$  ум. од./кг, що в 1,3 раза більше, ніж у 2-й групі тварин, –  $(6,51 \pm 0,26)$  ум. од./кг.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика / под ред. И. И. Дедова, М. В. Шестаковой. – М. : ООО "Издательство "Медицинское информационное агентство", 2011. – 808 с..
- David R. Whiting International Diabetes Federation. Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030 / David R. Whiting, Leonor

Guariguata, Clara Weil, Jonathan Shaw // Diabetes Research and Clinical Practice. – 2011. – № 94. – P. 311–321.

- Продукти вільнорадикального перекисного окиснення та методи їх ідентифікації (огляд літератури) / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, С. І. Коваленко [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 4. – С. 9–13.

4. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма животных / В. С. Бузлама, М. И. Рецкий, Н. П. Мещеряков, Т. Е. Рогачева. – Воронеж, 1997. – 35 с.

5. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 911 с.

6. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / [В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.] ; за ред. В. В. Влізла. – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 761 с.

7. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми крові / І. Ф. Мещишен // Буковин. мед. вісн. – 1998. – 2, № 1. – С. 156–158.

8. Чевари С. Роль супероксидредуктазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

9. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

10. Moffat J. A. Investigations into the role of sulfhydryl groups in the mechanism of action of the nitrates / J. A. Moffat, P. W. Armstrong, G. S. Marks // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 1982. – 60, № 10. – P. 1261–1266.

#### REFERENCES

1. Bielenichev, I.F., Levytskyi, Ye.L., & Kovalenko, S.I. (2002). Produkty vilnoradykalnoho perekysnoho oksyennia ta metody yikh identyfikatsii (ohliad literatury) [Free radical peroxidation products and methods for their identification (literature review)]. *Sovremennye problemy toksikologii – Modern Problems of Toxicology*, 4, 9-13 [in Ukrainian].

2. Buzlama V.S., Retskiy, M.I. Meshcheriakov, M.Y. & Rogacheva, T.E. (1997). *Metodicheskoe posobie po izucheniyu protsessov perekysnogo oksyeniya lipidov i sistemy antioksidantnoy zashchity organizma zhyvotnykh [The methodical manual on studying processes of lipid peroxidation and the system of antioxidant protection of the animal body]*. Voronezh [in Russian].

3. Kamyshnikov, V.S. (2004). *Spravochnik po kliniko-biokhimicheskim issledovaniyam i laboratornoy diagnostike [Reference book on clinical and biochemical research and laboratory diagnostics]*. MEDpress-inform [in Russian].

4. Korolyuk, M.A., Ivanova, L.I., Mayorova, I.G., & Tokareva, V.E. (1988). Metod opredeleniya aktivnosti katalazy [Method for determination of catalase activity]. *Laboratornoe delo – Laboratory Work*, 1, 1-18 [in Russian].

5. Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., Ratysh I. B., Vlizlo, V.V. (Ed.) (2012). *Laboratorni metody doslidzhen u biologii, tvarynnytsvtvi ta veterinaryarnii medytsyni / Dovidnyk /*

*[Laboratory research methods in biology, livestock and veterinary medicine / Handbook]*. Lviv [in Ukrainian].

6. Meshchysheh, I.F. (1998). *Metod vyznachennia oksyliuvalnoi modyfikatsii bilkiv plazmy krovi [Method of determination of oxidative modification of plasma proteins]*. 156-158 [in Ukrainian].

7. Dedova, I.I., & Shestakova, M.V. (2011) *Sakharnyy diabet: diagnostika, lecheniye, profilaktika [Diabetes mellitus: diagnosis, treatment, prevention]*. Moscow: Izdatelstvo "Meditsynskoe informatsyonnoe agenstvo" [in Ukrainian]

8. Chevare, S., Chaba, I., & Sekey, Y. (1985). Rol superoksydreduktazu v oksylytelnykh protsessakh kletki i metod opredeleniya ee v biologicheskome materiale [The role of superoxide reductase in the oxidative processes of the cell and the method for determining it in biological material]. *Lab. Delo – Laboratory Business*, 678-681 [in Russian].

9. Moffat, J.A., Armstrong, P.W., & Marks, G.S. (1982). Investigations into the role of sulfhydryl groups in the mechanism of action of the nitrates. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 60 (10), 1261-1266.

10. David R. Whiting, Leonor Guariguata, Clara Weil, & Jonathan Shaw (2011). *International Diabetes Federation. Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030*. *Diabetes Research and Clinical Practice*, (94), 311-321.

Е. А. Лоза, М. И. Марущак

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗАЖИВЛЕНИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ РАН НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА У КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ЗАКРЫТИЯ РАН

### Резюме

**Вступление.** По современным представлениям, заживление ран – это скоординированный процесс, который проходит через определенные стадии с участием различных клеток и продуктов их жизнедеятельности, регулирующих процесс заживления. У больных диабетом нарушается процесс раневого за-

живлення, хотя до сих пор до конца не изучены все особенности заболевания, лежащие в основе такой склонности.

**Цель исследования** – выявить особенности оксидативного стресса на фоне сахарного диабета в гомогенате кожи крыс при различных способах закрытия ран.

**Методы исследования.** Эксперимент проведен на 60 крысах-самцах массой 280–320 г, которым предварительно смоделировали сахарный диабет и операционные раны. Для выявления активации процессов свободнорадикального окисления определяли содержание активных форм кислорода, гидроперекисей липидов, диеновых и триеновых конъюгатов и показателей окислительной модификации белков. С целью изучения системы антиоксидантной защиты определяли активность супероксиддисмутазы. Также определяли активность каталазы и сульфгидрильных групп.

**Результаты и обсуждение.** При раневом процессе на фоне сахарного диабета возрастала активность свободнорадикального окисления. Однако в гомогенате кожи животных, которым нанесли клей "Dermabond", все показатели были достоверно ниже, чем в группе крыс, которым наложили узловыи швы, на протяжении всех сроков исследования. На ранних этапах формирования рубца (на 3-е сутки) наблюдали возрастание показателей активности системы антиоксидантной защиты в обеих группах. При этом в экспериментальной группе животных, которым наложили узловыи швы, активность супероксиддисмутазы и каталазы значительно превышала показатели в коже крыс, которым нанесли клей, и составила  $(199,81 \pm 7,59)$  у. е. и  $(175,02 \pm 8,31)$  кат/кг соответственно.

**Выводы.** Применение кожного клея снижает интенсивность протекания свободнорадикального окисления в клетках рубцевоизмененных тканей послеоперационной раны при сахарном диабете по сравнению с наложением на нее узловых швов: в гомогенате кожи животных, которым нанесли клей "Dermabond", все показатели достоверно ниже, чем в группе крыс, которым наложили узловыи швы, на протяжении всех сроков исследования.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: заживление ран; сахарный диабет; кожный клей; узловыи швы.

Ye. O. Loza, M. I. Marushchak

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## BIOCHEMICAL EVALUATION OF EXCISIONAL WOUND HEALING IN RATS WITH DIABETES MELLITUS AFTER USING DIFFERENT METHODS OF WOUND CLOSURE

### Summary

**Introduction.** Wound healing according to modern concepts is a coordinated process that passes through certain stages with the participation of different cells and products of its vital functions that regulate the healing process. It is well known that in patients with diabetes there is a violation of the process of wound healing, although until now, all the features of diabetes underlying such an inclination have not been fully understood.

**The aim of the study** – to identify the features of oxidative stress on the background of diabetes mellitus in the rat's homogenate when different methods of closing wounds had been used.

**Research Methods.** The experiment was conducted on 60 male rats weighing 280–320 g, which pre-simulated diabetes mellitus and surgical wounds. To detect the activation of free radical oxidation processes, the content of active forms of oxygen (AFC), lipid hydroperoxides (HPL), diene conjugates (DK) and trienic conjugates (TC) and oxidation modifications of proteins. To study the antioxidant defense system, activity of superoxide dismutase was determined. Also, the activity of catalase and sulfhydryl groups (SH-groups) was determined.

**Results and Discussion.** The research conducted by us showed that during the wounded process, on the background of diabetes, the activity of free radical oxidation processes increased. However, in the animal skin homogenates, which are labeled "Dermabond", all indices are significantly lower than in the group of animals that have been sewed over the course of all research periods. In the early stages of scar formation (3 days), an increase in the activity of the antioxidant defense system in both groups was observed. At the same time, in the experimental group of animals, which imposed the nodal seams, the activity of SOD and catalase significantly exceeded the skin index of animals, which applied glue and made  $(199.81 \pm 7.59)$  UM and  $(175.02 \pm 8.31)$  cat/kg, respectively.

**Conclusions.** The use of skin glue reduces the intensity of the course of free radical oxidation in the cells of the scar tissue of the postoperative wound in conditions of diabetes mellitus in comparison with the imposition of nodal sutures on it: in the skin of animals, which is applied to the "Dermabond" glue, all indicators are significantly lower than in the group of animals, which imposed seam joints, throughout all research periods.

KEY WORDS: wound healing; diabetes mellitus; skin glue; node seams.

Отримано 31.07.17

Адреса для листування: Є. О. Лоза, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: lozaeo@tdmu.edu.ua.