

УДК: 616-001.4-085.33:615.03.032:612-092.9

Табурець О. В., Дворщенко К. О., Верещака В. В., Берегова Т. В., Остапченко Л. І.

**ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЗА УМОВ
МОДЕЛЮВАННЯ ВИРІЗаної ПЛОЩИННОЇ РАНИ У ЩУРІВ**

Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»

Київський національний університет імені Тараса Шевченка (м. Київ)

olesya8@ukr.net

Дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка «Доклінічні дослідження токсичності меланіну субстанції для нових лікарських препаратів та ефективності дерматотропних препаратів на основі наночастинок» № держреєстрації: 0116U004828.

Вступ. Проблема загоєння та лікування різного роду пошкоджень шкіри є актуальною на сьогоднішній день. Кількість пацієнтів, що страждають від хронічних ран, та погіршення умов загоєння досягає значних масштабів. Зростання частоти стихійних лих, аварій і катастроф – актуальна проблема сьогодні. Травми зачіпають всі вікові групи, але особливо молодих людей. Через травми щорічно помирає понад 5 мільйонів людей, що майже в 1,7 рази перевищує число загинувших, Від ВІЛ / СНІДу, туберкульозу та малярії [19].

Рановий процес, який розвинувся у відповідь на пошкодження тканини, характеризується стадійним перебігом, стереотип якого притаманний як хірургічним, так і випадковим ранам, незалежно від того, асептичні вони, чи інфіковані, загоюються первинним чи вторинним натягом. За місцевими та загальними реакціями організму його можна розглядати як окремий випадок запалення, для якого типовими є послідовна зміна двох фаз: деструктивної та репаративної. Сучасний погляд на цю проблему передбачає комплексний вплив на всі ланки патологічного процесу [10,3,7,14]. Ця проблема може бути вирішена лише шляхом розкриття механізмів формування травматичної хвороби і побудови на цій основі алгоритму лікування [13].

Актуальним на сьогодні є створення препаратів на основі природної сировини, тому нашу увагу привернула поліфенольна сполука меланін, продуктом якого є мікроорганізми *Pseudonadsoniella brunea*, висіяні із вертикальних скель острова Галіндез (Українська антарктична станція «Академік Вернадський»). Ми створили нову фармакологічну композицію, до складу якої входить – меланін (0,1% Melanin), розчинений в (0,5% карбополі (Carbopol 980)). Карбопол – це ціла група сполук, що являють собою карбоксиакрилові чи карбоксивинілові полімери, які використовують як основу для гелів та крем-гелів, і які можна розглядати як м'які пов'язки.

Нашими попередніми дослідженнями показано, що застосування у місцевому лікуванні композиційної суміші на основі меланіну дозволило помітно знизити інфікування ранової поверхні, зменшити

вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у сироватці крові та зменшити навантаження на антиоксидантну систему, також загоєння відбувалось без утворення грубого рубця, тобто композиція володіє вираженими антиоксидантними, антибактеріальними та протизапальними властивостями [20,21].

Оскільки до складу клітинних мембран, крім ліпідних компонентів, входять білки, які зазнають окислювальної модифікації, було цікаво дослідити ці процеси і у здорових, і у травмованих тварин при застосуванні нової фармакологічної композиції.

Метою дослідження було дослідити дію фармакологічної композиції на окисну модифікацію білків у сироватці крові при вирізаній площинній рані шкіри.

Об'єкт і методи дослідження. Для моделювання ранового процесу використовували білих нелінійних лабораторних щурів-самців віком 3-5 міс., масою 200-250 г. Утримання тварин та експерименти проведені згідно етичним принципам, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), міжнародними угодами та національним законодавством у цій галузі [8] та біоетичною комісією ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Перед початком експерименту щурів утримували на карантині та маркували нанесенням надсічок на вушні раковини. За добу до проведення експерименту тварин піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води.

Усіх тварин розділяли на чотири експериментальні групи: I – контрольна, модель різаної рани, яка гоїлась самостійно шляхом епітелізації. II група – тваринам, починаючи з наступного дня після моделювання різаної рани, двічі на добу впродовж усіх термінів спостереження наносили на ранову поверхню карбопол за допомогою металевого шпателя, який перед кожним використанням фламбували. III – після моделювання рани, тваринам двічі на добу впродовж усього експерименту наносили фармакологічну композицію на основі меланіну. Окрему групу склали інтактні тварини, у яких визначали фізіологічний рівень досліджуваних показників.

Площинні рани відтворювали на попередньо депільованій ділянці шкіри, у наркотизованих щурів (тіопентал натрію (Biochemie GmbH/Austria), у дозуванні 5мг/100г). Для моделювання рани використовували попередньо виготовлений квадратний трафарет, за допомогою хірургічних скальпеля та пінцету вирізали шкіру розміром 141 см² [23]. Нанесення фармакологічної композиції починали одразу після відтворення ран і до повного загоєння.

Так як при виконанні роботи досліджувався характер перебігу експериментального інфікованого ранового процесу м'яких тканин, термінами спостереження було обрано його ключові етапи загоєння – 3, 6, 9, 14 доби та день епітелізації рани, коли послідовно змінюється фаза гострих запальних явищ з вираженою гідратацією, фазами деградації та некролізу, початком розвитку грануляцій, повним заповненням поверхні рани грануляційною тканиною, початком краєвої епітелізації та закриттям дефекту рани шкірою [6].

Для біохімічних досліджень використовували сироватку крові. Вміст білка вимірювали за методом Лоурі [12]. Вміст продуктів окисної модифікації білків (ОМБ) та олігопептидів визначали за рівнем карбонільних похідних, які виявляються в реакції з 2,4-динітрофенілгідрозином [3].

Статистичну обробку результатів досліджень проводили на комп'ютері з використанням програмного пакету Statistica 10 (StatSoft, Inc.) [4]. Отримані дані тестували на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро-Вілка та перевіряли рівність дисперсій за тестом Левена. Подальший обрахунок результатів відбувався за допомогою двофакторного дисперсійного аналізу (two-way ANOVA) із пост тестом Бонферонні. Отримані результати наведені у вигляді середнього арифметичного \pm середньоквадратичне відхилення (дисперсія) – SD. Результати вважали значущими при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Згідно даних літератури, за умов окисного стресу активні форми кисню (АФК) пошкоджують усі біологічні структури. Зокрема, за умов надмірної генерації АФК розвиваються процеси неконтрольованої модифікації білків, які спричиняють фрагментацію білків, їхню

денатурацію, а також утворення первинних амінокислотних радикалів, що далі вступають у вторинну взаємодію із сусідніми амінокислотними залишками, а це в цілому створює досить складну картину пошкоджувальної дії АФК на білкові макромолекули. Все це призводить до втрати білками їхньої біологічної активності й порушення обмінних, зокрема регенеративних процесів [9, 15]. На думку дослідників, кисневозалежне окиснення білків є раннім індикатором пошкодження органів і тканин, а процеси ОМБ при всіх патологічних станах повинні перебувати під безперервним лабораторним контролем [16].

В ході проведених експериментальних досліджень встановлено, що у щурів з вирізаною площинною раною без лікування (I група), у сироватці крові спостерігається збільшення рівня окисно-модифікованих білків (**табл.**).

Зокрема, зростає рівень нейтральних альдегідних продуктів (макс. абсорбції при 356 нм) – в 2,6, 2,6, 2,6, 2,4 та 1,8 раза ($p < 0,05$), на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, порівняно з інтактною групою тварин.

При застосуванні карбополу (II група), досліджуваний показник також збільшується в 2,5, 2,4, 2,4, 2,2 та 1,6 раза ($p < 0,05$), на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, порівняно з групою інтактних тварин (**табл.**).

При нанесенні на ранову поверхню фармакологічної композиції (III група), показано зростання альдегідних продуктів на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани в 2,6, 2,5, 2,3, 2,1 та 1,4 раза ($p < 0,05$) відповідно, порівняно з інтактними тваринами. Однак, показано зниження даного показника в день повної епітелізації рани в 1,2 раза, порівняно з I групою тварин (**табл.**).

Таблиця.

Вміст продуктів окисної модифікації білків у сироватці крові щурів при різаній рані шкіри та при лікуванні фармакологічною композицією на основі меланіну, ум.од. \times мг білка-1, ($M \pm m$, $n = 7$)

Групи тварин	Час, доба	Продукти нейтрального характеру		Продукти основного характеру	
		356 нм, альдопохідні	370 нм, кетопохідні	430 нм, альдопохідні	530 нм, кетопохідні
Інтактні тварини	–	0,101 \pm 0,009	0,111 \pm 0,010	0,094 \pm 0,008	0,038 \pm 0,003
I група	3	0,267 \pm 0,024*	0,154 \pm 0,014*	0,163 \pm 0,015*	0,128 \pm 0,012*
	6	0,264 \pm 0,024*	0,165 \pm 0,015*	0,168 \pm 0,015*	0,126 \pm 0,012*
	9	0,258 \pm 0,023*	0,152 \pm 0,014*	0,166 \pm 0,015*	0,124 \pm 0,011*
	14	0,239 \pm 0,022*	0,159 \pm 0,014*	0,171 \pm 0,015*	0,119 \pm 0,011*
	Повна епітелізація	0,178 \pm 0,016*	0,173 \pm 0,016*	0,174 \pm 0,016*	0,105 \pm 0,009*
II група	3	0,258 \pm 0,023*	0,161 \pm 0,014*	0,166 \pm 0,015*	0,125 \pm 0,012*
	6	0,241 \pm 0,022*	0,167 \pm 0,015*	0,168 \pm 0,015*	0,127 \pm 0,012*
	9	0,247 \pm 0,022*	0,158 \pm 0,014*	0,162 \pm 0,014*	0,123 \pm 0,011*
	14	0,225 \pm 0,020*	0,161 \pm 0,014*	0,169 \pm 0,015*	0,115 \pm 0,010*
	Повна епітелізація	0,164 \pm 0,015*	0,178 \pm 0,016*	0,172 \pm 0,016*	0,109 \pm 0,010*
	6	0,253 \pm 0,023*	0,151 \pm 0,013*	0,145 \pm 0,013*#	0,124 \pm 0,011*
	9	0,232 \pm 0,021*	0,142 \pm 0,013*	0,137 \pm 0,013*#	0,091 \pm 0,008*#
	14	0,216 \pm 0,019*	0,137 \pm 0,012*#	0,122 \pm 0,011*#	0,073 \pm 0,006*#
	Повна епітелізація	0,145 \pm 0,013*#	0,123 \pm 0,011#	0,114 \pm 0,010*#	0,041 \pm 0,004#

Примітка. * – $P < 0,05$ відносно показників інтактних тварин, # – $P < 0,05$ відносно показників I групи тварин.

Показано зростання рівня нейтральних кетонних продуктів ($E_{max} = 370$ нм), у I групі тварин в 1.4, 1.5, 1.4, 1.4 та 1.5 раза ($p < 0,05$), на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, порівняно з інтактною групою тварин. У II групі тварин також відзначалось зростання рівня досліджуваного показника в 1.4, 1.5, 1.4, 1.4 та 1.6 раза ($p < 0,05$), на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, порівняно з інтактною групою тварин. При нанесенні на рану нової фармакологічної композиції, спостерігали підвищення рівня нейтральних кетонних продуктів в 1.5, 1.4, 1.3 та 1.2 раза ($p < 0,05$) на 3, 6, 9 та 14 добу відповідно, порівняно з інтактною групою тварин. На 14 добу та в день повної епітелізації рани в III групі тварин, було відмічено зниження даного показника в 1.2 та 1.4 ($p < 0,05$) раза відповідно, порівняно з I групою тварин (табл.).

Наші результати збігаються із даними дослідження Денисенко О.І. у хворих на алергодерматози, показник ОМБ, визначений за альдегідо- та каталазопохідними нейтрального характеру, збільшився порівняно з контрольною групою на 36,93%, а показник ОМБ, визначений за альдегідо- та каталазопохідними основного характеру, — на 34,84%, що вказує на активацію процесів окисної модифікації білків у хворих на алергічні захворювання шкіри в період загоєння [2].

За тих же умов експерименту у сироватці крові кількість основних альдегідних продуктів (максимум поглинання при 430 нм) збільшується в I групі тварин в 1.7, 1.8, 1.8, 1.8 та 1.9 раза ($p < 0,05$) на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, відносно інтактних тварин. У II групі також показано зростання в 1.8, 1.8, 1.7, 1.8 та 1.8 раза ($p < 0,05$) на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, порівняно з інтактною групою тварин. У III групі тварин даний показник зростав в 1.7, 1.5, 1.5, 1.3 та 1.2 раза ($p < 0,05$) на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, щодо інтактних тварин. При застосуванні нової фармакологічної композиції (III група тварин), показано зниження даного показника в 1.2, 1.2, 1.4, 1.5 раза ($p < 0,05$) на 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, щодо I групи тварин (табл.).

У досліджах Є.О. Лози та співавторів, на моделі різаної рани шкіри у щурів, показано збільшення ОМБ ($\lambda = 370$) і ОМБ ($\lambda = 430$) у тварин без лікування. Незначне зменшення цих показників відбулося на 7 добу, а на 28 добу вони практично досягли норми. Однак тоді, на 28 добу вміст ОМБ ($\lambda = 430$), яким було нанесено клей, практично не відрізнявся від показників контролю [1].

Вміст основних кетонних продуктів ($E_{max} = 530$ нм) також знижується в I групі тварин в 3.4, 3.3, 3.2, 3.1 та 2.8 раза ($p < 0,05$), на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, щодо інтактних тварин. У групі щурів, яким наносили карбопол (II група), також показано зростання даного показника в 3.5, 3.3, 3.2, 3 та 2.9 раза ($p < 0,05$) на 3, 6, 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани відповідно, у порівнянні з інтактними тваринами. Виявлено зростання основних кетонних продуктів в III групі в 3.6, 3.2, 2.4 та 1.9 раза ($p < 0,05$) на 3, 6, 9, 14 добу, щодо інтак-

тних тварин. Проте в III групі тварин, на 9, 14 добу та в день повної епітелізації рани, показано зниження рівня основних кетонних тіл в 1.4, 1.6 та 2.6 раза ($p < 0,05$) (табл.).

Srinivasulu Chigurupati та колегами, виявлено, що місцеве застосування водорозчинних наночастинок оксиду церію (Nanosegia) зменшує окисне пошкодження клітинних мембран і білків, при різаній рані шкіри. Без її корекції препаратом, зростав рівень ОМБ в сироватці крові [11]. Іншими дослідниками встановлено, що ураження тканин і запалення пов'язані зі збільшенням утворення АФК, які мають здатність індукувати окисне пошкодження різних біомолекул, в результаті дисфункції білка, генетичної нестабільності або загибелі клітин [22].

Встановлено, що модифікація білкових молекул за дії АФК призводить до утворення додаткових карбонільних груп у бічних ланцюгах амінокислот. Вважається, що деструкція білків є надійнішим маркером окислювальних пошкоджень тканин, ніж перекисне окиснення ліпідів, оскільки продукти ОМБ стабільніші порівняно з пероксидами ліпідів, які швидко метаболізуються під дією пероксидаз та низькомолекулярних антиоксидантів. Відомо, що відновлення окислених білків практично не відбувається. Вони стають мішенню для дії специфічних нейтральних та лужних протеаз, активність яких залежить від багатьох факторів [8]. Крім того, вважається, що негативний ефект ОМБ пов'язаний із тим, що вони є джерелом вільних радикалів, які виснажують запаси антиоксидантів в організмі. *In vitro* показано, що продукти вільнорадикального окиснення білків призводять до окислювального ураження ДНК. При цьому перекисне окиснення білків є не тільки пусковим механізмом патологічних процесів, а й найбільш раннім маркером оксидативного стресу [5].

Виявлене зниження рівня окиснення білкових молекул у сироватці крові при використанні нової фармакологічної композиції на основі меланіну у щурів з експериментальною моделлю різаної рани, може бути пов'язано з вираженими антиоксидантними, антибактеріальними, протизапальними та регенераційними властивостями меланіну. Так як особливість будови цих пігментів, схожа на молекулярні сіта та іонообмінні смоли, завдяки стабільному вільнорадикальному стану і здатності до оберненого окислювально-відновлювального потенціалу, меланіни забезпечують захист організму в екстремальних умовах, за яких в клітині генеруються АФК.

Висновки. Таким чином, при різаній рані шкіри щурів, у сироватці крові зростає рівень окисно-модифікованих білків, що свідчить про розвиток окисного стресу. При використанні нової фармакологічної композиції на основі меланіну, у щурів з експериментальною різаною раною в сироватці крові відбувається часткове відновлення досліджуваних показників білкової модифікації, що пов'язано з протизапальною та антиоксидантною дією досліджуваної композиції.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому наші дослідження будуть спрямовані на вивчення біохімічних та молекулярних показників у шкірі та крові щурів, також дослідження морфологічних показників шкіри при різних типах ушкодження.

Література

1. Avetkov D.S. Biokhimična kharakteristika pislyaoperatsiynogo ranevogo protsesu shkiri u zalezhnosti vid sposobu fiksatsii kraiv rani / D.S. Avetkov, Kh.O. Loza // Aktual'ni problemi suchasnoi meditsini. – 2015. – № 3 (51). – S. 153-156.
2. Denisenko O.I. Okisna modifikatsiya bilkiv yak chinnik patogenezu alergodermatoziv / O.I. Denisenko // Ukraïns'kiy zhurnal dermatologii, venerologii, kosmetologii. – 2004. – № 1. – S. 23-26.
3. Dubinina E. Okislitel'naya modifikatsiya belkov syvorotki krovi cheloveka, metod ee opredeleniya / E. Dubinina, S. Burmistrov, D. Khodov, I. Porotov // Voprosy meditsinskoï khimii. – 1995. – T. 41, № 1. – S. 24-26.
4. Filimonova N.B. Statistichnyi analiz danikh vidpovidno do zasad naukoovoobgruntovanoi meditsini. Pervinniy analiz kil'kisnikh danikh, podannya rezul'tativ eksperimentu / N.B. Filimonova, I.O. Fil', T.S. Mikhaylova // Meditsina zaliznichnogo transportu Ukraïni. – 2004. – № 4. – S. 85-93.
5. Galimzyanov F.V. Lechenie infitsirovannykh ran i ranevoy infektsii. Uchebnoe posobie / F.V. Galimzyanov // Ekaterinburg: UGMA. – 2012. – S. 88.
6. Kozirev A.V. Antioksidanti yak zasib pidvishchennya fizichnoi pratsezdatsnosti u sportsmeniv-vesluval'nikiv pid chas vidnovlyuval'nogo periodu / A.V. Kozirev, O.I. Tsebrzhins'kiy // Sportivna nauka Ukraïni. – 2010. – № 3. – S. 3-10.
7. Netyukhaylo L.G. Aktivni formi kisnyu (oglyad literaturi) / L.G. Netyukhaylo, S.V. Kharchenko // Young Scientist. – 2014. – № 9 (12). – S. 131-135.
8. Pershiy natsional'niy kongres z bioetiki // Ezhenedel'nik APTEKA. – 2001. – № 308 (37) (vid 24.09.2001).
9. Ryabov G.Ya. Okislitel'naya modifikatsiya belkov plazmy krovi u bol'nykh v kriticheskikh sostoyaniyakh / G.Ya. Ryabov, Yu.M. Azizov, S.I. Dorokhov [i dr.] // Anesteziol. i reanimatol. – 2000. – № 2. – S. 72-75.
10. Beitz J.M. Pharmacologic impact (aka «Breaking Bad») of medications on wound healing and wound development: A Literature-based Overview / J.M. Beitz // Ostomy Wound Manage. – 2017 Mar. 63 (3). – P.18-35.
11. Chigurupati S. Effects of cerium nanoparticles on the growth of keratinocytes and vascular endothelial cells in cutaneous wound healing / S. Chigurupati, M.R. Mughal, E. Okun, S. Das, A. Kumar, M. McCaffery, S. Seal, M.P. Mattson // Biomaterials. – 2013. – Mar 34 (9). – P. 2194-201.
12. Hartree E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response / E.F. Hartree // Analytical biochemistry. – 1972. – Vol. 48, № 2. – P. 422-427.
13. Junker J.P. Clinical impact upon wound healing and in moist, wet, and dry environments / J.P. Junker, R.A. Kamel, E.J. Caterson, E. Eriksson // Advances In Wound Care. – 2013. – Vol. 2 (7). – P. 348-354.
14. Kessides M.C. Management of acute partial-thickness burns / M.C. Kessides, M.K. Skelsey // Cutis. – 2010. – Vol. 86, № 5. – P. 249-257.
15. Kurahashi T. Roles of antioxidative enzymes in wound healing / T. Kurahashi, J. Fujii // J. Dev. Biol. – 2015. – Volume 3. – P. 57-70.
16. Melnychuk A.S. Indicators of proteins oxidative modification and antioxidant protection in oral fluid of patients with generalized periodontitis with partial teeth loss / A.S. Melnychuk, M.M. Rozhko, H.M. Ersteniuk // Novini stomatologii. – 2012. – № 4. – P. 96-98.
17. Rinnerthaler M. Oxidative Stress in Aging Human Skin / M. Rinnerthaler, J. Bischof, M. Streubel, A. Trost, K. Richter // Biomolecules. – 2015. – Vol. 5. – P. 545-589.
18. Schdfer M. Oxidative stress in normal and impaired wound repair / M. Schdfer, S. Werner // Pharmacological Research. – 2008. – Vol. 58 – P. 165-171.
19. Supp D. Engineered skin substitutes: practices and potentials / D. Supp, S. Boyce // Clin. Dermatol. – 2005. – Vol. 23. – P. 403-412.
20. Taburets O.V. Influence of the melanin on the state of prooxidant-antioxidant homeostasis in blood serum at the rats with the full-thickness skin wound / O.V. Taburets, O.O. Grinchenko, K.O. Dvorschenko, V.V. Vereschaka, L.I. Ostapchenko // Bulletin of problems biology and medicine. – 2017. – Vol. 1 (135). – P. 191-96.
21. Taburets O. Glutathion system in the serum of bood rats in the dynamics of full-thickness wounds and with the influence of the new pharmacological composition which contain melanine / O. Taburets K. Dvorshenko, M. Tymoshenko, V. Vereschaka, T. Beregova, L. Ostapchenko // Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv/Vestnik Kievskogo Nacionalnogo Universiteta Imeni Tarasa Sevchenko. – 2017. – Vol. 1 (22). – P. 5-8.
22. Tanase M. Role of Carbonyl modifications on aging-associated protein aggregation / M. Tanase, A. Urbanska, V. Zolla, C. Clement, L. Huang // J. Scientific Reports. – 2016. – P. 1-14.
23. The Effect of «Melanin-Gel» on the Wound Healing / O.V. Taburets [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016. – Vol. 7, № 3. – P. 2031-2038.

УДК 616-001.4-085.33:615.03.032:612-092.9

ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ВИРІЗАНОЇ ПЛОЩИННОЇ РАНИ У ЩУРІВ

Табурець О. В., Дворщенко К. О., Верещака В. В., Берегова Т. В., Остапченко Л. І.

Резюме. Досліджено продукти вільнорадикального окиснення білків у сироватці крові щурів за умов вирізаної площинної рани, та при застосуванні фармакологічної композиції на основі меланіну. Дана патологія супроводжується посиленням окиснювальної модифікації білків (підвищенням рівня продуктів нейтрального та основного характеру). Застосування фармакологічної композиції на основі меланіну призводило до зниження ступеня окисної модифікації білкових молекул.

Ключові слова: вирізнана площинна рана, окисна модифікація білків, меланін.

УДК 616-001.4-085.33:615.03.032:612-092.9

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ВЫРЕЗАННОЙ ПЛОСКОСТНОЙ РАНЫ У КРЫС

Табурець О. В., Дворщенко Е. О., Верещака В. В., Берегова Т. В., Остапченко Л. И.

Резюме. Исследованы продукты свободнорадикального окисления белков в сыворотке крови крыс в условиях вырезанной плоскостной раны, и при применении фармакологической композиции на основе меланина. Данная патология сопровождается усилением окислительной модификации белков (повышением уровня продуктов нейтрального и основного характера). Применение фармакологической композиции на основе меланина приводит к снижению степени окислительной модификации белковых молекул.

Ключевые слова: вырезанная плоскостная рана, окислительная модификация белков, меланин.

UDC 616-001.4-085.33:615.03.032:612-092.9

OXIDATIVE MODIFICATION OF BLOOD PLASMA PROTEINS UNDER THE CONDITIONS OF MODELING FULL-THICKNESS WOUNDS IN RATS

Taburets O. V., Dvorschenko K. O., Vereschaka V. V., Bereгова T. V., Ostapchenko L. I.

Abstract. Wound healing is a complex and dynamic process of replacing devitalized and missing cellular structures and tissue layers. We have previously shown that melanin, producer of which is the Antarctic black yeast fungi *Pseudonadsoniella brunea* (*Nadsoniella nigra* sp. X-1), sown with samples of vertical cliffs of the island Galindez (Ukrainian Antarctic Station "Akademik Vernadsky") has expressed cytoprotective effect, promoted rapid wound healing of various ethiology and can be offered as a new dermatropic drug. We have created a new pharmacological composition which includes 0.1% melanin, dissolved in 0.5% Carbopol.

Objective. The aim of the study was to study the effect of the pharmacological composition on the oxidative modification of proteins in the serum during full-thickness skin wound healing without treatment and with application of new pharmaceutical composition based on melanin for rats with experimental wounds.

Methods. Experiments conducted in accordance with international principles of the European Convention for the Protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, according to the Law of Ukraine of 21.02.2006 № 3447-IV «On protection of animals from cruelty».

Research was conducted on white laboratory female rats weighing 200-250 g, which were divided into four groups. In each model animals experimental skin wounds without drugs were used as a control (first group). Wounds of rats of second group were treated only with 0,5 % carbopol (universal solvent drugs to make them gel-like consistency, Carbopol 980"). Animals of third group got 0,1% melanin (produced by Antarctic black yeast-like fungi *Nadsoniella nigra*, strain X1-M, and received by us microbiologically) dissolved in 0,5% carbopol for wounds' healing. Animals of fourth group without experimental skin wounds were used as a intact animals. Before the experiment, the rats were kept in quarantine and were marked by given them notches on ears. When animas were injured they were anesthetized by sodium thiopental (Biochemie GmbH/Austria), at a dosage of 50 mg/kg. Before the experiment epilation was performed in the shoulder-blade area. Model of full-thickness skin wound. Plate wounds are reproduced on epilated skin in anesthetized rats. To do this, skin is cut using surgical scalpel and forceps, 1 Ч 1 см². Treatment begins immediately after wounds reproduction until healing.

Statistical processing of experimental results was carried out in "Statistica 10 (StatSoft, Inc.). Type of data distribution in groups was checked with Shapiro-Wilk test. As data were distributed normally ($p > 0,05$), two-way ANOVA was conducted to determine the significance of difference between means with Bonferroni post test. Difference between means was judged as statistically significant if $p \leq 0,05$. Mean and standard deviation (SD) were calculated for each group.

Results. This pathology is accompanied by an increase in the oxidative modification of proteins (an increase in the level of products of a neutral and basic nature). The use of melanin-based pharmacological composition leads to a decrease in the degree of oxidative modification of protein molecules.

Keywords: full-thickness skin wound, oxidative modifications of protein, melanin.

Рецензент – проф. Дев'яткіна Т. О.

Стаття надійшла 01.06.2017 року