

© Коллектив авторов, 2021

УДК 617-001.17-74-085.37-05

Осиков М.В., **Симонян Е.В.**, Агеева А.А., Сеницкий А.И., Агеев Ю.И.

## Локальный ПОЛ-ограничивающий и ускоряющий заживление эффект мелатонина в составе оригинальной дермальной пленки при экспериментальной термической травме

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 454092, Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 64

Разработка и патогенетическое обоснование новых подходов к локальной терапии термической травмы (ТТ) является актуальной и востребованной проблемой. В частности, представляет интерес разработка дермальных пленок (ДП), содержащих эндогенные регуляторы гомеостаза мультитропного действия.

**Цель исследования** – оценка эффекта мелатонина (МТ) в составе оригинальной ДП на процессы репарации и содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в коже очага повреждения при локальной термической травме.

**Методика.** Эксперимент выполнен на 126 крысах-самцах Wistar. ТТ IIIA степени площадью 3,5% моделировали погружением участка межлопаточной области кожи в очищенную воду с температурой 98-99 °С на 12 с. МТ в составе ДП (0,005 г/г) на основе натрия карбоксиметилцеллюлозы наносили ежедневно после ТТ в течение 5 сут. На 5-е и 10-е сут после ТТ оценивали макроскопическую картину, площадь и глубину ожоговой раны, скорость ее эпителизации. Содержание продуктов ПОЛ в гомогенате кожи ожоговой раны определяли экстракционно-спектрофотометрическим методом в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта.

**Результаты.** Установлено, что накопление вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта на 5-е и 10-е сут ассоциировано с площадью ожога. Применение оригинальной ДП с мелатонином приводит к снижению абсолютной и относительной площади ожога, увеличению скорости эпителизации ожоговой поверхности. На 5-е сут обнаружено снижение содержания вторичных и конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе, на 10-е сутки – снижение вторичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе липидного экстракта.

**Заключение.** Полученные результаты демонстрируют ускоряющий репарацию кожи в очаге ТТ эффект МТ в составе дермальной пленки за счет его ПОЛ-ограничивающего действия, расширяют представления о мультитропных эффектах МТ в организме и являются предпосылкой для применения ДП с МТ в клинической практике.

**Ключевые слова:** термическая травма; мелатонин; дермальная пленка; перекисное окисление липидов; репарация

**Для цитирования:** Осиков М.В., **Симонян Е.В.**, Агеева А.А., Сеницкий А.И., Агеев Ю.И. Локальный ПОЛ-ограничивающий и ускоряющий заживление эффект мелатонина в составе оригинальной дермальной пленки при экспериментальной термической травме. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(1): 94-101.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.01.94-101

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования, интегральный анализ полученных данных, написание текста, редактирование рукописи – Осиков М.В.; набор экспериментального материала, анализ полученных данных – Симонян Е.В.; набор экспериментального материала, статистическая обработка данных, анализ полученных данных, написание текста – Агеева А.А.; набор экспериментального материала, редактирование рукописи – Сеницкий А.И.; набор экспериментального материала, статистическая обработка данных, анализ полученных данных – Агеев Ю.И.

**Для корреспонденции:** Осиков Михаил Владимирович, e-mail: prof.osikov@yandex.ru

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» по программе У.М.Н.И.К. (договор № 15583ГУ/2020 от 05.07.2020 г.) и финансовой поддержке РФФИ и Челябинской области в рамках научного проекта № 20-415-740016.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 09.09.2020

Принята к печати 21.01.2021

Опубликована 10.03.2021

Osikov M.V., [Simonyan E.V.](#), Ageeva A.A., Sinitsky A.I., Ageev Yu.I.**Local effect of melatonin in an original dermal film limiting lipid peroxidation and accelerating healing in experimental thermal trauma**South Ural State Medical University,  
Vorovskogo Str. 64, Chelyabinsk 454092, Russian Federation

**Background.** Development and pathogenetic justification of new approaches for local therapy of thermal trauma (TT) is a relevant and in-demand issue. Of special interest are dermal films (DF) containing endogenous pleiotropic regulators of homeostasis. Melatonin (MT) is one of such regulators that is suggested to be protective in TT.

**The aim** of this study was to evaluate the effect of MT in the original DF on indexes of repair and concentration of lipid peroxidation (LPO) products in the injured skin after experimental TT.

**Methods.** Experiments were performed on 126 Wistar male rats. Grade IIIA TT with an area of 3.5% was modeled by immersing a section of interscapular skin in purified water at a temperature of 98–99°C for 12 s. MT formulated into DF (0.005 g/g) based on sodium carboxymethylcellulose was applied after TT daily for 5 days. The macroscopic picture, area and depth of the burn wound, and the wound epithelization rate were evaluated on days 5 and 10 after TT. Concentration of LPO products in the injured skin homogenate was measured by extraction spectrophotometry in heptane and isopropanol phases of the lipid extract.

**Results.** The accumulation of secondary and final LPO products in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract on days 5 and 10 was associated with the burn area. The use of the original DF with MT resulted in a decrease in the absolute and relative areas of the burn and an increase in the rate of burn surface epithelialization. On day 5, a decrease in the content of secondary and final LPO products in the isopropanol phase was observed, and on day 10 decreases in secondary peroxidation products in the heptane phase and end LPO products in the isopropanol phase were detected.

**Conclusion.** The results of this study demonstrated that MT formulated into DF accelerates skin repair in the TT focus due to its LPO-limiting effect, expands the understanding of MT pleiotropic effect, and represents a prerequisite for the clinical use of DF with MT.

**Keywords:** thermal trauma; melatonin; dermal film; lipid peroxidation; repair

**For citation:** Osikov M.V., [Simonyan E.V.](#), Ageeva A.A., Sinitsky A.I., Ageev Yu.I. Local effect of melatonin in the original dermal film limiting lipid peroxidation and accelerating healing in experimental thermal trauma. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(1): 94–101. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2021.01.94-101

**Contribution:** Mikhail Vladimirovich Osikov – research concept and design, integral analysis of the data obtained, writing the text, editing the manuscript; Simonyan Elena Vladimirovna – set of experimental material, analysis of the obtained data; Ageeva Anna Alekseevna – set of experimental material, statistical data processing, analysis of the obtained data, text writing; Sinitsky Anton Ivanovich – set of experimental material, editing of the manuscript; Ageev Yuri Ivanovich – set of experimental material, statistical data processing, analysis of the obtained data.

**For correspondence:** **Michael V. Osikov**, Doctor of Medical Sciences, Professor, head of the Department of pathological physiology; 454092, Chelyabinsk region, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64, e-mail: prof.osikov@yandex.ru

**Acknowledgments.** The study was supported by the UMNK Program of the Foundation for Assistance to Innovations (Agreement # 15583GU Анатолий Владимирович /2020 of 05.07.2020) and by RFBR and the Chelyabinsk Region, project # 20-415-740016.

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

**Information about the authors:**Ageev Yu.I., <https://orcid.org/0000-0002-9700-3886>Osikov M.V., <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>[Simonyan E.V.](#), <https://orcid.org/0000-0003-2295-983X>Ageeva A.A., <https://orcid.org/0000-0002-3061-7621>Sinitsky A.I., <https://orcid.org/0000-0001-5687-3976>

Received 09.09.2020

Accepted 21.01.2021

Published 10.03.2021

**Введение**

По данным ВОЗ, ежегодно около 11 млн человек нуждаются в медицинской помощи после ожогов [1]. На долю термической травмы (ТТ) приходится около 80% всех ожогов. Наиболее частыми причинами ТТ являются горячая жидкость и пламя, у 2/3 больных площадь ожога составляет менее 10% поверхности тела. Изучение

патофизиологии ожоговой раны важно для ограничения ее прогрессирования и разработки новых патогенетически обоснованных методов терапии [2]. Неоспорима роль окислительного стресса в патогенезе ТТ [3]. Мишенями свободных радикалов являются липиды, метаболитами такого взаимодействия выступают продукты пе-

рекисного окисления липидов (ПОЛ). Кожа - самый большой орган с интенсивно протекающими процессами ПОЛ, а окислительный стресс при ожогах реализуется в очаге повреждения и других тканях [4]. Показана роль продуктов ПОЛ в мутагенных и канцерогенных эффектах, модификации мембранных белков, ферментов, сигнальных молекул [5]. Гидроперекиси липидов при ТТ отражают концепцию редокс-регулируемого гомеостаза и в контексте «OxInflammation» выступают универсальными биомаркерами при патологии [6]. Содержание продуктов ПОЛ позволяет оценивать тяжесть ТТ и эффективность проводимой терапии [7]. Большинство исследователей сосредоточены на изучении продуктов окислительного стресса при ТТ в плазме, а не в очаге повреждения. Применение раневых покрытий – основной метод консервативного лечения ожоговых ран. Их преимуществом является создание влажной среды в ране, которая способствует дифференцировке клеток, эффективному межклеточному взаимодействию и сокращению сроков лечения [8]. В состав пленочных покрытий могут входить различные группы фармакологически активных веществ (антимикробные средства, антисептические средства, анальгетики и др.). Особое внимание при поиске новых терапевтических подходов уделяется регуляторам гомеостаза эндогенного происхождения [9–12]. Мелатонин (МТ) участвует в регуляции ритма сна-бодрствования, обладает антиоксидантным, иммуномодулирующим, антиапоптогенным действием, оказывает влияние на механизмы регуляции, пролиферации и дифференцировки клеток. Плейотропные эффекты мелатонина привлекают внимание с фундаментальных позиций регуляции гомеостаза, роли в патогенезе заболеваний и в прикладном аспекте в связи с возможностью применения МТ в лечении различных заболеваний [13]. Клетки кожи синтезируют МТ, его метаболиты обнаружены в кератиноцитах, меланоцитах, дермальных фибробластах [14]. В литературе представлены немногочисленные сведения в основном о системном (пероральным, внутривенным) и реже локальным применением МТ при ожогах, повреждениях кожи ультрафиолетом [15, 16]. В РФ отсутствуют зарегистрированные лекарственные формы в виде раневых покрытий с МТ для применения при ТТ.

**Цель работы** – оценка эффекта мелатонина в составе оригинальной дермальной пленки (ДП) на показатели репарации и содержание продуктов ПОЛ в коже очага повреждения при экспериментальной термической травме.

### Методика

Эксперимент выполнен на 126 половозрелых крысах-самцах Wistar, находящихся в экспериментально-

биологической клинике (виварии) ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России при строгом соблюдении требований по уходу и содержанию, выводу из эксперимента и утилизации [17]. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России на проведение исследования (протокол № 10 от 15.11.2019). Для анестезии использовали препарат «Золетил-100» («Virbac Sante Animale», Франция) в дозе 20 мг/кг. Животные были случайным образом разделены на 3 группы: 1-я группа ( $n=20$ ) – интактный контроль, 2-я ( $n=53$ ) – животные с ТТ и ежедневным наложением асептической повязки, 3-я ( $n=53$ ) – животные с ТТ и наложением на область ожога ДП с МТ. Для моделирования ТТ IIIA степени и относительной площадью 3,5% межлопаточный участок кожи погружали в очищенную воду при 98–99 °С на 12 с. Глубину ожога верифицировали морфологическими методами. Экспериментальная модель с использованием горячей воды и рассматривается исследователями как стандарт ТТ [18]. Пленку с МТ (12 см<sup>2</sup>) животным 3-й группы наносили сразу после моделирования ТТ, закрепляя асептической повязкой, перевязку осуществляли ежедневно в течение 5 сут. В предварительных исследованиях был разработан состав ДП на основе натрия карбоксиметилцеллюлозы, в состав которой был включен МТ в концентрации 0,005 г/г и проведена ее оценка в соответствии с фармакотехнологическими параметрами: органолептические показатели (вид, цвет, прозрачность, эластичность, наличие примесей и микротрещин), адгезивная способность, механическая прочность на разрыв, толщина (заявка на патент № 2020118766 от 29.05.2020). Для вычисления площади раны на 5-е и 10-е сут после ТТ методом цифровой планиметрии использовали фотокамеру «Nikon Coolpix S2800» (Китай) и пакет программ «Microsoft Office Visio». Скорость эпителизации (VS) рассчитывали по формуле:  $VS = S - S_n / t$ , где  $S$  – начальная площадь раны до лечения (в дальнейшем, площадь при предыдущем измерении);  $S_n$  – площадь при последующем измерении;  $t$  – число суток между измерениями [19]. Площадь раны в последующих измерениях определяли в %, принимая за 100% площадь до лечения, результат выражали в % / сутки. Продукты ПОЛ в коже оценивали на 5-е и 10-е сут после ТТ. Для приготовления 10% гомогената кожи ожоговую рану иссекали, 40 мг ткани гомогенизировали в соотношении 1:10 раствора натрия хлорида 0,9 % в течение 3 мин при 4 °С с получением 1 мл гомогената. Содержание продуктов ПОЛ в гомогенате определяли экстракционно-спектрофотометрическим методом на спектрофотометре «СФ-56» («ЛОМО – Спектр», Санкт – Петербург) [20]. В гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта измеряли оп-

тическую плотность при 220 нм (содержание изолированных двойных связей), 232 нм (содержание диеновых конъюгатов – ДК), 278 нм (содержание кетодиенов и сопряженных триенов – КД и СТ), 400 нм (основания Шиффа – ШО). Относительное содержание продуктов ПОЛ выражали в единицах индексов окисления (е.и.о.): E232/E220 (ДК), E278/E220 (КД и СТ) и E400/E220 (ШО). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 19. Характеристика выборок представлена в формате «Me (Q25 – Q75)», где Me – медиана, Q25, Q75 – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев (Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни, Вальда-Вольфовитца, Колмогорова-Смирнова). Для выявления связи между изучаемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (R).

### Результаты

Анализ показателей репарации при ТТ выявил, что на 5-е и 10-е сут уменьшается абсолютная площадь и относительная площадь раневого дефекта, в связи с чем увеличивается скорость эпителизации раны и доля уменьшения ее площади (табл. 1). При визуальной оценке кожи в области ТТ на 5-е сут у животных в межлопаточной области определяется плотный струп округлой формы, плотно спаянный с подлежащими тканями. Окружающая кожа отечна, гиперемирована. На 1-е сут ТТ у всех животных сохраняется отек, у 2 животных серозно-гнойное отделяемое из-под струпа. На 5-е сут после термического повреждения кожи в гептановой фазе липидного экстракта гомогената кожи ожоговой раны, концентрирующей большую часть резервных липидов (триацилглицеридов), выявлено накопление вторичных и конечных продуктов ПОЛ-кетодиенов и сопряженных триенов, Шиффовых оснований соответственно (табл. 2). Оценка содержания продуктов ПОЛ

в изопропанольной фазе гомогената кожи ожоговой раны, аккумулирующей в основном мембранные фосфолипиды, показала увеличение вторичных и конечных продуктов ПОЛ относительно показателей группы интактных животных. Исследование содержания продуктов ПОЛ в гомогенате кожи ожоговой раны на 10 сут после ТТ выявило увеличение в гептановой фазе липидного экстракта вторичных и конечных продуктов ПОЛ, в изопропанольной фазе гомогената кожи – только конечных продуктов ПОЛ. Отметим, что содержание диеновых конъюгатов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта гомогената кожи ожоговой раны статистически значимо не изменялось на 5-е и 10-е сут после ТТ. Кроме этого, содержание в липидном экстракте гомогената кожи ожоговой раны в гептановой фазе конечных продуктов ПОЛ, в изопропанольной фазе вторичных и конечных продуктов ПОЛ на 10-е сут было меньше ( $p < 0,01$ ), чем на 5-е сут ТТ, что свидетельствует о прогрессирующем уменьшении их количества в коже в динамике ТТ.

Применение МТ в составе ДП при экспериментальной ТТ приводит к значимому сокращению площади ожоговой раны в абсолютных величинах на 5-е и 10-е сут, в относительных – на 10-е сут (табл. 1). На 5-е и 10-е сут наблюдения возрастает скорость эпителизации раны и происходит относительное уменьшение площади раны. Максимальные изменения зафиксированы на 10-е сут, когда абсолютная площадь раневого дефекта уменьшилась на 12%, а скорость эпителизации возросла на 246% по медиане относительно группы животных с ТТ без применения ДП с МТ. В условиях применения МТ в составе ДП в липидном экстракте гомогената кожи ожоговой раны зафиксированы изменения содержания продуктов ПОЛ (табл. 2). У животных с ТТ на фоне применения ДП с МТ на 5-е сут в области ожога так же определяется струп округлой формы, плотно спаянный с подлежащими тканями, но более мягкий и с менее выражен-

Таблица 1

#### Влияние мелатонина в составе дермальной пленки на показатели репарации ожоговой раны при ТТ [Me (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>)]

Показатели	Группа 2-я 5-е сутки (n=16)	Группа 2-я 10-е сутки (n=20)	Группа 3-я 5-е сутки (n=16)	Группа 3-я 10-е сутки (n=16)
Площадь ожога, см <sup>2</sup>	11,66 (11,50-11,94)	9,48 (9,28-9,93)	10,33 (10,17-10,56) #	8,34 (8,19-8,51) #
Относительная площадь, %	3,34 (3,25-3,39)	3,17 (3,10-3,29)	3,36 (3,23-3,42)	3,02 (2,91-3,13) #
Скорость эпителизации, % / сут	0,89 (0,86-0,89)	1,90 (1,88-1,95)	1,33 (1,29-1,35) #	6,57 (5,92-6,93) #
Уменьшение площади раны, %	2,61 (2,59-2,64)	3,68 (3,53-4,23)	9,80 (9,64-10,08) #	16,10(14,62-17,73) #

Примечание. # – значимые ( $p < 0,01$ ) различия с 2-й группой на соответствующие сутки.

ным отеком окружающей кожи. У животных с ТТ на фоне применения ДП с МТ на 10-е сут струп все еще плотно спаян с подлежащими тканями, но края уже приподняты за счет эпителизации ожоговой поверхности. На 5-е сут значительно уменьшается содержание кетодиенов и сопряженных триенов, а также Шиффовых оснований в изопропанольной фазе, уровень первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, а также конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе не имеет значимых отличий от группы животных с ТТ без применения МТ. На 10-е сут выявлено снижение кетодиенов и сопряженных триенов в гептановой фазе, оснований Шиффа в изопропанольной фазе липидного экстракта гомогената

кожи ожоговой раны. Максимальный эффект МТ зафиксирован в изопропанольной фазе липидного экстракта гомогената кожи. Содержание в липидном экстракте гомогената кожи ожоговой раны в гептановой фазе конечных продуктов ПОЛ, в изопропанольной фазе вторичных и конечных продуктов ПОЛ на 10-е сут было статистически значимо ниже, чем на 5-е сут ТТ, что соответствует изменению содержания продуктов ПОЛ в динамике ТТ без применения МТ.

Проведен корреляционный анализ показателей характеризующих репарацию ожоговой раны (абсолютную площадь) и содержание продуктов ПОЛ при ТТ и при ТТ в условиях применения МТ (табл. 3). При ТТ на 5-е сут наблюдения выявлена обратная слабая

Таблица 2

**Влияние мелатонина в составе дермальной пленки на содержание продуктов ПОЛ в гомогенате кожи ожоговой раны при ТТ [Me (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>)]**

Показатели	Группа 1-я (n=20)	Группа 2-я 5-е сутки (n=21)	Группа 2-я 10-е сутки (n=32)	Группа 3-я 5-е сутки (n=25)	Группа 3-я 10-е сутки (n=28)
ДК (г), е.и.о.	0,920 (0,863-0,975)	0,889 (0,834-0,966)	0,891 (0,836-0,944)	0,866 (0,808-0,908)	0,889 (0,834-0,942)
КДиСТ (г), е.и.о.	0,049 (0,013-0,088)	0,123 (0,112-0,141) *	0,115 (0,101-0,141) *	0,109 (0,103-0,161) *	0,095 (0,058-0,131) *#
ШО (г), е.и.о.	0 (0-0,011)	0,018 (0,013-0,031) *	0,009 (0,003-0,018) *	0,019 (0,012-0,028) *	0,004 (0,003-0,017) *
ДК (и), е.и.о.	0,601 (0,596-0,622)	0,594 (0,570-0,732)	0,580 (0,568-0,614)	0,587 (0,579-0,613)	0,600 (0,584-0,625)
КДиСТ (и), е.и.о.	0,217 (0,209-0,228)	0,259 (0,200-0,213) *	0,210 (0,169-0,264)	0,214 (0,183-0,219) #	0,195 (0,165-0,239)
ШО (и), е.и.о.	0 (0-0,011)	0,030 (0,015-0,04) *	0,007 (0,004-0,026) *	0,019 (0,016-0,025) *#	0,004 (0,002-0,009) *#

**Примечание.** \* – значимые ( $p < 0,01$ ) различия с показателями 1-й группы, # – 2-й группы на соответствующие сутки. Содержание продуктов ПОЛ в гептановой (г) и изопропанольной (и) фазах липидного экстракта. ДК – диеновые конъюгаты, КДиСТ – кетодиены и сопряженные триены, ШО – Шиффовы основания.

Таблица 3

**Корреляция между абсолютной площадью ожоговой раны (см<sup>2</sup>) и содержанием продуктов ПОЛ в гомогенате кожи ожоговой раны при ТТ**

Продукты ПОЛ	Группа 2-я		Группа 3-я	
	5 сутки (n=21)	10 сутки (n=32)	5 сутки (n=25)	10-е сутки (n=28)
ДК (г), е.и.о.	R=0,05	R=0,08	R=0,13	R=0,17
КДиСТ (г), е.и.о.	R= -0,27	<b>R= -0,62</b>	R=0,32	<b>R=0,39</b>
ШО (г), е.и.о.	<b>R= -0,41</b>	R= -0,28	R=0,33	<b>R=0,38</b>
ДК (и), е.и.о.	R= -0,07	R= -0,15	R=0,11	R=0,22
КДиСТ(и), е.и.о.	<b>R= -0,51</b>	<b>R= -0,72</b>	<b>R=0,47</b>	<b>R=0,62</b>
ШО (и), е.и.о.	<b>R= -0,57</b>	<b>R= -0,72</b>	<b>R=0,47</b>	<b>R=0,78</b>

**Примечание.** Приведены значения коэффициента корреляции Спирмена (R). Полужирным шрифтом выделены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) связи.

связь с содержанием Шиффовых оснований в гептановой фазе липидного экстракта кожи, обратная средней силы связь с уровнем кетодиенов и сопряженных триенов, Шиффовых оснований в изопропанольной фазе. На 10-е сут ТТ зафиксирована обратная средней силы связь с содержанием кетодиенов и сопряженных триенов в гептановой фазе, кетодиенов и сопряженных триенов, оснований Шиффа в изопропанольной фазе липидного экстракта кожи. Итак, площадь ожоговой раны ассоциирована с содержанием в ее липидном экстракте продуктов ПОЛ, преимущественно вторичных и конечных в изопропанольной фазе. При экспериментальной ТТ в условиях применения ДП с МТ сохраняются аналогичные по силе связи абсолютной площади ожоговой раны практически с теми же показателями содержания продуктов ПОЛ, но положительные по своей направленности. Так, на 5-е сут наблюдения установлены прямые слабые связи содержания кетодиенов и сопряженных триенов, оснований Шиффа в изопропанольной фазе липидного экстракта кожи. На 10-е сут эксперимента отмечены прямые слабые связи с уровнем кетодиенов и сопряженных триенов, оснований Шиффа в гептановой фазе, прямая средней силы связь с содержанием кетодиенов и сопряженных триенов, а также сильная связь с содержанием оснований Шиффа в изопропанольной фазе липидного экстракта кожи. Таким образом, уменьшение площади ожога при использовании ДП с МТ ассоциировано со снижением преимущественно вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта кожи очага термического повреждения.

### Обсуждение

При ТТ в очаге повреждения кожи накапливаются продукты ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта, что отражает избыточную генерацию активных форм кислорода (АФК). Основные источники АФК и окислительного стресса после ТТ — активированные нейтрофилы, моноциты/макрофаги, эндотелиоциты с известными системами генерации АФК: НАДФН-оксидаза и МПО у фагоцитов, ксантиноксидаза у эндотелиоцитов, NO-синтаза у моноцитов/макрофагов [21]. Ключевую роль в генерации АФК при ТТ отводят нейтрофилам. ТТ вызывает дисфункцию митохондрий, обусловленную активацией комплекса  $\text{NIF1}\alpha$  —  $\text{mTORC1}$ , что сопряжено с увеличением генерации АФК, особенно в комплексе I [22]. При ТТ повышается продукция эндогенных глюкокортикоидов, которые вызывают окислитель-

ный стресс. Вклад в патогенез окислительного стресса при ТТ вносит снижение уровня в организме цинка и меди, входящих в состав СОД, за счет их потери с мочой и экссудатом в ожоговой ране, а также дефицит селена (компонент ГПО) при низком поступлении через ЖКТ после ожогов [23]. Продукты ПОЛ в очаге ТТ являются не только продуктами и участниками деструкции липидов и дизрегуляции в клетках, они связаны активацией транскрипции генов ферментов антиокислительной защиты, регуляции пролиферации и дифференцировки клеток, активации Т-лимфоцитов и др. [24]. Взаимодействие электрофильных продуктов ПОЛ с белковыми молекулами (липоксидирование) приводит к модификации последних, которые в свою очередь участвуют в механизмах клеточной сигнализации, регуляции процессов воспаления и репарации в ране.

Продемонстрированный нами в очаге повреждения ПОЛ-ограничивающий и стимулирующий репарацию эффект МТ в составе ДП при экспериментальной ТТ может быть обусловлен несколькими механизмами. Прежде всего, МТ благодаря своим липофильным свойствам быстро распределяется в межклеточном пространстве и внутри клеток посредством пассивной диффузии, а также с использованием транспортеров глюкозы (GLUT1) и олигопептидов (PEPT1/2) [25]. МТ взаимодействует с мембранными рецепторами, ассоциированными с G-белками, —  $\text{MT1}$  (Mel1a),  $\text{MT2}$  (Mel1b),  $\text{GPR50}$  (Mel1c), цитозольным рецептором  $\text{MT3}$ , связывается в ядре клетки с  $\text{ROR}\alpha$ , рецептором витамина D [26]. Рецептор  $\text{MT1}$  обнаружен в кератиноцитах и фибробластах кожи, клетках волосяного фолликула, рецептор  $\text{MT2}$  — преимущественно в эккринных железах и кровеносных сосудах кожи, меланоцитах [27]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* показано, что при повреждении кожи МТ накапливается в эпидермисе, защищая митохондрии и обеспечивая синтез АТФ. Механизмы антиоксидантного действия МТ в коже включают прямое поглощение АФК, стимуляцию синтеза через активацию генов глутатиона, активацию глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы, СОД-1, СОД-2, каталазы, гемоксидазы-1, снижение активности хинонредуктазы-2, NOS-1. Одна молекула МТ способна связывать до четырех и более АФК, а антиоксидантный эффект МТ более выражен, чем у витаминов С и Е в эквивалентной дозе. Антиоксидантный эффект МТ реализуется при поступлении МТ внутрь митохондрий через транспортер PEPT1/2, поддержание потенциала митохондриальной мембраны ( $\Delta\psi\text{ m}$ ) и увеличение окис-

лительного фосфорилирования, продукции АТФ, а не АФК. Противовоспалительное действие МТ связывают с ограничением NF- $\kappa$ B-зависимых путей внутриклеточной сигнализации. Так, после облучения кератиноцитов ультрафиолетом МТ ингибирует экспрессию многих провоспалительных факторов: iNOS, ЦОГ-2, TNF-альфа [28]. Репарация ДНК в клетках кожи регулируется МТ как опосредованно за счет указанного выше антиоксидантного действия, так и прямо в связи с увеличением экспрессии p53 [29]. Стимулирующий репарацию эффект МТ реализуется на уровне кератиноцитов, меланоцитов, фибробластов, различных популяций лейкоцитов, макрофагов.

Отметим, что натрий карбоксиметилцеллюлоза как базисный компонент ДП способствует созданию влажной среды в ожоговой ране, позволяет исключить болевые ощущения при перевязках по сравнению с «сухими» ведением ожогов, но не обладает собственным ПОЛ-ограничивающими и антиоксидантными свойствами [30, 31].

### Выводы:

1. В очаге термического повреждения кожи накопление вторичных (кетодиены и сопряженные триены) и конечных (основания Шиффа) продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта на 5-е и 10-е сут экспериментальной ТТ ассоциировано с площадью ожога.

2. Применение при экспериментальной ТТ оригинальной ДП с МТ на основе натрия карбоксиметилцеллюлозы приводит в очаге термического повреждения кожи на 5-е и 10-е сут наблюдения к снижению абсолютной и относительной площади ожога, увеличению скорости эпителизации ожоговой поверхности, на 5-е сут – к снижению уровня вторичных и конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе, на 10-е сут – к снижению вторичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе липидного экстракта.

3. Установлено, что при экспериментальной ТТ в условиях применения ДП с МТ площадь ожога снижается по мере уменьшения содержания вторичных и конечных продуктов ПОЛ преимущественно в изопропанольной фазе липидного экстракта гомогената кожи из очага термического повреждения.

### Литература

(п.п. 1-6; 13-16; 18; 21-29; 31 см. References)

7. Клычникова Е.В., Тазина Е.В., Смирнов С.В., Спиридонова Т.Г., Жиркова Е.А., Борисов В.С. и др. Взаимосвязь биохимических показателей окислительного стресса, эндогенной интоксикации

и регуляции сосудистого тонуса у больных с ожоговой травмой. *Анестезиология и реаниматология*. 2015; 60(1): 45-9.

8. Карякин Н.Н., Клеменова И.А. Технологии лечения ожогов в условиях влажной среды. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 9: 495-9.
9. Осиков М.В. Роль орозомукоида в регуляции активности систем плазменного протеолиза при экспериментальной почечной недостаточности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009; 7: 27-30.
10. Осиков М.В., Григорьев Т.А. Влияние эритропоэтина на активность систем плазменного протеолиза при экспериментальной почечной недостаточности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012; 1: 27-30.
11. Осиков М.В. Влияние эритропоэтина на процессы свободно-радикального окисления и экспрессию гликопротеинов в тромбоцитах при хронической почечной недостаточности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014; 157(1): 30-3.
12. Осиков М.В., Телешева Л.Ф., Агеев Ю.И. Влияние эритропоэтина на апоптоз лимфоцитов при экспериментальной хронической почечной недостаточности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015; 3: 326-9.
17. *Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях*. Текст: электронный. Страсбург, 1986. CouncilofEurope [сайт]. URL: <https://rm.coe.int/CoERMPublicCommonSearchServices/DisplayDCTMContent?documentId=090000168007a6a8> (дата обращения 13.04.20).
19. Васютков, В.Я. *Трофические язвы стопы и голени*. М.: Медицина; 1993.
20. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. *Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма*. Челябинск; Челябинский государственный педагогический университет; 2000.
30. Тишков Т.М., Погребняк А.В., Погребняк Л.В. Современные вспомогательные вещества. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 2(1). Available at: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=22742> (Accessed 10.12.2020).

### References

1. WHO Fact Sheet: Burns. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>. (accessed 10 June 2020)
2. Singer A.J., Boyce S.T. Burn Wound Healing and Tissue Engineering. *Journal of Burn Care & Research*. 2017; 38(3): 605-613. doi: 10.1097/BCR.0000000000000538
3. Milkovic L., CipakGasparovic A., Cindric M., Mouthuy PA., Zarkovic N. Short Overview of ROS as Cell Function Regulators and Their Implications in Therapy Concepts. *Cells*. 2019; 8(8): 793. <https://doi.org/10.3390/cells8080793>
4. Ke J., Bian X., Liu H, Li B., Huo R. Edaravone reduces oxidative stress and intestinal cell apoptosis after burn through up-regulating miR-320 expression. *Mol Med*. 2019; 25(1): 54. <https://doi.org/10.1186/s10020-019-0122-1>
5. Gegotek A., Skrzydlewska E. Biological effect of protein modifications by lipid peroxidation products. *Chem Phys Lipids*. 2019; 221: 46-52. doi: 10.1016/j.chemphyslip.2019.03.011
6. Valacchi G., Virgili F., Cervellati C., et al. OxInflammation: From Subclinical Condition to Pathological Biomarker. *Front Physiol*. 2018; 9: 858. doi: 10.3389/fphys.2018.00858
7. Klychnikova E.V., Tazina E.V., Smirnov S.V., Spiridonova T.G., Zhirkova E.A., Borisov V.S., et al. Interrelation of biochemical parameters of oxidative stress, endogenous intoxication and vascular tone regulation in patients with burn injury. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2015; 60(1): 45-9. (in Russian)

8. Karyakin N.N., Klemenova I. A technologies for the treatment of burns in a humid environment. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2015; 9: 495-9. (in Russian)
9. Osikov M.V. The role of orosomucoid in the regulation of the activity of plasma proteolysis systems in experimental renal failure. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2009; 7: 27-30. (in Russian)
10. Osikov M.V., Grigor'ev T.A. Effect of erythropoietin on the activity of plasma proteolysis systems in experimental renal failure. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2012; 1: 27-30. (in Russian)
11. Osikov M.V. The influence of erythropoietin on the processes of free radical oxidation and the expression of glycoproteins in platelets in chronic renal failure. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2014; 157(1): 30-3. (in Russian)
12. Osikov M.V., Telesheva L.F., Ageev Yu.I. Effect of erythropoietin on lymphocyte apoptosis in experimental chronic renal failure. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2015; 3: 326-9. (in Russian)
13. Tordjman S., Chokron S., Delorme R. et al. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Current Neuropharmacology*. 2017; 15(3): 434-44. doi: 10.2174/1570159x14666161228122115
14. Slominski A.T., Semak I., Fischer T.W., Kim T.K., Kleszczyński K., Hardeland R., et al. Metabolism of melatonin in the skin: Why is it important? *Experimental Dermatology*. 2017; 26(7): 563-8. doi: 10.1111/exd.13208
15. Hristova M., Tzaneva M., Bekyarova G. et al. Molecular Mechanisms of Melatonin Protection from Gastric Mucosal Apoptotic Injury in Experimental Burns. *Molecules*. 2018; 23(4): E749. doi: 10.3390/molecules23040749
16. Lee J.H., Moon J.H., Nazim U.M., Lee Y.J., Seol J.W., Eo S.K., et al. Melatonin protects skin keratinocyte from hydrogen peroxide-mediated cell death; the SIRT1 pathway. *Oncotarget*. 2016; 7: 12075-88
17. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or Other Scientific Purposes*. Available at: URL: <https://rm.coe.int/CoERMPublicCommonSearchServices/DisplayDCTMContent?documentId=090000168007a6a8> (accessed 13 may 2020). (in Russian)
18. Alexander R.T., Fowler D.R. Modeling the Distribution of Scald Type Burns in a Child. *Acad Forensic Pathology*. 2016; 6(4): 638-56.
19. Vasyutkov V.Ya. *Trophic ulcers of the foot and lower leg. [Troficheskie yazyv stopy i goleni]* Moscow: Meditsina; 1993. (in Russian)
20. Volchegorskiy I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Tseylikman V.E. *Experimental modeling and laboratory assessment of the adaptive reactions of the body. [Eksperimental'noe modelirovanie i laboratornaya otsenka adaptivnykh reaktsiy organizma]*. Chelyabinsk; Chelyabinskiy gosudarstvennyy pedagogicheskiy universitet; 2000. (in Russian)
21. Jacob S., Herndon D.N., Hawkins H.K., Enkhbaatar P., Cox R.A. Xanthine oxidase contributes to sustained airway epithelial oxidative stress after scald burn. *International Journal of Burns and Trauma*. 2017; 7(6): 98-106.
22. Nakazawa H., Ikeda K., Shinozaki S., Yasuhara S., Yu Y.M., Martyn J.A.J., et al. Coenzyme Q10 protects against burn-induced mitochondrial dysfunction and impaired insulin signaling in mouse skeletal muscle. *FEBS Open Bio*. 2019; 9(2): 348-63.
23. Lee Y.H., Bang E.S., Lee J.H., Lee J.D., Kang D.R., Hong J., et al. Serum Concentrations of Trace Elements Zinc, Copper, Selenium, and Manganese in Critically Ill Patients. *Biological Trace Element Research*. 2019; 188(2): 316-25.
24. CipakGasparovic A., Zarkovic N, Zarkovic K., et al. Biomarkers of oxidative and nitro-oxidative stress: conventional and novel approaches. *British Journal of Pharmacology*. 2017; 174(12): 1771-83.
25. Mayo J.C., Aguado A., Cernuda-Cernuda R., Alvarez-Artime A., Cepas V., Quiros-Gonzalez I., et al. Melatonin uptake by cells: an answer to its relationship with glucose? *Molecules*. 2018; 23: 1999. doi:10.3390/molecules23081999
26. Boutin J.A., Ferry G. Is there sufficient evidence that the melatonin binding Site MT3 is Quinone Reductase 2? *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2019; 368: 59-65.
27. Iryna Rusanova, Laura Martínez-Ruiz, Javier Florido, César Rodríguez-Santana, Ana Guerra-Librero, Darío Acuña-Castroviejo, et al. Protective Effects of Melatonin on the Skin: Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(19): 4948. doi: 10.3390/ijms20194948
28. Favero G., Franceschetti L., Bonomini F., et al. Melatonin as an Anti-Inflammatory Agent Modulating Inflammation Activation. *International Journal of Endocrinology*. 2017; 2017: 1835195. doi: 10.1155/2017/1835195
29. Galano A., Tan D.X., Reiter R.J. Melatonin: a versatile protector against oxidative DNA damage. *Molecules*. 2018; 23: 530. doi:10.3390/molecules23030530
30. Tishkov T.M., Pogrebnyak A.V., Pogrebnyak L.V. Modern auxiliary substances. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; 2(1). Available at: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=22742> (Accessed 10.12.2020). (in Russian)
31. Dwiyana R.F., Yogya Y., Gondokaryono S.P., Diana I.A., Suwarsa O., Ramali L.M., et al. Clinical efficacy of biocellulose, carboxymethyl cellulose and normal saline dressing in epidermolysis bullosa. *J Wound Care*. 2019; 28(10): 4-9. doi: 10.12968/jowc.2019.28.Sup10.S4

**Сведения об авторах:**

**Осиков Михаил Владимирович**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии, e-mail: prof.osikov@yandex.ru;

**Симоная Елена Владимировна**, канд. фарм. наук, доцент;

**Агеева Анна Алексеевна**, ассистент каф. патологической физиологии, e-mail: anne.ageeva.g@yandex.ru;

**Синицкий Антон Иванович**, доктор мед. наук, доцент, зав. каф. биохимии им. П.И. Лифшица, sinitskiyai@yandex.ru;

**Агеев Юрий Иванович**, канд. мед. наук, ст. преподаватель каф. патологической физиологии, e-mail: doctorageev@mail.ru