

БИОФИЗИКА

УДК 537.868; 616.361; 617.001

М. Г. Малакян

Функциональные свойства мембран эритроцитов как критерий оценки эффективности терапевтического вмешательства при комбинированных радиационно-термических травмах

(Представлено чл.-кор. НАН РА А.А. Трчуняном 2/III 2007)

Ключевые слова: КРТП, раневые покрытия, эритроциты, мембранный потенциал, проницаемость K^+

При сочетанном воздействии на организм ионизирующего излучения и сопутствующих травматических повреждений течение и тяжесть комбинированной травмы не определяются только суммой отдельных патологических процессов, а имеют свои особенности с проявлением синдрома взаимного отягощения [1]. Лучевые поражения наиболее часто встречаются в сочетании с ожоговыми повреждениями кожи. Согласно многочисленным экспериментальным и клиническим данным при комбинированных радиационно-термических поражениях (КРТП) организма заживление образовавшихся ран протекает медленно и тяжело, что связано с эффектами облучения [2-6].

Закрытие раневой поверхности является одной из первоочередных задач при проведении лечебных мероприятий при КРТП. В настоящее время имеется большой арсенал самых разнообразных раневых покрытий, отличающихся по химическому составу основы и физико-химическим свойствам входящих в их состав лекарственных веществ. Однако создание новых, более совершенных раневых аппликаций и исследование их терапевтической эффективности остается актуальным направлением в области создания полимерных материалов для медицинских целей.

Эффективность раневых покрытий при такой специфической патологии, как КРТП, определяется как на основе проведения разнопрофильных исследований, включающих анализ гистологических, цитологических, гематологических, биохимических, биофизических, морфологических данных, так и

учета особенностей данной патологии. КРТП воспринимается организмом как единый обобщенный многофакторный поражающий агент с множественными "точками" приложения, различающимися по виду, характеру и тяжести первичного поражения. В числе других повреждаются и эритроциты, что происходит как непосредственно в результате прямого действия на них термического фактора в месте и в момент ожогового поражения, так и в дальнейшем, в результате прогрессирующего воздействия на них массы различных циркулирующих в крови биологически активных веществ, формирование которых происходит вследствие как облучения, так и ожоговой травмы. Общность строения плазматических мембран различных органов и тканей позволяет полагать, что процессы, происходящие в эритроцитарной мембране, отражают изменения в мембранах клеток других органов и тканей. Исходя из этого предполагается, что исследование определенных свойств эритроцитарных мембран при воздействии на организм внешних повреждающих факторов может дать сведения не только о состоянии функциональной активности мембран, конкретно, эритроцитов, но и являться нетрадиционным источником адекватной информации в дополнение к объективным клиническим данным, на основе которых можно судить об эффективности проводимого терапевтического вмешательства.

В данной работе проведено исследование мембранного потенциала эритроцитов и проницаемости мембран этих клеток для ионов K^+ у животных, подвергнутых КРТП, раневая поверхность которых сразу же после получения травмы покрывалась тонким слоем полимерного материала гелеобразной консистенции. Для тестирования в опытах на животных были отобраны образцы "274К+Я", "281К+Я", "171+Я" и "171+Я+йод", использование которых в качестве раневых покрытий имело целью предотвратить инфицирование раны извне, обеспечить рост грануляционной ткани, стимулировать репаративные процессы в тканях раневого ложа. Образцы получены в НИИ "Пластполимер" (Ереван, Армения) на основе модифицированного поливинилового спирта. В составе первых трех вышеуказанных образцов присутствует янтарная кислота, а в составе последнего образца, помимо янтарной кислоты, имеется йод. Их выбор среди других разработанных полимерных материалов был сделан с учетом предварительно полученных в условиях *in vitro* результатов токсикологических и бактериологических анализов, свидетельствующих о нетоксичности для организма и бактериостатическом действии этих образцов. С другой стороны, заданные физико-химические свойства должны были обеспечивать необходимый уровень газообмена, высокую адгезивность и прикрепление к раневой поверхности, впитывание раневого экссудата. Включение янтарной кислоты в структуру

гелевого материала было предусмотрено с целью стимулирования метаболических процессов в ране и ускорения репарации кожного покрова [7, 8]. Дополнительное же введение йода вместе с янтарной кислотой в структуру четвертого образца было обусловлено тем, что в связи с появлением и распространением резистентных к антибиотикам и антисептикам штаммов бактерий все большее внимание во всем мире фокусируется на более "традиционные" методы предупреждения и лечения инфекций при острых и хронически незаживающих ранах, в том числе на использование йода для обработки инфицированных ран [9, 10].

Предполагалось, что при наличии терапевтического эффекта у животных с КРТП, ожоговая поверхность которых закрывалась исследуемыми полимерными материалами, опосредованно, но определенным образом должны будут восстановиться также и функциональные свойства эритроцитов, нарушение которых было спровоцировано комбинированным лучевым и термическим повреждением.

Эксперименты проведены на белых крысах массой тела 180-200 г. Животные были распределены по следующим группам: а) интактные крысы - "норма" (5 шт.); б) животные, подвергнутые КРТП без проведения какого-либо последующего лечебного мероприятия - "контроль" (18 шт.); в) животные с КРТП, раневая поверхность которых покрывалась гелем "274К+Я" (18 шт.); г) животные с КРТП, раневая поверхность которых покрывалась гелем "281К+Я" (18 шт.); д) крысы с КРТП, раневая поверхность которых покрывалась гелем "171+Я" (18 шт.); е) крысы с КРТП, раневая поверхность которых покрывалась гелем "171+Я+йод" (18 шт.).

КРТП моделировали следующим образом: животных сначала облучали в дозе 500 рентген на рентген-установке РУМ-17. Затем через 8-10 мин после облучения с помощью нагретой до 250°C медной пластины (12 см²) на предварительно депилированную поверхность спины наносили ожоговую травму IIIa степени. Рану обрабатывали фурацилином и однократно покрывали тонким слоем гелей, хорошо фиксирующихся на раневой поверхности. На 7, 14 и 28 сутки после КРТП животных декапитировали, получали пробы крови и определяли следующие показатели:

- мембранный потенциал (МП) эритроцитов - по уровню равновесного распределения ионов водорода между наружной и внутренней стороной эритроцитарной мембраны [11];
- скорость выходного тока K^+ из эритроцитов (P_K^+) - по результатам нарастания концентрации K^+ в изотонической среде NaCl в течение 1 ч инкубации эритроцитов при 37°C.

Мембранный потенциал эритроцитов и скорость выходного тока K^+ из эритроцитов крови животных, подвергнутых КРТП с однократным покрытием раневой поверхности изучаемыми гелеобразными материалами

(МП_{норма}: -13.63 ± 0.34 мВ; P_K^+ _{норма}: $1.34 \pm 0.15 \times 10^{-9}$ см/с)

Экспериментальная группа	Сроки исследования после КРТП					
	7 сутки		14 сутки		28 сутки	
	МП (-мВ)	P_K^+ ($\times 10^{-9}$ см/с)	МП (-мВ)	P_K^+ ($\times 10^{-9}$ см/с)	МП (-мВ)	P_K^+ ($\times 10^{-9}$ см/с)
КРТП	-10.48 ± 0.98 $P_1 < 0.05$ $n = 5$	1.86 ± 0.20 $P_1 < 0.01$ $n = 5$	-11.64 ± 0.36 $P_1 < 0.05$ $n = 5$	2.03 ± 0.15 $P_1 < 0.001$ $n = 5$	-11.61 ± 0.40 $P_1 < 0.05$ $n = 6$	1.76 ± 0.07 $P_1 < 0.05$ $n = 6$
КРТП + "274К + Я"	-12.85 ± 1.23 $P_1 > 0.05$ $P_2 < 0.05$ $n = 5$	1.65 ± 0.39 $P_1 > 0.05$ $P_2 > 0.05$ $n = 5$	-9.05 ± 1.17 $P_1 < 0.05$ $P_2 > 0.05$ $n = 5$	2.06 ± 0.54 $P_1 < 0.001$ $P_2 > 0.05$ $n = 5$	-10.25 ± 0.54 $P_1 < 0.05$ $P_2 > 0.05$ $n = 7$	2.39 ± 0.11 $P_1 < 0.02$ $P_2 < 0.05$ $n = 7$
КРТП + "281К + Я"	-13.14 ± 0.52 $P_1 > 0.05$ $P_2 < 0.05$ $n = 5$	1.82 ± 0.06 $P_1 < 0.01$ $P_2 > 0.05$ $n = 5$	-15.66 ± 0.34 $P_1 < 0.01$ $P_2 < 0.01$ $n = 5$	1.07 ± 0.12 $P_1 < 0.05$ $P_2 < 0.01$ $n = 5$	-10.22 ± 0.41 $P_1 < 0.05$ $P_2 > 0.05$ $n = 8$	5.06 ± 0.29 $P_1 < 0.001$ $P_2 < 0.001$ $n = 8$
КРТП + "171 + Я"	-11.72 ± 1.23 $P_1 > 0.05$ $P_2 > 0.05$ $n = 5$	1.89 ± 0.09 $P_1 < 0.01$ $P_2 > 0.05$ $n = 5$	-11.02 ± 0.87 $P_1 < 0.05$ $P_2 > 0.05$ $n = 5$	2.93 ± 0.01 $P_1 < 0.001$ $P_2 < 0.001$ $n = 5$	-11.37 ± 0.54 $P_1 < 0.02$ $P_2 > 0.05$ $n = 8$	1.91 ± 0.11 $P_1 < 0.05$ $P_2 > 0.05$ $n = 8$
КРТП + "171 + Я + йод"	-11.83 ± 0.67 $P_1 > 0.05$ $P_2 > 0.05$ $n = 5$	0.55 ± 0.07 $P_1 < 0.01$ $P_2 < 0.002$ $n = 5$	-13.34 ± 0.49 $P_1 > 0.05$ $P_2 < 0.05$ $n = 5$	2.11 ± 0.06 $P_1 < 0.01$ $P_2 > 0.05$ $n = 5$	-11.35 ± 0.41 $P_1 < 0.002$ $P_2 > 0.05$ $n = 6$	1.92 ± 0.15 $P_1 < 0.05$ $P_2 > 0.05$ $n = 6$

Примечание: P_1 - достоверность относительно нормы; P_2 - достоверность относительно контрольной группы с КРТП; n - количество животных.

Статистическую обработку полученных результатов проводили на основе вычисления среднеарифметического значения и стандартной ошибки. Достоверность определялась с учетом t -критерия Стьюдента. Данные считались достоверными при $P < 0.05$.

Согласно полученным данным к концу срока исследования в группах

"контроль" и "171 + Я + йод" погибло по две крысы, в группе "274К + Я" - одна крыса, а в группах "281К + Я" и "171 + Я" погибших не было. Визуальное субъективное периодическое наблюдение за раневой поверхностью животных, у которых были применены раневые покрытия, и сравнение с таковой у животных контрольной группы давало основание сделать заключение о благоприятном эффекте испробованных гелеобразных материалов на ранозаживление.

Результаты определения показателей функционального состояния мембран эритроцитов экспериментальных животных, полученные на 7, 14 и 28 сутки после КРТП (таблица), свидетельствовали о существенных патологических сдвигах в величине P_K^+ ; эти показатели не восстанавливаются до конца срока исследования у животных как контрольной, так и остальных опытных групп.

По-видимому, изменения в показателе P_K^+ обусловлены, прежде всего, достаточно сильной ожоговой травмой, при которой, как известно, происходит усиленный выход ионов калия из эритроцитов. Очевидно, эти нарушения настолько глубоки и, тем более, отягощены лучевой патологией, что проведение монотерапии в виде только однократного использования раневых аппликаций не отражается в коррекции P_K^+ .

При наличии существенных изменений в ион-транспортных свойствах клеточных мембран закономерно возникают определенные сдвиги в величине МП. Анализы показали, что за редким исключением почти во все сроки исследования у животных опытных групп по сравнению с нормой были получены статистически достоверные, но недостоверно отличающиеся от показателей нелеченых животных из группы контроля изменения в величине МП эритроцитов. Таким образом, применение раневых аппликаций не имело эффекта при восстановлении функциональной активности мембран эритроцитов у животных, подвергнутых КРТП. Однако в то же время, вероятно, благодаря физико-химическим свойствам этих покрытий и биологически активным включениям в их составе, наблюдалось сравнительно благоприятное течение процессов ранозаживления.

На основе полученных результатов можно заключить, что данные о функциональном состоянии мембран эритроцитов при КРТП могут быть полезны тогда, когда проводится комплексное лечение, нацеленное на улучшение общего состояния организма, параллельно включающее также применение раневых покрытий. Только в этом случае возможно получение адекватной информации для характеристики эффективности терапевтических мероприятий. Данные же субъективных визуальных наблюдений могут свидетельствовать о местных благотворных эффектах изучаемых полимерных

материалов, которые могут подтвердиться только результатами цитологических и гистологических анализов.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта А-948 МНТЦ.

Центр травматологии, ортопедии, ожогов и радиологии МЗ РА

М.Г. Малакян

Функциональные свойства мембран эритроцитов как критерий оценки эффективности терапевтического вмешательства при комбинированных радиационно-термических травмах

Изучены мембранный потенциал и K^+ проницаемость мембран эритроцитов у крыс, подвергнутых комбинированной радиационно-термической травме (КРТП) с однократным покрытием раневой поверхности новыми гелеобразными полимерными материалами, разработанными на основе модифицированного поливинилового спирта с введением янтарной кислоты и йода в структуру. Предполагается, что показатели функциональной активности эритроцитов могут являться критерием оценки эффективности терапевтического вмешательства при КРТП в случае, если предпринимается комплексное лечение общего состояния организма.

Մ. Ն. Մալաթյան

Էրիթրոցիտների թաղանթների ֆունկցիոնալ հատկությունները որպես բուժական միջամտությունների արդյունավետության գնահատման չափանիշ՝ համակցված ճառագայթային և ջերմային վնասվածքների ժամանակ

Ուսումնասիրվել են ճառագայթային և ջերմային համակցված վնասվածքի /ՃՋՆՎ/ ենթարկված սպիտակ առնետների էրիթրոցիտների թաղանթային պոպոցիալը և K^+ թափանցելիությունը՝ մեկ անգամ ծածկելով վերքային մակերեսը պոլիվինիլային սպիրտի հիման վրա ստեղծված մոդիֆիկացված նոր գելանման պոլիմերային նյութերով: Ենթադրվում է, որ էրիթրոցիտների ֆունկցիոնալ հատկության ցուցանիշները կարող են ճՋՆՎ ժամանակ կատարվող բուժական միջամտությունների արդյունավետության գնահատման չափանիշ լինել այն դեպքում, երբ ձեռնարկվում է օրգանիզմի ընդհանուր վիճակի կոմպլեքս բուժում:

Erythrocytes Membrane Functional Properties as Valuable Criterion for Evaluation of Therapeutic Interventions Efficacy in Case of Combined Radiation and Thermal Injury

Erythrocytes membrane potential and K^+ permeability in rats exposed to combined radiation and thermal injury (CRTI) were studied. Single application of new gel-like wound coverings developed on the base of modified poly(vinyl) alcohol with the introduction of succinic acid and Iodine into the structure was used. It is supposed that erythrocyte membrane functional properties might serve as the criterion for evaluation of efficacy therapeutic interventions in case of CRTI only when the complex treatment of the organism is undertaken.

Литература

1. Engelhardt M., Kaffenberger W., Abend M., Gerngross H., Willy C. - Unfallchirurg. 2001. V. 104(4). P. 333-342.
2. Ran X., Cheng T., Shi C., Xu H., Qu J., Yan G. - J. Trauma. 2004. V. 57(5). P. 1087-1093.
3. Gorodetsky R., McBride W.H., Withers H.R. - Radiat Res. 1998. V. 116. P. 135-144.
4. Jagetia G.C., Rajanikant G.K., Baliga M.S., Rao K.V., Kumar P. - Int. J. Radiat. Biol. 2004. V. 80(5). P. 347-354.
5. Wang Q., Dickson G.R., Abram W.P., Carr K.E. - Br. J. Dermatol. 1994. V. 130(5). P. 551-560.
6. Gu Q., Wang D., Cui C., Gao Y., Xia G., Cui X. - J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. 1998. V. 17(2). P. 117-123.
7. Vereshchako G.G., Khodosovskaya A.M., Artemenko O.V., Konoplya E.F. - Bull. Exp. Biol. Med. 2002. Apr. V. 133(4). P. 363-365.
8. Karasulova E.L., Khloponin P.A., Popkov V.L., Galenko-Yaroshevskii P.A., - Bull. Exp. Biol. Med. 2003. V. 136(5). P. 509-514.
9. Wormser U., Sintov A., Brodsky B., Amitai Y., Nyska A. - Toxicologic Pathology. 2002. V. 30. N 5. P. 552-558.
10. Flynn J. - Br. J. Community Nurs. 2003. V 8(6 Suppl). P. 36-42.
11. Macey R.I., Adorante J.S., Orme F.W. - Biochem. Biophys. Acta. 1978. V. 512. P. 284-295.