

ЛОКАЛЬНЫЙ АНТИОКСИДАНТНЫЙ ЭФФЕКТ ОРИГИНАЛЬНОЙ ДЕРМАЛЬНОЙ ПЛЕНКИ С МЕЛАТОНИНОМ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

М. В. Осиков¹, Е. В. Симонян¹, А. А. Агеева¹✉, Ю. И. Агеев¹, А. А. Федосов², А. И. Синицкий¹

¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Эскалация оксидативного стресса (ОС) при термической травме (ТТ) и плейотропные эффекты мелатонина (МТ) являются предпосылкой для изучения его протекторных свойств в составе новой дермальной пленки (ДП) при ожогах кожи. Цель работы — оценить содержание маркеров ОС в коже при экспериментальной ТТ и применении ДП с МТ. ТТ IIIA степени площадью 3,5% моделировали погружением участка кожи в кипящую воду. ДП площадью 12 см² с МТ в концентрации 5 мг/г наносили ежедневно в течение 5 сут. Вычисляли площадь раны и скорость ее эпителизации. В ожоговой ране определяли продукты пероксидного окисления липидов (ПОЛ) в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта, продукты окислительной модификации белков (ОМБ) в спонтанном и металл-зависимом режимах. При ТТ в ране на 5-е и 10-е сут. увеличилось содержание вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах, суммарное содержание продуктов ОМБ за счет первичных продуктов нейтрального характера на 5-е сут., первичных и вторичных продуктов нейтрального характера на 10-е сут. Применение ДП при ТТ уменьшило площадь ожога, увеличило скорость эпителизации раны (на 10-е сут. по медиане с 1,90% до 6,57%; $p < 0,05$), снизило содержание в изопропанольной фазе вторичных и конечных (на 10-е сут. по медиане с 0,007 до 0,004 е.и.о.; $p < 0,05$) продуктов ПОЛ, снизило суммарное содержание продуктов ОМБ на 5-е сут. за счет первичных продуктов нейтрального характера, на 10-е сут. за счет первичных и вторичных продуктов нейтрального характера. При ТТ в условиях применения МТ площадь ожога ассоциирована с содержанием в ране вторичных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах, конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе, суммарным содержанием продуктов ОМБ, содержанием первичных, вторичных, основного и нейтрального характера продуктов ОМБ.

Ключевые слова: термическая травма, окислительный стресс, мелатонин, дермальная пленка

Вклад авторов: М. В. Осиков — концепция и дизайн исследования, интегральный анализ полученных данных, написание текста, редактирование рукописи; Е. В. Симонян — набор экспериментального материала, анализ полученных данных; А. А. Агеева — набор экспериментального материала, статистическая обработка и анализ полученных данных, написание текста; Ю. И. Агеев — набор экспериментального материала, статистическая обработка и анализ полученных данных; А. А. Федосов — анализ результатов, редактирование рукописи; А. И. Синицкий — набор экспериментального материала, редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Южно-Уральского государственного медицинского университета г. Челябинск (протокол № 10 от 15 ноября 2019 г.), выполнено в стандартных условиях вивария при строгом соблюдении требований по уходу и содержанию животных, а также выводу их из эксперимента с последующей утилизацией в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123 от 18 марта 1986 г., Страсбург), Рекомендациями Европейской комиссии 2007/526/ЕС от 18 июня 2007 г. по содержанию и уходу за животными, используемыми в экспериментальных и других научных целях, а также Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях в соответствии с правилами гуманного отношения к животным, методическими рекомендациями по их выведению из опыта и эвтаназии.

✉ **Для корреспонденции:** Анна Алексеевна Агеева
ул. Воровского, д. 64, г. Челябинск, 454092; anne.ageeva.r@yandex.ru

Статья получена: 03.10.2020 **Статья принята к печати:** 23.10.2020 **Опубликована онлайн:** 10.11.2020

DOI: 10.24075/vrgmu.2020.070

LOCAL ANTIOXIDANT EFFECT OF ORIGINAL DERMAL FILM WITH MELATONIN IN THERMAL INJURY

Osikov MV¹, Simonyan EV¹, Ageeva AA¹✉, Ageev Yul¹, Fedosov AA², Sinitsky AI¹

¹ South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Oxidative stress (OS) escalation associated with thermal trauma (TT) and pleiotropic effects of melatonin (MT) suggest a study of protective properties of the latter when applied as part of a novel dermal film (DF) to skin burns. This work aimed to assess the content of OS markers in the skin subjected to experimental TT and treated with DF with MT. Third A degree TT (area of 3.5%) were modeled by immersing a patch of skin in boiling water. Twelve cm² of DF with 5 mg/g of MT were applied daily for 5 days. The parameters calculated were wound's area and epithelialization rate. The products monitored in the burn wound were lipid peroxidation (LPO) products in heptane and isopropanol phases of the lipid extract and protein oxidative modification (POM) products, the modification being spontaneous and metal-dependent. With TT in the wound, the content of secondary and end LPO products in heptane and isopropanol phases increased on the 5th and 10th days; the total content of POM products grew on the 5th day (primary products, neutral) and on the 10th day (primary and secondary products, neutral). Application of DF to a TT wound reduced the burn area, increased the epithelialization rate (by the 10th day, the median went from 1.90% to 6.57%; $p < 0.05$), reduced the content of secondary and end LPO products in isopropanol phase (by the 10th day, the median went from 0.007 to 0.004 u.o.i.; $p < 0.05$), reduced the total content of OMP products, namely that of primary neutral products — on the 5th day, of primary and secondary neutral products — on the 10th day. With TT present in the context of MT application, the burn area showed presence of secondary LPO products in heptane and isopropanol phases, LPO end products in isopropanol phase, POM products in the wound (basic and neutral primary/secondary POM products).

Keywords: thermal trauma, oxidative stress, melatonin, dermal film

Author contribution: MV Osikov — study concept and design, integrated analysis of the data obtained, authoring, manuscript editing; EV Simonyan — experimental material collection, analysis of the data obtained; AA Ageeva — experimental material collection, statistical processing and analysis of the data obtained, authoring; Yul Ageev — experimental material collection, statistical processing and analysis of the data obtained; AA Fedosov — analysis of the results, manuscript editing; AI Sinitsky — experimental material collection, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the South Ural State Medical University, Chelyabinsk (Minutes #10 of November 15, 2019), carried out in standard vivarium conditions with strict adherence to the requirements for animal keeping and care, as well as withdrawal of animals from the experiment and subsequent disposal in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or Other Scientific Purposes (ETS № 123 of March 18, 1986, Strasbourg), EC Recommendations 2007/52/EC of June 18, 2007 outlining procedures of keeping and care for animals used for experimental and other scientific purposes, as well as the European Parliament and EU Council Directive 2010/63/EU of September 22, 2010 on protection of animals used for scientific purposes as governed by the rules of humane treatment of animals, guidelines for their withdrawal from experiments and euthanasia.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anna A. Ageeva
Vorovskogo, 64, Chelyabinsk, 454092; anne.ageeva.r@yandex.ru

Received: 03.10.2020 **Accepted:** 23.10.2020 **Published online:** 10.11.2020

DOI: 10.24075/brsmu.2020.070

Ежегодно в Российской Федерации регистрируют около 250 тыс. случаев ожогов, из них на долю термической травмы (ТТ) приходится около 80% [1]. Наиболее частыми причинами ТТ являются горячая жидкость и пламя, у двух третей больных площадь ожога составляет менее 10% поверхности тела [2]. Изучение патофизиологии ожоговой раны актуально для ограничения ее прогрессирования и разработки новых патогенетически обоснованных методов сохранной некрэктомии и закрытия раны, современных заменителей. Скорость заживления ожоговой раны, неблагоприятный исход и формирование осложнений при ТТ зависят не только от площади и глубины повреждения, выраженности воспалительного, острофазового ответа и иммунных реакций, но и от локального редокс-статуса [3]. Основными мишенями свободных радикалов в коже служат липиды и белки, продуктами такого взаимодействия выступают метаболиты пероксидного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белков (ОМБ) соответственно. Показана роль продуктов ПОЛ в повреждении ДНК, мутагенных и канцерогенных эффектах, модификации мембранных белков, ферментов, сигнальных молекул [4]. В патогенезе ТТ взаимосвязь воспаления и редокс-статуса в рамках концепции «OxInflammation» описывает проокислительный потенциал очага повреждения с положительной обратной связью с событиями воспалительного процесса, перекрестные взаимодействия медиаторов воспаления и редокс-статуса с возможным исходом в SIRS [5]. Биомаркерами «OxInflammation», в том числе, выступают гидроперекиси липидов 4-гидрокси-2-ноненаль и малоновый диальдегид, карбонильные производные белков 3-нитротирозин, гидроксигуанозин и др. Обнаружение альдегид- или кетонсодержащих карбонильных производных белков (продуктов ОМБ) и продуктов ПОЛ как маркеров окислительного стресса и эффективности применения антиоксидантов при патологических ситуациях представляет несомненный интерес [6].

Для локальной терапии термических поражений кожи ограниченной площади в настоящее время чаще всего применяют разные виды раневых покрытий, они позволяют исключить болевые ощущения при перевязках, создать «влажную» среду в ране, способствующую дифференцировке клеток, эффективному межклеточному взаимодействию и сокращению сроков лечения. Применяют абсорбирующие повязки, атравматичные (чаще тюлевые) на основе натуральных волокон, порошковые (ксерогелевые), губчатые из пористого материала, гидрогелевые повязки из нерастворимых полимеров, гидроколлоидные из гелеобразующих веществ, пленочные повязки из полупроницаемых полимерных материалов и др. [7]. Универсального покрытия нет, выбор повязки зависит от стадии раневого процесса, степени экссудации и наличия осложнений. Около 80% раневых покрытий выпускают зарубежные фирмы-производители, поэтому исследования по разработке оригинальной дермальной пленки (ДП) востребованы и перспективны. В состав пленочных покрытий могут входить различные фармакологически активные вещества (антимикробные, антисептические, анальгетики и др.), особый интерес вызывают эндогенные регуляторы гомеостаза с плейотропными эффектами [8–11]. Мелатонин (МТ) наряду с регуляцией ритмов сна и бодрствования обладает мультитропными эффектами, включая антиоксидантное действие, про- и противовоспалительное, иммуномодулирующее, антиапоптогенное, регулирующее

пролиферацию и дифференцировку клеток, анти-aging и др., которые привлекают внимание в связи с возможностью применения МТ для терапии заболеваний [12]. Сведения о локальном применении МТ в составе ДП при ТТ в доступной литературе отсутствуют.

Целью исследования было оценить содержание маркеров окислительного стресса в коже при экспериментальной ТТ в условиях применения оригинальной ДП с МТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 88 крысах-самцах линии Wistar массой 200–240 г. Животные были случайным образом разделены на три группы: группа 1 ($n = 20$) — интактный контроль; группа 2 ($n = 36$) — животные с ТТ; группа 3 ($n = 32$) — животные с ТТ в условиях применения 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. Экспериментальную модель с использованием горячей воды исследователи наиболее часто рассматривают как стандарт ТТ. Для анестезии использовали препарат «Золетил 100» (тилетамин, золазепам) (Virbac Sante Animale; Франция) в дозе 20 мг/кг. Пленку с МТ площадью 12 см² в группе 3 наносили сразу после ТТ, закрепляя асептической повязкой, перевязку осуществляли ежедневно в течение 5 суток. В предварительных исследованиях был разработан состав ДП на основе натрийкарбоксиметилцеллюлозы (поли-1,4-β-О-карбоксиметил-Д-пиранозил-Д-гликопираноза натрия), включен МТ в концентрации 5 мг/г, проведена ее оценка по фармако-технологическим параметрам: органолептическим показателям (вид, цвет, прозрачность, эластичность, наличие примесей и микротрещин), адгезивной способности, механической прочности на разрыв, толщине (заявка на патент № 2020118766). Для вычисления площади раны через 24 ч, на 5-е и 10-е сутки после ТТ методом цифровой планиметрии использовали фотокамеру «Nikon Coolpix S2800» (Nikon; Китай) и пакет программ «Microsoft Office Visio» (Microsoft; США). 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 дней между измерениями. Площадь раны в последующих измерениях определяли в %, принимая за 100% площадь до лечения, результат выражали в % / сут.

Для приготовления 10% гомогената кожи ожоговую рану иссекали, помещали в охлажденный 0,1 М раствор фосфатного буфера (рН 7,4), после около 40 мг ткани гомогенизировали в стеклянном механическом гомогенизаторе в соотношении 1 : 10 в течение 3 мин при 4 °С с последующим получением 1 мл гомогената. Содержание продуктов ПОЛ в гомогенате определяли экстракционно-спектрофотометрическим методом на спектрофотометре «СФ-56» («ЛОМО-Спектр»; Санкт-Петербург) по описанной ранее методике [13]. В гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта измеряли оптическую 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). Продукты

ОМБ в гомогенате определяли по реакции карбонильных производных белков с 2,4-динитрофенилгидразином в спонтанном и металлзависимом по реакции Фентона режимах с последующей регистрацией на спектрофотометре альдегиддинитрофенилгидразонов (АДНФГ) и кетондинитрофенилгидразонов (КДНФГ) в ультрафиолетовой (УФ) части спектра и области видимого света [14]. Результат выражали в единицах оптической плотности на 1 мг белка (у.е./мг) или в относительных величинах (%). Резервноадаптационный потенциал (РАП, %) рассчитывали, как отношение разницы суммарного содержания продуктов ОМБ в индуцированном и спонтанном режимах к содержанию продуктов ОМБ в металлзависимом режиме. Результаты обрабатывали с использованием программы IBM SPSS Statistics 19 (SPSS: An IBM Company; США). Показатели представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q_1 – Q_3). Значимость различий между группами оценивали при помощи критериев Краскелла–Уоллиса, Манна–Уитни, Вальда–Вольфовитца. Для выявления связи между изучаемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (R). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При оценке параметров репарации ожоговой раны обнаружено, что в динамике наблюдений на 10-е сутки наблюдения по сравнению с 5-ми сутками эксперимента уменьшаются абсолютная площадь и относительная площадь раневого дефекта, что приводит к увеличению расчетных показателей — скорости эпителизации раны и доли уменьшения ее площади (табл. 1). На 5-е и 10-е сутки экспериментальной ТТ выявлены изменения содержания продуктов ПОЛ в гомогенате кожи, полученном из ожоговой раны (рис. 1, 2). Так, на 5-е сутки в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта статистически значимо увеличилось содержание кетодиенов, сопряженных триенов и Шиффовых оснований. Как известно, в гептановой фазе происходит накопление преимущественно резервных липидов (триацилглицеридов), а в изопропанольной — мембранных фосфолипидов. Оценка содержания продуктов ПОЛ на 10-е сутки ТТ выявила в гептановой фазе липидного экстракта значимое повышение кетодиенов и сопряженных триенов, Шиффовых оснований, в изопропанольной фазе — повышение только Шиффовых оснований. Содержание в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта гомогената кожи ожоговой раны первичных продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов) значимо не изменилось на 5-е и 10-е сутки (рис. 2). В динамике ТТ содержание продуктов ПОЛ в ожоговой ране

снижается: на 10-е сутки по сравнению с 5-ми сутками в гептановой фазе липидного экстракта снижается ($p < 0,01$) содержание Шиффовых оснований, в изопропанольной фазе ($p < 0,01$) — содержание кетодиенов, сопряженных триенов и Шиффовых оснований.

Результаты исследования продуктов ОМБ в гомогенате кожи ожоговой раны представлены в табл. 2. На 5-е и 10-е сутки эксперимента увеличилось суммарное количество продуктов ОМБ. В динамике ТТ суммарное содержание продуктов ОМБ возросло на 10-е сутки по сравнению с 5-ми ($p < 0,01$). При анализе содержания компонентов ОМБ в гомогенате кожи ожоговой раны в спонтанном режиме выявлено, что на 5-е сутки ТТ значимо увеличилось содержание АДНФГ в области УФ-света, суммарное содержание АДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в УФ-части спектра. Содержание в гомогенате кожи ожоговой раны на 5-е сутки КДНФГ в УФ- и видимой части спектра значимо не изменилось. На 10-е сутки ТТ зафиксированы неоднозначные изменения различных продуктов ОМБ в ожоговой ране: увеличилось количество АДНФГ и КДНФГ в УФ-части спектра, содержание АДНФГ и КДНФГ в видимой части спектра значимо снизилось. Как следствие, на 10-е сутки ТТ увеличилось суммарное содержание АДНФГ и КДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в УФ-части спектра, снизилось суммарное содержание продуктов ОМБ в видимой части спектра. Отметим, что суммарное содержание продуктов ОМБ в видимой части спектра на 10-е сутки значимо ($p < 0,01$) выше, чем на 5-е сутки.

Проведена оценка РАП в гомогенате кожи ожоговой раны при экспериментальной ТТ путем вычисления разницы между содержанием продуктов ОМБ в металлдуцированном и спонтанном режимах и ее доли в содержании продуктов ОМБ в металлдуцированном режиме (см. табл. 2). Для этого исследовали содержание продуктов ОМБ в гомогенате кожи ожоговой раны после индукции окисления белков компонентами реакционной смеси, содержащей Fe^{2+} и H_2O_2 , что сопровождается образованием высокорекреационного радикала OH — в реакции Фентона. Это позволяет оценить прирост образования *in vitro* под действием реактива Фентона результатов измерения продуктов спонтанного окисления к индуцированному. Обнаружено, что показатели ОМБ в металлдуцированном режиме в гомогенате кожи ожоговой раны повысились на 5-е и 10-е сутки экспериментальной ТТ в отношении суммарного содержания продуктов ОМБ, содержания АДНФГ и КДНФГ при оценке в области как УФ, так и видимого спектра. Кроме этого, увеличилось суммарное содержание АДНФГ и КДНФГ в области УФ и видимого спектра, а также

Таблица 1. Влияние МТ в составе ДП на показатели репарации раны при экспериментальной ТТ (Me (Q_{25} ; Q_{75}))

Показатель	Группа 2 ТТ 5-е сутки (n = 16)	Группа 2 ТТ 10-е сутки (n = 20)	Группа 3 ТТ+МТ 5-е сутки (n = 16)	Группа 3 ТТ+МТ 10-е сутки (n = 16)
Площадь ожога, см ²	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: * — статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 2 на 5-е сутки; # — с группой 2 на соответствующие сутки.

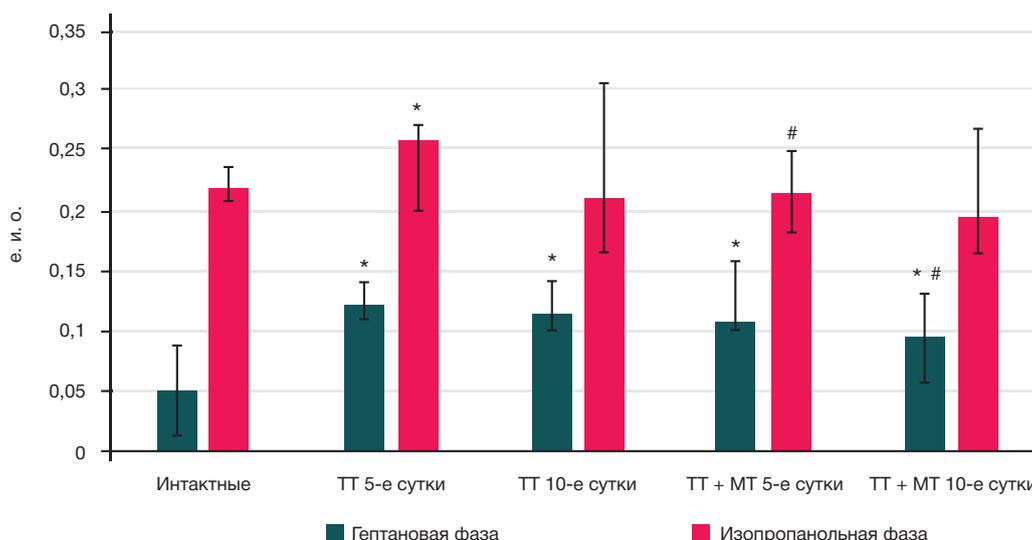


Рис. 1. Влияние МТ в составе ДП на содержание кетодиенов и сопряженных триенов в гептановой и изопропанольной фазах гомогената кожи при экспериментальной ТТ (Ме (Q_{25} ; Q_{75})). * — статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1; # — с группой 2

суммарное содержание продуктов ОМБ в УФ и видимой части спектра. Как видно, изменения показателей ОМБ в металлндуцированном режиме по своей направленности соответствуют изменениям показателей ОМБ в спонтанном режиме на 5-е сутки и, за исключением содержания продуктов ОМБ в видимой части спектра, на 10-е сутки ТТ. Общий РАП, оцениваемый по суммарному содержанию продуктов ОМБ, значимо повысился на 5-е сутки и не изменился на 10-е сутки экспериментальной ТТ. Данное изменение РАП на 5-е сутки ТТ обусловлено его повышением в отношении АДНФГ и КДНФГ в области УФ и видимого спектра, но преимущественно — АДНФГ в области видимого спектра и КДНФГ в области УФ и видимого спектра. Общий РАП при ТТ на 10-е сутки значимо ($p < 0,01$) снижался по сравнению с 5-ми сутками эксперимента.

Установлено, что применение ДП с МТ при ТТ приводит к статистически значимому уменьшению площади ожоговой раны в абсолютных величинах на 5-е и 10-е сутки, в относительных величинах — на 10-е сутки (см. табл. 1). На 5-е и 10-е сутки наблюдения увеличились скорость эпителизации раны и относительное

уменьшение площади раны. На 5-е сутки ТТ абсолютная площадь ожоговой поверхности уменьшилась на 11% по медиане, максимальные изменения зафиксированы на 10-е сутки, 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 динамике экспериментальной ТТ на 10-е сутки по сравнению с 5-ми сутками значимо ($p < 0,01$) уменьшилась площадь ожога, увеличились скорость эпителизации раны и относительное уменьшение площади раны. В условиях применения МТ в составе ДП нами зафиксированы изменения содержания продуктов ПОЛ в липидном экстракте гомогената кожи ожоговой раны при ТТ (см. табл. 2). На 5-е сутки наблюдения статистически значимо уменьшилось содержание кетодиенов и сопряженных триенов, а также Шиффовых оснований в изопропанольной фазе липидного экстракта. Содержание диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов, а также оснований Шиффа в гептановой фазе, и оснований Шиффа в изопропанольной фазе липидного экстракта значимо не отличалось от содержания у группы животных с ТТ без применения ДП с МТ. На

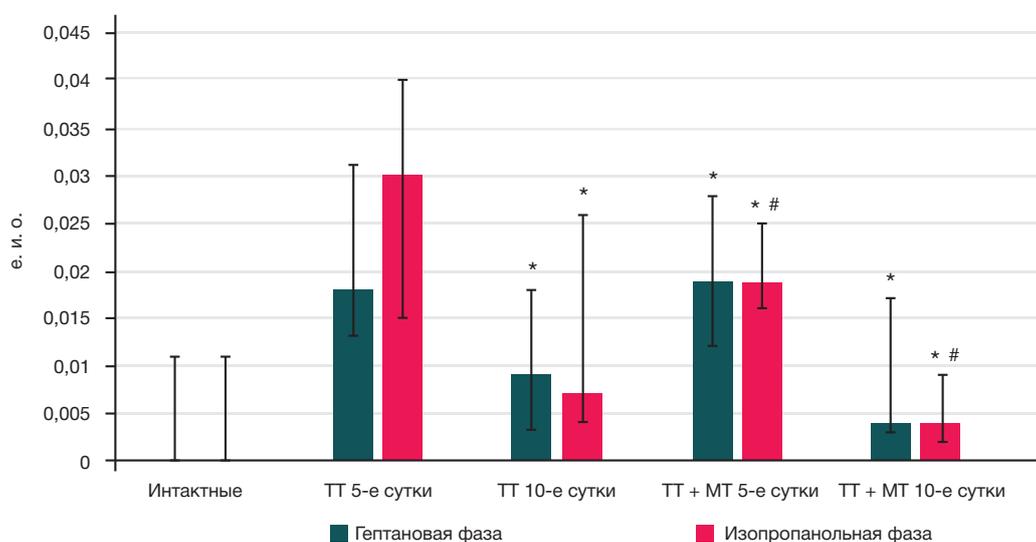


Рис. 2. Влияние МТ в составе ДП на содержание Шиффовых оснований в гептановой и изопропанольной фазах гомогената кожи при экспериментальной ТТ (Ме (Q_{25} ; Q_{75})). * — статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1; # — с группой 2

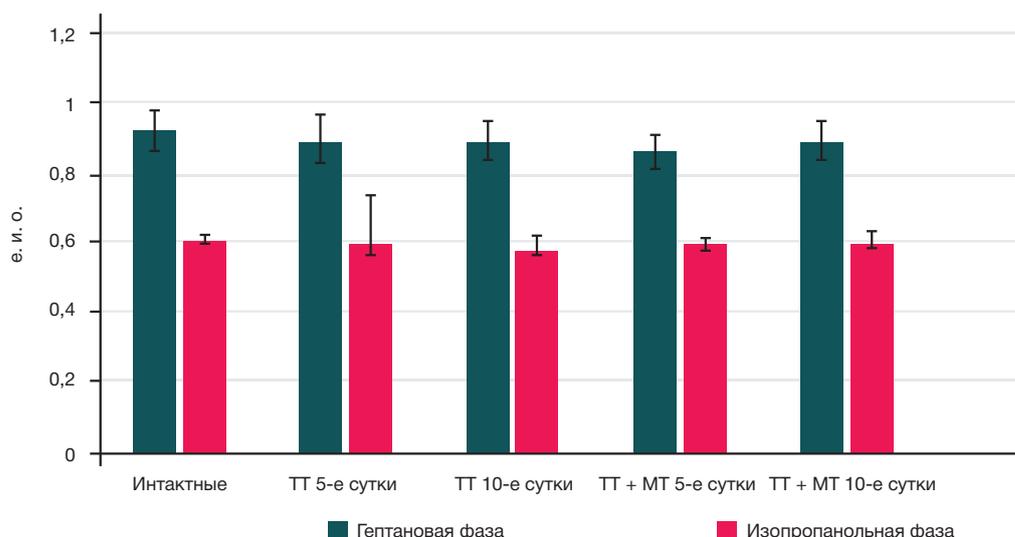


Рис. 3. Влияние МТ в составе ДП на содержание диеновых конъюгатов в гептановой и изопропанольной фазах гомогената кожи при экспериментальной ТТ (Me (Q₂₅; Q₇₅))

10-е сутки эксперимента выявлено значимое снижение кетодиенов и сопряженных триенов в гептановой фазе, оснований Шиффа в изопропанольной фазе липидного экстракта гомогената кожи ожоговой раны. Полученные данные свидетельствуют о максимальном эффекте МТ в составе ДП при ТТ в изопропанольной фазе липидного экстракта гомогената кожи ожоговой раны. В динамике ТТ содержание в гептановой и изопропанольной фазах вторичных и конечных продуктов ПОЛ на 10-е сутки было меньше ($p < 0,01$), чем на 5-е сутки ТТ, что соответствует изменению содержания продуктов ПОЛ в динамике ТТ без применения ДП с МТ.

Применение МТ в составе ДП при ТТ приводит к изменению содержания продуктов ОМБ в ожоговой ране (см. табл. 2). На 5-е сутки эксперимента в спонтанном режиме снизилось содержание АДНФГ в области УФ-спектра, суммарное содержание АДНФГ, суммарное содержание продуктов ОМБ в области УФ-спектра и, как следствие, снизилось суммарное содержание продуктов ОМБ. Следует отметить, что указанные показатели не отличаются от значений в группе интактных животных, что позволяет говорить об их полном восстановлении. На 10-е сутки ТТ в спонтанном режиме суммарное содержание продуктов ОМБ снизилось и не достигло значений в группе интактных животных, т. е. восстановилось частично. На этом фоне содержание АДНФГ и КДНФГ в области УФ-света, суммарное содержание АДНФГ и КДНФГ, продуктов ОМБ в области УФ-света снизилось и полностью восстановилось в отношении КДНФГ в области УФ-света, продуктов ОМБ в области УФ-света. При оценке РАП выявлено его снижение на 5-е сутки за счет примерно равнозначного вклада исследуемых первичных и вторичных продуктов ОМБ в области видимого и УФ-света. РАП на 10-е сутки ТТ в условиях применения МТ в составе ДП повысился за счет преимущественного увеличения РАП в отношении АДНФГ и КДНФГ в области видимого спектра, КДНФГ в области УФ-спектра.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами установлено, что в очаге термического повреждения кожи увеличивается количество вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта. При ТТ увеличивается

суммарное количество карбонильных производных белков — необратимых продуктов окислительного стресса, формирующихся за счет окисления нескольких аминокислотных остатков, а также взаимодействия с продуктами ПОЛ и редуцирующими сахарами. Поскольку в области УФ-спектра накапливаются карбонильные производные нейтрального характера, а в видимой — основного характера, то относительный анализ суммарного содержания карбонил в области УФ-света и в области видимого света позволяет оценить природу образовавшихся продуктов в динамике ТТ. На 5-е и 10-е сутки ТТ наблюдается преимущественное накопление продуктов ОМБ нейтрального характера, о чем свидетельствует повышение суммарного количества продуктов в области УФ-спектра. Суммарное содержание в коже при экспериментальной ТТ АДНФГ повышается на 5-е и 10-е сутки, содержание КДНФГ — на 10-е сутки. Данный факт позволяет констатировать на 5-е и 10-е сутки ТТ накопление первичных продуктов ОМБ, т. е. ранних маркеров окислительной деструкции белка, а также преимущественно агрегацию белков под влиянием OH^{\cdot} , а на 10-е сутки — накопление вторичных продуктов ОМБ, т. е. поздних маркеров окислительной деструкции белка, а также преимущественно фрагментацию белков под влиянием совместного действия радикалов OH^{\cdot} и O_2^{\cdot} . Белковые фрагменты высокоустойчивы к протеолизу, имеют токсические свойства и могут инициировать апоптоз или некроз клеток, расширяя зону вторичной альтерации. Кожа — самый большой орган с интенсивно протекающими процессами ПОЛ и ОМБ, а образующиеся в ней продукты ПОЛ и ОМБ могут оказывать локальное и дистантное цитотоксическое действие [15]. Окислительный стресс при ожогах фиксируют не только в очаге повреждения, но и в сердце, легких, почках и других органах, где обнаруживают продукты повреждения белков, липидов, ДНК [16]. Основные индукторы окислительного стресса после ТТ — это активированные нейтрофилы, моноциты / макрофаги, эндотелиоциты с известными системами генерации активных форм кислорода (АФК): НАДФН-оксидаза и МПО, ксантиноксидаза, NO-синтаза [17]. В эскалации окислительного стресса при ТТ имеет значение повышение продукции эндогенных глюкокортикоидов [18]. Вклад в патогенез окислительного стресса при ТТ вносит истощение системы антиокислительной защиты —

Таблица 2. Влияние МТ в составе ДП на содержание продуктов ОМБ в гомогенате кожи при экспериментальной ТТ (Ме (Q₂₅; Q₇₅))

Показатель	Группа 1 Интактные (n = 20)	Группа 2 ТТ 5-е сутки (n = 16)	Группа 2 ТТ 10-е сутки (n = 20)	Группа 3 ТТ + МТ 5-е сутки (n = 16)	Группа 3 ТТ + МТ 10-е сутки (n = 16)
S _{АДНФГ} uv (сп), у.е./мг	29,85 (24,69; 32,84)	51,49 (48,03; 55,81)*	60,50 (52,95; 93,13)*	32,87 (31,04; 48,35)#	53,71 (45,11; 59,16)**
S _{АДНФГ} vs (сп), у.е./мг	6,93 (5,32; 8,71)	6,91 (5,72; 9,75)	3,53 (2,09; 5,07)*	7,09 (5,17; 12,27)	5,24 (3,10; 7,17)**
S _{КДНФГ} uv (сп), у.е./мг	8,19 (7,37; 10,59)	7,79 (7,34; 9,43)	15,19 (9,05; 25,63)*	9,29 (7,56; 16,39)	8,22 (6,48; 12,61)#
S _{КДНФГ} vs (сп), у.е./мг	0,89 (0,69; 1,14)	0,91 (0,69; 1,41)	0,50 (0,35; 0,66)*	0,79 (0,66; 1,42)	0,45 (0,27; 0,77)
S ОМБ (сп), у.е./мг	47,83 (41,94; 55,40)	66,87 (60,56; 76,11)*	79,30 (62,59; 122,34)*	49,97 (41,94; 79,07)#	64,65 (56,91; 76,64)**
S _{АДНФГ} (сп), у.е./мг	38,54 (30,64; 41,39)	59,19 (52,29; 62,31)*	65,04 (54,51; 96,45)*	40,77 (35,11; 64,89)#	57,90 (48,93; 64,39)**
S _{КДНФГ} (сп), у.е./мг	10,12 (8,23; 11,31)	8,81 (8,09; 10,67)	15,49 (9,56; 26,11)*	10,28 (8,23; 18,01)	8,97 (6,76; 13,15)#
S uv (сп), у.е./мг	38,47 (34,05; 45,31)	59,10 (53,57; 68,66)*	74,97 (60,81; 118,45)*	40,94 (36,99; 64,74)#	61,28 (52,69; 70,97)**
S vs (сп), у.е./мг	7,87 (6,02; 9,73)	7,81 (6,41; 11,16)	4,05 (2,35; 5,85)*	7,88 (5,84; 13,69)	5,67 (3,37; 7,89)#
S _{АДНФГ} uv (инд), у.е./мг	90,68 (70,81; 94,67)	386,82 (279,79; 542,03)*	178,71 (128,45; 239,17)*	260,81 (94,29; 50,90)**	211,60 (140,76; 235,78)*
S _{АДНФГ} vs (инд), у.е./мг	18,81 (16,01; 21,09)	156,21 (90,34; 244,15)*	37,79 (29,25; 60,75)*	91,49 (19,62; 264,02)**	68,35 (45,15; 100,18)**
S _{КДНФГ} uv (инд), у.е./мг	28,73 (24,72; 37,55)	208,12 (128,85; 320,23)*	76,51 (45,82; 94,77)*	125,89 (29,35; 333,99)**	93,56 (60,57; 127,56)**
S _{КДНФГ} vs (инд), у.е./мг	2,07 (1,62; 2,32)	14,53 (8,45; 22,58)*	3,84 (2,93; 6,02)*	8,84 (2,32; 26,09)**	6,61 (4,68; 9,76)**
S ОМБ (инд), у.е./мг	140,38 (113,93; 155,46)	771,61 (507,38; 1128,99)*	312,84 (207,79; 393,90)*	487,04 (145,58; 1175,01)**	378,89 (262,70; 476,87)**
S _{АДНФГ} (инд), у.е./мг	109,49 (87,20; 115,77)	548,02 (370,12; 786,18)*	230,51 (157,87; 301,83)*	352,30 (113,90; 814,93)**	277,53 (197,90; 338,84)*
S _{КДНФГ} (инд), у.е./мг	30,82 (26,73; 39,69)	223,59 (137,26; 342,81)*	80,12 (48,56; 101,26)*	134,74 (31,67; 360,08)*	99,88 (64,40; 138,03)**
S uv (инд), у.е./мг	119,47 (95,53; 132,23)	594,94 (408,64; 862,26)*	252,79 (175,39; 344,84)*	386,71 (123,64; 884,89)**	304,79 (218,89; 363,53)**
S vs (инд), у.е./мг	20,91 (17,63; 23,23)	170,73 (98,74; 266,73)*	41,63 (32,13; 66,99)*	100,33 (21,94; 290,12)**	74,96 (49,83; 109,94)**
РАП, %	61,81 (53,98; 72,55)	91,66 (86,44; 94,78)*	69,22 (62,76; 74,76)	83,77 (71,19; 96,33)*	81,15 (74,35; 86,09)**

Примечание: * — статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1; # — с группой 2.

снижается содержание восстановленного глутатиона, активность СОД, каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО) [19]. Показано 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 компонента ГПО селена из-за снижения поступления через ЖКТ после ожогов [20]. Показана роль железа в активации оксидативного метаболизма при ТТ. АФК в ожоговой ране ассоциированы не только с деструкцией тканей и негативными последствиями, но также участвуют в активации проматричной металлопротеиназа, репарации кожи после ТТ [21]. АФК играют важную роль в модификации компонентов экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани — гликозаминогликанов, коллагенов и неколлагеновых гликопротеинов. Важна роль АФК в репарации ран за счет активации сигнальных путей в стволовых клетках [22]. АФК, генерируемые в фазу воспаления при ТТ, индуцируют локальный синтез про- и противовоспалительных цитокинов.

По результатам проведенного исследования, применение МТ в составе ДП при ТТ ускоряет заживление ожоговой раны, уменьшает ее площадь и снижает содержание метаболитов окислительного стресса — продуктов ПОЛ и ОМБ. На 5-е сутки ТТ снижается содержание вторичных и конечных продуктов ПОЛ в липидной фракции фосфолипидов, на 10-е сутки снижается содержание вторичных продуктов ПОЛ в липидной фракции триглицеридов и конечных продуктов ПОЛ в фракции фосфолипидов. МТ ограничивает ОМБ: на 5-е сутки за счет аминокислотных остатков нейтрального характера первичных продуктов ОМБ и снижения фрагментации белков, на 10-е сутки — за счет аминокислотных остатков нейтрального характера первичных и вторичных продуктов ОМБ и снижения фрагментации и агрегации белков. Полагаем, что снижение содержания продуктов ПОЛ и продуктов ОМБ в ожоговой ране при экспериментальной ТТ в условиях применения ДП с МТ обусловлено несколькими механизмами. МТ способен

Таблица 3. Корреляция между площадью ожога (см²) и показателями СРО в гомогенате кожи при экспериментальной ТТ в условиях применения ДП с МТ

Показатели	5-е сутки	10-е сутки
ДК (гептановая фаза), е.и.о.	R = 0,21	R = 0,18
КД и СТ (гептановая фаза), е.и.о.	R = 0,34	R = 0,52
ШО (гептановая фаза), е.и.о.	R = 0,17	R = 0,27
ДК (изопропанольная фаза), е.и.о.	R = 0,17	R = 0,15
КД и СТ (изопропанольная фаза), е.и.о.	R = 0,68	R = 0,21
ШО (изопропанольная фаза), е.и.о.	R = 0,53	R = 0,51
S ОМБ (спонт. режим), у.е./мг	R = 0,74	R = 0,67
S ОМБ (инд. режим), у.е./мг	R = 0,53	R = -0,25
S АДНФГ (спонт. режим), у.е./мг белка	R = 0,51	R = 0,39
S КДНФГ (спонт. режим), у.е./мг белка	R = 0,07	R = 0,47
S uv (спонт. режим), у.е./мг белка	R = 0,57	R = 0,37
S vs (спонт. режим), у.е./мг белка	R = 0,18	R = 0,51

Примечание: полужирным шрифтом выделены значимые ($p < 0,05$) связи.

быстро распределяться внутри клетки и в межклеточной жидкости посредством пассивной диффузии, а также с использованием транспортеров глюкозы (GLUT1) и олигопептидов (PEPT1/2) [23, 24]. Рецептор МТ1 обнаружен в кератиноцитах и фибробластах кожи, клетках волосяного фолликула, рецептор МТ2 — преимущественно в эккринных железах и кровеносных сосудах кожи, меланоцитах, ядерный рецептор ROR α для МТ идентифицирован в кератиноцитах, фибробластах, меланоцитах [25–27]. МТ в коже способен напрямую поглощать АФК (ОН, H₂O₂), 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 [28]. Опосредованный антиоксидантный эффект связан с увеличением синтеза глутатиона, активацией глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы, СОД, каталазы, гемоксидазы-1, снижением активности хинонредуктазы-2, NOS-1 [29]. Антиоксидантный эффект МТ реализуется также путем поддержания потенциала митохондриальной мембраны и увеличения окислительного фосфорилирования, продукции АТФ, а не АФК [30]. По всей видимости, антиоксидантный эффект МТ в очаге ТТ, уменьшение повреждения белков и липидов, входящих в состав цитоплазматических мембран и клеточных органелл, приводят к ограничению вторичной альтерации, сокращению сроков сосудистых и экссудативных реакций, способствуют более раннему включению репаративных реакций и сокращению сроков заживления ожоговой раны. Корреляционный анализ площади ожоговой поверхности и содержания продуктов ПОЛ и продуктов ОМБ в очаге при ТТ в условиях применения ДП с МТ (табл. 3) показал, что на 5-е сутки ТТ между абсолютной площадью ожога установлено наличие прямой средней силы связи с содержанием в ожоговой ране вторичных и конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе липидного экстракта, слабой связи с содержанием вторичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, прямой средней силы связи с суммарным содержанием продуктов ОМБ в спонтанном и индуцированном режимах, суммарным содержанием первичных продуктов ОМБ и суммарным

содержанием продуктов ОМБ нейтрального характера. На 10-е сутки ТТ выявлена прямая связь средней силы с содержанием вторичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе и конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе липидного экстракта, суммарным содержанием продуктов ОМБ, продуктов ОМБ основного характера в спонтанном режиме, прямая связь слабой силы с суммарным содержанием первичных и вторичных продуктов ОМБ, продуктов ОМБ нейтрального характера в спонтанном режиме.

Выводы

Проведенное исследование позволило достичь поставленной цели и установить, что в динамике экспериментальной ТТ в ожоговой ране увеличивается содержание вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта, увеличивается содержание первичных и вторичных продуктов ОМБ преимущественно нейтрального характера. Продemonстрировано, что применение ДП с МТ оригинального состава при ТТ уменьшает абсолютную и относительную площадь ожога, увеличивает скорость эпителизации раны, снижает содержание продуктов ПОЛ и продуктов ОМБ в ожоговой ране. При ТТ в условиях применения ДП с МТ площадь ожога ассоциирована с содержанием в ожоговой ране продуктов ПОЛ и продуктов ОМБ. Полученные результаты расширяют имеющиеся представления о роли изменений редокс-статуса в патогенезе ТТ, служат предпосылкой для проведения дальнейших исследований по изучению СРО в коже в клинических условиях у больных с ожогами для обозначения продуктов ПОЛ и ОМБ в качестве диагностических маркеров и предикторов осложнений, а также показателей эффективности проводимой терапии. Продemonстрированный нами при ТТ на доклиническом этапе антиоксидантный и стимулирующий репарацию ожоговой раны эффект МТ в составе ДП является предпосылкой для дальнейшего изучения механизма действия и эффективности применения МТ в клинических условиях.

Литература

1. Статистический сборник 2018 год. Социально-значимые заболевания населения России в 2018 году. 2019; 11: 69. Доступно по ссылке: <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskiy-sbornik-2018-god>.
2. Li H, Yao Z, Tan J, et al. Epidemiology and outcome analysis of 6325 burn patients: a five-year retrospective study in a major burn center in Southwest China. *Sci Rep*. 2017; 7: 46066. DOI: 10.1038/srep46066.
3. Abdullahi A, Jeschke MG. Taming the Flames: Targeting White Adipose Tissue Browning in Hypermetabolic Conditions. *Endocrine Reviews*. 2017; 38 (6): 538–49.
4. Gęgotek A, Skrzydlewska E. Biological effect of protein modifications by lipid peroxidation products. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2019; 221: 46–52. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2019.03.011.
5. Valacchi G, Virgili F, Cervellati C, Pecorelli A. OxInflammation: From Subclinical Condition to Pathological Biomarker. *Front Physiol*. 2018; 9: 858. DOI: 10.3389/fphys.2018.00858.
6. Hawkins CL, Davies MJ. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. *Journal of Biological Chemistry*. 2019; 294 (51): 19683–708.
7. Murray RZ, West ZE, Cowin AJ, Farrugia BL. Development and use of biomaterials as wound healing therapies. *Burns Trauma*. 2019; 7: 2. DOI: 10.1186/s41038-018-0139-7.
8. Осиков М. В. Влияние эритропоэтина на процессы свободнорадикального окисления и экспрессию гликопротеинов в тромбоцитах при хронической почечной недостаточности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014; 157 (1): 30–33.
9. 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.
10. Осиков М. В. Роль орозомукоида в регуляции активности систем плазменного протеолиза при экспериментальной почечной недостаточности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009; 7: 27–30.
11. Osikov MV, Telesheva LF, Ageev YI. Antioxidant effect of erythropoietin during experimental chronic renal failure. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 160 (2): 202–4.
12. Varoni EM, Soru C, Pluchino R, Intra C, Iriti M. The Impact of Melatonin in Research. *Molecules*. 2016; 21 (2): 240. DOI: 10.3390/molecules21020240.
13. Волчегорский И. А., Налимов А. Г., Яровинский В. Г. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопросы медицинской химии*. 1989; 35 (1): 127–31.
14. Фомина М. А., Абаленихина Ю. В. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации. ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава. Рязань: РИО РязГМУ, 2014.
15. Mitran MI, Nicolae I, Tampa M, Mitran CI, Caruntu C, Sarbu MI, et al. Reactive Carbonyl Species as Potential Pro-Oxidant Factors Involved in Lichen Planus Pathogenesis. *Metabolites*. 2019; 9 (10): E213. DOI: 10.3390/metabo9100213.
16. Wei C, Ding X, Liu C, Pei Y, Zhong Y, Sun W. Mechanism of taurine in alleviating myocardial oxidative stress in rats after burn through p38 MAPK signaling pathway. *Minerva Med*. 2019; 110 (5): 472–75.
17. Jacob S, Herndon DN, Hawkins HK, Enkhbaatar P, Cox RA. Xanthine oxidase contributes to sustained airway epithelial oxidative stress after scald burn. *International journal of burns and trauma*. 2017; 7 (6): 98–106.
18. Klein GL. The role of the musculoskeletal system in post-burn hypermetabolism. *Metabolism*. 2019; 97: 81–86.
19. ErginTuncay M, Erkilic A, Gunes A, Nural C, Erel O. A remarkable point for evaluating the severity of burns: Thiol-disulfide profile. *Burns*. 2019; 46 (4): 0305-4179(19)30638-2. DOI: 10.1016/j.burns.2019.10.013.
20. Lee YH, Bang ES, Lee JH, Lee JD, Kang DR, Hong J, Lee JM. Serum Concentrations of Trace Elements Zinc, Copper, Selenium, and Manganese in Critically Ill Patients. *Biological Trace Element Research*. 2019; 188 (2): 316–25.
21. Lindley LE, Stojadinovic O, Pastar I, Tomic-Canic M. Biology and Biomarkers for Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2016; 138 (3): 18–28.
22. Lee HJ, Jang YJ. Recent Understandings of Biology, Prophylaxis and Treatment Strategies for Hypertrophic Scars and Keloids. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19 (3): 711. DOI: 10.3390/ijms19030711.
23. Yu H, Dickson EJ, Jung SR, Koh DS, Hille B. High membrane permeability for melatonin. *The Journal of General Physiology*. 2016; 147: 63–76.
24. Mayo JC, Aguado A, Cernuda-Cernuda R, Alvarez-Artme A, Cepas V, Quiros-Gonzalez I, et al. Melatonin uptake by cells: an answer to its relationship with glucose? *Molecules*. 2018; 23: e1999. DOI: 10.3390/molecules23081999.
25. Janjetovic Z, Jarrett SG, Lee EF, Duprey C, Reiter RJ, Slominski AT. Melatonin and its metabolites protect human melanocytes against UVB-induced damage: Involvement of NRF2-mediated pathways. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 1274. DOI: 10.1038/s41598-017-01305-2.
26. Rusanova I, Martínez-Ruiz L, Florido Ja, Rodríguez-Santana C, Guerra-Librero A, Acuña-Castroviejo D, et al. Protective Effects of Melatonin on the Skin: Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (19): 4948. DOI: 10.3390/ijms20194948.
27. Dai J, Choo MK, Park JM, Fisher DE. Topical ROR inverse agonists suppress inflammation in mouse models of atopic dermatitis and acute irritant dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2017; 137: 2523–31.
28. Slominski AT, Semak I, Fischer TW, Kim TK, Kleszczyński K, Hardeland R, et al. Metabolism of melatonin in the skin: Why is it important? *Experimental Dermatology*. 2017; 26: 563–8.
29. Janjetovic Z, Jarrett SG, Lee EF, Duprey C, Reiter RJ, Slominski AT. Melatonin and its metabolites protect human melanocytes against UVB-induced damage: Involvement of NRF2-mediated pathways. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 1274. DOI: 10.1038/s41598-017-01305-2.
30. Reiter RJ, Rosales-Corral S, Tan DX, Jou MJ, Galano A, Xu B. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2017; 74 (21): 3863–81.

References

1. Statisticheskij sbornik 2018 god. Social'no-znachimye zabojevanija naselenija Rossii v 2018 godu. 2019; 11: 69. Dostupno po ssylke: <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskiy-sbornik-2018-god>. Russian.
2. Li H, Yao Z, Tan J, et al. Epidemiology and outcome analysis of 6325 burn patients: a five-year retrospective study in a major burn center in Southwest China. *Sci Rep*. 2017; 7: 46066. DOI: 10.1038/srep46066.
3. Abdullahi A, Jeschke MG. Taming the Flames: Targeting White Adipose Tissue Browning in Hypermetabolic Conditions. *Endocrine Reviews*. 2017; 38 (6): 538–49.
4. Gęgotek A, Skrzydlewska E. Biological effect of protein modifications by lipid peroxidation products. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2019; 221: 46–52. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2019.03.011.
5. Valacchi G, Virgili F, Cervellati C, Pecorelli A. OxInflammation: From Subclinical Condition to Pathological Biomarker. *Front*

- Physiol. 2018; 9: 858. DOI: 10.3389/fphys.2018.00858.
6. Hawkins CL, Davies MJ. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. *Journal of Biological Chemistry*. 2019; 294 (51): 19683–708.
 7. Murray RZ, West ZE, Cowin AJ, Farrugia BL. Development and use of biomaterials as wound healing therapies. *Burns Trauma*. 2019; 7: 2. DOI: 10.1186/s41038-018-0139-7.
 8. Osikov MV. Vlijanie jeritropojetina na processy svobodno-radikal'nogo oksigenija i jekspressiju glikoproteinov v trombocitah pri hronicheskoj pochečnoj nedostatočnosti. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2014; 157 (1): 30–33. Russian.
 9. Osikov MV, Telesheva LF, Ageev Yul. Vlijanie jeritropojetina na apoptoz limfocitov pri jeksperimental'noj hronicheskoj pochečnoj nedostatočnosti. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2015; 3: 326–9. Russian.
 10. Osikov MV. Rol' orozomukoida v reguljacii aktivnosti sistem plazmennogo proteoliza pri jeksperimental'noj pochečnoj nedostatočnosti. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2009; 7: 27–30. Russian.
 11. Osikov MV, Telesheva LF, Ageev YI. Antioxidant effect of erythropoietin during experimental chronic renal failure. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 160 (2): 202–4.
 12. Varoni EM, Soru C, Pluchino R, Intra C, Iriti M. The Impact of Melatonin in Research. *Molecules*. 2016; 21 (2): 240. DOI: 10.3390/molecules21020240.
 13. Volchegorskij IA, Nalimov AG, Yarovinskij VG. Sopotavlenie razlichnyh podhodov k opredeleniju produktov POL v gepthanizopropanol'nyh jekstraktah krovi. *Voprosy medicinskoj himii*. 1989; 35 (1): 127–31. Russian.
 14. Fomina MA, Abalenihina YuV. Sposob kompleksnoj ocenki sodержaniya produktov oksislitel'noj modifikacii belkov v tkanjah i biologicheskikh zhidkostyah: metodicheskie rekomendacii. GBOU VPO RjazGMU Minzdrava. Rjazan': RIO RjazGMU, 2014. Russian.
 15. Mitran MI, Nicolae I, Tampa M, Mitran CI, Caruntu C, Sarbu MI, et al. Reactive Carbonyl Species as Potential Pro-Oxidant Factors Involved in Lichen Planus Pathogenesis. *Metabolites*. 2019; 9 (10): E213. DOI: 10.3390/metabo9100213.
 16. Wei C, Ding X, Liu C, Pei Y, Zhong Y, Sun W. Mechanism of taurine in alleviating myocardial oxidative stress in rats after burn through p38 MAPK signaling pathway. *Minerva Med*. 2019; 110 (5): 472–75.
 17. Jacob S, Herndon DN, Hawkins HK, Enkhbaatar P, Cox RA. Xanthine oxidase contributes to sustained airway epithelial oxidative stress after scald burn. *International journal of burns and trauma*. 2017; 7 (6): 98–106.
 18. Klein GL. The role of the musculoskeletal system in post-burn hypermetabolism. *Metabolism*. 2019; 97: 81–86.
 19. ErginTuncay M, Erkilic A, Gunes A, Nural C, Erel O. A remarkable point for evaluating the severity of burns: Thiol-disulfide profile. *Burns*. 2019; 46 (4): 0305-4179(19)30638-2. DOI: 10.1016/j.burns.2019.10.013.
 20. Lee YH, Bang ES, Lee JH, Lee JD, Kang DR, Hong J, Lee JM. Serum Concentrations of Trace Elements Zinc, Copper, Selenium, and Manganese in Critically Ill Patients. *Biological Trace Element Research*. 2019; 188 (2): 316–25.
 21. Lindley LE, Stojadinovic O, Pastar I, Tomic-Canic M. Biology and Biomarkers for Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2016; 138 (3): 18–28.
 22. Lee HJ, Jang YJ. Recent Understandings of Biology, Prophylaxis and Treatment Strategies for Hypertrophic Scars and Keloids. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19 (3): 711. DOI: 10.3390/ijms19030711.
 23. Yu H, Dickson EJ, Jung SR, Koh DS, Hille B. High membrane permeability for melatonin. *The Journal of General Physiology*. 2016; 147: 63–76.
 24. Mayo JC, 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: e1999. DOI: 10.3390/molecules23081999.
 25. Janjetovic Z, Jarrett SG, Lee EF, Duprey C, Reiter RJ, Slominski AT. Melatonin and its metabolites protect human melanocytes against UVB-induced damage: Involvement of NRF2-mediated pathways. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 1274. DOI: 10.1038/s41598-017-01305-2.
 26. Rusanova I, Martínez-Ruiz L, Florido Ja, Rodríguez-Santana C, Guerra-Librero A, Acuña-Castroviejo D, et al. Protective Effects of Melatonin on the Skin: Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (19): 4948. DOI: 10.3390/ijms20194948.
 27. Dai J, Choo MK, Park JM, Fisher DE. Topical ROR inverse agonists suppress inflammation in mouse models of atopic dermatitis and acute irritant dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2017; 137: 2523–31.
 28. Slominski AT, Semak I, Fischer TW, Kim TK, Kleszczyński K, Hardeland R, et al. Metabolism of melatonin in the skin: Why is it important? *Experimental Dermatology*. 2017; 26: 563–8.
 29. Janjetovic Z, Jarrett SG, Lee EF, Duprey C, Reiter RJ, Slominski AT. Melatonin and its metabolites protect human melanocytes against UVB-induced damage: Involvement of NRF2-mediated pathways. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 1274. DOI: 10.1038/s41598-017-01305-2.
 30. Reiter RJ, Rosales-Corral S, Tan DX, Jou MJ, Galano A, Xu B. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2017; 74 (21): 3863–81.