

# ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ОСТРЫЕ ЭРОЗИИ И ЯЗВЫ И ИХ КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОГНОЗ OPERATIVE ACUTE EROSION AND ULTRA AND THEIR CLINICAL-BIOCHEMICAL FORECAST

*Мамазулунов Нурмухаммад*

*Андижанский государственный медицинский институт Ассистент кафедры биологической химии*

*Аннотация: В статье описаны методы биохимического анализа изменений при раневых заболеваниях, в основном у человека, и информация об этих раневых заболеваниях.*

*Ключевые слова: Язвы, липидов, сиаловых кислот, каталазы, тиобарбитуровой кислоты (ТЕК), Цетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ), трихлоруксусной кислотой, меди сульфат.*

## POSTOPERATIVE ACUTE EROSION AND ULTRA AND THEIR CLINICAL-BIOCHEMICAL FORECAST

*Matamazulunov Nurmukhammad*

*Andijan State Medical Institute Assistant of the Department of Biological Chemistry*

*Abstract: The article describes the methods of biochemical analysis of changes in wound diseases, mainly in humans, and information about these wound diseases.*

*Key words: Ulcers, lipids, sialic acids, catalases, thiobarbituric acid (TEK), Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), trichloroacetic acid, copper sulfate.*

**Актуальность проблемы.** Острые эрозии и язвы пищеварительного тракта обычно возникают у больных с тяжелыми заболеваниями после длительных травматичных операций, на фоне эндогенной интоксикации, сепсиса и полиорганной недостаточности (Веселовский Б. А., Уханов А.П., 1988; Успенский Ю.П., 1994; Осадчук М.А., Горемыкин В.И., Козлова И.В., 1998; Кузин Н.М., Крылов Н.Н., 1999; Ефимов Е.В., 2000; Dahlgren S., 1989; Gendre J., 1989; Hoffmann J. et al., 1989; Gesser R.M. et al., 1995).

До настоящего времени нет четко сформулированных схем лечения и профилактики острых послеоперационных эрозий и язв, не определены показания к оперативному лечению, не исследованы вопросы их заживления и регенерации слизистой оболочки (Ахунбаева Н.И., 1989; Шевченко Ю.Л. и соавт., 1998; Ратнер Г.Л. с соавт., 1999; Пиманов С.И., 2000; Богомолова Н.В. с соавт., 2001; Бигельдина Н.А., 2002; Goodwin C.S., 1988).

**Клинико-биохимические методы исследования перекисного**

## **ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, СИАЛОВЫХ КИСЛОТ, КАТАЛАЗЫ, ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ И ОКСИПРОЛИНА**

Забор крови у больных производили с утра, натощак. Кровь брали из вены в количестве 3 мл, самотеком, без жгута, в неё добавляли в соотношении 1:9 5% раствор цитрата натрия, предотвращающего свёртывание. Далее кровь центрифугировали при 900g в течение 5 минут, эритроцитарную массу отбрасывали. В работе использовали плазму крови.

Ход исследования. В 1 мл плазмы крови добавляли 1 мл буфера 0,025М трис-НСl (рН 7,4). Далее осаждали белки добавлением 1 мл 17% раствора ТХУ. Образующийся осадок отделяли центрифугированием в течение 10 минут при 900 g. Надосадочную жидкость отбирали в чистые пробирки, добавляли по 1 мл 0,8% водного раствора тиобарбитуровой кислоты (ТЕК) (предварительно разогретого на водяной бане до растворения осадка). Затем пробу помещали на 10 минут в кипящую водяную баню. После развития слабо-розовой окраски пробы охлаждали до комнатной температуры и измеряли оптическую плотность, максимум поглощения - при 532 нм. Для измерения применяли кварцевые кюветы с длиной хода луча 1 см. В качестве контрольной пробы использовали раствор буфера трис-НСl. Количество малонового диальдегида рассчитывали, используя величину молярного коэффициента экстинкции, по формуле:

$C = A/l * e$ , где А - оптическая плотность;

e - коэффициент молярной экстинкции;

l - длина кюветы (1 см)

Метод определения активности каталазы (модификация метода М.А.Королюк, 1988). В 3 мл фосфатного буфера добавляли 10 мкл перекиси водорода (4%) и 5 мкл молибдата аммония (4%). Через 20 минут измеряли оптическую плотность при  $\lambda = 316$  нм против контрольной пробы - буферного раствора. Далее в опытную и контрольную пробу вносили одинаковое количество плазмы крови (10 мкл). Затем пробы ставили в термостат при температуре 37° С. Оптическую плотность измеряли через каждые 15 минут 3-4 раза. Строили график зависимости оптической плотности от времени. Активность каталазы

рассчитывали по формуле:

$A = ACVo/e_{3i,6} \cdot I \cdot Vi$ , где:

$V_0$  - объём пробы в кювете ( $V_0 = 3$  мл буфера + 5 мкл молибдата аммония + 10 мкл  $H_2O_2$  + 10 мкл плазмы) = 3,025 мл =  $3,025 \cdot 10^3$  л,

$l$  - длина хода луча кюветы (1 см),

$V_i$  - объём сыворотки (10 мкл)

$e = 22,2 \cdot 10^3 \text{ мм}^4 \cdot \text{см}^4$  - коэффициент молярной экстинкции. Определение сиаловых кислот (унифицированный резорциновый метод) (В.В. Меньшиков, 1987).

Принцип. При нагревании гликопротеидов плазмы с трихлоруксусной кислотой отщепляются сиаловые кислоты, которые в свою очередь гидролизуются с образованием свободной нейраминовой кислоты и уксусной кислоты. Резорцин в присутствии солей меди дает с нейраминовой кислотой синее окрашивание.

Реактивы. 1. Меди сульфат (0,1 моль/л): растворяют 624 мг сульфата меди (медный купорос) в 25 мл воды. 2. Резорцин (2 г/л). Резорциновый реактив готовят, растворяя 200 мг резорцина в 10 мл воды, затем добавляют 80 мл концентрированной HCl (отн. плотность 1,19) и 0,25 мл раствора сульфата меди, после смешивания общий объем доводят до 100 мл водой. Реактив годен к употреблению через 4 ч. после приготовления (при хранении в холодильнике стоек). 3. Экстрагирующий реактив: смешивают 85 мл бутилацетата и 15 мл бутилового спирта. 4. Трихлоруксусная кислота (50 г/л). 5. Калибровочные растворы. Основной раствор содержит 0,5 мг кристаллической ацетилнейраминовой кислоты (мол. масса 309) в 1 мл воды. Из него готовят калибровочные растворы.

Ход определения. К 0,1 мл плазмы -приливают 1,9 мл раствора трихлоруксусной кислоты, ставят на 7 мин. на кипящую водяную баню для гидролиза, затем охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр. К 0,5 мл прозрачного фильтрата добавляют 0,5 мл воды и 1 мл резорцинового реактива, закрывают стеклянными пробками и ставят на водяную кипящую баню еще на 15 мин. для расслоения фаз. Окраска переходит в верхний слой, который отсасывают и фотометрируют при длине волны 575-590 нм в кювете с длиной оптического пути 0,5 см против

холостого опыта, при постановке которого к 1 мл воды добавляют 1 мл резорцинового реактива. Остальные процедуры те же, что и в основном опыте. Для построения калибровочного графика берут по 1 мл калибровочных растворов, приготовленных согласно таблице, добавляют по 1 мл резорцинового реактива и обрабатывают так же, как в основном опыте.

Расчет проводят по калибровочному графику.

Нормальные величины. В норме содержание сиаловых кислот составляет 2,0-2,33 ммоль/л, независимо от того, выражаются ли результаты определения в свободной нейраминовой кислоте или же в ее ацетилированной форме — сиаловых кислотах.

Определение оксипролина (количественное определение оксипролина в моче и крови) (Л.М. Пустовалова, 1999). Оксипролин при обработке его нингидрином в фосфатном буферном растворе (рН = 7,0) при температуре 40-60° С дает красное производное, которое экстрагируется бензолом. Окрашенный бензол фотометрируют и по величине оптической плотности судят о количестве имеющегося оксипролина.

Ход работы. В круглую колбу внести 1 мл свободной от белков мочи и добавить 2 мл дистиллированной воды, 1 мл фосфатного буферного раствора и 2,5 мл бензола. Колбу укрепить на держателе и погрузить нижней частью в водяную баню с температурой  $75 \pm 1^\circ\text{C}$ . Колбочки взбалтывать 3-5 с. и, не вынимая из водяной бани, внести в каждую из них по 2 мл нингидринового реактива. Взбалтывание в водяной бане продолжать еще 5-мин., после чего содержимое колбочки перенести в мерную пробирку с притертой пробкой. Общий объем жидкости довести бензолом до 10 мл. Для полноты элюции содержимое пробирки тщательно встряхнуть. Бензол при этом окрасится в фиолетовый цвет. Оптическую плотность окрашенного раствора измерить в спектрофотометре Сф-4 при длинах волн 570-550 ммк. Оптическую плотность вычисляем по формуле:

$$НО_{570} = 1,46 * ОД_{570} - 0,592 * ОД_{550}, \text{ где}$$

ОД<sub>570</sub> - оптическая плотность раствора при длине волны в 570 ммк,

ОД<sub>550</sub> - оптическая плотность раствора при длине волны в 550 ммк,

$NO_{570}$  - оптическая плотность, характерная для оксипролина при длине волны 570 мкм.

Обнаружение гликозаминогликанов (проба с цетилтриметиламмония бромидом) (В.В.Меньшиков,2002).

Принцип. Цетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ) с гликозаминогликанами образует в кислой среде белый осадок.

Реактивы. 1. Лимонная кислота. 2. Едкий натр. 3. Цитратный буфер, 1 ммоль/л, рН 5,7: в небольшом количестве воды растворяют 210 г лимонной кислоты, добавляют 120 г едкого натра, растворяют, охлаждают и доливают водой до 1 л. 4. Раствор ЦТАБ, 25 г в 1 л цитратного буфера. Ход обнаружения. К 5 мл мочи приливают 1 мл раствора ЦТАБ и в течение 30 мин наблюдают образование осадка. Пробу проводят при комнатной температуре. Для исследования берут свежесобранную мочу.

### Список литературы

1.Бурлакова Е.Б., Губарева А.Е., Архипова Г.В., Рогинский В.А. Модуляция перекисного окисления липидов биогенными вминав в модельных системах // Вопр. мед. химии.- 1992.- № 2.- С. 17-20.

2.Зубарев В.Е. Метод спиновых ловушек, применение в химии, биологии и медицине.//М.:Издательство МГУ,- 1984.-186с.

3.Калинкина Г.И., Писарева С.И. Метод определения антиоксидантной активности растительных водно-спиртовых экстрактов // Хим.-фарм. журн.- 1992- №1.- С.65-66.

4.Пустовалова Л.М. Практикум по биохимии // Ростов-на-Дону.- «Феникс».- 1999.-С.433-434.

5.Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. // Современные методы в биохимии. // Под редакцией Ореховича В.Н.- М.:Медицина.-1977.-С.66-68.