

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР
БЕРУВЧИ**

DSc.29.12.2018.V.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

САМАРҚАНД ДАВЛАТ ТИББИЁТ ИНСТИТУТИ

БАЙКУЛОВ АЗИМ КЕНЖАЕВИЧ

**ХИТОЗАН ТАЪСИРИНИНГ ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ТЕРМИК
КУЙИШДАГИ МОЛЕКУЛЯР МЕХАНИЗМЛАРИ**

03.00.01 – Биокимё

**биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси
АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2019

УДК: 577.15:616.3:613.2.616.089.617.5.616.15.615.38.

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
Content of the abstract of the dissertation of the Doctor of Philosophy (PhD)

Байкулов Азим Кенжаевич

Хитозан таъсирининг экспериментал термик куйишдаги молекуляр
механизмлари 3

Байкулов Азим Кенжаевич

Молекулярные механизмы действия хитозана при
экспериментальном термическом ожоге 21

Baykulov Azim Kenjaevich

Molecular mechanisms of the action chitosan under experimental termal
burn..... 39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of pulished works 42

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР
БЕРУВЧИ
DSc.29.12.2018.V.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

САМАРҚАНД ДАВЛАТ ТИББИЁТ ИНСТИТУТИ

БАЙКУЛОВ АЗИМ КЕНЖАЕВИЧ

**ХИТОЗАН ТАЪСИРИНИНГ ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ТЕРМИК
КУЙИШДАГИ МОЛЕКУЛЯР МЕХАНИЗМЛАРИ**

03.00.01 – Биокимё

**биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD)диссертацияси
АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2019

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси қошидаги Олий аттестация комиссиясида В2018.4.PhD/В234 рақами билан рўйхатга олинган.

Диссертация Самарқанд давлат тиббиёт институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида www.ibb.uz ва «Ziyonet» Ахборот таълим порталида (www.ziyonet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Иноятова Феруза Хидоятовна
биология фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар:

Юлдашев Носиржон Мухамеджанович
биология фанлари доктори, профессор

Эргашова Мукаррам Журабаевна
биология фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот

Тошкент фармацевтика институти

Диссертация химояси Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти хузуридаги DSc.29.12.2018.В.01.13 рақамли Илмий кенгашнинг 2019 йил «16» 10 соат 14⁰⁰ даги мажлисида бўлиб ўтади. Манзил: 100174, Тошкент шаҳар, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси 174 уй. Тел.: (99871) 246-68-96.

Диссертация билан Ўзбекистон Миллий университети хузуридаги Биофизика ва биокимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (7 рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100174, Тошкент шаҳар, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси 174 уй. Тел.: (99871) 246-68-96, e-mail: ibb-nuu@mail.ru.

Диссертация автореферати 2019 йил «27» 09 кун тарқатилди.

(2019 йил « » даги № рақамли реестр баённомаси).



[Handwritten signature]

Сабилов Равшан Заирович
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси, б.ф.д., академик

Асраров Музаффар Исламович
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий илмий котиби, б.ф.д., профессор

Шеримбетов Санжар Гулмирзаевич
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги илмий семинар раиси, б.ф.д.

КИРИШ (Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурийлиги. Ҳозирги кунда дунё миқёсида куйиш ва куйиш касаллиги барча жароҳатларнинг катта қисмини ташкил этиб, ўлим даражаси, айниқса токсемия ва септикотоксинемия босқичида, юқори бўлиб қолмоқда. Куйишнинг ўткир токсемия босқичида ўлимнинг асосий сабабларидан бири йирингли–септик яллиғланиш асоратларини метаболик бузилишлар ва микроорганизмлар жадал кўпайиши ҳисобига кучли эндоген интоксикация билан биргаликда ривожланишидир. Улар ўлимга олиб келувчи омиллар ичида биринчи ўринни эгаллаб келмоқда. Бунда эрта сепсис ривожланиш ҳавфи жароҳатнинг чуқурлиги билан узвий боғлиқ бўлиб, тери юзаси жароҳатланганда эрта сепсис ривожланиш ҳавфи юқори бўлади. Замонавий комбустиология соҳасини жадал ривожланиши ва янги замонавий усулларни куйиш касаллигида қўлланилишига қарамасдан, беморларнинг кўпчилигида ногиронлик кузатилиб, натижада ижтимоий ҳамда иқтисодий ҳолатни оғирлашишига олиб келади. Тиббиётда арзон, токсик хусусиятларга эга бўлмаган, импорт ўрнини босувчи ва самарадорлиги юқори бўлган маҳаллий табиий маҳсулотлардан олинган яра битказувчи дори воситаларини ишлаб чиқиш ва қўллаш катта аҳамиятга эга.

Дунё миқёсида ҳозирги кунда комбустиологияда қўлланиладиган дори воситалар шикастланган жойда эпителийнинг репаратив регенерациясини фаоллаштиришга қаратилган илмий изланишларга катта эътибор берилган. Улар асосида биосинтетик ва синтетик қоплама ҳосил қилувчи табиий бирикмалар яратилган бўлиб, улар эпителизация жараёнини жадаллаштиришга олиб келган. Бундай бирикмалардан ипак қурти ғумбагидан олинган хитозаннинг регенератив хоссалари юқорилиги туфайли, унинг маҳаллий дори воситаси сифатида қўлланилишига имкон берган. Шунинг учун гел композициялари асосида комплекс терапевтик таъсирга эга бўлган самарали яра битказувчи дори воситаларини яратиш борасида илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Бу борада жароҳатланишнинг турли босқичларида мос келувчи биоқопламаларни яратиш долзарб вазифалардан ҳисобланади.

Мамлакатимизда аҳолини маҳаллий хом ашёлари асосида олинган арзон ва юқори сифатли дори-дармон ва импорт ўрнини босувчи дори воситалар билан таъминлашга қаратилган кенг кўламли чора-тадбирлар амалга оширилди. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 4-ўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларини арзон, сифатли дори воситалари билан таъминланишини яхшилаш» юзасидан муҳим вазифалар белгиланган¹. Бу борада, маҳаллий хом ашёлар асосида фаоллиги чет эл аналогларидан қолишмайдиган янги дори воситаларини яратиш ҳисобига

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги № ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони

аҳолини арзон фармацевтика маҳсулотларига бўлган эҳтиёжини қондириш муҳим аҳамиятга эга.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармонида, 2017 йил 20 июндаги ПҚ-3071-сон «Ўзбекистон Республикаси аҳолисига ихтисослаштирилган тиббий ёрдам кўрсатишни янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологияларни ривожлантиришнинг VI «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Хорижлик олимлар томонидан куйиш касаллигининг молекуляр механизмлари, репаратив регенерация жараёнларини фаоллаштирувчи турли хил дори воситалар яратиш, шу жумладан хитозан ҳосилаларини яратиш бўйича тадқиқотлар ўтказилган, уларни биологик фаоллиги аниқланган. Ушбу соҳадаги тадқиқотлар хорижий олимлар Nailong Zhang (Япония), Jyotiranjan Roul (Ҳиндистон), Rui-Lin Ding, Wei Zhang (Хитой), S. Lanctft (Канада), Dong-Won Oh (Корея), Ibrahim El-Sherbiny (Миср) томонидан жадал ривожлантирилган.

МДҲ мамлакатларида куйиш ва сепсисда ҳужайраларнинг программалаштирилган ўлими, интерлейкинлар ген экспрессиясини ортиши, каспаза 8 ген экспрессиясига нисбатан тез содир бўлиши, тери ишемияси эса остки тўқималар деструкциясини ошириш қонуниятлари Т.М. Ушаков, В.П. Аксенов, П.А. Федоров ва бошқалар томонидан ўрганилган. Куйиш жароҳатини маҳаллий даволаш препаратлари кўп бўлишига қарамасдан, ушбу жароҳатини даволашда бир қатор ноқулайликлар бўлганлиги учун янги турдаги универсал ва комплексли дори воситаларини ишлатиш ва янги даволаш усуллари ишлаб чиқиш бўйича тадқиқотлар ўтказилган. Сўнгги йилларда табиий биологик парчаланадиган бирикмаларга, хусусан, хитозан ва унинг ҳосилаларига катта эътибор қаратилмоқда. Жумладан, Н.В. Лозбина, И.Н. Большаков, В. Лазаренко, С.Н. Куликов, П.А. Федосов, О.М.Довгилева, С.Ф. Антонов томонидан қисқичбақадан олинган хитозан ва унинг ҳосилаларини яратиш ва турли хилдаги патологик ҳолатларда қўллаш бўйича тадқиқотлар олиб борилган.

Бизнинг юртимизда Полимерлар кимёси ва физикаси институтида С.Ш. Рашидова раҳбарлигида хитозаннинг турли металл ва наноҳосиласи ишлаб чиқилмоқда. Хитозан яллиғланиш ва микробларга қарши таъсир кўрсатиб, организмнинг иммунологик реактивлигини ошириш, гиполипидемик ва гипокоагулянт хусусиятлари аниқланган. Бироқ, хитозаннинг репаратив регенераторлик таъсир механизми, токсикологик хусусиятлари бўйича

тадқиқотлар олиб борилмаган. Бундай тадқиқотлар янги дори воситаларини ишлаб чиқиш ва самарали даволашни йўлга қўйиш учун жуда муҳим ҳисобланади.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Самарқанд давлат тиббиёт институти, Тошкент тиббиёт академияси илмий тадқиқот ишлари режасини АДСС 28.8 «Куйиш жароҳатларини тиклашда хитозан ҳосилаларини яратиш ва оптимал қўллаш усулларини ишлаб чиқиш» (2012-2014) лойиҳаси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади экспериментал термик куйиш жароҳатида тери хужайралари репаратив регенерациясига хитозан ҳосилалари билан коррекциясининг молекуляр механизмларини аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари қуйидагилардан иборат:

in vitro шароитида бактериофаг λ ДНКсидан фойдаланиб, маҳаллий ҳом ашёдан олинган янги энг самарали хитозан препаратини танлаш учун, интакт ва жароҳатланган тери соҳаси хужайралари ДНКсининг специфик қисмлари билан хитозанни боғланиш даражасини аниқлаш;

терининг термик жароҳатида тери хужайраларида нуклеосомаларо деградацияси олдини олишда, репликация ва транскрипция жараёнларини тиклашда хитозан ҳосилаларининг самаралигини баҳолаш;

термик жароҳат динамикасида эндоген интоксикация ва липопероксидация даражасига хитозан ҳосилаларининг таъсирини баҳолаш;

терини III даражали куйишда хитозаннинг гелли ҳосилаларини шикастланган ўчоқда эпителизация тезлиги, регенерация коэффициенти ва морфологиясига таъсирини баҳолаш;

хитозаннинг фурацилин билан комбинацияси препаратини клиник олди таҳлилий тадқиқотларини ўтказиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида Полимерлар кимёси ва физикаси институти ходимларининг пилла қурти қобиғидан олинган янги хитозаннинг фурацилин билан комплекс препарати, терининг термик жароҳати моделлаштирилган каламушлар, клиник олди тадқиқотлар учун экспериментал ҳайвонлар олинган.

Тадқиқотнинг предмети сифатида хитозаннинг фурацилин билан комбинацияси репаратив хусусиятларини аниқлаш учун терининг ультраюпка кесимлари, планиметрияси, эпителий хужайралари, ҳайвонларнинг қони ва қон зардоби олинган.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқот ишида белгиланган вазифаларга мос ҳолда *in vitro* ва *in vivo* шароитидаги замонавий молекуляр, биокимёвий, морфологик, планиметрик, токсикологик ва статистик таҳлил усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор куйишдан зарарланган эпителийни тиклашда *Bombyx mori* дан олинган хитозаннинг фурацилин билан комбинацияси гел шаклининг қўлланилиши юқори самарадорлиги исботланган;

хитозан ҳосилалари нуклеосомалараро деградацияни пасайтиришида, ДНКнинг специфик қисмлари билан боғланиши аниқланган, уларнинг боғланиш константалари ҳисоблаб чиқилган, репликация ва транскрипция жараёнларини жадаллашиши аниқланган;

термик жароҳатни даволашда хитозанни фурацилин билан комбинациясининг антиоксидант ва антитоксик хусусиятлари исботланган;

хитозан ҳосилаларининг токсик, алергик, сенсibiliзацияловчи, эмбриотоксик ва тератоген хусусиятлари йўқлиги исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

куйган тери касаллигини даволаш учун муқобил усул сифатида маҳаллий ҳом ашёдан олинган хитозан+фурацилин ҳосилаларидан фойдаланиш афзаллиги исботланган;

хитозан ҳосилаларининг термик жароҳатни даволаш учун қўллаш усулини тадбиқ этилиши репаратив жараёнларни муқобиллаштириб, чандиқлар ҳосил бўлишини камайтириши исботланган;

*Bombyx mori*дан олинган хитозан ҳосилаларининг репаратив регенерацияни кучайтирувчи дори воситаси сифатида даволашда фойдаланиши, чет эл аналогларидан устунлиги аниқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончилиги статистик ишлов учун ҳайвонлар ва таҳлиллар миқдорининг етарлилиги, адекват усулларнинг қўлланилганлиги, бирламчи информацияни олиш ва қайта ишлаш учун кўп экспериментларда синалган усулларни қўлланилганлиги ва олинган натижаларни бошқа мавжуд натижалар билан солиштирилганлигига асосланган. Олинган натижалар мавжуд маълумотларга зид эмас. Натижаларни статистик ишловида Excel ҳамда OriginPro7,5 (OriginLab Corporation, АҚШ) дастурлар пакети қўлланилган. Назорат ва тажриба гуруҳидаги каламушлар ўртасидаги фарқ аниқланганда Стьюдент муқаррарлик коэффициенти (t) ва фарқларнинг ишончилилик кўрсаткичи (P) аниқланган. Олинган натижаларнинг ишончилиги мутахассислар баҳолари ва уларнинг республика ва халқаро анжуманлардаги муҳокамаси тасдиқлайди.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти *in vitro* шароитида тут ипак қурти ғумбагидан олинган хитозан ҳосилаларининг бактериофаг λ ДНК молекуласининг Hind III рестриктаза таъсиридан ҳосил бўлган *ori-*, *int-* ва *xis-* фрагментлари, ДНК синтези, кесилиши ва интеграцияси учун жавоб берадиган қисмлар билан боғланиш хусусияти; куйган тери хужайраларида нуклеосомалараро деградацияни пасайиши, ДНК ва РНК синтезини ошиши, эпителизация тезлашуви ва регенерация жараёнлари фаоллашуви; морфологик текширувларда қон томирларига бой грануляцион тўқима ҳосил бўлиши; эрта содир бўладиган эпителизация очик жароҳат соҳасини ёпиб, сепсис, токсемия ва липопероксидация даражасини пасайиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти куйиш жароҳатларини даволашда хитозанни фурацилин билан комплекси самарадорлиги асосланди,

бу комплекснинг токсик, кумулятив, аллергик, эмбриотоксик ва тератоген хусусиялари йўқлиги исботланди, дори воситаларнинг токсикологик таснифи бўйича токсик хусусияти сует бўлган моддалар синфига (IV синф) кириши исботланди. Олинган натижалар Ўзбекистон Республикаси Дори воситалар ва тиббий техника сифатини назорат қилиш бош бошқармасига бу бирикмани тақдим этиш учун асос бўлади. Ушбу дори воситасини клиник амалиётга жорий этиш тери жароҳатларини даволаш самарадорлигини ошириши, сарф-харажатларни камайтириши ва импортни камайтирувчи хусусиятига эга эканлиги билан изоҳланади. Импорт ўрнини босувчи ушбу препаратнинг яратилиши Республикада дори воситаларини маҳаллийлаштириш дастурини бажаришга имкон беради.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Яра битказувчи препарат ва унинг таъсир механизмини ёритиш ҳамда токсикологик хусусиятларини аниқлаш бўйича олинган натижалар асосида:

«Куйишни хитозан ҳосилалари асосида даволаш» услубий тавсияномаси тасдиқланган (Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2019 йил 17 сентябрдаги 8н-з/150 сон маълумотномаси). Натижада хитозаннинг гел шаклини, антимиқроб, жароҳатни тезкор битказувчи хусусияти, шикастланган жойга суртилишида парда ҳосил қилиб, ярада йирингланишни олдини олиш имконини берган;

хитозан ҳосилаларининг репаратив регенерацияни фаоллаштирувчи хусусиятлари ва яра ўчоғини тез битиши бўйича олинган натижалар асосида Тошкент тиббиёт академиясида ва Тошкент фармацевтика институтида лаборатория ҳайвонларида экспериментал термик жароҳатни моделлаштиришнинг осон варианты жорий қилинган (Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2019 йил 17 сентябрдаги 8н-з/150 сон маълумотномаси). Натижада куйиш касаллиги чақирилган экспериментал ҳайвонларда *Bombyx mori* дан олинган хитозаннинг фурацилинли комплексини маҳаллий қўллаш жароҳатни тез ва чандиксиз битиши ҳамда асоратларни камайиши имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 9 та халқаро ва 1 та республика илмий-амалий анжуманларда муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 25 илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 9 илмий мақола, 7 та Республика ва 2 та хорижий журналларда нашр этилган. Шунингдек 1 та услубий кўрсатма тасдиқланган ва чоп этилган.

Диссертация тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 109 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурийлиги, мақсад ва вазифалари асослаб берилган, тадқиқотнинг объекти ва предмети ифодаланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон Республикаси фан ва технологияларни ривожлантиришнинг устувор йўналишларига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, натижаларнинг назарий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларининг жорий этиш асослари келтирилган, нашр қилинган илмий ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Термик жароҳатда тери ва унинг ҳосилаларидаги бузилишларининг молекуляр механизмлари ҳамда уларни коррекциялаш усуллари**» деб номланган биринчи бобида ушбу тиббий муаммонинг назарий жиҳатлари бўйича адабиётларда мавжуд маълумотлар таҳлил қилинган ва термик куйишлар патогенезининг замонавий тасаввури, уни даволаш тамоиллари, хитозаннинг тиббиётда қўллаш ҳақида адабиёт манбалар тизимлаштирилган, муаммонинг очилмаган ва аниқлаштиришни талаб этувчи жиҳатлари белгиланган.

Диссертациянинг «**Терини термик жароҳатлаш модели, даволаш йуллари ва молекуляр механизмларини ўрганиш усуллари**» деб номланган иккинчи бобида тадқиқотда қўлланилган материалларнинг умумий тавсифи батафсил ёритиб берилган. Хитозан препаратлари намунаси Полимерлар кимёси ва физикаси институти катта илмий ҳодими кимё фанлари номзоди Р.Ю. Милушевадан олинган. Ишда *Bombyx mori* дан олинган хитозан гели ишлатилиб, глутар альдегиди билан тикилган ва фурацилин билан тўйинтирилаган. Уни тўйинтиришда сувда эритилган фурацилин кукунидан фойдаланилган. Гель ҳосил бўлиш жараёнида тўрсимон структураси шаклланиб, занжирлар конформацион ҳолатига қараб турли хилдаги тирқишлар ҳосил бўлган. Бўктирилган намунанинг қуритилиши тикилган хитозан таркибида 0,5% фурацилин тутишини кўрсатди. Стандартлаш азотга нисбатан ўтказилган, синтезланган хитозан TSh 88.2-13:2004 талабларига мос келди.

Тажрибалар вазни 140-160 гр. бўлган 120 зотсиз эркак каламушларда олиб борилган, улар озуқалантиришнинг стандарт шароитида сақланган. Тажрибалар «Тажриба ва бошқа илмий мақсадларда фойдаланиладиган умуртқали ҳайвонларни муҳофаза қилиш Европа конвенцияси»га мувофиқ ўтказилди (Страсбург, 1985). Куйиш жароҳати депиляцияланган бел қисми соҳасини қайнаётган сувга 10 сек давомида ботириш орқали чақирилган (Богатова ва б., 2005), жароҳат майдони 12-15 см² (18-20%) ташкил этган. Тадқиқотда ўлим даражаси 8,18% ташкил этган. Назорат сифатида жароҳатланмаган ҳайвон терисидан фойдаланилган.

Тадқиқот уч босқичда ўтказилган. Биринчи босқичда *in vitro* шароитда ДНК рестрикцияси ва рестрикция фрагментларининг хитозан ҳосилалари билан боғланиши ўрганилган. Бунда термик куйиш чақирилган 10 та каламушда тажрибанинг 3-чи суткасида жароҳатланган тўқима олиниб,

ундан ёввойи турдаги бактериофаг λ ДНКси ва HindIII, BamHI, EcoRI рестриктазалари («СибЭнзим» фирмаси) ёрдамида ДНК ажратиб олинган. Тадқиқотлар учун хитозаннинг 4 хилдаги ҳосилаларидан фойдаланилган: 1) хитозан сукцинат, 2) наноструктур хитозан сукцинат, 3) хитозан аскорбат, 4) наноструктур хитозан аскорбат. Тадқиқотларнинг иккинчи босқичида хитозан ҳосилаларининг терини термик жароҳатдан кейинги регенерациясига *in vivo* шароитидаги таъсири ўрганилган. Бунда термик жароҳат етказилгандан икки соат ўтгандан сўнг, каламушлар тўрт гуруҳга ажратилган: 1-чи гуруҳга (25 каламуш) – хитозан (ХЗ), 2% сирка кислотаси, глутар альдегиди (ГА) ва фурацилин (ФЦ); 2-чи гуруҳ (25 каламуш) – ХЗ, 2% сирка кислотаси ва ГА; 3-чи гуруҳ (25 каламуш) – левомеколь («Нижфарм»); 4-чи гуруҳ (25 каламуш) – физиологик эритма (плацебо) билан даволанган. Бешинчи гуруҳда интакт каламушлар қолдирилган. Икки соатдан сўнг жароҳатланган ўчоқ водород пероксид билан ювиб ташланган ва препаратлар бир маротаба жароҳат жойига маҳаллий суртма кўринишида, тана вазнига 1 мг/кг миқдорида қўлланилган. Тадқиқотлар даволанишнинг 3, 7 ва 10 суткаларида ўтказилган. Ҳар бир гуруҳдан 6-7 ҳайвон енгил эфир наркози остида декапитация қилинган, уларнинг қони ва жароҳотланган тери қисми таҳлил учун олинган. Тажрибанинг учинчи босқичида хитозан препаратининг клиник олди токсикологик хусусиятлари ўрганилган (Хабриев, 2005).

Молекуляр тадқиқотлар Биокимё институти молекуляр тадқиқотлар лабораториясида б.ф.д. Д.А. Кадирова раҳбарлигида амалга оширилган. Морфологик тадқиқотлар Самарқанд тиббиёт институтида, биокимёвий ва токсикологик тадқиқотлар Тошкент тиббиёт академияси марказий илмий тадқиқот лабораториясида ўтказилган. Молекуляр тадқиқотларда юқори молекуляр ДНК ажратиб олиш, уни HindIII, BamHI, EcoRI рестриктазалари ёрдамида рестрикциялаш; ДНК гидролизи маҳсулотларини 1,5% агарозадаги электрофорези; ДНК рестрикцион фрагментларини хитозан билан боғланиши даражаси аниқланган (Maniatis, Fritsch ва Sambrook, 1982). Нуклеин кислоталар синтезини ўрганишда ^3H -тимидин ва ^{14}C -уридин киритилиши даражаси «Beckman» аппаратида 1 мин. импульслар миқдorigа қараб ўлчанган. Қондаги малон диальдегиди (МДА) (Андреева ва б., 1988), ўрта ўлчамли молекулалар (ЎЎМ) (Габриэлян ва б., 1982), эритроцитларнинг сорбцион хусусиятлари (ЭСХ) (Тогайбаев ва б., 1988) аниқланган. Қон зардоби альбуминлари, тимол синамаси, билирубин миқдори ва ферментлар активлиги «Human» (Германия) фирмасининг автоматлаштирилган биокимёвий Human комбайнида махсус реактив ва биотест, дастурлар тўплами ёрдамида ўлчанган. Тери намуналарнинг гистологик таҳлили ёруғлик микроскопияси усулида анъанавий усуллар асосида ўтказилган.

Маълумотларнинг статистик ишланмаси умум қабул қилинган усул бўйича амалга оширилган. Натижаларни статистик ишловида Excel ҳамда OriginPro7,5 (OriginLab Corporation, АҚШ) дастурлар пакети қўлланилган. Назорат ва тажриба гуруҳидаги каламушлар ўртасидаги фарқ аниқланганда

Стьюдент муқаррарлик коэффициенти (t) ва фарқларнинг ишончлилик кўрсаткичи (P) аниқланган.

Диссертациянинг «Тери ҳужайраларининг термик шикастланишида хитозан таъсирининг молекуляр механизмлари» деб номланган учинчи бобида экспериментал куйиш жароҳатида хитозаннинг фурацилинли комбинацияси самарали таъсир натижалари келтирилган. Куйиш жароҳати етказилгандан биринчи суткада каламушларда ўткир куйиш касаллиги белгилари: ҳолсизлик, адинамия, хансираш, полидипсия ва полиурия кузатилган. Учинчи суткада жароҳат устки қисмида некротик қават ривожланган. 1-чи гуруҳда даволаш жараёнида экспериментал ҳайвонлар аҳволи бирмунча меёрлашиб, фаоллиги ва иштаҳаси яхшиланиб борган. Шунга ўхшаш натижалар 2-чи ва 3-чи гуруҳларда ҳам кузатилди, бироқ интоксикация белгилари намоён бўлаверган. 4-чи гуруҳда интоксикация белгилари узоқ муддат сақланиб, ҳайвонларнинг умумий аҳволи ёмонлашган, йирингли-септик яллиғланиш белгилари намоён бўлган. Назорат гуруҳида жароҳат соҳасининг инфекциян яллиғланиши кузатилиб, яралар ҳосил бўлган. Вақт ўтиши билан жароҳат майдони 1,3-1,5 маротаба кенгайган, некроз белгилари намоён бўлган. 1-чи ва 2-чи гуруҳ каламушларида жароҳатнинг мугузланган қавати остида бир маромдаги тикланиш жараёни бошланиб, яллиғланишнинг кенгайиши кузатилмаган, 3-чи гуруҳ ҳайвонларида эса яллиғланиш белгилари сақланиб қолган. Тадқиқот гуруҳларида жароҳат майдонининг қисқаришини таҳлили 1-чи гуруҳда кучли намоён бўлганлигини кўрсатилган (1-жадвал). 2-чи ва 3-чи гуруҳларда препаратлар бир хил таъсир кўрсатган, 4-чи гуруҳда эса регенерация қолган гуруҳларга нисбатан сустр кечаётгани кузатилган. Буни биз яраларнинг битиш тезлиги динамикасида ҳам кузатдик. Жумладан, 1-чи гуруҳда жароҳат майдони 10-чи суткада $14,08 \pm 0,66 \text{ см}^2$ дан $9,47 \pm 0,41 \text{ см}^2$ гача, 2-чи гуруҳда $13,26 \pm 0,65 \text{ см}^2$ дан $10,90 \pm 0,52 \text{ см}^2$ гача қисқарган, 3-чи ва 4-чи гуруҳларда бу кўрсаткич катталигича сақланиб қолган.

Энг юқори пролифератив фаоллик 1-чи гуруҳ ҳайвонларида кузатилиб, уларда препаратнинг регенераторлик хусусияти узоқ муддатларгача сақланиб қолган. 3 ва 7-чи суткаларда бу кўрсаткич назорат гуруҳига нисбатан 4,5 ($P < 0,001$) ва 4 ($P < 0,001$) маротаба; солиштириш гуруҳига нисбатан эса 2,5 ($P < 0,05$) ва 1,4 ($P < 0,05$) маротаба юқори бўлган. 1-чи гуруҳ ҳайвонларида жароҳатни тикланиш тезлиги ҳисобланганда 3-чи ва 7-чи суткаларда шиддатли ўсиб бориши, 10-чи суткага келиб бироз пасайганини кўрсатган. Битиш тезлиги 3-чи суткада назорат гуруҳига нисбатан 3-5 ($P < 0,001$) маротаба, 7-чи суткага келиб 4 ($P < 0,001$) марта юқори бўлган. Бу регенерация коэффициентини таҳлил қилишда ҳам исботланган. Айниқса 1-чи гуруҳ ҳайвонларида бу кўрсаткич энг юқори бўлган. 2-чи ва 3-чи гуруҳларда репарация жараёнлари пастроқ бўлган, чунки битиш тезлиги ва регенерация коэффициенти кўрсаткичлари бир мунча ортда қолган. Уларнинг энг паст кўрсаткичлари 4-чи гуруҳда қайд этилган.

Жароҳат майдонининг қисқариш динамикаси, $M \pm m$, $n=7-8$

Гуруҳлар	Жароҳат майдони (см ²)			
	1-чи сутка	3-чи сутка	7-чи сутка	10-чи сутка
1	14,08±0,66	13,67±0,62	11,33±0,65	9,47±0,41*
2	13,26±0,65	13,13±0,66	11,10±0,63	10,90±0,52*
3	12,92±0,46	12,79±0,47	11,70±0,39	10,53±0,56
4	12,33±0,31	12,25±0,30	11,84±0,43	10,80±0,17

Изоҳ* - биринчи сутка кўрсаткичларига нисбатан ишончлилик ($P < 0,05$).

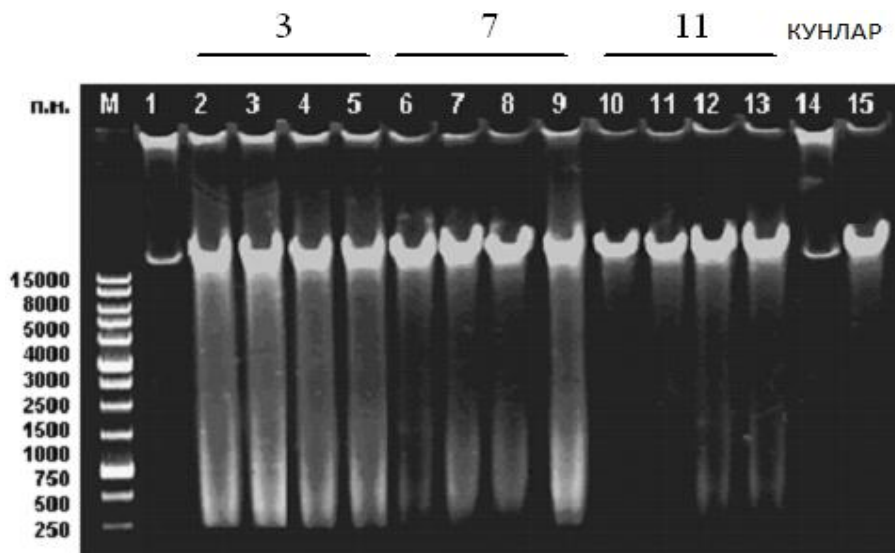
Куйиш жароҳатини спонтан битишида (4-чи гуруҳ) ўтказилган морфологик текширувларда эпидермис ва дерманинг коагуляцион некрози ҳосил бўлишини, коллаген толаларнинг парчаланиши, эпидермиснинг некрози, унинг мугуз ва грануляцион қаватларининг десквамацияси аниқланган ва бундай ўзгаришлар тажрибанинг 10-суткасида ҳам сақланиб қолган. 1-чи гуруҳ ҳайвонларида жароҳатланган ўчоқнинг эрта регенерацияси кузатилиб, янги ҳосил бўлаётган грануляцион тўқима ва дерманинг барча қаватларида қон томирлар ҳосил бўлиши кузатилган, бундай ўзгаришлар тери регенерацияси мукамал кечаётганлигидан далолат беради. 2-чи гуруҳ ҳайвонларида ҳам эпителий регенерацияси жадаллашуви, базал қатламнинг баъзи қисмларида хужайралар дифференцировкаси ва кучли васкуляризацияси аниқланган. Левомеколни маҳаллий қўллашда шикастланган ўчоқнинг 1-чи ва 2-чи гуруҳларга нисбатан суст бўлиб, эпидермис остида лимфоцитлар, лейкоцитлар, гистиоцитлар инфильтрацияси аниқланган. Тажрибанинг 10-чи суткасида ҳам тери қатламларининг фаол регенерацияси билан бир вақтда ўчоқли десквамация кузатилган.

Шундай қилиб, тери куйишда хитозан гели, айниқса унинг таркибига фурацилин киритилганида, зарарланган ўчоқда регенерация тезлиги ва коэффицентини ошириб, жароҳатланган тери юзасини битишига олиб келган. Балки дори воситасининг таркибидаги фурацилин бактерицид таъсир этиб, ярани йиринглардан эрта тозаланиши ҳисобига регенерацияни жадаллашишига олиб келгандир. Баъзи олимларнинг фикрича, шикастланмаган хужайраларда хитозан таъсирида репаратив регенерацияни кучайиши ядродаги ДНК молекуласини хитозан билан боғланиши ҳисобига бўлиши мумкин (Lu et al., 2008). Табиий полисахарид хитозан ва унинг ҳосилалари фибробластлар пролиферациясини фаоллаштиради ва тери регенерациясини меёрлаштиради. Иккинчи томондан, хитин ҳосилалари терининг глюкозаминларига структур жиҳатдан ўхшашдир ва кератиноцитлар ва фибробластлар ўсиши учун асос бўлиб хизмат қилади (Антонов и др., 2008).

Шунинг учун хитозаннинг репаратив жараёнларга ижобий таъсири молекуляр механизмларини ўрганиш мақсадида молекуляр тадқиқотлар

ўтказилган. Рестрикция натижаларининг таҳлили 4 турдаги хитозан ҳосилалари *in vitro* тажрибаларда бактериофаг λ Hind III рестриктазасининг таъсирида ҳосил бўлган ДНК фрагментлари билан танлаб боғланиши фарқланишини кўрсатди. *In vitro* шароитида Hind III ферменти таъсирида бактериофаг λ ДНК парчаланишидан ҳосил бўлган фрагментлар билан боғланиш даражаси ва компатизацияси 4 турдаги хитозан молекулаларида турлича эканлиги аниқланган. Бунга параллел вариантларда Eco RI ва Bam HI ферментлари таъсирдан ҳосил бўлган ДНК фрагментлари билан ХЗ боғланишида фарқ сезиларли эмаслиги исботланган. Энг юқори боғланиши хитозаннинг сукцинатли ҳосиласида кузатилган. Шунинг учун айнан шу намуна билан III даражали куйган тери атрофида сақланиб қолган хужайралари ДНК фрагментлари билан боғланиши текширилган. Интакт ДНК ва унинг хитозан сукцинат билан комплексида электрофоретик ҳаракатчанлиги ДНК концентрациясига ва фрагментацияланишига боғлиқлиги аниқланган. Куйган ўчоқдаги хужайраларнинг ДНК намуналарига хитозан сукцинат киритилганда ҳам ДНК фрагментларининг концентрацияси камайиши қайд этилган. Олинган натижалар хитозан сукцинат таъсирида ДНКнинг майда парчаланган фрагментларини 50-70% боғланиши ва фрагментларнинг камайишидан далолат беради.

In vivo тажрибаларида терининг III даражали куйишининг 3-чи суткада жароҳатланган ўчоқдаги хужайралар ДНК нуклеосомалари кучли фрагментацияланганлиги, ДНК молекуласининг майда бўлақларга бўлиниши кузатилиб, қўлланилган препаратлар орасида фарқ кузатилмаган (расм 1).



Ўўлар: М – маркер, 1, 14 – интакт λ фаги ДНКаси; 2, 6, 10 –ХЗ-1; 3, 7, 11 – ХЗ-2; 4, 8, 12 – левомеколь; 5, 9, 13 – даволанмаган гурух; 15 – соғом ҳайвонлар тери хужайраси ажратиб олинган ДНК (меёр).

Расм 1. Интакт ва III даражали тери куйишининг 3чи кунда теридан тери хужайралари ДНКсининг нуклеосомалар аро деградацияси.

Тажрибанинг 7-чи суткасида ДНК фрагментацияси 30-40% 3-чи сутка кўрсаткичларига нисбатан камайган, аммо ижобий натижаларни назорат гуруҳида кузатилмаган. Солиштирма таҳлилда ДНК фрагментацияси 1-чи

гуруҳда 20-30% пасайган. 7-чи суткада ДНК нуклеосомалараро деградацияси 3-чи суткага нисбатан пастлиги кузатилган. 1-чи ва 2-чи гуруҳларда 90% ва 80% пасайган. 3-чи ва 4-чи гуруҳларда бу кўрсаткич бир бирига яқин бўлган.

Олинган натижалар хитозанда ДНК нуклеосомалараро деградациясини олдини олиш ва фрагментацияга учраган ДНК молекулалари билан боғланиш хусусияти борлигини кўрсатилган. Унинг бундай хусусияти хужайраларнинг ядро аппаратида репаратив жараёнларни жадаллашишига ва тери эпителийсининг регенерацияси кучайишига олиб келган.

Ҳақиқатдан ҳам, термик жароҳатнинг дастлабки муддатларда ³Н-тимидин ва ¹⁴С-уридиннинг ДНК ва РНК синтезида кўшилиши юқорилиги аниқланган (2-жадвал). Кейинчалик бу жараёнлар секинлашуви қайд этилган ва тадқиқотнинг 10-чи суткасида бу кўрсаткичлар 25,5±0,28 ва 20,0±0,35%ни ташкил этган. Куйган ўчоқни ХЗ+ФЦ билан даволашнинг 3-чи, 7-чи ва 10-чи суткаларида ³Н-тимидиннинг ДНК молекуласига кўшилиши 52; 72 ва 94% ни ташкил этган. Хитозанни фурацилинсиз қўлланилганда ³Н-тимидинни ДНК молекуласига киритилиши 3-чи, 7-чи ва 10-чи суткаларда 45,8; 60,4 ва 88,2% ташкил этган. Левомеколь қўлланилган гуруҳларда нишонланган ³Н-тимидинни ДНК молекуласига киритилиши юқорида қайд этилган муддатларда 40; 58,8 ва 75,5% ташкил этган, бу 1-чи ва 2-чи гуруҳлар кўрсаткичларига нисбатан суст бўлди. Энг паст натижалар 4-чи гуруҳда қайд этилиб 48; 27,8 ва 25,5% ташкил қилган.

2-жадвал

III даражали кўйишида тери хужайраларига ДНК синтезида ³Н-тимидин ва РНК синтезида ¹⁴С-уридин киритилишига хитозан хосилаларининг таъсири,
M±m, n=10

Кунлар	Изотопларнинг киритилиши, интакт гуруҳга нисбатан %							
	Хитозан – 1		Хитозан – 2		Левомеколь		Назорат	
	³ Н-тимидин	¹⁴ С-уридин	³ Н-тимидин	¹⁴ С-уридин	³ Н-тимидин	¹⁴ С-уридин	³ Н-тимидин	¹⁴ С-уридин
3	52,0± 0,39	40,0± 0,34	45,8± 0,18	38,0± 0,28	40,0± 0,33	32,0± 0,21	48,0± 0,35	35,0± 0,37
7	72,0± 0,59*	67,2± 0,26*	60,4± 0,45*	57,4± 0,25*	58,8± 0,16*	50,0± 0,10*	27,8± 0,33	23,4± 0,18
10	94,0± 0,32*	90,0± 0,37*	88,2± 0,47*	80,0± 0,32*	75,5± 0,21*	70,0± 0,24*	25,5± 0,28	20,0± 0,35

Изоҳ* - назорат гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан ишончлилиқ (P<0,01).

Нишонланган ¹⁴С-уридинни РНК молекуласига киритилишини баҳолаш энг юқори кўрсаткичлар 1-чи ва 2-чи гуруҳларда кузатилган: 3-чи суткада – 40 ва 38%, 7-чи суткада – 67,2 ва 57,4%, 10-чи суткада – 90 ва 80%ни ташкил этган. 3-чи гуруҳда оксил синтези тезлиги хитозанни фурацилин билан ёки ўзини қўлланилган гуруҳларга нисбатан сустроқ бўлиб,

юқорида қайд этилган муддатларда 32; 50 ва 70% ташкил қилган. 4-чи гуруҳда эса бу кўрсаткичлар атиги 35; 27 ва 20% ташкил қилган.

Шундай қилиб, термик жароҳатланган ўчоқдаги шикастланмаган тери хужайраларида репликация ва транскрипция жараёнлари сусайган. Левомеколни қўллаш бу жараёнларни бир мунча жадаллаштирган. ДНК ва РНК синтезининг жадал кечиши хитозан ва, айниқса, уни фурацилин билан биргаликда қўлланилганида кузатилган.

Олинган ижобий натижаларни исботлаш мақсадида нишонланган тимидин ва уридин киритилганидан сўнг биз ажратиб олинган ДНК молекуласини 1,5% агароза гелида электрофорез ўтказилган. Ўтказилган тадқиқотлар 1-чи гуруҳ ҳайвонларида тажрибанинг 3, 7 ва 10 суткасида ДНК молекуласи натив структурасининг тикланиши кузатилган, бу тажрибанинг 10чи суткасида яққол кузатилган. 2-чи гуруҳ каламушларида тажрибанинг 3-чи суткасида ДНК ва РНК синтезида бузилишлари ва электрофореграммада кўплаб майда фрагментларга бўлинган ДНК ва РНК молекулалари аниқланган, 7-чи ва 10-чи суткаларига келиб қисман тикланиши кузатилган. Левомекол қўлланилганида шикастланган ўчоқда ДНК ва РНК синтези суст кечаётганлиги кузатилган. Демак, куйиш жароҳатларини битишида ХЗ+Ф комплекси самаралидир.

Терининг термик куйиш жароҳатини даволашда хитозан ҳосилаларининг самарадорлиги гиперлипипероксидация ва эндотоксинемияни сезиларли пасайишида ҳам ўз исботини топган. Жумладан, 1-чи гуруҳ ҳайвонлар қон плазмасида МДА миқдори тажрибанинг 3; 7 ва 10 кунларида 4-чи гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан ишонарли 41,6; 60,2 ва 64,4% пасайган. 2-чи гуруҳда бу пасайиш 55,3; 58,4 ва 59,4% ташкил этган, 3-чи гуруҳда эса МДА миқдорининг камайиши тажрибанинг 7- ва 10 суткаларида 24,1 ва 55,9% ташкил этган (3-жадвал).

3-жадвал

Экспериментал термик куйишни даволашда қон плазмасида МДА миқдорининг (нмоль/мл) ўзгариши, $M \pm m$

Гуруҳлар	3-чи сутка	7-чи сутка	10-чи сутка
Интакт гуруҳ	5,68±0,45		
Назорат гуруҳ	18,39±1,04	14,77±1,08 ^а	10,88±0,93 ^а
1-чи гуруҳ	10,56±0,84 ^{а,б,в}	7,15±0,46 ^{а,б,в}	6,29±0,43 ^{б,в}
2-чи гуруҳ	11,74±0,73 ^{а,б,в}	7,54±0,52 ^{а,б,в}	7,21±0,46 ^{а,б}
3-чи гуруҳ	16,29±0,80 ^а	12,62±0,76 ^а	8,15±0,93 ^а

Изоҳ: * ишончлилик $P < 0,05$: а – интактга нисбатан, б – назоратга нисбатан, в – левомекол гуруҳига нисбатан.

Бундан ташқари эндоген интоксикация кўрсаткичларида ҳам ижобий ўзгаришлар кузатилган. Жумладан, 1-чи гуруҳ ҳайвонларида тажрибанинг 3-чи суткасида ЭСХ юқориликча сақланиб қолган бўлса, 7 ва 10-чи

суткаларда меёрий кўрсаткичларга яқинлашган. 2-чи гуруҳ хайвонларида 7-чи суткага келиб ЭСХ назорат гуруҳига нисбатан 19,9%, 10-чи суткада эса 40,1% пасайган. 3-чи гуруҳда ҳам назорат гуруҳига нисбатан кўрсаткичлар қисман яхшиланган. Шу билан бирга 1-чи гуруҳ хайвонлар қон плазмасида тажрибанинг 3, 7, 10-чи суткаларида назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан ЎММлар миқдори 10,4; 41,3 ва 57,4% пасайган бўлса 2- ва 3-чи гуруҳ хайвонлари кўрсаткичларида ижобий ўзгаришлар сустроқ бўлган (4-жадвал).

4-жадвал

Экспериментал хайвонларда эндоген интоксикация кўрсаткичлари динамикаси, $M \pm m$

Гуруҳлар	3-чи сутка	7-чи сутка	10-чи сутка
Интакт	$\frac{46,89 \pm 1,68}{0,157 \pm 0,002}$		
Нazorат гуруҳ	$\frac{93,84 \pm 1,13^a}{0,278 \pm 0,024^a}$	$\frac{90,84 \pm 0,12^a}{0,261 \pm 0,018^a}$	$\frac{85,03 \pm 1,23^a}{0,255 \pm 0,013^a}$
1-чи гуруҳ	$\frac{84,54 \pm 1,72^a}{0,211 \pm 0,016^{a,b}}$	$\frac{68,66 \pm 2,28^{a,b}}{0,166 \pm 0,010^{b,b}}$	$\frac{56,84 \pm 1,86^{b,b}}{0,149 \pm 0,011^{b,b}}$
2-чи гуруҳ	$\frac{88,38 \pm 1,15^a}{0,223 \pm 0,017^{a,b}}$	$\frac{85,89 \pm 0,65^a}{0,222 \pm 0,012^{a,b}}$	$\frac{65,35 \pm 2,62^{a,b}}{0,169 \pm 0,012^b}$
3-чи гуруҳ	$\frac{91,34 \pm 1,68^a}{0,276 \pm 0,019^a}$	$\frac{89,44 \pm 1,68^a}{0,245 \pm 0,016^a}$	$\frac{77,73 \pm 2,85^a}{0,175 \pm 0,011^{a,b}}$

Изоҳ: 1) суратда ЭСХ (%), маҳражда – ЎУМ (бирликда); 2) ишончлилик $P < 0,05$: а – интактга нисбатан, б – назоратга нисбатан, в – левомеколь гуруҳига нисбатан.

Терининг термик куйишини ХЗ+Ф билан даволашда тимол синамаси, қондаги билирубин ва умумий оксил кўрсаткичлари интакт хайвонлар кўрсаткичларига яқинлашди, хитозанни ва левомеколни қўллашда эса бундай ижобий ўзгаришлар сустроқ намоён бўлди.

Олинган натижаларга асосланиб биз терини термик куйишида фурацилинли хитозан гели билан даволаш усулини ишлаб чиқдик ва таъсир механизмини қуйдаги алгоритм бўйича тушунтирамиз (2-расм). Бу усул қуйдагича амалга оширилади: некротик моддаланган тозаланган жароҳат юзасига стерил шароитда хитозан гелининг фурацилинли хосиласи суртилади. У бактерияларни ўтказмайдиган қаватни хосил қилади, бу эса шикастланган ўчоқда регенератор жараёнларни жадаллаштиради. Бунинг натижасида шикастланган ўчоқнинг регенерацияси жадаллаштириб, қон плазмасида биокимёвий кўрсаткичларни меъёрлашишига олиб келади ва, бизнинг фикримизча, яхши ижобий башоратловчи хусусиятидан далолат беради. Жароҳатланган ўчоқнинг некрозли моддалардан тез тозаланиши ДНК молекуласини нуклеосомалар аро деградациясини олдини олади, репликация ва транскрипция жараёнларини жадаллаштиради. *Bombux mori* дан ажратиб олинган фурацилинли хитозанни қўлланилишида олинган ижобий силжишлар шикастланган ўчоқни эрта эпителизациясига, экспериментал

хайвонлар организмда эндоген интоксикация даражасини ва эркин радикалли жараёнларни сусайишига олиб келади.



2-расм. Фурацилинли хитозаннинг жароҳатланган терини битишида таъсир механизми.

Шундай қилиб, олинган натижаларнинг таҳлили хитозаннинг фурацилинли гелини термик жароҳатни даволашда ижобий натижалар кўрсатди ва биз томондан ишлаб чиқилган бу усул комбустиология амалиётига тезкорлик билан киритилишини тақозо этади.

Диссертациянинг «**Фурацилинли хитозан препаратининг клиник олди экспериментал текширувлари**» деб номланган тўртинчи бобида «Фурацилинли хитозан» препаратнинг икки хилдаги шаклини (кукун ва гел) токсикологик тафсифи келтирилган. Препаратнинг максимал дозаси 1000 мг/кг ва абсолют-ўлим миқдори 5000 мг/кг, ўртача ўлим дозаси (ЛД₅₀) кукун учун – 3300 (3353÷3246,96) мг/кг ва гел шакли учун 3120 (3165,9÷3074,1) мг/кг ташкил этган, яъни дори воситаларнинг токсикологик таснифига кўра IV ва V синфларига киради. Ўтказилган токсикологик, физиологик ва биокимёвий комплекс текширувлар «Фурацилинли хитозан» препаратини ошқозонга кўп маротаба 100 мг/кг, 50 мг/кг ва 10 мг/кг миқдорида юборилганида ҳайвонлар организмга салбий таъсири ва кумулятив, терирезорбтив, маҳаллий-кўзғатувчи ва анафилактик хусусиятлари аниқланмаган.

«Фурацилинли хитозан» препаратини 100 мг/кг ва 10 мг/кг дозаларда хомиладор ҳайвонларга хомиладорликнинг 8-9 кунларида юборилганда ҳомилани макроскопик текширувлари тажрибавий ҳайвонларда ташқи кўриниши, тана вазнида ва кранио–каудал ўлчамларда назорат гуруҳи

хомилалари кўрсаткичларига нисбатан ўзгаришлар аниқланмади. Тажрибавий ҳайвонлар хомилаларининг ички аъзолари текширувдан ўтказилганида ҳам фарқлар аниқланмади. Хомилалар скелетининг қовурғалар сони, метатарзал ва метакарпал суякларининг суякланиш марказлари тузилиши тажриба ва назорат ҳайвонлари гуруҳларида фарқланмади. ХЗ+ФЦ гели ва кукунини тажрибавий ҳайвонларнинг репродуктив функциясини ўрганилганда препаратни туғиш муддатига ва репродуктив функциясига таъсири аниқланмади.

Шундай қилиб «Фурацилинли хитозан» препаратини ҳайвонлар организмига салбий таъсири ва кумулятив, тери-резорбтив, маҳаллий-кўзғатувчи ва анафилактик, репродуктив функцияга салбий таъсири, эмбриотоксик ва тератоген хусусиятлари аниқланмаган.

ХУЛОСАЛАР

«Хитозан таъсирининг экспериментал термик куйишдаги молекуляр механизмлари» мавзудаги биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертациясида ўтказилган тадқиқотлар асосида қуйидагилар хулоса қилинади:

1. *in vitro* тажрибаларида хитозан ҳосилалари ДНК молекуласи билан боғланиш хусусиятига эга бўлиб, бу ДНК репарация ва тери регенерация жараёнларини кучайтиради. Энг самарали хитозаннинг сукцинатли ҳосиласидир.

2. Терининг термик жароҳатида эпителий ҳужайраларида нуклеосомаларо деградация тезлашади. Левомеколь билан даволанган гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан тери жароҳатини ХЗ-1 ва ХЗ-2 даволаш нуклеосомаларо деградациясини самарали камайтиради, айниқса тажрибанинг 10-чи кунида.

3. Эпителий ҳужайраларида нишонланган ³Н-тимидинни ДНК молекуласига киритилиш тезлиги ХЗ-1 таъсирида тажрибанинг 3, 7 ва 10 суткаларида 52; 72 ва 94% ташкил этди, бу левомеколь ва, айниқса тажрибанинг 10-чи суткасида даволанмаган гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан юқори. Левомеколь билан даволанган гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан ¹⁴С-уридинни РНК молекуласига қўшилиш тезлиги ХЗ-1 таъсирида 1,25; 1,34 ва 1,3 маротаба юқори бўлди ва генлар экспрессиясидан далолат берди.

4. Терининг термик жароҳатини хитозан билан даволаш, левомеколь қўлланилган гуруҳга нисбатан юқори эндоген интоксикация ва гиперлипเปอร์оксидация кўрсаткичларини пасайтиради, қоннинг биокимёвий кўрсаткичларини меъёрлаштиради.

5. Термик куйиш билан жароҳатланган каламуш терисининг битиш тезлиги текширув вақти ва фойдаланилган препаратга боғлиқ. Хитозан ҳосилалари, айниқса фурацилинли ҳосиласи, регенерация тезлиги ва коэффицентини ошириб, жароҳатни эрта битишини таъминлади.

6. Фурацилинли хитозан препаратининг кукун ва гел шакллари дори воситаларнинг токсикологик таснифига кўра IV ва V синфларига киради,

унинг ҳайвонлар организмига салбий таъсири ва кумулятив, тери-резорбтив, маҳаллий-қўзғатувчи ва анафилактик, хусусиятлари аниқланмади, репродуктив функцияга салбий таъсири, эмбриотоксик ва тератоген хусусиятлари йўқ.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.29.12.2018. В. 01.13 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИОФИЗИКИ И
БИОХИМИИ**

**САМАРКАНДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИНСТИТУТ**

БАЙКУЛОВ АЗИМ КЕНЖАЕВИЧ

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ХИТОЗАНА ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТЕРМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ**

03.00.01 – Биохимия

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации (PhD) доктора философии по биологическим наукам**

Ташкент – 2019

Тема диссертации (PhD) доктора философии по биологическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2018.4.PhD /B234.

Диссертация выполнена в Самаркандском государственном медицинском институте.

Автореферат диссертации на трёх языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещён на веб-странице Научного совета www.ibb.uz и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель: **Иноятова Феруза Хидоятовна**
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Юлдашев Носиржон Мухаммеджанович**
доктор биологических наук, профессор

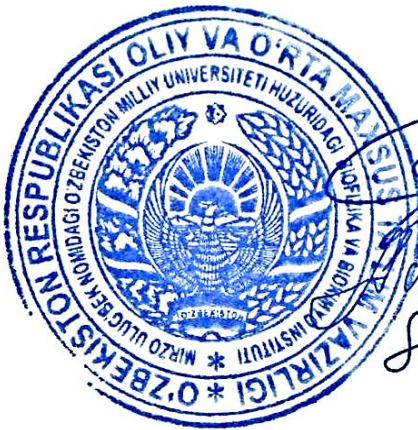
Эргашова Мукаррам Журабаевна
доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация **Ташкентский фармацевтический институт**

Защита диссертации состоится « 16 » 10 2019 года в 14⁰⁰ часов на заседании Научного Совета DSc.29.12.2018.B.01.13 при Институте биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана. Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, улица Университетская, 174. Тел.: (99871) 246-68-96.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биофизики и биохимии при Национальном Университете Узбекистана (зарегистрированно под № 7). Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, улица Университетская, 174. Тел.: (99871) 246-68-96, e-mail: ibb-nuu.uz@mail.ru.

Автореферат диссертации разослан « 27 » 09 2019 года.
(Реестр протокола рассылки № _____ от « _____ » _____ 2019 года).



Сабиров Равшан Заирович
Председатель Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., академик

Асраров Музаффар Исламович
Ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., профессор

Шеримбетов Санжар Гулмирзоевич
Председатель научного семинара при Научном совете
по присуждению ученой степеней, д.б.н.

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. На сегодняшний день в мире ожоги и ожоговая болезнь составляют большое количество всех травм, а летальность остается высокой, особенно в стадиях токсемии и септикотоксинемии. Основными причинами летальности в стадии острой ожоговой токсемии являются гнойно-септические осложнения в сочетании с эндогенной интоксикацией метаболического и микробного происхождения. Они прочно удерживают первое место среди причин летальности. При этом риск развития раннего сепсиса повышается, особенно при глубоких ожогах на поверхности тела. Несмотря на огромный опыт лечения ожогов в комбустиологии, большая масса пострадавших становятся инвалидами, поэтому они представляют серьезную медицинскую и социальную проблему. Внедрение в медицинскую практику дешевых, импортозамещающих, не обладающих побочными действиями эффективных ранозаживляющих препаратов из местного сырья имеет большое значение.

В мировом масштабе в комбустиологии проводятся ряд научных исследований по созданию и использованию препаратов, стимулирующих процессы репаративной регенерации в эпителиоцитах поврежденного очага. В этом отношении актуальным является разработка и внедрение в клиническую практику биосинтетических и синтетических плёночных покрытий, которые усиливают эпителизацию. Среди них высоким регенеративным свойством обладает хитозан, выделенный из кокон шелкопряда, из-за этого свойства его возможно применять в качестве местного лекарственного средства. В связи с этим проводятся научные исследования по созданию ранозаживляющих гелевых композиций, обладающих высокой терапевтической эффективностью. Создание плёнок, специально предназначенных в той или иной фазе ожога, является актуальной задачей.

В нашей стране за годы независимости осуществлены широкомасштабные мероприятия по обеспечению населения дешевыми высококачественными, импортозамещающими лекарственными препаратами на основе местного сырья. В 4-ом направлении «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» определены важные задачи по «развитию фармацевтической промышленности, а также улучшение обеспечения населения и медицинских учреждений дешевыми, качественными лекарственными препаратами»¹. В частности, удовлетворение потребности населения фармацевтической продукцией путем создания новых лекарственных препаратов из местного сырья, по активности не уступающих зарубежным аналогам.

Диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Постановлением Президента

¹Указ Президента Республики Узбекистан УП-4947 «Стратегия действий Республики Узбекистан»

Республики Узбекистан ПП-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», Указом Президента УП-3071 от 20 июня 2017 года «О мерах по дальнейшему совершенствованию оказания квалифицированной медицинской помощи населению Республики Узбекистан», а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики VI «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. Зарубежными учеными исследовались молекулярные механизмы ожоговой болезни, создание различных лекарственных средств, активизирующих процессы репаративной регенерации, в частности, по созданию производных хитозана, установлены их биологическая активность. Исследования в данном направлении активно развивались зарубежными учеными: Nailong Zhang (Япония), Jyotiranjana Roul (Индия), Rui-Lin Ding, Wei Zhang (Китай), S. Lanctft (Канада), Dong-Won Oh (Корея), Ibrahim El-Sherbiny (Египет).

В странах СНГ Т.М. Ушаковым, В.П. Аксеновым, П.А. Федоровым и другими проводились исследования по изучению запрограммированной смерти клеток при ожогах и сепсисе, установлено опережающее повышение экспрессии гена интерлейкинов по сравнению с геном каспазы 8, усугубление деструкции глублежащих тканей под действием ишемии кожи при крайне тяжелых ожогах. Несмотря на обилие препаратов для местного лечения ожогов, эффективность их применения зачастую остается неудовлетворительной. Поэтому продолжают поиск новых универсальных, действующих комплексно препаратов, и исследования по совершенствованию методов лечения тяжелых ожогов. В последние годы уделяется большое внимание природным биodeградирующим соединениям, в частности, хитозану и его производным. Так, Н.В. Лозбиной, И.Н. Большаковым, В. Лазаренко, С.Н. Куликовым, П.А. Федосовым, О.М. Довгилевой, С.Ф. Антоновым проводились научные изыскания по выделению хитозана из раков, созданию различных его производных и применению их при различных патологических состояниях.

В нашей стране в Институте химии и физики полимеров АН РУз под руководством академика С.Ш. Рашидовой разрабатываются различные металло- и нанопроизводные хитозана. Хитозан обладает противовоспалительным и антимикробным действием, восстанавливает иммунологическую реактивность организма, обладает гипополипидемическим и гипокоагулянтным действием. Однако, механизм регенераторного действия хитозана до конца не выяснен, что указывает на необходимость проведения комплексных исследований по изучению его молекулярных механизмов действия. Такие исследования важны для создания новых высокоэффективных лекарственных препаратов для лечения ожогов.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в Самаркандском медицинском институте, в рамках прикладного проекта АДСС 28.8 Ташкентской медицинской академии «Разработка и выбор оптимального способа применения производных Хитозана при лечении ожоговых ран» (2012-2014).

Целью исследования явилось выяснить молекулярные механизмы репаративной регенерации клеток кожи при термической травме при коррекции производными хитозана.

Задачи исследования заключаются в следующем:

для выбора активного хитозана в условиях *in vitro* с использованием ДНК бактериофага л, интактной и обожженной кожи определить степень связывания хитозана со специфическими участками ДНК;

оценить эффективность применения производных хитозана в предотвращении межнуклеосомной деградации, усилении процессов репликации и транскрипции в клетках кожи при термической травме;

оценить действие производных хитозана на степень эндогенной интоксикации и липопероксидации в динамике термической травмы;

оценить эффективность гелевых производных хитозана на скорость эпителизации, коэффициента регенерации и морфологии пораженных участков кожи у крыс с ожогом III степени;

провести доклинические исследования гелевого производного хитозана с фурацилином.

Объектом исследования являлись новое соединение хитозана с фурацилином в гелевой форме, созданное сотрудниками Научно-исследовательского института Химии и физики полимеров из коконов тутового шелкопряда, крысы с моделированием термического ожога, экспериментальные животные для доклинических исследований.

Предметом исследования для определения репаративных свойств хитозана с фурацилином взяты ультратонкие срезы, планиметрия, клетки эпителия, кровь и сыворотка крови животных.

Методы исследований. При выполнении работы использованы современные *in vitro* и *in vivo* молекулярные, биохимические, морфологические, планиметрические, токсикологические исследования и статистические методы исследования, соответствующие поставленным задачам.

Научная новизна диссертационного исследования состоит в следующем:

впервые доказана высокая эффективность применения гелевой формы хитозана комбинацией с фурацилином, полученной из *Bombyx mori*, в восстановлении поврежденного эпителия при ожоговой травме;

выяснена эффективность применения различных производных хитозана в предотвращении межнуклеосомной деградации и возможность их связывания со специфическими участками ДНК, рассчитаны константы

связывания и взаимодействия производных хитозана, ускорение репликации и транскрипции;

доказаны антиоксидантные и антитоксические свойства хитозана комбинацией с фурацилином при лечении термической травмы;

доказано отсутствие токсических, аллергических, сенсибилизирующих, эмбриотоксических и тератогенных свойств производных хитозана.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

доказано преимущество использования производных хитозана, полученного из местного сырья в комплексе с фурацилином, как альтернативного способа лечения ожоговых повреждений кожи;

внедрение способа лечения раневых дефектов кожного покрова после термических ожогов за счет использования производных хитозана доказало оптимальное течение репаративных процессов в ране и снижение риска формирования рубцов;

выяснено, что использование производных хитозана из *Bombux mori* в сочетании с фурацилином в качестве лекарственного средства превосходит зарубежные аналоги по регенераторному действию.

Достоверность результатов исследования. Достоверность результатов исследования обосновывается применением теоретических подходов и методов, использованием достаточного числа экспериментальных животных, а также использованием адекватных широко апробированных и взаимодополняющих методов исследования, сопоставлением полученных результатов с зарубежными и отечественными исследованиями. Полученные результаты не противоречат имеющимся сведениям. При статистической обработке результатов применены пакеты программ Excel и OriginPro7,5 (OriginLab Corporation, США). Достоверность различий между показателями контрольной и опытных групп определены методом коэффициента Стьюдента (t) и по показателю P . Достоверность полученных результатов подтверждается мнениями специалистов, обсуждением результатов исследований на республиканских и международных конференциях.

Научная и практическая значимость результатов исследований.

Работа в основном носит фундаментальный характер, углубляет патогенез повреждения кожи и придатков. В условиях *in vitro* производные хитозана способны к связыванию с молекулой ДНК фага λ , расщепленной рестриктазой Hind III; избирательному связыванию с участками ДНК фага λ *ori*-, *int*- и *xis*-, ответственными за синтез ДНК, вырезание и интеграцию; связывание с фрагментами ДНК клеток кожи с ожогом; замедлению межнуклеосомной деградации, увеличению синтеза ДНК и РНК в сохранившихся клетках, что приводит к активации процессов репарации и регенерации; морфологически проявляющемся развитием грануляционной ткани, богатой кровеносными сосудами; более ранней эпителизацией пораженных участков; снижением степени токсемии и сепсиса.

Практическая значимость работы заключается в том, что разработанный препарат хитозан с фурацилином является эффективным ранозаживляющим

средством для лечения ожогов. Препарат не обладает токсическими, кумулятивными, алергизирующими, тератогенными и эмбриотоксическими свойствами, по токсикологическим классификациям лекарственных препаратов он относится к классу препаратов со слабыми токсикологическими свойствами (класс IV) и позволяет рекомендовать его в Государственный центр экспертизы и стандартизации медицинских материалов и медицинской техники республики Узбекистан в качестве ранозаживляющего средства. Внедрение данного препарата в клиническую практику позволит повысить эффективность лечения термических поражений кожи, снизить себестоимость лечения и является импортозамещающим препаратом. Создание данного импортозамещающего препарата способствует выполнению программ по производству лекарственных средств из местного сырья в Республике.

Внедрение результатов исследования. На основе полученных результатов по определению механизмов ранозаживляющих, токсикологических свойств:

утверждены методические рекомендации «Производные хитозана в местном лечении ожогов» (заключение Министерства здравоохранения Республики Узбекистан 8Н-3/150 от 2019 год 17 сентября.). Местное применение гелевой формы производных хитозана образует ранозаживляющую, антимикробную пленку на раневой поверхности, что дает возможность предотвратить гнойные образования на ране;

внедрено моделирование термического ожога у лабораторных животных в Ташкентской медицинской академии и Ташкентском фармацевтическом институте (заклучение Министерства здравоохранения Республики Узбекистан 8Н-3/150 от 2019 год 17 сентября.). В результате местного использования комплекса хитозана, полученного из *Bombyx mori* в комплексе с фурацилином, дала возможность быстрому ранозаживлению у экспериментальных животных с моделью термической травмы.

Апробация результатов исследования. Основные положения работы доложены и обсуждены на 9 международных и 1 республиканских конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 25 научных работ, из них 9 научных статей, 7 из которых опубликованы в республиканских научных журналах, входящих в состав списка ВАК РУз, 2 в международных научных журналах, а также 1 методическая рекомендация.

Структура и объём диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырёх глав, заключения, списка использованной литературы. Объём диссертации составляет 109 страницы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснованы актуальность и востребованность проведённого исследования, цель и задачи исследования, охарактеризованы

объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, изложены научная новизна и практические результаты исследования, раскрыты научная и практическая значимость результатов, приведены внедрения результатов исследований в практику, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Молекулярные механизмы повреждения кожи и ее придатков при термической травме и методы их коррекции»** проведён подробный обзор научных исследований по теме диссертации и степень изученности проблемы. Обзор посвящен современным представлениям патогенеза термических ожогов, механизмам регенерации поврежденной кожи, вопросам лечения ожоговых ран и применению хитозана в медицине.

Во второй главе диссертации **«Модель термического повреждения кожи, способы лечения и методы изучения молекулярных механизмов»** приведены данные об экспериментальном материале и методах исследования. Образцы препарата Хитозан с любезностью предоставлены ИХиФП АН РУз к.х.н., ст.н.с. Р.Ю. Милушевой. Стандартизация хитозана проведена на количестве содержания азота. В данной работе использовали гели на основе хитозана (ХЗ) *Bombyx mori*, сшитых посредством глутарового альдегида (ГА) и наполненных биологически фурацилином (ФЦ), водный раствор которого для проведения опытов готовили путем растворения порошка ФЦ. Процесс гелеобразования сопровождается формированием сетчатой надмолекулярной структуры, которая в зависимости от конформационного состояния и укладки цепей характеризуется различной пористостью. Содержание ФЦ в образцах после лиофильной сушки составило 0,5%.

Для решения поставленных задач модель термического ожога воспроизводили на 120 белых беспородных крысах-самцах массой 140-160 г. В соответствии с требованием Хельсинской декларации по гуманному обращению с животными, нанесение ожогов проводили под легким эфирным наркозом. Моделирование ожоговой раны проводили погружением заранее депилированного участка кожи на 10 сек. в кипящую воду (Богатова и др., 2005). При этом повреждались все слои кожи, что соответствует ожогу III степени. Площадь ожоговой раны составила 12-15 см² (18-20%). Контролем служили образцы кожи необожженных крыс. Летальность животных составила 8,18%.

Исследования проведены в 3 серии. В первой серии эксперимента мы изучали влияние производных хитозана (ХЗ) на процессы регенерации кожи при термической травме в условиях *in vivo*. В эксперименте *in vivo* спустя два часа после воспроизведения ожога крыс разделили на 4 группы и проводили местное лечение: 1-я – 25 крыс лечили ХЗ, 2% уксусная кислота + Глутаровый Альдегид (ГА) + ФЦ (ХЗ, 2% уксусная кислота + ГА + ФЦ); 2-я – 25 крыс лечили ХЗ, 2% уксусная кислота + ГА (ХЗ, 2% уксусная кислота +

ГА), 3-я – 25 крыс лечили препаратом Левомеколь (мазь), 4-я – крыс лечили физиологическим раствором и 5-я – интактные крысы. Препараты ХЗ наносились однократно дозировкой 1 мг/кг массы тела животного на участок кожи с термическим ожогом после обработки 3% раствором H_2O_2 . На 3, 7 и 10 сутки опыта с каждой группы под легким эфирным наркозом декапитировали по 6-7 животных, собирали кровь и поврежденную кожу животных. Во второй серии в условиях *in vitro* изучали рестрикцию и степень связывания рестриктивных ДНК с производными ХЗ. Для этого термический ожог вызвали у 10 крыс. Пораженную ткань на 3-сутки ожога извлекали и выделяли ДНК. В работе использовали ДНК фага λ дикого типа и рестриктазы HindIII, BamHI, EcoRI фирмы «СибЭнзим»; 4 образца хитозана: 1-я - сукцинат ХЗ, 2-я - сукцинат ХЗ наноструктурный, 3-я - аскорбат ХЗ, 4-й - аскорбат ХЗ наноструктурный. В третьей серии изучили токсикологические характеристики ХЗ.

Молекулярные исследования проводили в институте Биохимии АН РУз, лаборатории биохимии гормонов под руководством д.б.н. Д. А. Кадыровой. Морфологические исследования проводили в СамМИ (совместно к.м.н. Б.М. Отакуловым), биохимические и токсикологические исследования – в ЦНИЛ ТМА. Молекулярные исследования были проведены согласно рекомендациям T. Maniatis, E.E. Fritsch and J. Sambrook (1982) и включали выделение высокомолекулярной ДНК; рестрикцию ДНК проводили с помощью рестриктаз HindIII, BamHI, EcoRI; электрофорез продуктов гидролиза ДНК в 1,5% агарозном геле; связывание ХЗ с рестрикционными фрагментами ДНК. Включением 3H -тимидина и ^{14}C -уридина в ДНК измеряли количество импульсов в минуту на счетчике «Beckman». В крови определяли содержание малонового диальдегида (МДА) (Андреева, 1988), молекул средней массы (МСМ) (Габриэлян, 1982), сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) (Тойгайбаев, 1988). Содержание альбумина, тимоловой пробы, билирубина и активности ферментов в сыворотке крови проводили на биохимическом анализаторе с использованием соответствующих биотестов. В образцах кожи проводились гистологические исследования по общепринятой методике.

Полученные данные обрабатывали с помощью программного пакета Excel и OriginPro7,5 (OriginLab Corporation, США). Достоверность различий между показателями контрольной и опытных групп определены методом коэффициента Стьюдента (t) и показателю P.

В третьей главе диссертации «**Молекулярные механизмы действия хитозана на поврежденные клетки кожи**» представлены результаты эффективности применения ХЗ+ФЦ при экспериментальной ожоговой травме. Так, на первые сутки воспроизведения ожога у крыс наблюдалось состояние острой ожоговой болезни: вялость, адинамия, одышка, полидипсия и полиурия. На 3-и сутки образовался ожоговый струп на поверхности пораженного участка, состояние животных начинало улучшаться. У крыс 1-й группы в процессе лечения состояние постепенно улучшалось, они

становились более активными с хорошим аппетитом. Такая же направленность изменений была отмечена и у крыс 2-й и 3-й групп, однако явления интоксикации сохранялись. У животных 4-й группы явления интоксикации сохранялись в течение длительного времени, отмечалось ухудшение общего состояния развитием гнойно-септических явлений.

При ожоговой травме в зоне поражения наблюдались первичные анатомические и функциональные изменения, реактивно-воспалительные явления и регенеративные процессы. В контрольной группе в области термического поражения было заметно начало формирования ожогового пузыря, на коже вокруг раны наблюдались инфекционно-воспалительные явления. С течением времени наблюдалось увеличение травмированной поверхности в 1,3-1,5 раза с признаками воспаления и некроза. У животных 1-й и 2-й групп расширения поврежденной поверхности с течением времени не наблюдалось. Отмечено формирование раневого струпа, а под его поверхностью наблюдалось равномерное заживление, признаков воспаления не наблюдалось, тогда как при лечении левомеколем сохранялись признаки воспаления. Анализ площади раны различных групп показал более выраженное уменьшение у животных 1-й группы (табл. 1). Действие препаратов во 2-й и 3-й группах совпадало, тогда как в 4-й группе регенерация отставала. Подтверждением этому является динамика скорости заживления ран: у животных 1-й группы к 10-м суткам сократилась с $14,08 \pm 0,66 \text{ см}^2$ до $9,47 \pm 0,41 \text{ см}^2$, во 2-й группе – с $13,26 \pm 0,65 \text{ см}^2$ до $10,90 \pm 0,52 \text{ см}^2$, в 3-й и 4-й группах отмечена наименьшая регенерация.

Таблица 1

Динамика сокращения раневой поверхности, $M \pm m$

Группы	Площадь раны (см^2)			
	1 сутки	3 сутки	7 сутки	10 сутки
1-я	$14,08 \pm 0,66$	$13,67 \pm 0,62$	$11,33 \pm 0,65$	$9,47 \pm 0,41^*$
2-я	$13,26 \pm 0,65$	$13,13 \pm 0,66$	$11,10 \pm 0,63$	$10,90 \pm 0,52^*$
3-я	$12,92 \pm 0,46$	$12,79 \pm 0,47$	$11,70 \pm 0,39$	$10,53 \pm 0,56$
4-я	$12,33 \pm 0,31$	$12,25 \pm 0,30$	$11,84 \pm 0,43$	$10,80 \pm 0,17$

Примечание * - по сравнению с показателями первых суток значимо ($P < 0,05$).

Наибольшая пролиферативная активность установлена у крыс 1-й группы, регенераторная способность которой сохранялась в течение длительного времени. Так, на 3-, 7-, 10-е сутки опыта данный показатель превышал таковые контрольной группы в 4,5 ($P < 0,001$) и 4 ($P < 0,001$) раза; значения группы сравнения – в 2,5 ($P < 0,05$); 1,4 ($P < 0,05$) и 1,7 ($P < 0,05$) раза, соответственно срокам. Расчёт скорости заживления у животных 1-й группы показал прогрессивное увеличение данного показателя уже с 3-х суток к 7-м суткам, а на 10-е сутки он несколько снизился. Скорость заживления на 3

сутки превышала показатели контроля в 3-5 ($P < 0,001$) раза, на 7 суток – в 4 ($P < 0,001$) раза. Подтверждением этому является показатель коэффициента регенерации. Он был существенно выше у животных 1-й группы, во 2-й и 3-й группах показатели скорости заживления и коэффициента регенерации отставали, наиболее низкие их значения отмечены у животных 4-й группы.

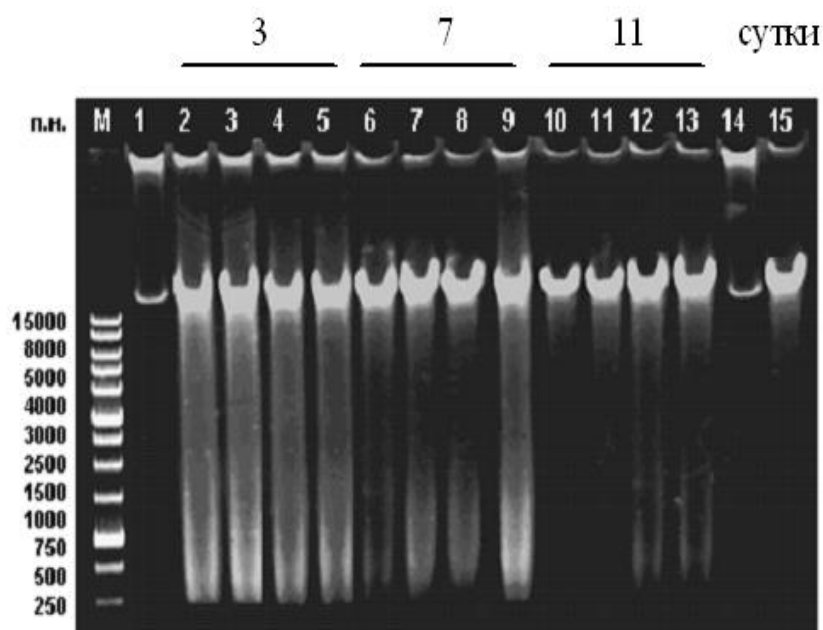
Морфологические исследования ожоговой раны при спонтанном развитии раневого процесса выявили образование коагуляционного некроза эпидермиса и дермы, разрушение коллагеновых волокон, на эпидермисе некроз, десквамация рогового и грануляционного слоев эпидермиса, которые сохранялись даже к 10-м суткам эксперимента. У крыс 1-й группы отмечено более раннее начало регенерации, во всех слоях дермы выявлялись новообразованная грануляционная ткань, кровеносные сосуды, свидетельствующая о хорошей регенерации кожи. Во 2-й группе крыс также отмечено ускорение регенерации эпителия, выявлялись участки с выраженной васкуляризацией, дифференцировки базального слоя. В 3-й группе отмечена медленная регенерация поврежденных участков, под эпидермисом обнаруживались инфильтрация лимфоцитами, лейкоцитами, гистиоцитами. Даже к 10-м суткам выявлялись как признаки очаговой десквамации, так и активной регенерации кожных слоев.

Следовательно, хитозановые гели, особенно в сочетании с фурацилином, существенно повышали скорость и коэффициент регенерации, что, видимо, и определяло более раннее сокращение ожоговой поверхности. Видимо, наличие ФЦ оказывало бактериоцидное действие, способствуя более быстрому очищению раны и ее ранней регенерации. По мнению ряда авторов, хитозан способен к связыванию с ДНК клеток, что приводит к активации репаративных процессов, проходящих в ядерном аппарате клетки, и к регенерации необожженных клеток (Lu et al., 2008). Природный полисахарид хитозан и его производные регулируют пролиферацию фибробластов и стимулируют нормальную регенерацию кожи. С другой стороны, производные хитина имеют структурные характеристики подобные глюкозаминам кожи и могут служить подложкой для роста кератиноцитов и фибробластов (Антонов и др., 2008).

В связи с этим для выяснения механизмов положительного действия ХЗ на репаративные процессы приведены молекулярные исследования. Анализ полученных картин рестрикции позволяет заключить о том, что 4 типа ХЗ в опытах *in vitro* заметно различаются по связыванию с ДНК и избирательной связываемостью фрагментов ДНК–л расщепленные ферментом Hind III. В параллельных двух вариантах был применен фермент Eco RI и Bam HI, заметной разницы в связывании фрагментов ДНК с хитозаном не было обнаружено. Наиболее выраженное связывание ДНК наблюдалось для хитозан сукцината. В связи с этим в следующих экспериментах мы исследовали связывание хитозан сукцината с ДНК, выделенную из клеток кожи с ожогом III степени. Анализ электрофоретической подвижности в агарозном геле интактной ДНК и ее комбинации с хитозан сукцинатом

показал заметную разницу электрофоретической подвижности интактной ДНК в зависимости от повышения ее концентрации и фрагментации в соответствующих пробах. В этом же эксперименте в параллельных вариантах с применением хитозан сукцината наблюдалось снижение концентрации фрагментированной ДНК. Результат комбинации применения ДНК с хитозан сукцинатом свидетельствует о связывании мелко расщепленных фрагментов ДНК на 50-70%.

В опытах *in vivo*, проведенных у животных 1-й серии с термической травмой при лечении различными препаратами, в клетках кожи с ожогом III степени на 3-и сутки после лечения нуклеосомная ДНК была сильно фрагментирована, наблюдалось расщепление ДНК на мелкие фрагменты, различий в группах мы не выявили (рис. 1). На 7-е сутки фрагментация ДНК уменьшилась на 30-40% по сравнению с показателями 3-х суток, за исключением проб ДНК, не получавших лечение животных. При сравнительном анализе степени фрагментации ДНК при применении хитозана с фурацилином уровень фрагментации снижен примерно на 20-30%. На 10-е сутки исследования у получавших и не получавших лечение животных наблюдалось заметное снижение межнуклеосомной деградации ДНК (МНД-ДНК) по сравнению с результатами 3-го дня лечения. При применении ХЗ+ФЦ и этого же состава без ФЦ уровень фрагментации ДНК снижен на 90 и 80%, соответственно. Уровень МНД-ДНК в варианте при применении левомеколя соответствовал контрольному варианту.



Дорожки: М – маркер, 1, 14 – ДНК фага λ интактная; 2, 6, 10 – ХЗ-1; 3, 7, 11 – ХЗ-2; 4, 8, 12 – левомеколь; 5, 9, 13 – без лечения; 15 – интактная ДНК клеток кожи, норма.

Рис. 1. Анализ межнуклеосомной деградации ДНК клеток кожи с ожогом III степени (интактных и на 3-й день после ожога).

Полученные данные свидетельствуют о том, что хитозан обладает ярко выраженной способностью препятствовать МНД-ДНК и поглощать фрагментированные молекулы ДНК клеток кожи. Способность хитозана к

связыванию с ДНК клеток приводит к активации репаративных процессов, проходящих в ядерном аппарате клетки, и к регенерации необожженных клеток.

Действительно, при термической травме в ранние сроки исследования отмечалось усиленное включение ^3H -тимидина и ^{14}C -уридина в синтез ДНК и РНК клеток кожи. В дальнейшем эти процессы замедлялись и к 10 суткам эксперимента интенсивность включения ^3H -тимидина и ^{14}C -уридина в ДНК и РНК составила $25,5 \pm 0,28$ и $20,0 \pm 0,35\%$ (табл. 2). Под действием ХЗ+ФЦ на 3-и сутки включение ^3H -тимидина в ДНК составило 52%, на 7-е - 72%, на 10-е - 94%. Полученные данные свидетельствуют об активизации синтеза ДНК в неповрежденных клетках кожи. Включение меченого предшественника в ДНК в группе животных, не получавших лечение, на 3-и, 7-е и 10 сутки составило 48; 27,8 и 25,5%, соответственно. Действие хитозана без фурацилина не отличалось от предыдущего образца, хотя было несколько ниже. На 3-и, 7-е и 10-е сутки включение ^3H -тимидина в ДНК составило 45,8; 60,4 и 88,2%, соответственно. Включение меченого предшественника в ДНК при использовании левомеколя составило 40; 58,8 и 75,5%, что существенно ниже значений группы животных, с применением хитозана. В данной группе синтез ДНК был несколько выше значений группы животных, не получавших лечение.

Таблица 2

Влияние хитозана на включение ^3H -тимидина и ^{14}C -уридина в ДНК и РНК клеток кожи с ожогом III степени, $M \pm m$, $n=10$

Сутки	Включение меченого предшественника, в % от интактной группы							
	Хитозан – 1		Хитозан – 2		Левомеколь		Контроль	
	^3H -тимидин	^{14}C -уридин	^3H -тимидин	^{14}C -уридин	^3H -тимидин	^{14}C -уридин	^3H -тимидин	^{14}C -уридин
3	$52,0 \pm 0,39$	$40,0 \pm 0,34$	$45,8 \pm 0,18$	$38,0 \pm 0,28$	$40,0 \pm 0,33$	$32,0 \pm 0,21$	$48,0 \pm 0,35$	$35,0 \pm 0,37$
7	$72,0 \pm 0,59^*$	$67,2 \pm 0,26^*$	$60,4 \pm 0,45^*$	$57,4 \pm 0,25^*$	$58,8 \pm 0,16^*$	$50,0 \pm 0,10^*$	$27,8 \pm 0,33$	$23,4 \pm 0,18$
11	$94,0 \pm 0,32^*$	$90,0 \pm 0,37$	$88,2 \pm 0,47^*$	$80,0 \pm 0,32$	$75,5 \pm 0,21^*$	$70,0 \pm 0,24^*$	$25,5 \pm 0,28$	$20,0 \pm 0,35$

* $P < 0,01$ по отношению к контролю.

Анализ результатов включения ^{14}C -уридина в синтез РНК показал интенсивное его включение при использовании ХЗ+ФЦ и ХЗ без фурацилина до 40 и 38% на 3-и сутки, до 67,2 и 57,4% - на 7-е и до 90 и 80% - на 10-е сутки эксперимента, соответственно. При использовании левомеколя они составили 32; 50 и 70%, что существенно ниже значений группы крыс, леченных ХЗ. Включение ^{14}C -уридина в РНК в группе нелеченных животных на 3-и, 7-е и 11-е сутки составило 35; 27,3 и 20%, соответственно.

Следовательно, в неповрежденных клетках кожи крыс с термической травмой отмечается замедление процессов репликации и транскрипции. Левомеколь лишь незначительно повышал изучаемые показатели. Более выраженная интенсификация синтеза ДНК и РНК мы наблюдали при использовании хитозана, особенно в сочетании с фурацилином.

Для подтверждения полученных результатов после включения меченых предшественников был проведен электрофорез ДНК в 1,5% агарозном геле. Установлено, что при применении ХЗ+Ф на 3-и, 7-е и 11-е сутки происходило восстановление нативной структуры ДНК, наиболее полная репарация ДНК отмечена на 10-е сутки. При использовании ХЗ без ФЦ на 3-и сутки наблюдалось выраженное нарушение синтеза ДНК и РНК, что проявлялось в виде шлейфа мелко фрагментированных фрагментов молекул ДНК и РНК, на 7-е и 11-е сутки – слабое восстановление синтеза ДНК и РНК. При применении левомеколя на 3-и, 7-е и 11-е сутки отмечено постепенное восстановление синтеза ДНК и РНК в клетках кожи при ожогах. Из приведенных данных можно прийти к выводу, что ХЗ+Ф является наиболее эффективным при лечении ожоговых ран.

Подтверждением эффективности применения ХЗ+Ф для лечения ожогов является снижение выраженности гиперлипเปอร์оксидации и эндотоксинемии (табл. 3).

Таблица 3

Изменение содержания МДА (нмоль/мл) в плазме крови при коррекции экспериментальной термической травмы, $M \pm m$, $n=25$

Группы		МДА, нмоль/мл		
		3-й день	7-день	11-й день
1	ХЗ+ГА+ФЦ	10,14±1,61 ^{а,б,в}	6,95±0,13 ^{а,б,в}	6,35±0,16 ^{а,б,в}
2	ХЗ+ГА	7,75±0,5 ^{а,б,в}	7,26±0,69 ^{а,б,в}	7,24±0,22 ^{а,б}
3	Левомеколь	17,32±1,74 ^{а,б}	13,24±0,23 ^{а,б}	7,87±0,17 ^{а,б}
4	Контроль	17,36±0,23 ^а	17,45±0,71 ^а	17,85±0,51 ^а
5	Интактная	5,85±0,49		

Примечание: $P < 0,05$: а – от интактной группы, б – от показателей контрольной группы, в – от показателей группы при лечении левомеколем.

Положительные результаты выявлены и при изучении показателей эндогенной интоксикации. Так, при 3-дневном лечении ХЗ+Ф ССЭ снизилась, отмечена явная тенденция к нормализации данного показателя. Несмотря на такие положительные сдвиги ССЭ на 7- и 10-й дни лечения на 47,4 и 24,5% превышала значения интактных животных (табл. 4).

Таблица 4

Динамика изменения показателей эндогенной интоксикации у экспериментальных животных, $M \pm m$

Группы	3-й день	7-день	10-й день
Интактная	$\frac{46,89 \pm 1,68}{0,157 \pm 0,002}$		
Контрольная группа	$\frac{93,84 \pm 1,13^a}{0,278 \pm 0,024^a}$	$\frac{90,84 \pm 0,12^a}{0,261 \pm 0,018^a}$	$\frac{85,03 \pm 1,23^a}{0,255 \pm 0,013^a}$
1-я группа	$\frac{84,54 \pm 1,72^a}{0,211 \pm 0,016^{a,b,v}}$	$\frac{68,66 \pm 2,28^{a,b,b}}{0,166 \pm 0,010^{b,b}}$	$\frac{56,84 \pm 1,86^{b,b}}{0,149 \pm 0,011^{b,b}}$
2-я группа	$\frac{88,38 \pm 1,15^a}{0,223 \pm 0,017^{a,b,v}}$	$\frac{85,89 \pm 0,65^a}{0,222 \pm 0,012^{a,b}}$	$\frac{65,35 \pm 2,62^{a,b}}{0,169 \pm 0,012^b}$
3-я группа	$\frac{91,34 \pm 1,68^a}{0,276 \pm 0,019^a}$	$\frac{89,44 \pm 1,68^a}{0,245 \pm 0,016^a}$	$\frac{77,73 \pm 2,85^a}{0,175 \pm 0,011^{a,b}}$

Примечание:

- 1) В числителе представлены значения ССЭ (%), в знаменателе – уровень МСМ (усл.ед.); 2) достоверное отличие $P < 0,05$: а – от интактной, б – от показателей контрольной, в – при лечении левомеколем группы, соответственно.

У животных 2-й группы после лечения в течение 7- и 10 дней ССЭ снизилась на 19,9 и 40,1% по сравнению с показателями контрольной группой. Этот эффект отличается у животных группы сравнения.

В плазме крови крыс 1-й группы отмечено снижение уровня МСМ на 10,4; 41,3 и 57,4% на 3-, 7- и 10-й дни лечения, соответственно. Менее существенно изменялось содержание МСМ во 2- и 3-й исследуемых группах.

Коррекция термического ожога препаратом ХЗ+Ф, в меньшей степени ХЗ и левомеколем способствовала достоверному снижению высоких значений тимоловой пробы, гипербилирубинемии, повышала низкий уровень общего белка в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой.

На основании полученных результатов мы разработали метод лечения термической травмы с применением геля ХЗ+ФЦ и составили алгоритм механизма действия данного препарата (рис. 2). Это осуществляется следующим образом: на очищенную из некротических масс ожоговую поверхность в стерильных условиях наносится аппликация хитозанового геля с фурацилином. Он создаёт непроницаемый для бактерий слой и в связи с этим ускоряет регенераторные процессы пораженного участка. При этом отмечается не только ускорение регенерации поврежденного очага, но и улучшение биохимических показателей плазмы крови, что на наш взгляд, является хорошим прогностическим признаком. Быстрое очищение раны от некротического струпа препятствует МНД, ускоряет процессы репликации и транскрипции. Такие положительные сдвиги при использовании ХЗ из *Bombyx mori* способствует ранней эпителизации пораженного очага, снижению степени эндотоксинемии и свободно-радикальных процессов в организме экспериментальных животных.



Рис. 2. Механизм ранозаживляющего действия гелевой формы хитозана с фурацилином при термической травме.

Таким образом, анализ полученных результатов применения гелевой формы ХЗ+ФЦ при термической травме показал положительные результаты. Разработанный нами метод лечения ожогов целесообразно внедрить в практическую деятельность комбустиологов.

В четвертой главе диссертации «Доклинические экспериментальные исследования лекарственного препарата «Хитозан с фурацилином» были исследованы 2 препаративные формы: порошок и гель. Определены максимально-переносимая доза препарата на уровне 1000 мг/кг и абсолютно-смертельная доза – на уровне 5000 мг/кг. Средне-смертельные дозы (ЛД₅₀) препарата «Хитозан с фурацилином» (порошок) – 3300 (3353÷3246,96) мг/кг и «Хитозан с фурацилином» гель 3120 (3165,9÷3074,1). Следовательно, по классификации лекарственных средств по острой токсичности при внутрижелудочном введении препарата «Хитозан с фурацилином» относится к малотоксичным веществам, а порошок и гель препарата по параметрам острой токсикометрии являются биоэквивалентами. Проведенный комплекс токсикологических, физиологических и биохимических исследований позволяет сделать вывод о том, что хроническое внутрижелудочное воздействие в течение месяца препарата «Хитозан с фурацилином» в различных дозах (100,0 мг/кг, 50,0 мг/кг и 10,0 мг/кг) не оказывает негативного воздействия на организм экспериментальных животных.

Препарат не обладает кожно-резорбтивным и местно-раздражающим действием и анафилактической активностью.

Макроскопическое исследование плодов подопытных крыс, получавших препарат ХЗ+ФЦ в дозах 100 мг/кг и 10 мг/кг, не выявило каких-либо различий в их внешнем виде, массе тела и кранио-каудальном размере по сравнению с плодами контрольной группы крыс. При исследовании внутренних органов плодов опытных групп крыс не выявлены какие-либо отличия. При введении препарата ХЗ+ФЦ в сроки на 8-9 дни беременности по показателям числа ребер, центров окостенения в метатарзальных и метакarpальных костях скелета плодов результаты в контрольных и опытных группах не различались. При исследовании влияния препарата на репродуктивную функцию крыс опыты показали, что введение его беременным самкам не влияло на сроки родов и репродуктивную функцию.

Таким образом, «Хитозан с фурацилином» при введении животным не оказывает отрицательного действия, не обладает кумулятивными, кожно-резорбтивными, местно-раздражающими и анафилактическими свойствами, не влияет на репродуктивную функцию, не обладает эмбриотоксическими и тератогенными свойствами.

ВЫВОДЫ

На основании проведенных исследований диссертации на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по биологическим наукам на тему: «Молекулярные механизмы действия хитозана при экспериментальном термическом ожоге» могут быть сделаны следующие выводы:

1. Производные хитозана в исследованиях *in vitro* опытах способны связыванию с молекулами ДНК, что приводит к активации процессов репарации ДНК и регенерации обожженной ткани. Наиболее эффективным препаратом является сукцинат хитозана.

2. Термическая травма сопровождается увеличением межнуклеосомной деградации кожи. По сравнению с левомеколем препараты ХЗ-1 и ХЗ-2 эффективнее снижают степень межнуклеосомной деградации. Особенно на 10-е сутки опыта.

3. Скорость включения ^3H -тимидина при лечении ХЗ-1 составляет 52; 72 и 94%, соответственно срокам 3, 7 и 10 дней, что существенно выше значений группы левомеколя и, особенно нелеченной, на 10-е сутки лечения. При этом скорость включения ^{14}C -уридина возрастает в 1,25; 1,34 и 1,3 раза по сравнению с левомеколем, что свидетельствует об экспрессии генов.

4. Скорость заживления пораженного участка кожи крыс с термической травмой зависит от срока исследования и используемого препарата. Производные хитозана, особенно его сочетание с фурацилином, уже с ранних сроков существенно ускоряют скорость заживления и повышают коэффициент регенерации, тогда как при использовании левомеколя они более выражено проявляются на 3-7 сутки.

5. При термической травме хитозан по сравнению с левомеколем оказывает более выраженное антиоксидантное действие, что проявляется снижением высокого уровня МСМ. Выраженность гиперлипидпероксидации в большей степени снижается при применении производных хитозана.

6. Препарат хитозан+фурацилин относится к препаратам малотоксичным, не обладает кумулятивным, кожно-резорбтивным и местно-раздражающим действием. Не оказывает отрицательного эмбриотоксического и тератогенного эффекта, не влияет на репродуктивную функцию экспериментальных животных.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc.29.12.2018.B.01.13 AT THE INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND
BIOCHEMISTRY OF NATIONAL UNIVERSITY UZBEKISTAN**

SAMARKAND STATE MEDICAL INSTITUTE

BAYKULOV AZIM KENJAYEVICH

**MOLECULAR MECHANISMS OF THE ACTION CHITOSAN UNDER
EXPERIMENTAL THERMAL BURN**

03.00.01 – Biochemistry

**DISSERTATION ABSTRACT
of the doctor philosophy (PhD) on biological sciences**

Tashkent - 2019

The dissertation of PhD has been registered with the number B2018.4.PhD/B234 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the Samarkand state medical institute.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council and on the website of «Ziyonet» information and educational portal (www.ziyonet.uz).

Scientific supervisor: **Inoyatova Feruza Hidoyatovna**
doctor of biological sciences, professor

Official opponents: **Yuldashev Nosirjon Muhamedjanovoch**
doctor of biological sciences, professor

Ergashova Mukarram Jurabayevna
doctor of biological sciences, professor

Leading organization **Tashkent Pharmaceutical Institute**

The defence of the dissertation will take place on «16» 10 2019 year 14⁰⁰ at the meeting of the scientific council DSc.29.12.2018.B.01.13 on award of scientific degrees at the Institute of Biophysics and biochemistry at the National University of Uzbekistan. Address: 100174, Tashkent city, Student's town, Universty St. 174. Phone: (99871) 246-68-96.

The dissertation has been registered at the Information- Resource Centre of Institute of Biophysics and biochemistry, National University of Uzbekistan (registration number D-7). Address:100174, Tashkent city, Student's town, Universty St. 174. Phone: (99871) 246-68-96, e-mail: ibb-nuu@mail.ru).

Abstract of dissertation is distributed on «27» 09 2019 year.
(Protocol at the register _____ on « » _____ 2019 year).





Sabirov Ravshan Zairovich
Chairman of the scientific council on award of scientific degrees, D.B.Sc., academician



Asrarov Muzaffar Islamovich
Scientific secretary of the scientific council on award of scientific degrees, D.B.Sc., professor



Sherimbetov Sanjar Gulmirzoyevich
Chairman of seminar under scientific council on award of scientific degrees, D.B.Sc.

INTRODUCTION (PhD thesis abstract)

The aim of research work is the study molecular mechanism reparations to regenerations of the cells of the skin under thermal trauma and possibility to correcting the revealed breaches products chitosans.

The object of the research work: are new cleaning chitosans with furaciline in gel to form, created employee Scientifically exploratory institute to Chemistries and physicists polymer from cocoon of the silkworm, experimental animals.

Scientific novelty of the research work is as follows:

high efficiency of the using gel forms chitosans with furaciline is proved in reconstruction damaged epithelium and apurtenance of the skin at burning to trauma;

proved efficiency of the using different derived chitosans in prevention internucleosomal degree and possibility of their collecting with specific area DNA, is calculated constants of the collecting and interactions derived chitosans, speedup replications and transcriptions;

the realized antioxidantic and antitoxic characteristic chitosans with furaciline at treatment of the thermal trauma;

the proved absence toxic, allergic, sensibilisatic, embriotoxic and teranogenic characteristic of the preparation chitosans with furaciline.

Implementation of the research results:

On bases ofobtained results on determination mechanism regenerations healing, toxicological characteristic enabled:

have been methodic recommendation «Derived is Approved chitosans in local treatment burn» wich introduced into the practice (conclusion of the Ministry of the Health of the Republic of Uzbekistan 8H-3/150 from 17 Septembers, 2019). In total local using gel forms derived chitosan forms wound healing, antimicrobial tape on wound of the surfaces that enabled to prevent festering formation on wound;

the results of the work on modeling of the burn and toxicological studies are introduced in central scientifically - Tashkent medical academy and Tashkent pharmaceutical institute (conclusion of the Ministry of the Health of the Republic of Uzbekistan 8H-3/150 from 17 Septembers, 2019). As a result of local use the complex chitosan with furaciline, enabled quick wound healing beside experimental animal with model of the thermal trauma.

The structure and volume of the thesis. The dissertation consists of introduction, four chapters, conclusions, list of references and appendix. The volume of the the of 109 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; Part I)

1. Байкулов А.К., Кадирова Д.А., Иноятова Ф.Х. Специфические участки ДНК для хитозана в процессе лечения ожогов // Инфекция, иммунитет и фармакология.- Ташкент.- 2011.- №3.- С.29-33. (03.00.00, №7).
2. Иноятова Ф.Х., Байкулов А.К. Динамика заживления ран у крыс на модели термического ожога с коррекцией производными хитозана // Проблемы биологии и медицины.- Самарканд.- 2011.- №3.- С.72-73. (14.00.00, №19).
3. Байкулов А.К. Динамика развития эндогенной интоксикации при экспериментальном термическом ожоге // Проблемы биологии и медицины.- Самарканд.- 2011.- №4.- С.16-19. (14.00.00, №19).
4. Байкулов А.К., Советов К.Т. Динамика показателей продуктов перекисного окисления в крови у крыс с экспериментальным термическим ожогом // Вестник врача общей практики.- Самарканд.- 2012.- №1.- С.43-45. (14.00.00, №20).
5. Байкулов А.К., Кадирова Д.А., Иноятова Ф.Х., Милушева Р.Ю., Рашидова С.Ш. Влияние хитозана на межнуклеосомную деградацию ДНК модельных клеток кожи животных // Журнал Теоретической и клинической медицины.- Ташкент.- 2012.- №4.- С.7-9. (03.00.00, №4).
6. Кадырова Д.А., Иноятова Ф.Х., Байкулов А.К., Рашидова С.Ш., Милушева Р.Ю. Изучение связывания хитозана со специфическими участками ДНК при термическом ожоге // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина.- Новосибирск.- 2012.- Т.10, вып.5.- С.31-36. (03.00.00, №11).
7. Байкулов А.К., Матчанов Н.Ж. Некоторые механизмы регенераторного действия производных хитозана на модели термической травмы // Инфекция, иммунитет, фармакология.- Ташкент.- 2013.- №1-2.- С.34-38. (03.00.00, №7).
8. Иноятова Ф.Х., Байкулов А.К., Кадырова Д.А. Влияние хитозана на структуру и синтез нуклеиновых кислот при ожогах // Узбекский биологический журнал.- Ташкент.- 2015.- №5.- С.3-6. (03.00.00, №3).
9. Inoyatova F.K., Baykulov A.K. Preclinical study of drug forms based on chitosan // European science review.- Austria.- 2017.- №9-10.- P.31-33. (03.00.00, №6).

II бўлим (II часть; Part II)

10. Иноятова Ф.Х., Рашидова С.Ш., Милушева Р.Ю., Байкулов А.К. Производные хитозана в местном лечении ожогов // Методические рекомендации. – Ташкент.- 2018. –С.24.

11. Байкулов А.К. Влияние хитозана на синтез ДНК и РНК при ожогах // Журнал Врач Аспирант.- Воронеж.- 2012.- №4(53).- С.26-39. (03.00.00, №12).

12. Рашидова С.Ш., Иноятова Ф.Х., Байкулов А.К., Милушева Р.Ю. Экспериментальное обоснование эффективности применения хитозановых гелей в лечении термической травмы // Вестник ТМА.– Ташкент.- 2012.- №1.- С.46-50. (14.00.00, №13).

13. Milusheva R.Y., Baykulov A.K., Odjagova G. Using of gel forms of chitosan in the treatment of thermal burns // Xth International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds Abstracts.– Tashkent-Bukhara Republic of Uzbekistan.– November 21-23, 2013.– P.144.

14. Иноятова Ф.Х., Байкулов А.К., Кутликова Г.М. Оценка кожно-резорбтивного действия хитозана и некоторых его производных // Вестник ТМА.– Ташкент.- 2014.- №3.– С.32-35. (14.00.00, №13).

15. Байкулов А.К., Бегматова Д.А. и др. Исследования эффективности производных хитозана на процессы репаративной регенерации ожоговых ран в эксперименте // International scientific and practical conference «World science».- Dubai, UAE.– 2016.- №5(9).- P.53-59.

16. Байкулов А.К., Бегматова Д.А. и др. Эмбриотоксическая и тератогенная активность препаратов хитозана // International scientific and practical conference «World science».- Dubai, UAE.– 2016.- №6(10).

17. Байкулов А.К., Бегматова Д.А. и др. Оценка острой хронической токсичности и кумулятивных свойств препарата «хитозан с фурацилином» // XI Международная научно практическая интернет конференция «Тенденции и перспективы развития науки и образования в условиях глобализации».– Переяслав-Хмельницкий, Украина.– 2016.– Вып.14.– С.387-389.

18. Байкулов А.К., Ишмуратова А.С. и др. Регенерация кожи при экспериментальном термическом ожоге коррекцией хитозаном // XI Международная научно практическая интернет конференция «Тенденции и перспективы развития науки и образования в условиях глобализации».– Переяслав-Хмельницкий, Украина.– 2016.– Вып.13.– С.15-18.

19. Байкулов А.К., Советов К.Т., Юсуфов Ш. Действие производных хитозана на показатели эндогенной интоксикации при экспериментальном термическом ожоге // XI Международная научно практическая интернет конференция «Тенденции и перспективы развития науки и образования в условиях глобализации».– Переяслав-Хмельницкий, Украина.– 2016.– Вып.11.– С.7-9.

20. Байкулов А.К. Эффективности производных хитозана на процесс регенерации кожи при термическом ожоге // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения.– Екатеринбург.– 2016.– Т.3.– С.2567-2571.

21. Байкулов А.К., Советов К.Т., Бегматова Д.А. Мансуров Ш.В. Воспалительный процесс от стадии изменений в крови до заживления //

Proceeding of the III international scientific and practical conference.– Dubai, UAE.– February 28, 2017.– P.32-36.

22. Байкулов А.К., Бегматова Д.А. и др. Степень эндогенной интоксикации и липопероксидации в динамике термической травмы и лечении производными хитозан // Proceeding of the III international scientific and practical conference.– Dubai, UAE.– February 28, 2017.– P.28-32.

23. Милушева Р.Ю., Авазова О.Б., Байкулов А.К., Рашидова С.Ш. Синтез противоожоговых препаратов на основе хитозана // Известия Уфимского научного центра РАН.- 2018.- №3(2).– С.18-22.

24. Baykulov A.K., Sovetov Q.T., Yunusov O.T., Rahmonov S. The study of the influence chitosans on endogen intocsications at burn of the skin // Тенденции и перспективы развития науки и образования в условиях глобализации.– Переяслав-Хмельницкий, Украина.– 2018.– Вып.35.– С.7-9.

25. Байкулов А.К., Саидмуродова З.А. и др. Preclinical study new of drug forms based on chitosan // RS Global World Science Multidisciplinary Scientific Edition.– Poland. May.– 2018.- №5(33), Vol.3. -P.26-28.

Автореферат “Ўзбекистон биология журналы” журналы тахриридан
ўтказилди.

Босишга рухсат этилди _____2019 й. Бичими 60x84 1/16
Офис қоғози. Ризограф усулда. Times гарнитураси.
Шартли босма табағи 3,1. Нашр, ҳисоб табағи 2,5.
Адади 70 нусха. Буюртма №

«IMPRESS MEDIA» MChJ босмахонасида чоп этилди.
Тошкент шаҳри, Қушбеги кўчаси, 6-уй.

