

Т. В. Звягінцева

Стан перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної активності крові при механічному і променевому ушкодженні шкіри

На моделях кожної рани і радіоіндуцированої язвы у крыс изучали состояние процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность ферментов антиоксидантной системы в крови. Установлено, что заживление кожной раны вторичным натяжением сопровождается активацией ПОЛ в плазме и эритроцитах на протяжении 15 сут. Развитие радиоиндуцированной язвы характеризуется значительно более высокой степенью активации ПОЛ, начиная с латентного периода и до формирования язвы (30 сут). Только в процессе развития радиоиндуцированной язвы показана двухфазная активация ПОЛ и снижение активности антиоксидантных ферментов — каталазы и супероксиддисмутазы. Вторая волна усиления ПОЛ совпадает с периодом выраженных клинических проявлений и, возможно, обусловлена несостоятельностью антиоксидантной системы.

Вступ

Продукти перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) відіграють істотну роль у медіаторному каскаді запального процесу. В осередку запалення вільно-радикальне ПОЛ може значно активуватися [4, 11]. У ранні строки після пошкодження збільшується активність мієлопероксидази, яка бере участь в утворенні вільних радикалів кисню, галоїдів, пероксиду водню, в осередку запалення асептичної рани, а також у циркулюючих у периферичній крові нейтрофілах, еозинофілах і моноцитах [13]. Генерація активних форм кисню, яка є одним з механізмів знищення мікробів [12], може також призводити до надмірного ушкодження власних тканин [5, 15, 17]. З цієї точки зору доцільно дослідити стан ПОЛ при ускладненому вторинним натягом загоюванні ран. Особливо цікавим є вивчення ролі ПОЛ у розвитку радіоіндукованої виразки. Активація вільнорадикального ПОЛ — один з пускових механізмів біологічної дії іонізуючої радіації, який бере участь у реалізації променевого ураження біологічних мембран і їх генетичного апарату [1, 2, 11]. Ушкоджуючу дію продуктів ПОЛ вивчено при тотальному впливі на організм іонізуючого випромінювання. Невідомо, яку роль відіграють процеси ПОЛ у розвитку радіоіндукованих виразок, викликаних локальною дією випромінювання. На ПОЛ впливає також активність антиоксидантної (АО) системи, яка в нормі може контролювати й обмежувати його [6, 11, 16].

Мета нашого дослідження — вивчити стан ПОЛ і ферментів АО-системи периферичної крові в процесі розвитку шкірної рани, яка заживає вторинним натягом, і радіоіндукованої виразки.

© Т. В. Звягінцева

Методика

Досліди проведені на 74 щурах-самицях популяції Вістар масою 200–220 г. У тварин I групи моделювали шкірну рану видаленням під ефірним наркозом частини шкіри спини площею 400 мм² [9, 10]. Щурів II групи піддавали одноразовому локальному рентгенівському опроміненню в дозі 80 Гр, яка викликає утворення виразок [7]. На 1, 7, 15 і 30-ту добу після дії пошкоджуючого чинника тварин декапітували. Для характеристики стану процесів ПОЛ у плазмі крові й еритроцитах тварин визначали вміст первинних продуктів пероксидації — дієнових кон'югатів (ДК) і вторинних продуктів вільнорадикальних процесів, до яких відносяться такі, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-залежні продукти ПОЛ) — малоновий діальдегід (МДА) і його попередники [14].

Стан АО-системи крові оцінювали за активністю в еритроцитах ключових АО-ферментів — каталази (Кат) [2] і супероксиддисмутази (СОД) [8]. Контролем були інтактні щури. Результати оброблені за допомогою методу варіаційної статистики з урахуванням критерію t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Рана, яка була утворена видаленням частини шкіри, загоювалась вторинним натягом з утворенням грануляційної тканини, що узгоджується з літературними даними [13, 15]. Планіметричні дослідження виявили закономірне зменшення площі ранового дефекту, який значно скоротився між 7-ю і 14-ю добою, що збігається з нашими попередніми дослідженнями [9, 10]. Після 16–20-ї доби у всіх тварин рановий дефект був відсутній, краї рани з'єднувались. У щурів, яких піддавали локальному опроміненню, на 1–2-гу добу на місці опромінення спостерігали помітну ранню еритематозну реакцію. Гіперемія з часом зменшувалась і зникала. Наступні 7–8 діб був латентний період. Починаючи з 14–15-ї доби, спостерігалась основна еритематозна реакція з сухою та вологою десквамаціями, які послідовно чергувались. На 30-ту добу розвинувся некроз і з'явилися виразки. Динаміка розвитку радіоіндукованої виразки в основному була подібною до описаної [3].

Розвиток рани, спричиненої дією механічного фактора, супроводжувався активацією процесів ПОЛ (рис. 1). При цьому вміст ДК плазми вірогідно збільшувався тільки на 1-шу добу (на 71 % порівняно з контролем), підвищення вмісту ДК еритроцитів було тривалішим (1, 7, 15-та доба), але менш інтенсивним (на 33, 46 і 59 % відповідно). Концентрація МДА плазми була істотно вищою за контрольні значення протягом тижня, МДА еритроцитів — протягом 15-ти діб, сягаючи максимуму в обох випадках на 7-му добу. На цей час вміст МДА у плазмі перевищував контроль на 69 %, в еритроцитах — на 103 %. До 30-ї доби нормалізувалися всі показники ПОЛ.

Активність АО-ферментів — Кат і СОД — вірогідно не відрізнялася від контрольних значень протягом усього дослідження (рис. 2).

Зміни ПОЛ при загоюванні шкірної рани відповідають класичній картині вільнорадикальних процесів при запаленні, коли активація ПОЛ проявляється, насамперед, підвищенням концентрації первинних продуктів. Можливо, початок збільшення їх вмісту відбувається відразу після ушкодження. Мобілізація АО-резервів, зокрема Кат та СОД еритроцитів, запобігає

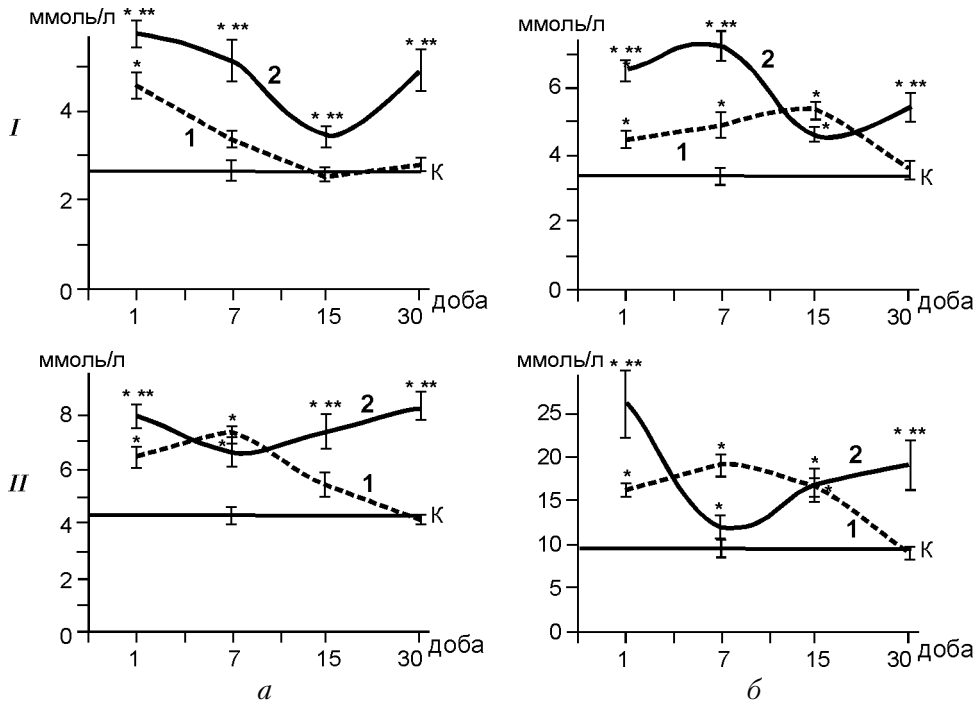


Рис. 1. Вміст дієнових кон'югатів (I) та малонового діальдегіду (II) у плазмі (а), еритроцитах (б) у процесі розвитку шкірної рани (1) та радіоіндукованої виразки (2) у щурів. К – контроль. * $P < 0,05-0,001$ порівняно з контролем, ** $P < 0,05-0,001$ між групами 1 і 2.

значній активації процесів ПОЛ, про що свідчать короткочасне підвищення вмісту ДК і МДА плазми та еритроцитів. Разом з тим отримані результати свідчать про те, що загоювання рани вторинним натягом супроводжується активацією процесів ПОЛ у крові не тільки протягом ранньої запальної фази, як це спостерігається при загоюванні первинним натягом асептичної рани [13], але і в більш пізній період. При цьому, якщо активація ПОЛ у ранні строки може бути викликана стимуляцією лейкоцитів, активацією системи мієлопероксидаза – пероксид водню, то в більш віддалені строки можливе додаткове посилення вільнорадикальних процесів внаслідок пошкодження паренхіматозних, епітеліальних клітин [18]. Але, незважаючи на

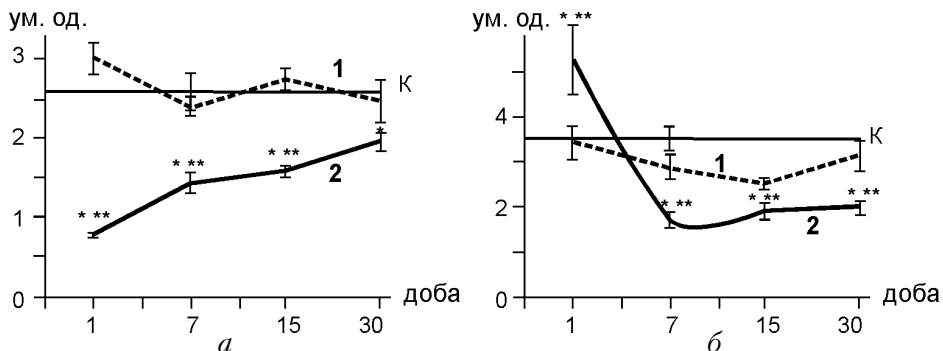


Рис. 2. Активність каталази (а) та супероксиддисмутази (б) еритроцитів у процесі розвитку шкірної рани (1) та радіоіндукованої виразки (2) у щурів. К – контроль. * $P < 0,05-0,001$ порівняно з контролем, ** $P < 0,05-0,001$ між групами 1 і 2.

посилена генерацію активних радикалів кисню і гідропероксидних ліпідів, АО-система виявляється достатньою для стабілізації рівня ПОЛ.

У щурів, які були піддані локальному опроміненню, зміни показників ПОЛ і активності АО-системи мали інший характер. Показники ПОЛ були значно вищі, ніж у тварин зі шкірною раною, ще в латентному періоді і продовжували залишатися на високому рівні до кінця спостереження, тобто в періоди сухої, вологої десквамації, формування виразки (див. рис. 1). При цьому відзначалося двофазне збільшення вмісту ДК плазми і еритроцитів (див. рис. 1 *а, б*). Концентрація ДК максимально збільшувалася на 1-шу і 7-му добу, перевищуючи вміст ДК у щурів зі шкірною раною в плазмі на 42 і 65 %, в еритроцитах — на 61 і 60% у відповідні строки, а потім вдруге після 15-ї доби, сягаючи максимуму на 30-ту добу. В цей час концентрація ДК у опроміненних тварин у плазмі була вищою на 79 %, в еритроцитах — на 96 %, порівняно зі значеннями у щурів після механічного пошкодження. Вміст МДА був найбільшим на 1-шу добу (у плазмі на 33 %, в еритроцитах на 105 %) та 30-ту добу (у плазмі на 105%, в еритроцитах на 107 %). Відомо, що активація ПОЛ розвивається безпосередньо після дії іонізуючого випромінювання, а з часом спостерігається коливання вмісту продуктів ПОЛ, яке залежить від АО-системи [2]. Активність Кат і СОД при локальній дії іонізуючого випромінювання вірогідно знижена порівняно з такою при шкірній рані протягом усього дослідження (див. рис. 2). Отже, повторне збільшення вмісту продуктів ПОЛ, мабуть, зумовлене недостатністю АО-системи. Звичайно друга хвиля посилення ПОЛ збігається з періодом клінічних проявів променевого ураження [2], що узгоджується з нашими результатами.

Таким чином, розвиток радіоіндукованих виразок супроводжується більш високим ступенем активації ПОЛ у крові, ніж розвиток шкірної рани. Отримані результати узгоджуються з твердженням, що активація ПОЛ, як важлива ланка запального процесу, відображає його гостроту та тяжкість [11]. Мабуть, різка активація ПОЛ при розвитку радіаційного пошкодження шкіри, з одного боку, зумовлена підвищенням утворенням активних форм кисню, гідропероксидів, епоксидів, альдегідів внаслідок розвитку реакцій радіаційного посилення, передусім у мембранах, а з іншого боку, — недостатністю АО-системи крові. У результаті процеси ПОЛ набувають лавоподібного характеру, викликаючи деструкцію біомембран, що, в свою чергу, призводить до підвищення вмісту продуктів пероксидації. Це пояснює збільшення концентрації ДК та МДА в крові щурів на 15-ту і 30-ту добу. Не виключено, що в опроміненому організмі порушуються механізми утилізації та інактивації перекисних продуктів, що також сприяє надмірному накопиченню метаболітів ПОЛ у крові.

T. V. Zvyagintseva

**LIPID PEROXIDATION STATE AND ANTIOXIDANT ACTIVITY
OF BLOOD IN SKIN WOUND INDUCED BY MECHANICAL
AND RADIATION INJURY**

The state of lipid peroxidation and antioxidant system in blood were been studied on the models of skin wound and radioinduced ulcer in rats. It was shown that the healing of skin wound by secondary strength is accompanied by activation of processes

lipid peroxidation in plasma and erythrocytes during 15 days. The development of radioinduced ulcer is characterized by more high degree activation of lipid peroxidation beginning with latent period and till forming ulcer (30 days). Only in process of radioinduced ulcer development two phase of activation lipid peroxidation and decrease of antioxidant enzyme activity – catalase and superoxid dismutase – were established. Secondary phase of lipid peroxidation activation was coincided with period of clinical appearances and it was possibly explained by exhaustion of antioxidant system.

Kharkov Medical University Ministry of Public Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В.А., Белошицкий П.В., Красюк А.Н., Коркач В.И. Кислотозависимые процессы в облученном организме // Физиол. журн. – 1994. – 40, №3-4. – С.116-128.
2. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. – К.: Наук. думка, 1991. – С. 60-127.
3. Биологическая основа ограничения доз в коже : Публикация 59 Международной комиссии по радиологической защите. – М.: Радэкон, 1996. – 177 с.
4. Воспаление. Руководство для врачей // Под ред. В.В. Серова, В.С. Паукова. – М.: Медицина, 1995. – 640 с.
5. Герасимов А.М., Фурицева Л.Н. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии. – М.: Медицина, 1986 – 235 с.
6. Демуров Е.А., Игнатова В.А. Метаболические и нейрогормональные механизмы ишемических повреждений миокарда // Итоги науки и техники. Серия : Физиология человека и животных. – 1985. – Т.30.
7. Звягінцева Т.В. Моделювання місцевих променевих ушкоджень шкіри // Физиол. журн. – 1998. – 44, №5-6. – С.106-112.
8. Костюк В.А., Пожанинович А.И., Ковалева Ж.В. Метод определения супероксиддисмутазы в эритроцитах // Вопр. мед. химии. – 1990. – №2. – С. 80-91.
9. Липищ Р.У., Звягінцева Т.В. Міжклітинні взаємодії у процесі загоювання експериментальної шкірної рани // Физиол. журн. – 1997. – 43, №1-2. – С.78- 82.
10. Липищ Р.У., Цераудис Г.С., Звягінцева Т.В. Реакция тучных клеток в поврежденной коже при экспериментальной ране // Вестн. дерматологии и венерологии. – 1984. – №1. – С. 23-30.
11. Окислительно-антиоксидантный потенциал в норме и патологии // Под общ. ред. Зозули Ю.А. – К.: Наук. думка, 1997. – 420 с.
12. Панченко Л.Ф., Герасимов А.М., Антоненков В.Д. Роль пероксисом в патологии клетки. – М.: Медицина, 1981. – 208 с.
13. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей // Под редакцией М.И.Кузина, Б.М. Костючонок. – М.: Медицина, 1990. – 592 с.
14. Скорняков В.И., Кожемякин Л.А., Смирнов В.В. Продукты перекисного окисления липидов в спинномозговой жидкости у больных с черепно-мозговой травмой // Лаб. дело. – 1988. – №8. – С.14-16.
15. Шехтер А.Б., Кабисов Р.К., Пекишев А.В., Козлов Н.П., Перов Ю.Л. Экспериментально-клиническое обоснование плазмодинамической терапии ран оксидом азота // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1998. – №8. – С. 210-215.
16. Basu D.K., Kartazyn M. Injury of rat hearts produced by an exogenous free radical generation system // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1987. – 242, №2. – P.673-685.
17. Byung P.Y. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species // Physiol. Reviews. – 1994. – 74, №1. – P.139-162.
18. Janoff F., Carp H. Proteases, antiproteases and oxidants: Pathways of tissue injury during inflammation // Eds. G. Majno, R.S. Catran. – Baltimore : Williams et Wilkins Co, 1982. – P.62-82.

*Харків. мед. ун-т
М-ва охорони здоров'я*

*Матеріал надійшов
до редакції 19.05.99*