

УДК 616-001.17:616-092.9:6.16-0.92.19

ОРГАНОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТЕРМИЧЕСКОГО ОЖОГА

¹Костина О.В., ¹Перетягин С.П., ²Фишкин А.О., ¹Ларионова К.Д.

¹ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России, Нижний Новгород,
e-mail: olkosta@rambler.ru;

²ФГБУ «Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

Работа посвящена изучению особенностей перекисного окисления липидов в различных тканях в условиях экспериментального термического ожога. Показатели про- и антиоксидантного статуса исследовались в печени, легких, сердце и почках крыс на 3, 7 и 10 сутки после ожога. Установлена органоспецифичность реакций на ожоговую травму в виде разной степени выраженности изменений перекисных процессов и активности антиоксидантной системы защиты. В наибольшей степени подверженным травматическому стрессу оказались легкие, что проявилось в развитии в них окислительного стресса. В печени обожженных животных отмечалась компенсаторная активация антиоксидантной защиты, не позволяющая развиваться окислительному стрессу. В сердце наблюдалась тенденция к гипометаболизму. Выявлено, что почки более устойчивы к процессам липопероксидации за счет роста антиоксидантной активности.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, ожог, органоспецифичность

SPECIFIC FEATURES OF LIPID PEROXIDATION IN DIFFERENT ORGANS IN THE CONDITIONS OF AN EXPERIMENTAL THERMAL BURN

¹Kostina O.V., ¹Peretyagin S.P., ²Fishkin A.O., ¹Larionova K.D.

¹Research Institute of Traumatology and Orthopedics of the Russian Federation Ministry
of Health, Nizhny Novgorod, e-mail: olkosta@rambler.ru;

²Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod

This work is devoted to studying of features of lipid peroxidation in various tissues in the conditions of an experimental thermal burn. Parameters of the pro- and antioxidant status were investigated in rats liver, lungs, heart and kidneys. The specificity of reactions to a burn trauma in the form of different degree of expressiveness of lipid peroxidation changes process and changes of antioxidant activity in various organs is established. In the most affected traumatic stress were the lungs, which manifested itself in the development of oxidative stress. There was observed the compensatory activation of antioxidant protection in the liver of burned animals, not allowing to develop oxidative stress. The tendency to hypometabolism was observed in the heart. It is revealed, that the kidneys are more resistant to the processes of lipid peroxidation due to the growth of antioxidant activity.

Keywords: lipid peroxidation, antioxidant activity, burn, specificity reactions in various organs

Термическая травма является тяжелой формой патологии и проявляется не только развитием локальных стереотипных сосудисто-тканевых изменений, но и формированием синдрома системного воспалительного ответа, сопровождающегося усилением образования активных форм кислорода. Вначале этот процесс носит защитный характер, поскольку направлен против патогенных микроорганизмов [3]. В числе последствий активации свободнорадикальных механизмов – перекисное окисление липидов (ПОЛ) биологических мембран, направленное на адаптивное в условиях гиперметаболизма повышение клеточной проницаемости. Однако в связи с безудержной самоподдерживаемой инициацией ПОЛ может происходить не только модификация клеточной стенки, но и ее альтерация, приводящая к повышению микроваскулярной проницаемости и системному поражению органов и тканей [5]. В связи с этим актуальна проблема изучения механизмов сво-

боднорадикальных процессов при нарушении функций организма человека. **Цель данной работы** – изучить развитие окислительного стресса в различных органах в условиях экспериментального ожога.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись 30 крыс линии Vistar мужского пола массой 200–250 г, которые содержались на общем рационе вивария. Животные были разделены на следующие группы: 1 группа – контрольная ($n = 15$), 2 группа – опытная ($n = 15$). Животным опытной группы в условиях общей анестезии эфиром наносили ожог II–II степени кипятком на эпилированных от шерсти 20% поверхности тела. Печень, почки, сердце и легкие извлекали под эфирным наркозом на третьи, седьмые, десятые сутки после ожога, перфузировали физиологическим раствором, гомогенизировали. Полученные гомогенаты органов использовали для дальнейших исследований.

Активность процессов свободнорадикального окисления (СРО) изучали с помощью метода индуцированной биохемилюминесценции [2] на биохемилюминесцентном приборе БХЛ-07 (Н. Новгород). Оценивались следующие параметры хемилюминограммы:

$tg\ 2\alpha$ – показатель, характеризующий скорость спада процессов свободнорадикального окисления в плазме и свидетельствующий об антиоксидантном потенциале.

S – светосумма хемилюминесценции за 30 с – отражает потенциальную способность биологического объекта к свободнорадикальному окислению.

Уровень малонового диальдегида (МДА) в гомогенате органов оценивался по методу Uchiyama M. и Mihara M. [7].

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica. Достоверность различий между группами оценивали с использованием критерия Ньюмана–Кейлса.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования в гомогенате легких животных опытной группы показали изменения светосуммы хемилюминесценции, характеризующей способность к генерации свободных радикалов: на 3-и сутки после моделирования ожоговой травмы зафиксировано незначитель-

ное возрастание светосуммы по сравнению с показателем интактных животных, на 7-е сутки показатель увеличился на 35%, на 10-е сутки – на 38% (табл. 1). Повышение концентрации свободных радикалов (в том числе активных форм кислорода) вызывает вазоконстрикцию капилляров легких, которая сопровождается явлениями развивающегося травматического стресса, ведет к гипоксемии и усугубляет нарушения свободнорадикальных процессов [6]. Активацию СРО подтверждает выявленное нами резкое увеличение промежуточного продукта липопероксидации – МДА, максимально выраженное на 7-е сутки после травмы до 153% ($p < 0,05$) по отношению к контролю. К 10-м суткам данный показатель превышал значения, полученные у интактных животных на 87% ($p < 0,05$). Таким образом, дезадаптивно повышенный уровень МДА может быть дополнительным маркером острого паренхиматозного поражения легких [5].

Таблица 1

Динамика показателей перекисного окисления липидов в гомогенате легких обожженных крыс

Сутки после ожога	I_{\max} , усл. ед	S, усл. ед	$tg\ 2\alpha$, усл. ед.	МДА, ед. опт. пл.
Контроль	111,38 ± 5,13	880,56 ± 45,75	33,28 ± 1,83	3,44 ± 0,004
3 сут.	102,80 ± 7,01	891,20 ± 75,69	22,50 ± 0,63*	7,3 ± 0,33*
7 сут.	166,30 ± 3,67	1191,00 ± 59,64	47,10 ± 1,28*	8,7 ± 0,83*
10 сут.	198,60 ± 6,46	1218,40 ± 76,89	66,95 ± 3,11*	6,43 ± 0,48*

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с контролем.

По данным индуцированной биофлюоресценции антиоксидантный потенциал ($tg\ 2\alpha$) в легких был снижен на 3-и сутки после травмы на 32% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Наблюдаемое нами усиление перекисных процессов в этот период (увеличение количества МДА на 114%, тенденция к возрастанию светосуммы хемилюминесценции) на фоне значимого угнетения антиоксидантной системы свидетельствовало о развитии окислительного стресса. В дальнейшем показатель общей АОА увеличился на 42% ($p < 0,05$) на 7-е сутки. На 10-е сутки исследуемый показатель возрос на 101% ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем интактных животных, что связано с адекватными адаптационными перестройками в метаболизме, свидетельством чему является снижение к 10-м суткам уровня МДА.

В опытной группе животных интенсивность индуцированной хемилюминесценции в гомогенате печени – основного органа детоксикации – осталась без значительных изменений. В то же время зарегистрировано

значительное повышение уровня МДА на 7-е сутки после травмы – на 57% ($p < 0,05$) с возвращением к исходному уровню на 10-е сутки. Активация процессов ПОЛ в печени сдерживалась адаптивным увеличением системы антиоксидантной защиты: на 3-и сутки $tg\ 2\alpha$ достигал 124% ($p < 0,05$), на 7-е сутки – 118%, на 10-е сутки – 136% ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными.

Наблюдаемые явления можно объяснить следующим образом. Основной причиной свободнорадикального поражения клеточных мембран, как гепатоцитов, так и других тканей организма, являются нарушения центральной и периферической гемодинамики, реологических свойств крови, вследствие чего происходит блок печеночной циркуляции и ишемия [6]. Значительную роль в развитии этих процессов играет массивное поступление в кровеносное русло токсинов, влияющих на процессы ПОЛ [1]. В печени обожженных животных отмечалось достаточно быстрое включение (на 3-и сутки после травмы) адаптационной

перестройки в метаболизме, проявляющиеся в компенсаторной активации антиоксидантной защиты, не дающей развиться окислительному стрессу. Рост АОА имеет

большое значение еще и по той причине, что в случае её недостаточности в печени может происходить срыв всей системы детоксикации [4].

Таблица 2

Динамика показателей хемилюминесценции в гомогенате печени обожженных животных

Сутки после ожога	I_{\max} , усл. ед	S , усл. ед	$\text{tg } 2\alpha$, усл. ед.	МДА, ед. опт. пл.
Контроль	418,51 ± 41,24	1935,37 ± 83,73	124,63 ± 8,10	8,37 ± 0,52
3 сут.	414,40 ± 6,20	1839,80 ± 129,24	154,10 ± 5,41*	7,53 ± 0,79
7 сут.	380,56 ± 14,60	1712,60 ± 46,65	146,50 ± 8,15	13,15 ± 0,69*
10 сут.	432,90 ± 13,90	1907,40 ± 23,63	169,10 ± 8,59*	8,32 ± 0,52

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с контролем.

В результате проведенных исследований интенсивности липопероксидации в гомогенате почек получены следующие результаты. Значения светосуммы хемилюминесценции снижались одновременно с продуктами ПОЛ, МДА на 7-е сутки составлял 60% от исходной величины ($p < 0,05$). Значение $\text{tg } 2\alpha$, харак-

теризующее антиоксидантный потенциал, к 3-м и 7-м суткам увеличилось в среднем на 18%, к 10-м суткам – на 44% ($p < 0,05$) по отношению к контролю (табл. 3). Таким образом, в почках, как и в печени, наблюдалось превалирование антиоксидантного потенциала над процессами липопероксидации.

Таблица 3

Динамика показателей хемилюминесценции в гомогенате почках обожженных животных

Сутки после ожога	I_{\max} , усл. ед	S , усл. ед	$\text{tg } 2\alpha$, усл. ед.	МДА, ед. опт. пл.
Контроль	230,78 ± 23,78	1414,44 ± 122,02	52,67 ± 5,06	10,02 ± 1,06
3 сут.	207,20 ± 9,23	1277,40 ± 40,87	62,38 ± 1,39	8,18 ± 0,79
7 сут.	221,20 ± 15,75	1291,50 ± 70,78	62,13 ± 3,15	5,96 ± 0,51*
10 сут.	244,80 ± 5,58	1297,40 ± 42,00	75,70 ± 1,45*	8,18 ± 0,50

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с контролем.

В результате проведенных исследований в гомогенате сердца нами было выявлено, что у обожженных животных светосумма хемилюминесценции снижалась

по сравнению с интактной группой крыс. Наиболее выражено это происходило на 7-е сутки после травмы (снижение на 36%) (табл. 4).

Таблица 4

Динамика показателей хемилюминесценции в гомогенате сердца обожженных животных

Сутки после ожога	I_{\max} , усл. ед	S , усл. ед	$\text{tg } 2\alpha$, усл. ед.	МДА, ед. опт. пл.
Контроль	110,90 ± 3,82	827,80 ± 36,05	31,00 ± 1,78	6,82 ± 0,79
3 сут.	107,70 ± 3,37	661,60 ± 27,62*	31,70 ± 1,24	4,00 ± 0,60*
7 сут.	88,80 ± 2,49*	545,84 ± 20,40*	25,45 ± 0,90	6,93 ± 0,27
10 сут.	91,60 ± 5,45*	610,60 ± 37,10*	27,00 ± 1,64	6,17 ± 0,50

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с контролем.

На 10-е сутки показатель светосуммы был снижен на 26%. Параллельные изменения происходили и с другим параметром хемилюминограммы – I_{\max} , характеризующим интенсивность перекисных процессов. Концентрация малонового диальдегида на третьи сутки после травмы статистически значимо снижалась на 59% ($p < 0,05$) по

сравнению с интактными животными, что в совокупности может свидетельствовать о недостаточности системы биологического окисления. К седьмым суткам этот показатель возрос, что свидетельствовало об усилении перекисных процессов, не превышающих, однако, значений контрольной группы. На 10-е сутки произошло

незначительное снижение концентрации исследуемого метаболита (на 9,5% относительно контроля). Общая антиоксидантная активность в исследуемом органе имела тенденцию к снижению на 7-е и 10-е сутки в среднем на 15% и наряду с падением интенсивности процессов пероксидации свидетельствовала о напряжении окислительно-восстановительных процессов миокарда, несущего максимальные энергетические затраты по жизнеобеспечению организма в период формирования полиорганной недостаточности.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования на модели термического поражения показали активацию свободнорадикальных процессов в клетках различной морфофункциональной значимости, которая безусловно, вносит вклад в прогрессирующее патологическое состояние. Также выявлена органоспецифичность реакций на травму в виде разнонаправленности изменений перекисных процессов и активности антиоксидантной системы защиты в легких, печени, почках и сердце обожженных крыс. В наибольшей степени подверженным травматическому стрессу оказались легкие, что проявилось в развитии в них окислительного стресса. В печени обожженных животных отмечалась компенсаторная активация антиоксидантной защиты, не позволяющая развиваться окислительному стрессу. В сердце наблюдалась тенденция к гипометаболизму, которая может способствовать дисфункции этого органа. Выявлено, что почки более устойчивы к процессам липопероксидации за счет роста антиоксидантной активности. Увеличение уровня АФК и продуктов ПОЛ у пострадавших с обширными ожогами кожи способствует нарушению функционирования всех без исключения систем и должно учитываться в лечении больных.

Список литературы

1. Козинец Г.П., Слесаренко С.В., Радзиховский А.П. Ожоговая интоксикация. Патогенез клиника, принципы лечения. – М.: МЕДпресс-информ, 2005. – 23 с.
2. Кузьмина Е.И., Нелубин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценок свободнорадикальных реакций в биологических субстра-

тах. Биохимия и биофизика микроорганизмов. – Горький, 1983. – С. 41–48.

3. Полотова Н.В., Чеснокова Н.П., Островский Н.В. Активация свободнорадикального окисления – эфферентное звено реализации цитопатогенных эффектов ожоговой травмы // Вестник новых мед.технологий – 2009 – № 2. – С. 68–71.

4. Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты // Вестник РАМН – 1995. – № 3. – С. 9–13

5. Ушакова Т.А. Адаптивные реакции у тяжелообожженных в условиях интенсивной терапии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2008. – 59 с.

6. Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия поведения). – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2003. – 128 с.

7. Uchiyama M., Mihara M. *Analit. biochem.* – 1978. – Vol. 86. – P. 271.

References

1. Kozinets G.P., Slesarenko S.V., Radzikhovskiy A.P. *Ozhogovaya intoksikatsiya. Patogenez, klinika, printsipy lecheniya* [Birn intoxication. Pathogenesis, clinic, principles of treatment]. Moscow, MEDpress-inform, 2005. 23 p.
2. Kuzmina E.I., Nelubin A.S., Schennikova M.K. *Bookhimiya i biofizika mikroorganizmov* [Biochemistry and biophysics of microorganisms]. Gorky, 1983. pp. 41–48.
3. Polutova N.V., Chesnokova H.P., Ostrovskiy N.V. *Vestnik novykh med.tekhnologiy.* 2009, no. 2, pp. 68–71.
4. Tiunov L.A. *Vestnik RAMN.* 1995, no. 3, pp. 9–13.
5. Ushakova T.A. *Adaptivnye reaksii u tyazheleobozhennykh v usloviyakh intensivnoy terapii* [Adaptive reactions in severely burned patients in the context of intensive therapy]. Abstract of dissertation, Moscow, 2008. 59 p.
6. Shanin Yu.N., Shanin V.Yu., Zinovev E.V. *Antioksidantnaya terapiya v klinicheskoy praktike* [Antioxidant therapy in clinical practice]. Saint-Petersburg, ELBI-SPb, 2003. 128 p.
7. Uchiyama M., Mihara M. *Analit.biochem.* 1978. Vol. 86. pp. 271.

Рецензенты:

Мушина И.В., д.б.н., профессор, заведующая ЦНИЛ НИИ ПФМ НижГМА, заведующая кафедрой нормальной физиологии им. Н.Ю. Беленкова, ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Нижний Новгород;

Крылов В.Н., д.б.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой физиологии и биохимии, ФБГОУ «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Нижний Новгород.

Работа поступила в редакцию 04.04.2013.