

12. Эльштейн Н.В. Общемецилинские проблемы терапевтической практики. – Таллин: Валгус, 1983. – 248с.
13. Zung W.W.K., Durham N.C. A self-rating depression scale // Arch. Gen Psychiatr. - 1965. - Vol. 12. - P.63-70.

УДК 616-092(075.8)

М.А. Соколова, В.Н. Мещанинов,
А.П. Ястребов, Е.Ю. Ермакова

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА КОЖУ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

Уральская государственная медицинская академия

Кожа человека является самым большим органом, подверженным постоянному воздействию свободных радикалов (СР), образующихся под влиянием факторов окружающей среды, таких как ультрафиолетовое (УФ), ионизирующее излучение, озон, оксиды азота, составляющие «фотохимического смога», органические загрязнители, тяжелые металлы, частицы дыма, пыли, микроорганизмы. Внешние физико-химические факторы приводят к интенсивной атаке эпидермиса активными формами кислорода и азота, в основном свободнорадикальной природы (супероксидант-радикалы, гидроксильные радикалы, перекись азота, органические радикалы и т.д.). Эпидермис и дерма содержат большое количество антиоксидантов (АОК), но даже эта мощная система не всегда может противостоять окислительному стрессу [10].

Вопрос о роли свободнорадикального окисления липидов (СРО) в повреждении кожи обсуждается обычно в связи с действием на этот орган УФ-лучей. Показано, что это воздействие сопровождается также особым типом старения кожи, названным «фотостарение». Оно характеризуется определенными морфологическими изменениями, которые во многом отличны от естественного или «хронологического» старения кожи. Механизмы возникновения этих изменений описывает свободнорадикальная теория старения [7].

Но старение всего организма и его отдельных органов не объясняется одним действием продуктов СРО. Не случайно на сегодняшний день существует более 300 теорий, объясняющих возрастные изменения клеток, тканей и органов. Далеко не все из них так же хорошо разработаны, как свободнорадикальная теория, и некоторые из них, на наш взгляд, незаслуженно забыты. Это относится, например, к аутоинтоксикационной теории старения. Еще в 1901 г. основоположник геронтологии И.И. Мечников предположил, что с возрастом в кишечнике усиливаются процессы гниения, накапливаются токсические вещества [8]. Действительно, сероводород, скатол, крезол, этил, индол, фенол, тирамин и другие эндогенные токсические вещества, оказывая влияние на все системы организма, участвуют в процессе старения. Интоксикационная теория старения, практически не разрабатывалась со времен И.И. Мечникова, и лишь в последние годы появились исследования, показывающие участие эн-

дотоксина (ЭТ) кишечной микрофлоры в патогенезе старения и заболеваний, характерных для старческого возраста [4,8]. Причиной бактериальной эндотоксинемии у пожилых и старых людей являются нарушение функции барьерных органов, основными из которых являются кожа и кишечник, и снижение активности ЭТ-связывающих систем [5].

ЭТ, поступая в системный кровоток, в зависимости от дозы может вызывать следующие биологические эффекты: активацию лимфоцитов и макрофагов; синтез белков острой фазы; митогенный эффект; активацию миелиноза; поликлональную активацию В-клеток; индукцию развития провирусов; подавление тканевого дыхания; развитие гиперлипидемии; активацию системы комплемента; активацию тромбоцитов и факторов свертывания крови; гибель клеток: местный и генерализованный феномен Шварцмана; ДВС-синдром, эндотоксинальный шок и острую полиорганную недостаточность [11].

Причиной возникновения гиперэндотоксинемии является «прорыв» барьеров, стоящих на пути токсина в организм. ЭТ, постоянно присутствуя в пищеварительном тракте и оттуда попадая в небольшом количестве в общий кровоток, играет гомеостатическую роль, стимулирует клеточный и гуморальный иммунитет.

Бактериальная эндотоксинемия – это лишь одна из составляющих сложного ответа организма на повреждение, который включает в себя гипоперфузию тканей, гипоксию, энергодефицит, нарушения мембран и респиратор, изменения деятельности генома, накопление промежуточных продуктов патологического обмена веществ, выброс цитокинов. Этот типовой процесс получил название «синдрома эндогенной интоксикации» (СЭИ) [6]. Он, в свою очередь, является частью синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), возникающего при действии на организм любого повреждающего фактора [2]. Показано, что бактериальные ЭТ выступают триггерами многих каскадных реакций СЭИ и ССВО, и уровень бактериальной эндотоксинемии коррелирует с выраженностью СЭИ [16].

На сегодняшний день отмечается тенденция к изучению старения на системном уровне. Старение рассматривается как неизбежный разрушительный процесс вследствие когерентного действия и реализации разнообразных эндо- и экзогенных факторов. Поэтому следует предположить, что ЭТ участвует в процессах возрастной инволюции не только через вышеперечисленные механизмы, главным образом активирова систему цитокинов, но и через активацию СРО.

Отсутствие в литературе четких представлений о взаимосвязи эндотоксинемии с СРО, их совместное участие в процессах старения определило цель нашего исследования: оценить влияние УФ-облучения кожи и экспериментальной эндотоксинемии на показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови крыс.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на крысах линии Vistar возрастом 16-18 мес, что соответствует зрелому возрасту (масса 250-300 г). Облучение производили с помощью лампы Медикор (Budapest. Type: Q - 139, 220V, 50-60Hz, 1,1А, 250VA, max 30 min) со спектром излучения в УФ-А и УФ-В диапазоне. На выбранный участок холки диаметром 5 см на расстоянии 1 м производили ультрафиолетовое облучение три раза в день (в 8.00, 15.00, 22.00 ч) по

15 мин, три дня подряд. В качестве протектора использовали 1% витаминный комплекс (L-формы витаминов С и Е) в количестве 0,5 г перед облучением, наносимый наружно.

Забор крови производился после декапитации животных через 2 суток после последнего воздействия.

Уровень ПОЛ в сыворотке крови оценивали методами, отражающими различные стадии этого процесса. Исследование хемилуминисценции (ХЛ) проводили на люминометре 1420, 1, соединенном с персональным компьютером PGC IBM PC / AT 286, в программе «Диагностика», предназначенной для регистрации и расчета параметров хемилуминисценции. Регистрировали хемилуминисценцию (световое излучение, возникающее в биологических образцах при ферментативных реакциях и химических процессах, 380-830нм. Мах 400-440нм), индуцированную 3% перекисью водорода, в течение 3 мин. Спектрофотометрию производили на 2-х длинах волн: 233 нм (диеновые конъюгаты), 219 нм (общие липиды) против гептана. Использовали спектрофотометр СФ-46 (ЛОМО, Россия).

Моделирование эндотоксинемию проводили внутримышечным введением 0,15 мл (37,5 МДП) пирогенала (ЛПС - *pseudomonas aeruginosa*).

Полученные результаты подвергли статистической обработке с использованием непараметрических и параметрических критериев. Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере Pentium 90 и PC / 586 с использованием программы Excel. Критерием достаточной достоверности различий сравниваемых средних величин считали $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При облучении животных в сыворотке крови повышался уровень ПОЛ (табл.1), причем повысился как уровень индуцированного ПОЛ, так и его интенсивность. Светосумма люминисценции возросла в 2,6 раза. Количество радикалов легкоокисляемых липидов (полиненасыщенных жирных кислот) увеличилось в 2 раза по сравнению с контрольной группой. В литературе имеются сведения о возрастании содержания СР в коже после УФ-воздействия [19]. Под действием ультрафиолета молекулы белков, липидов, углеводов, ДНК переходят в возбужденное состояние, нарастает количество свободных

радикалов. Они повреждают мембраны клеток дермы и эндотелиоцитов сосудов. Образующиеся медиаторы воспаления (простагландины, интерлейкин-1) и активные метаболиты кислорода (супероксиданнон, гидроксил, пергидрокси, синглетный кислород, перекись водорода) увеличивают проницаемость капилляров, что может способствовать выходу продуктов перекисного окисления липидов в кровь. Показано также, что УФ-лучи могут оказывать прямое действие на кровь, находящуюся в сосудах дермы [3]. При этом активируются процессы перекисного окисления фосфолипидов, входящих в состав липопротеидов [19]. Столь высокий уровень ПОЛ в периферической крови мог свидетельствовать о прорыве барьера для СР, которым является кожа, при выбранной нами дозе облучения.

В группе с применением протектора в виде комплекса витаминов уровень ПОЛ также повышался, но он возрос всего лишь на 66% по сравнению с контролем. Повышение антиоксидантной защиты в верхних слоях кожи позволило существенно повысить ее устойчивость к облучению.

Показатели спектрофотометрии практически не отличались в разных группах экспериментальных животных (табл.2). Некоторое снижение содержания диеновых конъюгатов – продуктов, образующихся первыми в цепных реакциях окисления липидов, говорит о более высокой скорости протекания цепных реакций ПОЛ при облучении. Показатель, выражающий соотношение уровня индуцированного перекисного окисления липидов к общим липидам, в группе с облучением повысился в 3 раза (табл.3). Отношение легкоокисляемых липидов к общим липидам возросло в группе облученных животных в 3,7 раза, а в группе облученных животных с применением протекторов – в 2,1 раза. По-видимому, наружное применение протекторов оказалось достаточно эффективным средством, снижающим образование и поступление СР в кровь, но недостаточным для предотвращения этих процессов.

Полученные результаты подтвердили наше предположение о том, что действие на кожу факторов, повышающих уровень СРО, вызывает не только повреждение этого органа, но и отражается на всем организме.

Показатели ХЛ сыворотки крови при действии УФ-облучения на кожу интактных животных и животных с применением протекторов (M±m)

Таблица 1

Группы крыс	Светосумма ХЛ (отн. ед-л)	Высота ХЛ (отн. ед-л)
1. Контроль	5171±1335	110±45
2. УФО	11733±4498*	225±36*
3. Протектор +УФО	8600±2475*	179±21
4. Протектор	4190±1540	130±38

Примечание: * - критерий достаточной достоверности различий сравниваемых средних величин, $p < 0,05$.

Таблица 2

Показатели спектрофотометрии сыворотки крови при действии УФ-облучения на кожу интактных животных и животных с применением протекторов (M±m)

Группы крыс	Общие липиды (усл. ед.)	ДК (мкмоль/мл)
1. Контроль	0,415±0,085	0,208±0,019
2. УФО	0,3±0,012	0,148±0,007
3. Протектор +УФО	0,342±0,04	0,145±0,013
4. Протектор	0,316±0,05	0,135±0,018

Соотношение показателей ХЛ и спектрофотометрии при действии УФ-облучения на крыс интактных животных и животных с применением протекторов (M±m)

Группы крыс	Светосумма/липиды	Высота/липиды	ДК/липиды
1. Контроль	13139±4198	245±49	0,53±0,083
2. УФО	39134±15328*	748±114*	0,494±0,008
3. Протектор + УФО	23994±4829	525±20*	0,429±0,025
4. Протектор	14347±6587	438±164	0,433±0,03

* - критерий достаточной достоверности различий сравниваемых средних величин, p<0,05.

По-видимому, фотостарение кожи является не только локальным процессом, но и включает в себя реакции со стороны других органов и систем, опосредованные поступлением в кровь продуктов цепных реакций окисления.

Другим фактором, связанным с процессами повреждения органов и систем при старении являются эндогенные токсины. В качестве модели мы выбрали бактериальную эндотоксинемию высокого уровня. Доза введенного ЛПС была близка к летальной. Известно, что высокие дозы ЛПС ингибируют действие ферментов дыхательной цепи на мембранах митохондрий [12]. В связи с этим было интересно проследить, связано ли действие высоких доз ЭТ с уровнем и интенсивностью ПОЛ.

Амплитуда ХЛ у крыс с системной ЭТ увеличилась на 82%, при этом светосумма индуцированной ХЛ и содержание диеновых ковыюгатов менялись незначительно (табл.4).

Таблица 4

Показатели ХЛ в сыворотке крови при экспериментальной эндотоксинемии (M±m)

Показатель	Контроль	Пирогенал
Светосумма ХЛ (отп. ед-л)	5171,3±1335,6	3683,0±240,3
Максимальное значение ХЛ (отп. ед-л)	62,3±5,3	113,3±17,3

Увеличение максимальных значений ХЛ на фоне небольшого снижения светосуммы ХЛ и содержания ДК в сыворотке крови у крыс с эндотоксинемией может быть связано с большой скоростью протекания цепных реакций СРО при введении высокой дозы ЭТ, с быстрым вовлечением и расходом в этих процессах легкоокисляемых субстратов (полиненасыщенные жирные кислоты), активным («выгоранием») липидов и, как следствие, уменьшением субстратов ПОЛ для последующих реакций, а, возможно, и с быстрым снижением факторов антиоксидантной защиты в крови. Некоторое снижение у крыс с эндотоксинемией общих липидов в сыворотке также может быть связано с большей активностью ПОЛ, снижающего уровень этих веществ (табл.5).

Таблица 5

Показатели спектрофотометрии в сыворотке крови при экспериментальной эндотоксинемии (M±m)

Показатель	Контроль	Пирогенал
Общие липиды (усл. ед.)	0,415±0,085	0,375±0,053
Диеновые ковыюгаты (мкмоль/мл)	0,208±0,019	0,184±0,060

Таким образом, при эндотоксинемии высокого уровня у крыс наблюдается быстрая активация процессов СРО липидов в плазме крови. Это, в целом, согласуется с результатами исследований других авторов. Показано,

что основным источником СР при стимуляции крови ЭТ служат лейкоциты и клетки эндотелия. Эти реакции опосредуются С5А фрагментом компонента [13]. Показано, что ЭТ может повреждать мембраны клеток крови, в первую очередь, эритроцитов, и освобождать субстраты для ПОЛ [9]. При совместном действии на моноциты и макрофаги ЭТ и интерферона-гамма, который образуется при активации лимфоцитов, они начинают экспрессировать ФНО-альфа, который, соединяясь со своим первым рецептором (TNFRJ) активирует каскадный процесс повреждения мембран митохондрий (так как активируется белок BAX, образующий пору в митохондриях). Нарушение структуры митохондриальных мембран усиливает уже текущие процессы образования СР [16]. Есть сведения о том, что СЭТЕ приводит к ингибированию процессов антиоксидантной защиты. В эксперименте и практике доказана эффективность препаратов антиоксидантного действия в случаях, когда патогенез заболеваний связан, главным образом, с ЭТ [5]. Одной из систем, связывающих ЭТ в крови, являются липопротенды высокой удельной плотности [15]. Связывание ЛПС липопротендами высокой плотности может приводить к изменению соотношения субстратов окисления в липопротендах, причем увеличение легкоокисляемых компонентов приводит к росту интенсивности СРО. Изменение удельного веса компонентов липопротендов нарушает их эндотоксинсвязывающую способность - формируются порочный круг, так эффекты влияния эндотоксина будут проявляться еще ярче.

Выводы

Таким образом, суммируя полученные данные, можно сделать заключение о том, что продукты СРО являются, помимо цитокинов, еще одним медиатором, опосредующим действие на организм бактериального ЭТ. Учитывая важную роль СРО в процессах старения, можно предположить непосредственное участие бактериальных ЛПС в патогенезе возрастных изменений на уровне клеток, тканей, органов. Кожа является важным барьерным органом, защищающим внутреннюю среду организма не только от проникновения чужеродных веществ и микроорганизмов, но и от факторов, вызывающих активацию СРО. Если собственных защитных систем кожи оказывается недостаточно, чтобы остановить свободнорадикальную агрессию, происходит «прорыв» барьера и поступление СР в организм, где они могут оказывать свои патологические эффекты, в том числе вызывать преждевременное старение. Факторы, повышающие уровень ПОЛ в организме также вызывают повреждение продуктами этих реакций кожи, так как при этом будет наблюдаться поступление их через сосуды дермы. Однако, учитывая накопленные в последние годы факты о регуляторном влиянии процессов СРО на организм,

нельзя исключить и существование биологической целесообразности таких процессов при низких дозах УФ-облучения и эндотоксинемии физиологического уровня.

ЛИТЕРАТУРА

1. Губанова Е.Б., Чайковская Е.В. Фотостарение и биологическое старение кожи: признаки, классификация, тактика эстетической медицины // Нувель Эстетик. – 2003. - № 4. - С.44-49.
2. Гусев Е.Ю., Осипенко А.В. Иммунология системного воспаления // Иммунология Урала. – 2001. - № 1. Материалы 1 конференции иммунологов Урала 4-6 декабря 2001г
3. Дубинина Е.Б. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // Косметика и медицина. - 2002. - № 6. - С.12-18.
4. Конев Ю.В. Эндотоксин и старение // Клиническая геронтология. - 1999. - № 4. - С.43-52.
5. Конев Ю.В. Системная эндотоксинемия: клинико-патогенетические особенности ИБС и атеросклероза в пожилом и старческом возрасте: Автореф. дисс....д.м.н. - М., 1997. - 44с.
6. Малов В.Н., Пак С.Г. Медико-биологические проблемы интоксикации в инфекционной патологии // Терапевтический архив. - 1992. - № 11. - С.7-11.
7. Марголина А.Л. Фотостарение кожи – профилактика и лечение // Косметика и медицина. - 2001. - № 2. - С.44-53.
8. Мечников И.И. Клеточные яды (цитотоксины). – СПб: К. Риккер, 1901. – С.18.
9. Нефедова Т.В., Кубатиев А.А., Воронков М.Г. Влияние брешноотифозного эндотоксина на резистентность мембран эритроцитов in vitro // Физиология. – 1991. - № 2. - С.243-245.
10. Рябов Г.А., Пасечник И.Н., Азизов Ю.М. Активированные формы кислорода и их роль при некоторых патологических состояниях // Анест. и реаним. – 1991. - № 1. - С.63-69.
11. Таболин В.А., Яковлев М.Ю., Ильина А.Я., Лиходед В.Г., Лазарева С.И. Патогенетические механизмы и клинические аспекты действия термостабильного эндотоксина кишечной микрофлоры // Русский медицинский журнал. - 2003. - Т. 11, № 3. - С.35-56.
12. Шенкман Б.З. Бактериальные эндотоксины и медиаторные системы организма // Успехи совр. биологии. – 1991. - № 3. - С.400-414.
13. Шепелев А.П., Корниенко И.В., Шестопалов А.В. и др. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней // Русский медицинский журнал. - 2003. - Т. 11, № 3. - С.25-36.
14. Яковлев М.Ю. Системная эндотоксинемия в физиологии и патологии человека: Автореф. дис....д.м.н. - М., 1993. – С.55.
15. Яковлев М.Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека // Физиология человека. – 2003. - № 29. - С.22-31.
16. Ястребов А.П., Кузнецов Н.Н., Соколова М.А. Роль различных уровней СЭИ в формировании ответа гемопозитической ткани на экстремальные воздействия // Вестник УГМА. – 1997. - № 3. - С.27-32.

17. Harnnan D. The aging process: Major risk factor for disease and death // Ibid. – 1991 – vol.88. - P.5360-5363.
18. Sadner C.S., Chang H., Salzmann S., Muller C.S., Ekanayake-Mudiyanselage S., Elsnor P., Thiele J.J. Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo // J. Invest. Dermatol. 2002; 118 (4): 618-625.
19. Shindo G., Akiyama J., Gamajaki G., Saito K. Changes in enzyme activities in skin fibroblasts derived from persons of various ages // Exp. Gerontol. 1991; 26 (1): p. 29-35.

С.Д. Трубачёв, В.К. Кротов

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МИТОХОНДРИЯХ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ АДАПТАЦИИ К ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ

Уральская государственная медицинская академия

В работе представлен материал об особенностях адаптивных перестроек энергетического метаболизма в кроветворной ткани кроликов под влиянием кровопотери в начальные сроки постгеморрагического периода – через 2 и 24 ч.

Эксперименты проведены на кроликах – самцах калифорнийской породы массой 2,5-2,8 кг. Кровопотеря производилась из бедренной артерии под местной анестезией в объёме 40% ОЦК в течение 15 мин. Биохимические показатели изучали через 2 и 24 ч после кровопускания. Концентрации субстратов энергетического обмена исследовали энзиматическими методами, активность ферментов – спектрофотометрическими [1].

Через 2 ч после острой кровопотери обнаружены нарушения в сукцинат-оксидазном звене редокс-цепи окислительного фосфорилирования. Об этом свидетельствует снижение активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) до 64% (p<0,01) и содержания янтарной кислоты (сукцината) до 76% (p<0,01), а также повышение концентрации оксалоацетата (ЩУК) до 131% (p<0,05) и α-кетоглутаровой кислоты до 125% (p<0,05). ЩУК является метаболическим конкурентом СДГ, и повышение её концентрации ингибирует цикл Кребса на уровне сукцинатдегидрогеназной реакции. Это, по-видимому, и привело к обнаруженному нами накоплению как самого оксалоацетата, так и α-кетоглутарата. Нарушения указанных процессов явились причиной замедления утилизации пирувата и лактата в цикле Кребса, о чём свидетельствует повышение их концентраций: пирувата – до 132 (p<0,05), лактата – до 152% (p<0,01), а это, в свою очередь, привело к повышению активности митохондриальных НАД-зависимых дегидрогеназ в сторону восстановления метаболически связанных с ними кетокислот – глутаматдегидрогеназы (ГДГ) до 144 (p<0,05) и малатдегидрогеназы

(НАД-МДГ) – до 170% (p<0,01). Однако ожидаемого увеличения количества глутамата и малата не произошло – концентрация малата оказалась на уровне интактных животных, а концентрация глутамата даже сниженной до 74% (p<0,01). Очевидно, это связано с интенсивной утилизацией вышеуказанных интермедиатов.