

УДК [616.5-001/-002+616.153.915-039]:615.243.3

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ОМЕГА-3 И ОМЕГА-6 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ, НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ КРОВИ ПРИ ДЕРМАТИТЕ ПРОСТОМ РАЗДРАЖИТЕЛЬНОМ КОНТАКТНОМ

Гребенникова С.В.¹, Оксенюк О.С.¹, Смирнова О.Б.¹, Калмыкова Ю.А.¹

¹ *ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: svetgrva@yandex.ru*

У 40 белых крыс вызывали дерматит простой раздражительный контактный и лечили разные группы животных инъекциями внутрь брюшной полости «Омегавена», содержащего полиненасыщенные жирные кислоты, кремом «Витамин Ф99» жирным и мазью «Радевит». Оценивали в крови содержание малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы и каталазы. Благоприятной оказалась динамика компонентов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы после лечения сочетанием инъекций «Омегавена» и наружно – кремом «Витамин Ф99» жирный, содержащими омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты. Показано преимущество влияния на перекисное окисление липидов крови при экспериментальном дерматите простом раздражительном контактном средств, содержащих омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты, над таковыми противовоспалительного действия. Авторы рекомендуют применение препаратов системного и местного лечения, содержащих омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты, а также антиоксиданты при воспалительных заболеваниях кожи.

Ключевые слова: дерматит простой раздражительный контактный, свободнорадикальное окисление липидов, полиненасыщенные жирные кислоты.

EXPERIMENTAL STUDY OF THE INFLUENCE OF DRUGS, CONTAINING OMEGA-3 AND OMEGA-6 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS ON FREE RADICAL OXIDATION OF BLOOD LIPIDS IN THE IRRITANT CONTACT DERMATITIS

Grebennikova S.V.¹, Oksenjuk O.S.¹, Smirnova O.B.¹, Kalmykova Yu.A.¹

Federal state budgetary educational institution of higher professional education "Rostov state medical University" Ministry of healthcare of the Russian Federation, Rostov-on-Don, e-mail: svetgrva@yandex.ru

Albino rats (40) were caused irritant contact dermatitis and were treated different groups of animals by injecting inside the abdominal cavity Omegaven containing polyunsaturated fatty acids, the Cream "Vitamin Ф99" rich and Radevit ointment. Evaluated the blood content of malondialdehyde, activity of superoxide dismutase and catalase. Most favorable dynamics on free radical oxidation of blood lipids and antioxidant system was after treatment with a combination of injection Omegaven and externally - Cream "Vitamin F99" rich containing omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids. We proved the advantage of the products containing omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids effect on free radical oxidation of blood lipids in experimental irritant contact dermatitis. The authors recommend the use of drugs of systemic and local treatment containing omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids and antioxidants in inflammatory diseases of the skin.

Keywords: Irritant contact dermatitis, free radical oxidation of blood lipids, omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids.

Совершенствование лечения заболеваний кожи, в патогенезе которых существенна роль воспаления, является актуальной задачей. В настоящее время внимание исследователей этой проблемы привлекают к себе средства, содержащие омега-3 и -6 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Влияние ПНЖК на воспалительные очаги – восстановление мембран, антиоксидантное, ингибция перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1].

Проявление противовоспалительного эффекта ПНЖК омега-3 – путем снижения продукции провоспалительных эйкозаноидов (простагландина E3, лейкотриена B5), уменьшения интерлейкина 1 и фактора некроза опухоли [2]. Между ПНЖК и свободнорадикальным окислением липидов (СРОЛ) установлена тесная связь. Через стадию перекисных производных ПНЖК происходит биосинтез простагландинов и лейкотриенов [6].

Недостаточное разрушение реактивных форм кислорода либо их перепроизводство приводят к повышению уровня и развитию оксидативного стресса [9]. При этом мембранные фосфолипиды в первую очередь подвергаются деструкции [6]. Антиоксидантная защита в коже включает каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД) и др. [9].

Материалы и методы

У 40 белых крыс вызывали «выраженную ожоговую травму» в передней области спины: металлическую пластину площадью 3,8 см квадратных и толщиной в 1,5 мм, использованную для ожога, нагревали на электрической плитке с закрытой спиралью при начальных проявлениях покраснения покрывающей спираль металлической части и накладывали ее на кожу белой крысы в течение 3 сек. Вызывая так у белых крыс дерматит простой раздражительный контактный (ДПРК), мы выделили 4 группы животных, из которых 1-я группа – контрольная (без ДПРК). Экспериментальное исследование выполнено с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных с учетом норм и правил биомедицинской этики (с разрешения этического комитета РостГМУ – протокол № 16/13 от 14.11.2013 г.) [4]. Всем крысам с ДПРК 1 раз в 3 дня для профилактики пиодермии на очаги наносили «Эритромициновую мазь». Вторая группа – сравнения с ДПРК без лечения в течение 4 дней; животных 3-й группы лечили мазью «Радевит» (ежедневные смазывания очага поражения в течение 11 дней); крысы 4-й группы получали ежедневно инъекции внутрь брюшной полости по 1,0 мл «Омегавена», а также смазывание очагов поражения – крем «Витамин Ф 99» жирный. Кровь получали от животных 3-4 групп после 11 дней лечения, и к этому времени проявления ДПРК уже становились существенно слабее [1; 7].

Мазь «Радевит» рекомендована для лечения дерматитов контактных, ожогов, проявляет противовоспалительное действие. В группе 4-й применяли инъекции «Омегавена», имеющего в составе омега-3 и -6 ПНЖК, а наружно – крем «Витамин Ф 99» жирный, действующим веществом в котором является витамин F – источник незаменимых ПНЖК, эфиры омега-3 жирных кислот и др.

Из компонентов ПОЛ мы оценивали содержание малонового диальдегида (МДА) [5], антиоксидантную систему (АОС) характеризовала активность супероксиддисмутазы [8] и каталазы [3] в сыворотке крови.

Результаты и обсуждение

Мы провели анализ в группе экспериментальных животных с ДПРК, развившемся после «выраженной ожоговой травмы». Из таблицы видно, что в 1-й (контрольной) группе белых крыс без ДПРК показатели в сыворотке крови составили: МДА – $6,23 \pm 0,44$ нмоль/мл, СОД – $23,83 \pm 1,57$ усл. ед./мл и КАТ – $44,31 \pm 3,47$ ЕД/мл х мин.

Во 2-й группе (сравнения) - кровь получали от животных с ДПРК после 4 дней от выраженной ожоговой травмы без какого-то лечения. При этом воспалительная реакция в очагах поражения была значительной. Содержание МДА оказалось равным $7,06 \pm 0,47$ нмоль/мл, активность СОД – $11,81 \pm 1,09$ усл. ед./мл, КАТ – $33,55 \pm 1,45$ ЕД/мл х мин. Сопоставление этих показателей с таковыми «здоровых» крыс контрольной группы выявило существенное снижение показателей антиоксидантной защиты – СОД в 2 раза ($P < 0,001$) и КАТ в 1,3 раза ($P < 0,05$). При этом содержание МДА проявило некоторую тенденцию к росту (в 1,1 раза). Тем самым определяется декомпенсация системы СРОЛ (оксидативный стресс) – вместо адекватного ситуации повышения активности компонентов антиоксидантной системы наблюдается снижение их активности. Полученные при исследовании показатели представлены в таблице.

Компоненты свободнорадикального окисления липидов крови белых крыс при различных методах лечения (выраженная ожоговая травма)

Группы экспериментальных белых крыс (в каждой группе n=10)	МДА в нмоль/мл	СОД в усл. ед./мл	КАТ ЕД/мл х мин
1-я гр. - «контрольные» белые крысы без ДПРК	$6,23 \pm 0,44$	$23,83 \pm 1,57$	$44,31 \pm 3,47$
2-я гр. сравнения – 4 дня после ожоговой травмы без лечения	$7,06 \pm 0,47$	$11,81 \pm 1,09$ *	$33,55 \pm 1,45$ *
3-я гр., лечение – мазью	$8,80 \pm 0,39$; 2*	$32,30 \pm 5,80$; 2*	$38,60 \pm 0,91$; 2*

«Радевит» (11 дн.)			
4-я гр., лечение – «Омегавен» и крем «Витамин Ф 99» жирный (11 дн.)	7,88±0,65	33,42±7,40; 2*	48,60± 2,79; 2*; 3*

Примечание. Различия существенные: с контрольной группой - *, с группой сравнения - без лечения 4 дня после выраженной ожоговой травмы – 2*, с группой 3 таблицы – 3*.

Следующие 2 группы животных получали лечение различными методами. Белые крысы 3-й группы (по существу, также 2-я группа сравнения) получали ежедневные смазывания очага ДПРК официально рекомендуемой для лечения контактных дерматитов и ожогов мазью «Радевит». После 11 дней лечения ДПРК содержание в сыворотке крови МДА оказалось повышенным – $8,80 \pm 0,39$ нмоль/мл ($P < 0,001$) в 1,4 раза. Рост по сравнению с группой 2 ($P < 0,05$) отмечен в 1,3 раза. В то же время активность СОД возрастала по сравнению с показателем группы 2 – в 2,7 раза ($P < 0,001$) до $32,30 \pm 5,80$ усл. ед./мл, а в сопоставлении с контрольной группой отмечена тенденция к превалированию в 1,4 раза. Аналогичная СОД динамика установлена в этой группе и по активности каталазы. Активность этого важнейшего фермента антиоксидантной защиты – $38,60 \pm 0,91$ ЕД/мл х мин превышала показатель 2-й группы (сравнения, 4 дня после ожоговой травмы без лечения) в 1,2 раза ($P < 0,05$). Сопоставление с показателем контрольной 1-й группы выявило в 3-й группе лишь незначительную (в 1,2 раза) тенденцию к снижению.

Таким образом к 11-му дню лечения мазью «Радевит» ДПРК показатели СРОЛ крови выявили повышенный уровень МДА (от показателя контрольной группы в 1,4 раза и от показателя 2-й группы после 4 суток ожоговой травмы без лечения – в 1,3 раза). Вместе с тем отмечено компенсаторное нарастание по сравнению со 2-й группой активности СОД (нарастание в 2,7 раза) и КАТ (соответственно в 1,2 раза).

Экспериментальные животные 4-й группы получали комплексное лечение ДПРК сочетанием ежедневных инъекций в брюшную полость «Омегавена» (по 1,0 мл), содержащего омега-3 и омега-6 ПНЖК, с ежедневными смазываниями очагов ДПРК кремом «Витамин Ф 99» жирный, в составе которого имеется витамин F – источник незаменимых ПНЖК и эфиры омега-3 жирных кислот.

После 11 дней лечения показатель МДА крови $7,88 \pm 0,65$ нмоль/мл не отличается существенно от показателей 1-й и 2-й групп, а лишь только проявил некоторую тенденцию к превалированию над показателем 1-й группы (в 1,3 раза) и 2-й группы (тенденция в 1,1 раза).

Если в 3-й группе животных, получавших наружно мазь «Радевит», не содержащую компонентов омега-3 и омега-6 ПНЖК, показатель МДА после 11 дней лечения превышал таковой в группах контрольной и сравнения (1-я и 2-я), то в 4-й группе показатель МДА после 11-дневного комплексного лечения инъекциями «Омегавена» и наружным применением крема «Витамин Ф 99» жирный нормализовался и не превышал его в 1-й и во 2-й группах.

Активность СОД в 4-й группе – $33,42 \pm 7,40$ усл. ед./мл существенно - в 2,8 раза превышала ($P < 0,05$) таковую группы сравнения (2-й, $11,81 \pm 1,09$ усл. ед./мл), что демонстрирует выраженную компенсацию состояния свободнорадикального окисления липидов. В группе 3 (леченные мазью «Радевит») превалирование над группой 2 было в 2,7 раза ($P < 0,01$). Показатель каталазы крови – $48,60 \pm 2,79$ ЕД/мл x мин в сравнении со «здоровыми» (то есть без ДПРК) белыми крысами контрольной (1-й) группы проявил тенденцию к некоторому превалированию (в 1,1 раза), был существенно выше такового во 2-й группе – $33,55 \pm 1,45$ ЕД/мл x мин (в 1,5 раза; $P < 0,001$) и аналогично выше (в 1,3 раза; $P < 0,01$), чем в 3-й группе ($38,60 \pm 0,91$ ЕД/мл x мин), то есть у получивших наружное лечение мазью «Радевит». Таким образом, показатели 4-й группы по всем 3 компонентам СРОЛ и АОС демонстрируют при сравнении наиболее благоприятные изменения после проведенного лечения – по МДА, СОД и особенно по активности КАТ, показатель которой оказался существенно выше ($P < 0,01$) в 1,3 раза, чем в 3-й группе. Ниже оказалось содержание основного показателя СРОЛ – малонового диальдегида, зато выше – активность каталазы крови. Убедительно демонстрируется при этом более благоприятная динамика состояния СРОЛ и АОС в группе экспериментальных животных, леченных сочетанием инъекций «Омегавена» и наружно – крема «Витамин Ф 99» жирный (4-я группа), чем леченных смазываниями очагов мазью «Радевит» (3-я группа). Такое повышение эффективности действия на СРОЛ и АОС объясняется, очевидно, влиянием содержащихся в использованных лечебных средствах омега-3 и омега-6 ПНЖК.

Наши исследования компонентов СРОЛ и АОС крови у белых крыс с экспериментально вызванным ДПРК при различных методах лечения позволили наблюдать некоторые закономерности. В группе 2-й с ДПРК (4 дня после ожоговой травмы) – декомпенсация системы СРОЛ и АОС с достоверным снижением активности СОД и КАТ крови при некоторой тенденции (в 1,1 раза) к повышению содержания в крови МДА (оксидативный стресс). После 11 дней лечения самой благоприятной оказалась динамика компонентов СРОЛ и АОС в группе 4,

при лечении сочетанием инъекций «Омегавена» и наружно – крема «Витамин Ф 99» жирный, содержащими омега-3 и омега-6 ПНЖК.

Мы оценили показатели свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной системы крови при экспериментальном дерматите простым раздражительном контактом в процессе парентерального и местного лечения с использованием средств, содержащих омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты («Омегавен», крем «Витамин Ф 99» жирный), а также характеризующейся противовоспалительной и антиоксидантной активностью мазью «Радевит».

В группе 2-й – ДПРК после 4 дней от выраженной ожоговой травмы и не получавших какого-либо лечения при значительно выраженной воспалительной реакции пораженной кожи, содержание МДА проявило тенденцию к повышению (в 1,1 раза), а показатели антиоксидантной защиты оказались существенно сниженными: СОД в 2,0 раза и КАТ – в 1,3 раза. Подобное сочетание содержания и активности приведенных выше компонентов выявляет декомпенсацию в системе СРОЛ (оксидативный стресс) в результате выраженной ожоговой травмы.

Животные 3-й группы, получавшие в течение 11 дней местное лечение мазью «Радевит», характеризовались еще сохранявшейся воспалительной реакцией в очаге на коже после выраженной ожоговой травмы (разрешение ее при типе остром ДПРК, отмечавшемся, согласно клиническим и гистологическим нашим исследованиям и по литературным данным, - в период после 2 недель). Содержание МДА в крови оказалось повышенным в 1,4 раза (превалирование над показателем группы 2 – в 1,3 раза), активность СОД превышала показатель 2-й группы в 2,7 раза (сравнение с контрольной группой – тенденция к превалированию в 1,4 раза). Активность КАТ превышала показатель группы сравнения - 4 дня после выраженной ожоговой травмы без лечения (2-я группа) – в 1,2 раза, а сопоставление с контрольной группой (1-й) показало тенденцию к снижению в 1,2 раза. Такое состояние компонентов СРОЛ и АОС выявляет умеренную компенсаторную реакцию.

В основной опытной группе экспериментальных белых крыс (4-я группа), получавших комплексное лечение «Омегавеном» в брюшную полость и наружно – кремом «Витамин Ф 99» жирный (оба средства содержат омега-3 и омега-6 ПНЖК), после 11 дней терапии показатель МДА не отличался существенно от 1-й и 2-й групп (в 3-й группе после лечения мазью «Радевит» показатель МДА превышал таковой в 1-й и 2-й группах в 1,4 и в 1,3 раза соответственно). Активность СОД крови была выше таковой группы сравнения (2-й) в 2,8 раза, а КАТ – в 1,5 раза. Особое внимание обращает на себя превышение активности КАТ в 4-й

группе в сравнении с 3-й группой (лечение мазью «Радевит») – в 1,3 раза. По всем 3 компонентам СРОЛ и АОС показатели 4-й группы были более благоприятны, чем в 3-й группе. Тем самым лечение ДПРК препаратами, содержащими омега-3 и омега-6 ПНЖК («Омегавен», крем «Витамин Ф 99» жирный), оказалось эффективнее, чем с противовоспалительной активностью (мазь «Радевит»).

Заключение

Согласно представленным выше данным, при экспериментальном дерматите простом раздражительном контактом у белых крыс отмечается оксидативный стресс, сохранявшийся до существенной клинической стабилизации в очагах «выраженной ожоговой травмы». Наиболее эффективным в отношении состояния показателей перекисного окисления липидов крови оказалось лечение сочетанием «Омегавена» и крема «Витамин Ф 99» жирный. Удалось отметить превосходство средств с омега-3 и -6 ПНЖК, над таковым противовоспалительного действия (мазь «Радевит»). Такие результаты экспериментальных исследований обосновывают использование в условиях клиники в системной («Омегавен») и местной терапии средств, содержащих омега-3 и -6 полиненасыщенные жирные кислоты, а также антиоксиданты, при комплексном лечении воспалительных заболеваний кожи: дерматита простого раздражительного контактного, аллергического контактного дерматита, атопического дерматита, нейродермита очагового и диффузного, псориаза, кожной формы пигментной крапивницы у детей и др.

Список литературы

1. Касихина Е.И. Цитопротективная терапия в комплексном лечении хронических воспалительных заболеваний кожи // РМЖ дерматол. - 2015. - № 19. - С. 1146-1149.
2. Конь И.Я., Шилина Н.М., Вольфсон С.Б. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты в профилактике и лечении болезней детей и взрослых // Лечащий врач. - 2006. - № 4. - С. 55-59.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. - № 1. – С. 16-18.
4. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / под ред. Каркищенко Н.Н., Грачева С.В. – М., 2010. – 358 с.
5. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66-68.

6. Шепелев А.П., Шовкун Л.А. Перекисное окисление липидов и система антиоксидантов в норме и при патологии. - Ростов н/Д, 2012. - 363 с.
7. Amado A., Taylor J.S., Sood A. Ирритантный контактный дерматит // Дерматология Фицпатрика в клинической практике. – М., 2012. – Т. 1. – С. 430-437.
8. Mistra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and simpl assay for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. - 1972. - Vol. 247. - № 10. – P. 3170-3175.
9. Ratnam D.V., Ankola D.D., Bhardwa V. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective // J. Control. Release. - 2006. - Vol. 113. - P. 189-207.