

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ПОРАЖЕННОЙ КОЖЕ БЕЛЫХ КРЫС С ДЕРМАТИТОМ ПРОСТЫМ РАЗДРАЖИТЕЛЬНЫМ КОНТАКТНЫМ ПРИ РАЗНЫХ МЕТОДАХ ЛЕЧЕНИЯ

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

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: svetgrva@yandex.ru

Цель: оценить сравнительно в эксперименте на белых крысах с дерматитом простым раздражительным контактным влияние на состояние перекисного окисления липидов кожи препаратов, содержащих омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты, а также средств противовоспалительного действия. **Материал и методы:** у 71-й белой крысы вызывали дерматит простой раздражительный контактный и лечили разные группы животных Кремом «Витамин Ф99» жирным и Радевит мазью. **Оценивали** в коже содержание малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы и каталазы. **Результаты:** наиболее благоприятной оказалась динамика компонентов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы после лечения наружным средством, содержащим омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты в сравнении с таковым противовоспалительного действия. **Заключение:** показано преимущество влияния на перекисное окисление липидов кожи при экспериментальном дерматите простым раздражительным контактным у белых крыс наружного средства, содержащего омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты, относительно действия стандартной терапии.

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

FREE RADICAL OXIDATION OF LIPIDS OF THE SKIN OF THE EXPERIMENTAL WHITE RATS WITH IRRITABLE CONTACT DERMATITIS WITH DIFFERENT METHODS OF TREATMENT

Grebennikova S.V., Maklyakov Y.S., Oksenjok O.S., Kalmykova Yu.A.,
Smirnova O.B.

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

Purpose: to comparatively assess the state of free radical oxidation of skin lipids in experiments on white rats with irritable contact dermatitis the influence of containing omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids, and also anti-inflammatory agents and antioxidant action. **Material and methods:** 71 albino rats were caused irritant contact dermatitis and were treated different groups of animals by containing polyunsaturated fatty acids the Cream "Vitamin F99" rich and Radevit ointment. **Evaluated** the blood content of malondialdehyde, activity of superoxide dismutase and catalase. **Results:** most favorable dynamics on free radical oxidation of skin lipids and antioxidant system was after treatment with externally Cream "Vitamin F99" rich containing omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids. **Summary:** we proved the advantage of the products containing omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids effect on free radical oxidation of skin lipids in experimental irritant contact dermatitis.

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

В литературе имеются многочисленные свидетельства того, что свободные радикалы являются одним из универсальных механизмов повреждения клетки. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) рассматривается, с одной стороны, как необходимое звено метаболизма, обеспечивающее нормальную жизнедеятельность клеток, а с другой стороны, нарушение регуляции данного процесса, его замедление или ускорение является основой патогенеза

многих заболеваний в том числе – кожных [1]. Активные формы кислорода и последующая интенсификация процесса ПОЛ, выступая в роли «первичного медиатора» стресса, являются одним из наиболее ранних регуляторных метаболитов, играющих важную роль в повреждении мембран клеток [2,3]. В связи с этим целесообразным рассматривается применение антиоксидантов в комплексной терапии и профилактике заболеваний кожи; существенное преимущество имеют лекарственные средства растительного и животного происхождения, содержащие в своем составе полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) омега-3 и 6, которые в своей структуре имеют значительное количество двойных ненасыщенных связей [9]. Пи-связи влияют на свободные радикалы, защищая организм от окислительного стресса [5,11].

Целью нашего исследования является сравнение показателей ПОЛ и антиоксидантной системы пораженной кожи крыс при экспериментальном дерматите простом раздражительном контактом (ДПРК) в процессе местного лечения с использованием средства, содержащего омега-3 и омега-6 ПНЖК (крем «Витамин F99» жирный), а также Радевит мази – противовоспалительной.

Материал и методы

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]. Группа 1-я – 20 крыс без ДПРК, 2-я группа – с ДПРК без лечения в течение 4-х дней (n 17), животных 3-й группы (n 17) лечили Радевит мазью (ежедневно – в течение 11 дней), в группу 4-ю вошли 17 животных – ежедневно смазывания очагов ДПРК кремом «Витамин Ф 99» жирный. Для профилактики пиодермии раз в 3 дня – смазывания Эритромициновой мазью.

Радевит мазь рекомендована для лечения дерматитов контактных, ее использовали в группе 3-й. В 4-й группе лечения проводили ежедневными смазываниями очагов ДПРК Кремом «Витамин Ф 99» жирным, 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) [7], антиоксидантную систему характеризовала активность супероксиддисмутазы (СОД) [11] и каталазы (КАТ) [6] гомогенатов пораженной кожи из очагов ДПРК.

Для уточнения сведений о состоянии ПОЛ и антиоксидантной системы в очагах поражения при ДПРК мы провели исследования параллельно при «выраженной ожоговой травме» – эксперимент 1 (металлическую пластину, использованную для ожога, нагревали на электрической плитке с закрытой спиралью при начальных проявлениях покраснения

покрывающей спираль металлической части), а также при «умеренной ожоговой травме» – эксперимент 2 – разогретую металлическую пластину затем (до контакта с кожей животного) предварительно охлаждали до 120 градусов, помещая на 20 сек на металлическую основу комнатной температуры. За основу брали показатели «при выраженной ожоговой травме» – эксперимент 1.

Результаты и их обсуждение

Полученные при исследовании показатели представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Перекисное окисление кожи крыс при дерматите простом раздражительном контактном («выраженная ожоговая травма»)

Группы белых крыс	МДА нмоль/г	СОД усл. ед./г	КАТ ЕД x 10 ² /г x мин
1 гр., «контрольные» белые крысы (n 20) без ДПРК	63,15 + 4,98	589,6+31,7	20,50+1,49
2 гр., сравнения – 4 дня после ожоговой травмы без лечения (здесь и далее n10)	147,9+ 8,5 *	453,0+48,0*	30,84+1,28*
3 гр., лечение – Радевит мазью (11 дн.)	164,1+12,1 *	470,1 +91,7	30,49+1,85 *
4 гр., лечение – Крем «Витамин Ф 99» жирный (11 дн.)	142,6 +14,6 *	597,6 +27,9 ;2*	33,92 + 1,12 *

Примечание. Существенные различия: с контрольной группой – *, с группой сравнения – без лечения 4 дня после ожоговой травмы – 2*.

Таблица 2

Перекисное окисление липидов кожи крыс при дерматите простом раздражительном контактном («умеренная ожоговая травма»)

Группы белых крыс	МДА нмоль/г	СОД усл. ед./г	КАТ ЕД x 10 ² /г x мин
1 гр., «контрольные» белые крысы (n 20) без ДПРК	63,15 + 4,98	589,6+31,7	20,50+1,49
2 гр., сравнения – 4 дня после ожоговой травмы без лечения (здесь и далее n 7)	107,4+11,2 *	468,2+69,4	33,78+1,70 *
3 гр., лечение – Радевит мазью (11 дн.)	113,2+24,6	531,6+95,1	30,92+1,03 *
4 гр., лечение – Крем «Витамин Ф 99»	139,6 +16,3 *	682,2+44,7; 2*	29,90 + 1,80 *

жирный (11 дн.)			
-----------------	--	--	--

Примечание. Различия существенны: с контрольной группой – *, с группой сравнения – без лечения 4 дня после ожоговой травмы – 2*.

Оценивая показатели ПОЛ в коже, мы получили определенные закономерности, проявившиеся весьма отчетливо. По МДА – его содержание после 4-х дней после ожоговой травмы резко нарастало при «выраженной ожоговой травме» ($147,9 + 8,5$ нмоль/г – в 2,3 раза; $P < 0,01$). Различия между этими показателями экспериментов 1 и 2 с превалированием 1-го – в 1,4 раза ($P < 0,05$). Аналогично превалирование было отмечено по 3-й группе в 1,4 раза (тенденция) и по 4-й группе в 1, 2 раза (тенденция). Совершенно ясную динамику по всем 3-м группам в обоих вариантах проявила КАТ пораженной кожи. Она оказалась достоверно повышенной при обоих вариантах эксперимента во всех 3-х группах. При «выраженной ожоговой травме» (1-й вариант эксперимента) во 2-й группе – $30,84 + 1,28$ ЕД $\times 10^2$ /г \times мин (в 1,5 раза; $P < 0,001$), в 3-й группе – $30,49 + 1,85$ ЕД $\times 10^2$ /г \times мин (в 1,5 раза; $P < 0,001$), в 4-й группе – $33,92 + 1,12$ ЕД $\times 10^2$ /г \times мин (в 1,7 раза; $P < 0,001$). Соответственно, при умеренной ожоговой травме (2-й вариант эксперимента) во 2-й группе – $33,78 + 1,70$ ЕД $\times 10^2$ /г \times мин (в 1,7 раза; $P < 0,001$), в 3-й группе – $30,92 + 1,03$ ЕД $\times 10^2$ /г \times мин (в 1,5 раза ; $P < 0,001$), в 4-й группе – $29,90 + 1,80$ ЕД $\times 10^2$ /г \times мин (в 1,5 раза; $P < 0,001$).

Значительно менее определенно при обоих вариантах эксперимента проявляется СОД. Удалось, тем не менее, отметить при этом две позиции. Относительно 2-й группы (4 дня после ожоговой травмы без лечения) при 1-м варианте эксперимента («выраженная ожоговая травма») активность СОД составила $453,0 + 48,0$ усл. ед./г, будучи сниженной ($P < 0,05$) в 1,3 раза, а при 2-м варианте эксперимента во 2-й группе – $468,2 + 69,4$ усл.ед/г – тенденция к снижению в 1,3 раза. Тем самым в ситуации повышенного содержания МДА кожи при 1-м варианте эксперимента во 2-й группе ($147,9 + 8,5$ нмоль/г, в 2,3 раза; $P < 0,001$) и при 2-м варианте эксперимента во 2-й группе ($107,4 + 11,2$ нмоль/г, в 1,7 раза; $P < 0,01$) в обоих вариантах эксперимента в 2-х группах по показателям МДА и СОД отмечена декомпенсация системы (оксидативный стресс), а по КАТ выявлены начальные признаки компенсации этой системы.

Вторая позиция, относительно активности СОД пораженной кожи у экспериментальных белых крыс с ДПРК, которую нам удалось отметить, заключается в следующем. В обоих вариантах эксперимента активность СОД в 4-й группе по сравнению со 2-й группой $597,6 + 27,9$ усл. ед./г и $453,0 + 48,0$ усл. ед./г, а также $682,2 + 44,7$ усл. ед./г и $468,2 + 69,4$ усл. Ед./г – выше в 1,3 раза ($P < 0,05$) и выше в 1,5 раза ($P < 0,05$). Таким образом выявлена существенная компенсация антиоксидантной системы за счет возрастания

активности СОД в 4-й группе экспериментальных животных, то есть леченных Кремом «Витамин Ф 99» жирным в сочетании с повышенной активностью КАТ пораженной кожи в 1-м варианте эксперимента до $33,92 \pm 1,12$ ЕД $\times 10^2/\text{г} \times \text{мин}$ (в 1,7 раза; $P < 0,001$) и во 2-м варианте эксперимента – до $29,90 \pm 1,80$ ЕД $\times 10^2/\text{г} \times \text{мин}$ (в 1,5 раза; $P < 0,001$). Это существенные и значительные компенсаторные звенья в условиях прежде отмечавшегося оксидативного стресса. Подобной благоприятной динамики не наблюдалось в 3-й группе животных, леченных Радевит мазью. Удалось показать преимущество в отношении влияния на декомпенсированное состояние ПОЛ и антиоксидантной системы при экспериментальном ДПРК наружного средства, содержащего омега-3 и омега-6 ПНЖК (Крем «Витамин Ф 99» жирный), по сравнению с (Радевит мазь).

После 4-х дней течения воспалительной реакции кожи (2-я группа) с «выраженной ожоговой травмой» возрастало в пораженной коже содержание МДА в 2,3 раза (при «умеренной ожоговой травме» – в 1,7 раза). Превалирование 1-го показателя – в 1,4 раза. Причина – в различии выраженности ожоговой травмы. Показатели повышены в 3-й группе – в 2,6 раза, и в 4-й группе – в 2,3 раза. Активность КАТ пораженной кожи оказалась существенно повышенной при обоих вариантах эксперимента («выраженная ожоговая реакция» и «умеренная ожоговая реакция») во всех 3-х группах. При 1-м варианте во 2-й и 3-й группах – в 1,5 раза, в 4-й группе – в 1,7 раза и при 2-м варианте, соответственно – в 1,7 раза, в 1,5 раза, и в 1,5 раза. Повышение активности КАТ пораженной кожи должно быть расценено как компенсаторная реакция в связи с повышением содержания в ней МДА.

Мы оценили показатели ПОЛ и антиоксидантной системы пораженной кожи белых крыс при экспериментальном ДПРК в процессе наружного лечения с использованием содержащего омега-3 и омега-6 ПНЖК Крема «Витамин Ф 99» жирного, а также средства противовоспалительной активности (Радевит мазь).

Активность СОД пораженной кожи при обоих вариантах эксперимента проявилась менее определено. Однако удалось выявить две закономерности. Относительно 2-й группы (4 дня после ожоговой травмы без лечения) при «выраженной ожоговой травме» она снижена в 1,3 раза, а при «умеренной ожоговой травме» – тенденция к снижению в 1,3 раза. В обоих вариантах эксперимента во 2-х группах по показателям МДА и СОД установлен оксидативный стресс; по показателям КАТ пораженной кожи выявляются признаки компенсации этих систем.

Удалось отметить вторую позицию в отношении СОД пораженной кожи. При обоих вариантах эксперимента в 4-х группах по сравнению со 2-ми группами соответственно активность СОД выше в 1,3 раза и выше в 1,5 раза. Так установлена компенсация антиоксидантной системы вследствие относительного возрастания активности СОД в 4-х

группах (лечение – Крем «Витамин Ф 99» жирный) в дополнение к повышенной активности КАТ пораженной кожи в группе «выраженной ожоговой травмы» в 1,7 раза и во втором варианте эксперимента в 1,5 раза. В условиях прежде отмечавшегося оксидативного стресса это существенные звенья компенсации антиоксидантной защиты. Благоприятной динамики ведущих компонентов ПОЛ не наступало в 3-й группе (лечение Радевит мазью). Это сопоставление демонстрирует преимущество относительно влияния на декомпенсированное состояние ПОЛ и антиоксидантной системы наружным средством, содержащим омега-3 и омега-6 ПНЖК, в сравнении с таковым противовоспалительного действия – Радевит мазью. Кроме того, МДА в группах 2–4 существенно повышен в сочетании с усиленной активностью КАТ.

Заключение

Более эффективным в отношении состояния ПОЛ и антиоксидантной системы при экспериментальном ДПРК у белых крыс оказалось лечение Кремом «Витамин Ф 99» жирный. Результаты использования Крема «Витамин Ф 99» жирный (4-я группа) превосходили таковые в 3-й группе (Радевит мазь). При этом обосновано применение в лечении заболеваний кожи с воспалительным компонентом в патогенезе – при ДПРК, аллергическом контактном дерматите, атопическом дерматите, диффузном и очаговом нейродермите, псориазе, кожной форме пигментной крапивницы у детей наружных средств, содержащих омега-3 и 6 ПНЖК и антиоксиданты. Период их использования – от выраженного обострения до существенной стабилизации высыпаний со значительным ослаблением воспалительной реакции пораженной кожи (эритемы, отечности и инфильтрации кожи, а также зуда).

Список литературы

1. Азам Н. Антиоксидантная активность лекарственных субстанций и биологически активных веществ/ Н. Азам, О.А. Горошко, В.П. Пахомова // Традиционная медицина. – 2009. – № 1. – С.35-38.
2. Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голожин. – М., 2004. – 148 с.
3. Вторушина А.Н. Метод вольтамперометрии в определении антиоксидантных свойств некоторых биологически активных соединений: автореф. дис. ... канд. хим. наук. – Томск, 2008. – 21 с.
4. Каркищенко Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / под ред. Н.Н. Каркищенко. – М., 2010. – 358 с.

5. Касихина Е.И. Цитопротективная терапия в комплексном лечении хронических воспалительных заболеваний кожи/ Е.И. Касихина // РМЖ дерматология. – 2015. – № 19. – С. 1146–1149.
6. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы /М.А. Королюк, Л.И. Иванова И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С.16-18.
7. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты/ И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С.66-68.
8. Чеснокова Н.П. О роли активации свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии/ Н.П. Чеснокова, В.В. Моррисон, Е.Ф. Понукалина // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 5. – С.122-130.
9. Шепелев А.П. Перекисное окисление липидов и система антиоксидантов в норме и при патологии / А.П. Шепелев, Л.А. Шовкун. – Ростов на Дону, 2012. – 363 с.
10. Amado A. Ирритантный контактный дерматит / А. Amado, J.S. Taylor, A. Sood //Дерматология Фицпатрика в клинической практике. – М., 2012. – Т.1. – С.430-437.
11. Mistra H.P. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and simpl assay for superoxide dismutase /H.P. Mistra, I. Fridovich // J. Biol. Chem. – 1972. – Vol. 247. – № 10. – P.3170-3175.