



2016, том 18 [7]

УДК 61:577.3

ИЗМЕНЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА И АКТИВНОСТИ ОКСИДОРЕДУКТАЗ В ОРГАНАХ ДЕТОКСИКАЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

О.В. Костина, А.Г. Соловьева, С.П. Перетягин

*ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии»
г. Нижний Новгород, Россия*

Аннотация. Работа посвящена изучению особенностей перекисного окисления липидов и активности оксидоредуктаз в органах детоксикации в различные сроки после экспериментального термического ожога. Выявлено угнетение окислительных процессов в почках и их усиление в печени на фоне компенсаторной активации антиоксидантной защиты. Отмечены разнонаправленные изменения активности альдегиддегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы в прямой реакции: в печени активность ферментов уменьшается, тогда как в почках возрастает. Удельная активность алкогольдегидрогеназы в обратной реакции снижается во всех исследованных органах.

Ключевые слова: ожог, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, альдегиддегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа.

Введение. 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. В числе последствий активации свободнорадикальных механизмов — перекисное окисление липидов (ПОЛ) биологических мембран, направленное на адаптивное в условиях гиперметаболизма повышение клеточной про-

ницаемости. Однако в связи с безудержной инициацией ПОЛ может происходить альтерация клеточной стенки. Окислительный стресс приводит к накоплению высокотоксичных альдегидов, которые образуют аддукты с белками, нуклеиновыми кислотами, вмешиваются в энергетический обмен, изменяют клеточные функции [1]. Известно, что основными ферментами, участвующими в утилизации альдегидов, являются альдегиддегидрогеназа (АлДГ) и алкогольдегидрогеназа (АДГ). В то же время ожоговая болезнь сопровож-

дается нарушением активности многих ферментов [2]. Все вместе это способствует системному поражению органов и тканей. Отрицательное влияние эндогенных токсинов, к которым относятся и продукты ПОЛ, на функционирование главным образом органов выделения отражает наиболее существенное звено в патогенетическом механизме интоксикации.

В связи с этим целью нашей работы явилось исследование активности АлДГ, АДГ, как маркеров биотрансформации, а также интенсивности процессов липопероксидации в органах детоксикации при термической травме.

Материалы и методы. 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: первая группа — контрольная, которую составили интактные крысы ($n = 15$). Вторая группа — опытная ($n = 15$). Животным опытной группы в условиях общей анестезии эфиром наносили ожог II—III степени кипятком на эпилированных от шерсти 20% поверхности тела. Печень, почки 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 биохемиллюминесценции [3] на биохемиллюминетре БХЛ-07 (Н. Новгород). Оценивались следующие параметры хемиллюминограммы: $tg\ 2\alpha$ — показатель, характеризующий скорость спада процессов свободнорадикального окисления в биологическом субстрате и свидетельству-

ющий об антиоксидантном потенциале; S — светосумма хемиллюминесценции за 30 сек — отражает потенциальную способность биологического объекта к свободнорадикальному окислению. Уровень продукта ПОЛ — малонового диальдегида (МДА) в гомогенате органов оценивался по методу М. Uchiyama и М. Mihara [4]. Активность альдегиддегидрогеназы (АлДГ) определяли по Б.М. Кершенгольцу и Е.В. Серкиной (1981) [5], алкогольдегидрогеназы в прямой и обратной реакции (АДГпр. и АДГобр.) по М. Koivusalo e. a. (1989) [6].

Статистический анализ результатов исследований выполнен с использованием программы Statistica 6. Достоверность различий между группами оценивали с использованием критерия Ньюмана—Кейлса.

Результаты и их обсуждение. В опытной группе животных интенсивность индуцированной хемиллюминесценции в гомогенате печени — основного органа детоксикации — осталась без значительных изменений. В то же время зарегистрировано значительное повышение уровня МДА на 7 сутки после травмы — на 57% ($p < 0,05$), с возвращением к исходному уровню на 10 сутки (табл. 1). Активация процессов ПОЛ в печени сдерживалась адаптивным увеличением системы антиоксидантной защиты — на 3 сутки $tg2\alpha$ достигал 124% ($p < 0,05$), на 7 сутки — 118%, на 10 сутки — 136% ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными.

Наблюдаемые явления можно объяснить следующим образом. Одной из причин 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 ише-



мия [7]. В печени обожженных животных отмечалось достаточно быстрое включение (на 3 сутки после травмы) перестройки в метаболизме, проявляющейся в компенсаторной активации антиоксидантной защиты, не даю-

щей развиваться окислительному стрессу. Рост АОА имеет большое значение еще и по той причине, что в случае ее недостаточности в печени может происходить срыв всей системы детоксикации [8].

Таблица 1.

**Динамика показателей СРО и активности оксидоредуктаз
в гомогенате печени обожженных животных**

Сут. после ожога	S, усл. ед	tg2α, усл. ед.	МДА, ед. опт. пл.	АлДГ нмоль НАДН/ мин×мг белка	АДГ пр. нмоль НАДН/ мин×мг белка	АДГ обр. нмоль НАДН/ мин×мг белка
Инт. крысы	1 935,37 ± ± 83,73	124,63 ± ± 8,10	8,37 ± 0,52	51,39 ± 1,75	47,39 ± 2,55	107,90 ± ± 3,03
3 сут.	1 839,80 ± ± 129,24	154,10 ± ± 5,41*	7,53 ± 0,79	22,49 ± 1,30*	34,72 ± 1,02*	89,95 ± ± 5,49*
7 сут.	1 712,60 ± ± 46,65	146,50 ± ± 8,15	13,15 ± 0,69*	11,25 ± 0,84*	17,05 ± 1,19*	66,63 ± ± 4,53*
10 сут.	1 907,40 ± ± 23,63	169,10 ± ± 8,59*	8,32 ± 0,52	30,10 ± 3,46*	25,82 ± 1,55*	86,12 ± ± 3,24*

Примечание: *различия статистически значимы по сравнению с контролем.

Выявлено статистически значимое снижение удельной активности альдегиддегидрогеназы в печени на 3-и сутки после травмы — на 56,2%, на 7-е сутки — на 78,1% и на 10-е сутки после травмы — на 41,4%. Столь выраженное уменьшение активности АлДГ может способствовать накоплению большого количества токсичных альдегидов (не только малонового), которые, в свою очередь, ингибируя активность многих ферментов, снижают детоксикационную функцию печени. Можно предположить, что наблюдаемое нами явление связано с увеличением содержания других высокотоксичных соединений, в частности — молекул средней массы

(МСМ), которые переводят фермент в новое конформационное состояние, характеризующееся снижением его сродства к субстрату реакции. Кроме того, МСМ оказывают значительное влияние на процессы ПОЛ [9]. Вероятно, что с этим связано отмеченное увеличение концентрации продукта липопероксидации — МДА.

Биотрансформация альдегидов связана не только с работой фермента альдегиддегидрогеназы, но и с алкогольдегидрогеназой. При накоплении альдегидов может происходить смещение направления реакции, катализируемой этим ферментом в сторону их восстановления до менее токсичных спиртов.





Удельная активность АДГобр. статистически значимо уменьшалась на 16,6% на 3-и сутки, 38,3% на 7-е и на 20,2% на 10-е сутки после ожогового повреждения. Максимальное снижение активности наблюдалось на седьмые сутки после ожога. Активность фермента в прямой реакции также снижалась: на 26,7% на 3-и сутки, на 64% на 7-е сутки и на 45,5% на 10-е сутки после ожога по сравнению с контрольной группой крыс ($p < 0,05$).

В результате проведенных исследований интенсивности перекисного окисления липидов в гомогенате почек получены следующие

результаты. Значения светосуммы хемилюминесценции снижались одновременно с концентрацией продуктов ПОЛ. МДА на 7 сутки составлял 60% от исходной величины ($p < 0,05$). Значение $tg2\alpha$, характеризующее антиоксидантный потенциал, к 3 и 7 суткам увеличилось в среднем на 18%, к 10 суткам — на 44% ($p < 0,05$) по отношению к контролю (табл. 2). Таким образом, в почках, как и в печени, наблюдалось превалирование антиоксидантного потенциала над процессами липопероксидации.

Таблица 2

**Динамика показателей СРО и активности оксидоредуктаз
в гомогенате почек обожженных животных**

Сут. после ожога	S, усл. ед	$tg2\alpha$, усл. ед.	МДА, ед. опт. пл.	АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка	АДГпр., НАДН/мин×мг белка	АДГобр., НАДН/мин×мг белка
Инт. крысы	1 414,44 ± ± 122,02	52,67 ± 5,06	10,02 ± ± 1,06	80,50 ± 5,55	15,25 ± 1,04	48,68 ± ± 2,99
3 сут.	1 277,40 ± ± 40,87	62,38 ± 1,39	8,18 ± ± 0,79	98,04 ± 6,71*	32,61 ± 2,85*	12,91 ± ± 1,71*
7 сут.	1 291,50 ± ± 70,78	62,13 ± 3,15	5,96 ± ± 0,51*	87,05 ± 8,27	29,29 ± 1,27*	14,91 ± ± 0,98*
10 сут.	1 297,40 ± ± 42,00	75,70 ± 1,45*	8,18 ± ± 0,50	117,10 ± 9,25*	49,48 ± 1,14*	33,36 ± ± 1,14*

Примечание. * различия статистически значимы по сравнению с контролем.

Удельная активность АлДГ в почках статистически значимо возрастала на третьи и десятые сутки — на 21,8% и на 45,5% соответственно по сравнению с активностью фермента контрольной группы животных. Отмеченный нами факт повышения антиоксидантного потенциала и увеличения активности данного фермента в почках свидетельствует о возрастании детоксикационной нагрузки на этот орган.

В почках наблюдалось значительное падение активности обратной реакции алкогольдегидрогеназы. Этот факт, вероятно, может быть связан с увеличением активности другого ключевого фермента биотрансформации альдегидов — АлДГ: незначительное увеличение активности альдегиддегидрогеназы (на 21,8% на 3-и сутки) при резком уменьшении активности АДГобр (на 74% на 3-и сутки). На 7-е сутки активность АДГобр





уменьшается на 69,4% ($p < 0,05$). Если же рост активности АДГ становился более значительным к 10-м суткам наблюдения (на 45,5%), то падение активности АДГобр было менее выражено (на 31,5%).

Активность АДГпр в почках статистически значимо увеличивалось в 2 раза на 3-и сутки, в 1,9 раза — на 7-е и в 2,8 раза — на 10-е сутки после ожога. Таким образом, в данном органе мы наблюдаем разнонаправленные изменения в реакциях алкогольдегидрогеназы: рост активности фермента в прямой реакции сопровождается уменьшением активности обратной реакции.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования на модели термического поражения показали изменения интенсивности свободнорадикального окисления в клетках различной морфофункциональной значимости (угнетение окислительных процессов в почках и активация — в печени), которые безусловно вносят вклад в прогрессирование патологического состояния. В то же время печени и почках обожженных животных отмечалась компенсаторная активация антиоксидантной защиты. Выявлено разнонаправленное изменение активности АДГ: в печени активность уменьшалась, а в почках возрастала. Согласно полученным результатам, удельная активность АДГобр статистически значимо снижалась в исследованных органах во все сроки наблюдения. В печени регистрировалось меньшее падение активности алкогольдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях ($< 60\%$) во все сроки наблюдения, по сравнению с уменьшением активности в почках ($> 60\%$, кроме десятых суток).

Таким образом, термическая травма в большей или меньшей степени затрагивает функционирование проанализированных на-

ми органов и влияет на активность альдегиддегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы и баланс между про- и антиоксидантами. Полученные результаты вносят вклад в изучение этиологии и патогенеза ожоговой болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lieber C.S. Hepatic and other medical disorders of alcoholism // J. Stud. Alcohol. 1998. № 1. P. 9—25.
2. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги. Руководство для врачей. М.: СпецЛит, 2000.
3. Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемиллюминесценции для оценок свободнорадикальных реакций в биологических субстратах // Биохимия и биофизика микроорганизмов. Горький, 1983. С. 41—48.
4. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Analit. biochem. 1978. № 86. P. 271.
5. Кершенгольд Б.М., Ильина Л.П. Биологические аспекты алкогольных патологий и наркоманий. Якутск: Изд-во ЯГУ, 1998.
6. Koivusalo M., Baumann M., Votila L. Evidence for the identity of glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase and class II alcohol dehydrogenase // FEBS Lett. 1989. V. 257. № 1. P. 105—109.
7. Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия поведения). СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2003.
8. Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты // Вестник РАМН. 1995. № 3. С. 9—13.
9. Козинец Г.П., Слесаренко С.В. Радзиховский А.П. Ожоговая интоксикация. Патогенез, клиника, принципы лечения. М.: МЕДпресс-информ, 2005.





CHANGES IN OXIDATIVE STATUS AND OXIDOREDUCTASE ACTIVITY IN THE DETOXICATION ORGANS IN EXPERIMENTAL THERMAL INJURY

O.V. Kostina, A.G. Soloveva, S.P. Peretyagin

*Federal State Budgetary Institution
«Privolzhsky Federal Research Medical Centre»
of the Ministry of Health of the Russian Federation
Nizhny Novgorod, Russia*

Annotation. Parameters of lipid peroxidation and activity of the oxidoreductases were investigated in the organs of detoxification at different times after the experimental thermal burn. Revealed inhibition of oxidative processes in the kidneys and intensification in the liver against the background of the compensatory activation of antioxidant protection. Multidirectional marked changes in the activity of aldehyde dehydrogenase and alcohol dehydrogenase in the direct reaction in liver enzyme activity is reduced, while increases in the kidney. Specific activity of alcohol dehydrogenase in the backlash is reduced in all organs examined.

Key words: burns, lipid peroxidation, antioxidant activity, aldehyde dehydrogenase, alcohol dehydrogenase.

REFERENCES

1. Lieber C.S. Hepatic and other medical disorders of alcoholism. *J. Stud. Alcohol.*, 1998, no. 1, pp. 9—25.
2. Paramonov B.A., Poremskij Ja.O., Jablonskij V.G. Burns. Manual for doctors. Moscow, SpecLit, 2000. (in Russian).
3. Kuz'mina E.I., Neljubin A.S., Shhennikova M.K. The use of induced chemiluminescence for evaluation of free radical reactions in biological substrates. *Biohimija i biofizika mikroorganizmov. Gor'kij*, 1983, pp. 41—48 (in Russian).
4. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analit. biochem.*, 1978, no. 86, p. 271.
5. Kershengol'c B.M., Il'ina L.P. Biological aspects of alcoholic pathologies and addictions. Jakutsk, Izd-vo JaGU, 1998. (in Russian).
6. Koivusalo M., Baumann M., Votila L. Evidence for the identity of glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase and class II alcohol dehydrogenase. *FEBS Lett.*, 1989, vol. 257, no. 1, pp. 105—109.
7. Shanin Ju.N., Shanin V.Ju., Zinov'ev E.V. Antioxidant therapy in clinical practice (theoretical rationale and strategy for behavior). St.Petersburg, JeLBI-SPb, 2003. (in Russian).
8. Tiunov L.A. Mechanisms of natural detoxication and antioxidant protection. *Vestnik RAMN*, 1995, no. 3, pp. 9—13 (in Russian).
9. Kozinec G.P., Slesarenko S.V. Radzhovskij A.P. Burn intoxication. The pathogenesis, clinical features, treatment principles. Moscow, MEDpress-inform, 2005. (in Russian).

