

Results and discussion. According to our data abdominal trauma with damaged colon demonstrated, the following histological findings in a 1 hour since the trauma as small hemorrhages in the form of clusters of red blood cells with indistinct contours, spasmodic arteries with walls of blood vessels full-blooded. The adjacent mesentery of the colon presented loose fibrous tissue infiltrated with erythrocytes mixed with rare leukocytes, spasmodic vessel. In 2-3 hours the mucous membrane became swollen. In foci of hemorrhagic submucosal layer there was a large number of white blood cells. On the periphery of the cell layers we observed bleeding, swollen, plethoric vessels, leukocytes, lymphocytes, macrophages, mast cells. On the surface layers of the serous membrane foreign particles were black. In the period 4-5 hours after injury a number of epithelial cells became increased, with fuzzy contours of nuclei, mucosa swollen, infiltrated leukocytes. Serous membrane became swollen and moderately infiltrated with leukocytes. Around extensive vascular inflammatory infiltrates were observed. In the next 6-7 hours the mucosa was almost of all epithelial cells with indistinct contours. In the submucosal layer there are signs of the hemorrhage, red blood cells, particularly in the center of hemorrhage, with fuzzy contours, and mixed grain brown pigment. On the periphery there were many pigmented macrophages. Thus, as a result of the research we found regular histological changes may indicate causes of injury, possibility to develop a set of criteria for assessing the occurrence of damage limitation in gastrointestinal tract.

УДК 616.831-005-599.323

Березнякова А.І., Жемела О.Д., Черемісіна В.Ф.

СТАН АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ У ЩУРІВ З АЛЕРГІЧНИМ ДЕРМАТИТОМ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

В роботі представлено вивчення стану антиоксидантного гомеостазу у щурів з алергічним дерматитом. Показано, що при алергічному дерматиті у щурів виявлена глибока перебудова окиснювального антиоксидантного гомеостазу: знижується рівень неферментативного антиоксидантного гомеостазу. Зміни гомеостазу необхідно розглядати як захисно-приспосувальну реакцію організму в умовах формування структурно-метаболічних механізмів розвитку алергічного дерматиту у щурів. 0,5% димецинова мазь на тлі експериментального алергічного дерматиту проявляє антиоксидантні властивості, сприяє нормалізації показників антиоксидантної системи, відновленню оптимальної активності ферментів протирадикального захисту. Порушення регуляції внутрішньоклітинного редокс-статусу з боку антиоксидантної системи, в яку входять СОД, каталаза, може розглядатися як один із ключових факторів патогенезу алергічних захворювань.

Ключові слова: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), церулоплазмін (ЦП), вітаміни, SH-групи, 0,5 % димецинова мазь.

Вступ

Головними ферментами антирадикального захисту клітинних структур, як відомо, є супероксиддисмутаза (СОД), церулоплазмін, пероксидаза, глутатіонпероксидаза, каталаза [4, 6, 7]. Вони здатні вступати у реакції з активними формами кисню та утворювати молекулярні або радикальні продукти з меншою реакційною здатністю. Необхідно відмітити високу сумісну взаємодію ферментів антирадикального захисту (СОД, каталаза, церулоплазмін), яка спрямована на забезпечення структурно-метаболічного гомеостазу [8, 9, 11, 12, 13].

Мета роботи

Вивчити зміни показників неферментативного та ферментативного антиоксидантного гомеостазу у щурів з алергічним дерматитом.

Об'єкт і методи дослідження

Експерименти проведені на 30 нелінійних щурах-самцях, масою 180,0–220,0 г, які були розподілені на 3 групи: 1 група – інтактні (умовно здорові тварини); 2 група – тварини з алергічним дерматитом; 3 група – щури з алергічним дерматитом, яких лікували 0,5% димециновою маз-

зю. Алергічний дерматит (АД) викликали за методом П.М. Залкан та О.А. Ієвлевої [5] 2,4-динітрохлорбензолом (ДНХБ). 3 краплі 5% розчину ДНХБ одноразово у вигляді аплікації наносили на ділянку сенсibiliзації (поверхня спини) з додатковим нанесенням на 7 інших ділянок шкіри по 1 краплі 1% розчину. На 7 добу розвивалась запальна реакція з тотальним некрозом епідермісу та утворенням великих субепідермальних пухирців. Вміст SH-груп визначали за методом Верьовкіної І. В. [3] та Ellman G. L. [16], глутатіону за методом Мальцева Г. Ю. [10], вітамінів С, А, Е за методом Асатіані В.С. [2]; Архіпової О. Г., Шицької Н. Н., Семенової Л. С. [1]. Для визначення активності СОД був обраний ксантин-ксантиназний метод з використанням цитохрома с [13]. Активність каталази оцінювали за зменшенням вмісту перекису водню в інкубаційному середовищі, оскільки каталаза розщеплює перекис водню [8]; визначали спектрофотометрично. Визначення церулоплазміну в плазмі крові здійснювали за методом [6, 11].

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших нау-

кових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням критеріїв Фішера-Стьюдента [14]. Рівень достовірності прийнято при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

При вивченні стану неферментативної антиокиснювальної системи встановлено зниження вмісту в сироватці крові щурів з алергічним дерматитом SH-груп в 1,58 рази, глутатіону – в 1,92 рази, гаптоглобін – в 1,78 рази, вітамінів С, А та Е – відповідно в 2,16; 1,49 і 1,75 рази в порівнянні з показниками інтактних тварин (табл. 1).

Таблиця 1

Стан неферментативного антиоксидантного гомеостазу у щурів з алергічним дерматитом ($M \pm m$)

Показники	Дослідні групи	
	Інтактні щури (контроль)	Щури з алергічним дерматитом
SH-групи, мг%, кров	69,9 ± 4,2	43,6 ± 3,7*
Глутатіон, мг%, кров	13,8 ± 0,9	7,2 ± 0,54*
Гаптоглобін, г/л, сироватка крові	2,43 ± 0,14	1,4 ± 0,22*
Вітамін С, мкмоль/л, сироватка крові	75,5 ± 5,4	35,0 ± 2,2*
Вітамін А, мкг/100 мл, сироватка крові	47,4 ± 2,7	31,8 ± 3,14*
Вітамін Е, мкмоль/л, сироватка крові	32,7 ± 2,3	18,4 ± 1,3*

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно показників контролю.

Аналіз антиокиснювального гомеостазу достовірно виявив, що в патогенезі алергічного дерматиту виключно важливу роль грають ВРП і ПОЛ з перевагою окиснювального метаболізму, що потребує підвищеного рівня використання неферментативних окиснювачів. Активація ферментів антиоксидантної системи та зниження в сироватці крові концентрації неферментативних антиокиснювачів можуть бути пояснені підвищенням рівня їх необхідності органами і тканинами в патогенезі алергічного дерматиту.

Активність СОД «на піку» розвитку алергічного дерматиту (7-а доба експерименту) зменшувалась у 2 рази в порівнянні з інтактним контролем (табл. 2.). В подальшому показник зменшувався до 14-ї доби включно, а на 21-щу добу відновлювався, проте контрольних значень не досягав. Спостерігалось також зниження активності каталази в аналогічні терміни. Вміст ЦП в крові щурів з алергічним дерматитом до лікування збільшився, що, певно, пов'язано з порушенням проникності клітинних мембран і корелює з важ-

кістю патологічного процесу як маркер гострої фази. Отримані результати свідчать про те, що розвиток гострої фази алергічного дерматиту зумовлює одночасне підвищення показників активності одних факторів антиоксидантного захисту, а саме ЦП, та зниження інших – СОД, каталази, що вказує на напруженість та розбалансованість АО захисту і є показником дезадаптації компенсаторних механізмів.

Нанесення на шкіру 0,5% димединової мазі здоровим щурам (інтактний контроль) не змінювало досліджувані показники (табл. 3).

У щурів з алергічним дерматитом, яким нанесли 0,5% димединову мазь, показники нормалізувались швидкими темпами. 0,5% димединова мазь на основі димебона справляє активуючий вплив на ферменти АО захисту (СОД, каталаза) і зумовлює зниження активності церулоплазміну. Зниження АО забезпеченості можна розглядати як виснаження АО систем в гострому періоді алергічного дерматиту.

Таблиця 2

Динаміка показників антиоксидантного захисту у щурів з алергічним дерматитом без лікування

Термін дослідження, доба	Супероксиддисмутаза, умов. од.	Каталаза, мкат/мл	Церулоплазмін, мг/л
	Контроль		
	2,42±0,25	4,20±0,5	101,3±9,3
1	1,21±0,22*	4,00±0,2*	104,2±9,0*
7	1,18±0,18*	3,98±0,4	106,2±8,9*
14	1,10±0,16*	3,76±0,2*	109,1±8,9*
21	2,38±0,20	3,81±0,3*	109,8±7,8*

Примітка: * - $p \leq 0,05$ відносно контролю, $n=10$.

Таблиця 3

Показники антиоксидантного захисту організму щурів з алергічним дерматитом при лікуванні 0,5 % димединовою маззю

Термін дослідження, доба	Супероксиддисмутаза, умов. од.	Каталаза, мкат/мл	Церулоплазмін, мг/л
	Контроль		
	2,42±0,25	4,20±0,50	101,3±9,3
1	2,98±0,22	4,19±0,48	99,2±9,1
7	3,20±0,20	4,16±0,42	96,1±8,9
14	3,88±0,18	4,18±0,38	96,0±8,8
21	4,42±0,16*	4,17±0,36	94,0±8,6*

Примітка: * - $p \leq 0,05$ відносно контролю, $n=10$.

Як відомо, у багатьох випадках першопричиною розвитку патологічного процесу в клітинах, тканинах і організмі в цілому є активація процесу вільнорадикального окиснення ліпідів у біологічних мембранах. Ініціаторами надмірної активації ВРО ліпідів можуть бути такі процеси і фактори, як гіпоксія, запалення, інфекція, імунологічне пошкодження мембран, недосконалість протіоксидантного захисту [15, 16, 17]. Одним із основних засобів протидії цим явищам є ендogenous речовини – антиоксиданти, які підтримують на не-

обхідному рівні активність антиоксидантної системи. Ця система контролює рівень вільнорадикальних реакцій окиснення і запобігає накопиченню в організмі їх токсичних продуктів. Тому стан АОС необхідно знати на етапах діагностики та прогнозування перебігу патології в організмі, зокрема алергічних захворювань.

До першої лінії захисту від активних радикалів кисню належать антиоксидантні ферменти – СОД та каталаза, які містяться та співдружно функціонують у клітинних мембранах (табл. 4)

Таблиця 4

Показники перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи в сироватці крові після моделювання гострого алергічного дерматиту у щурів (M ± m)

Показники	Дослідні групи		
	Інтактні щури	Алергічний дерматит без лікування (контроль)	Щури з алергічним дерматитом
Церулоплазмін, мг%	28,0 ± 2,0	55,0 ± 4,4*	35,0 ± 2,9**
Каталаза, мкат/л	0,57 ± 0,05	0,30 ± 0,02	0,48 ± 0,30**
МДА, кмоль/л	1,00 ± 0,07	2,50 ± 0,10*	1,10 ± 0,08**
АІП	0,57 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,43 ± 0,05**

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до інтактного контролю; ** - $p < 0,05$ по відношенню до дерматиту без лікування.

Роль каталази в обмеженні концентрації перекису водню при патологічних станах полягає в тому, що каталаза руйнує інгібітор СОД – перекис водню, підтримуючи тим самим активність СОД на постійному рівні. Таким чином, робота цих двох ферментів синхронізується в оптимальному режимі, що призводить до стійкого захисту ефекту (табл. 5).

Тобто, 0,5% диметинова мазь зменшує інтенсивність процесів ПОЛ і рівень вільних радикалів, які у великій кількості починають утворюватися при ранових ушкодженнях, опіках та запальних процесах, що в підсумку приводить до усунення загрози для клітин з боку вільних радикалів і сприяє стабілізації клітинних мембран.

Таблиця 5

Показники ПОЛ і АОС в гомогенаті тканин шкіри у щурів при лікуванні алергічного дерматиту (M ± m)

Показники	Дослідні групи		
	Інтактні щури	Алергічний дерматит без лікування (контроль)	Щури з алергічним дерматитом
Дієнові кон'югати, умов.од.	0,19 ± 0,01	0,26 ± 0,01*	0,19 ± 0,01**
ТБК-Р, кмоль/г тканини	19,38 ± 5,43	29,46 ± 5,48	21,48 ± 3,92**
СОД, од. акт./мг білка	1,93 ± 0,17	1,05 ± 0,13*	1,53 ± 0,14**
Каталаза, од. акт./мг білка	0,34 ± 0,02	0,26 ± 0,01*	0,33 ± 0,02**

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до інтактного контролю; ** - $p < 0,05$ по відношенню до дерматиту без лікування.

Результати дослідження дозволяють зробити висновок про те, що 0,5% диметинова мазь є ефективним засобом при лікуванні алергічного дерматиту. Особливістю АО ефекту 0,5% диметинової мазі є її здатність гальмувати утворення вільних радикалів у тварин з дерматитом, стабілізувати мембранний апарат клітин, а також зменшувати дисбаланс між про- і антиоксидантними системами.

Висновки

1. При алергічному дерматиті у щурів виявлена глибока перебудова окиснювального антиоксидантного гомеостазу, при якому знижується рівень неферментативного антиоксидантного гомеостазу.

2. Зміни гомеостазу необхідно розглядати як захисно-приспосувальну реакцію організму в умовах формування структурно-метаболических механізмів розвитку алергічного дерматиту у щурів.

3. 0,5% диметинова мазь на тлі експериментального алергічного дерматиту проявляє антиоксидантні властивості, сприяє нормалізації по-

казників антиоксидантної системи, відновленню оптимальної активності ферментів протирадикального захисту.

4. Порушення регуляції внутрішньоклітинного редокс-статусу з боку АОС, в яку входять СОД, каталаза, може розглядатися як один із ключових факторів патогенезу алергічних захворювань.

Література

- Архипова О. Г. Определение гемоглобина в сыворотке крови. Методы исследования в профпатологии / О. Г. Архипова, Н. Н. Шицкая, Л. С. Семенова. – М.: Медицина, 1988. – С. 15–17.
- Асатиани В. С. Ферментные методы анализа / В. С. Асатиани. – М.: Наука, 1969. – 560 с.
- Веровкина И. В. Колориметрический метод определения SH-группы / И. В. Веровкина, Л. Г. Точилкина, Н. А. Попова // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 18–22.
- Дранник Г. М. Клиническая иммунология и аллергология: пособие для студентов, врачей-интернов, иммунологов, аллерголов, врачей лечебного профиля всех специальностей / Г. М. Дранник. – К.: Полиграф. плюс, 2010. – 552 с.
- Залкан П. М. Влияние синтетических моющих средств на реактивность кожи морских свинок / П. М. Залкан, Е. А. Ивлева // Актуальные вопросы профессиональной дерматологии. – М., 1965. – С. 106–112.
- Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 920 с.

7. Колішецька М. А. Характеристика рівня каталаз в бронхах за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми / М. А. Колішецька // Матеріали наукового товариства патофізіологів України. – 23 – 25 вересня 2014 р., м. Вінниця. – С. 33.
8. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
9. Лившиц В. М. Биохимические анализы в клинике : справ. / В. М. Лившиц, В. И. Сидельникова. – 3-е изд. – М. : Мед. информ. агентство, 2011. – 327 с.
10. Мальцев Г. Ю. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Г. Ю. Мальцев, Н. В. Тышко // Гигиена и санитария. – 2002. – № 2. – С. 69–72.
11. Меньшиков В. В. Лабораторные исследования в клинике : справ. / В. В. Меньшиков. – М. : Медицина, 2010. – 396 с.
12. Пиндус В. Б. Активність каталази в міокарді в умовах експериментального алергічного альвеоліту / В. Б. Пиндус // Матеріали наукового товариства патофізіологів України. – 23 – 25 вересня 2014 р., м. Вінниця. – С. 79.
13. Ференц Н. М. Особливості активності супероксиддисмутаз в печінці у динаміці формування експериментальної пневмонії / Н. М. Ференц // Матеріали наукового товариства патофізіологів України. – 23 – 25 вересня 2014 р., м. Вінниця. – С. 107.
14. Юнкеров В. И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В. И. Юнкеров, С. Т. Григорьев. – СПб. : ВМедА, 2005. – 292 с.
15. Baraboi V. A. Oxidation-antioxidant homeostasis in normal and pathological conditions / V. A. Baraboi, D. A. Suthovoy // Chernobylinterform. – 1997, part. 1. – 205 p.
16. Ellman G. L. Tussue sulfhydryl groups // Arch. Bioch. Biophys. – 1959. – Vol. 82, № 12. – P. 70–77.
17. Ray G. Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer / G. Ray, S. Batra, N. K. Shukla // Breast Cancer Res. Treatm. – 2009. – Vol. 59, № 2. – P. 163–170.
4. Drannik G. M. Klinicheskaia immunologija i alergologija : posobie dlja studentov, vrachej-internov, immunologov, allergologov, vrachej lechebnogo profija vseh special'nostej / G. M. Drannik. – K. : Poligraf. pljus, 2010. – 552 s.
5. Zalkan P. M. Vlijanie sinteticheskikh mozhshhix sredstv na reaktivnost' kozhi morskikh svinok / P. M. Zalkan, E. A. Ilevleva // Aktual'nye voprosy professional'noj dermatologii. – M., 1965. – S. 106–112.
6. Kamyshnikov V. S. Spravochnik po kliniko-biohimicheskim issledovanijam i laboratornoj diagnostike / V. S. Kamyshnikov. – M. : MEDpress-inform, 2009. – 920 s.
7. Kolishec'ka M. A. Harkteristika rivnja katalaz v bronhah za umov rozvitku eksperimental'noi bronhial'noi astmi / M. A. Kolishec'ka // Materiali naukovogo tovaristva patofiziologiv Ukraini. – 23 – 25 veresnja 2014 r., m. Vinnicja. – S. 33.
8. Koroljuk M. A. Metod opredelenija aktivnosti katalazy / M. A. Koroljuk, L. I. Ivanova, I. G. Majorova // Laboratornoe delo. – 1988. – № 1. – S. 16–19.
9. Livshic V. M. Biohimicheskie analizy v klinike : sprav. / V. M. Livshic, V. I. Sidel'nikova. – 3-e izd. – M. : Med. inform. agentstvo, 2011. – 327 s.
10. Mal'cev G. Ju. Metody opredelenija sodержanija glutaciona i aktivnosti glutacionperoksidazy v jerytrocitah / G. Ju. Mal'cev, N. V. Tyshko // Gijiena i sanitarija. – 2002. – № 2. – S. 69–72.
11. Men'shikov V. V. Laboratornye issledovanija v klinike : sprav. / V. V. Men'shikov. – M. : Medicina, 2010. – 396 s.
12. Pindus V. B. Aktivnist' katalazi v miokardi v umovah eksperimental'nogo alergichnogo al'veolitu / V. B. Pindus // Materiali naukovogo tovaristva patofiziologiv Ukraini. – 23 – 25 veresnja 2014 r., m. Vinnicja. – S. 79.
13. Ferenc N. M. Osoblivostii aktivnosti superoksiddismutazi v pechinci u dinamici formuvannja eksperimental'noi pnevmonii / N. M. Ferenc // Materiali naukovogo tovaristva patofiziologiv Ukraini. – 23 – 25 veresnja 2014 r., m. Vinnicja. – S. 107.
14. Junkerov V. I. Matematiko-statichsticheskaja obrabotka dannyh medicinskih issledovanij / V. I. Junkerov, S. T. Grigor'ev. – SPb. : VMedA, 2005. – 292 s.
15. Baraboi V. A. Oxidation-antioxidant homeostasis in normal and pathological conditions / V. A. Baraboi, D. A. Suthovoy // Chernobylinterform. – 1997, part. 1. – 205 p.
16. Ellman G. L. Tussue sulfhydryl groups // Arch. Bioch. Biophys. – 1959. – Vol. 82, № 12. – P. 70–77.
17. Ray G. Lipid peroxidation, free radial production and antioxidant status in breast cancer / G. Ray, S. Batra, N. K. Shukla // Breast Cancer Res. Treatm. – 2009. – Vol. 59, № 2. – P. 163–170.

References

1. Arhipova O. G. Opredelenie gemoglobina v syvorotke krovi. Metody issledovanija v profpatologii / O. G. Arhipova, N. N. Shickaja, L. S. Semenova. – M. : Medicina, 1988. – S. 15–17.
2. Asatiani V. S. Fermentnye metody analiza / V. S. Asatiani. – M. : Nauka, 1969. – 560 s.
3. Verevkina I. V. Kolorimetriceskij metod opredelenija SH-gruppy / I. V. Verevkina, L. G. Tochilkina, N. A. Popova // Sovremennye metody v biohimii. – M. : Medicina, 1977. – S. 18–22.

Реферат

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗА У КРЫС С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Березнякова А.И., Жемела О.Д., Черемисина В.Ф.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), церулоплазмин (ЦП), витамины, SH-группы, 0,5 % димециновая мазь.

В работе представлено изучение состояния неферментативного и ферментативного антиоксидантного гомеостаза у крыс с аллергическим дерматитом. Показано, что при аллергическом дерматите у крыс выявлена глубокая перестройка окислительного антиоксидантного гомеостаза: снижается уровень неферментативного антиоксидантного гомеостаза. Изменения гомеостаза необходимо рассматривать как защитно-приспособительную реакцию организма в условиях формирования структурно-метаболических механизмов развития аллергического дерматита у крыс. 0,5% димециновая мазь на фоне экспериментального аллергического дерматита проявляет антиоксидантные свойства, способствует нормализации показателей антиоксидантной системы, восстановлению оптимальной активности ферментов антирадикальной защиты. Нарушение регуляции внутриклеточного редокс-статуса со стороны антиоксидантной системы, в которую входят СОД, каталаза, может рассматриваться как один из ключевых факторов патогенеза аллергических заболеваний.

Summary

CONDITION OF ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS IN RATS WITH ALLERGIC DERMATITIS

Bereznyakova A.I., Zhemela O. D., Cheremisina V. F.

Key words: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ceruloplasmin (CP), vitamins, SH-groups, 0,5 % dimecynic ointment.

The article presents the study of the status of non-enzymatic and enzymatic antioxidant homeostasis in rats with allergic dermatitis. It has been shown that rats with allergic dermatitis showed deep remodelling of oxidative antioxidant homeostasis by reduced levels of non-enzymatic antioxidant homeostasis. Changes of homeostasis should be considered as protective and adaptive body reaction in response to the formation of structural and metabolic mechanisms of atopic dermatitis. 0.5% dimecynic ointment applied in cases of modelled allergic dermatitis demonstrates marked antioxidant properties, promotes the normalization of antioxidant system, restoration of optimal enzyme activity and antiradical protection. Dysregulation of intracellular redox status by antioxidant system, which includes SOD, catalase, can be considered as one of the key factors in the pathogenesis of allergic diseases.