

УДК 612.397.8.015 : 157

Э. М. МИКАЕЛЯН

## КОРРЕКЦИЯ ФЕНОЗАНОМ «К» ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ОСТРОМ СТРЕССЕ

Установлено, что фенозан К существенно подавляет интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ). Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования фенозана К для клинических испытаний при патологических состояниях, сопровождающихся интенсификацией ПОЛ.

В течение последнего десятилетия широко проводятся исследования по изучению механизма регуляции метаболизма с помощью природных и синтетических антиоксидантов и внедрению их в клиническую практику. Актуальность проблемы определяется ролью перекисного окисления липидов (ПОЛ) биомембран в регуляции интенсивности и направленности метаболизма. ПОЛ—физиологический процесс, динамически протекающий во всех биомембранах и определяющий их структуру и функцию. Выход ПОЛ за рамки стационарного состояния изменяет липидный состав мембраны, липид-липидные, липид-белковые взаимоотношения, а следовательно, нарушает ее структуру и функцию, вызывает дисбаланс метаболизма.

Интенсификация ПОЛ как неспецифическая ответная реакция клетки на любое экстремальное воздействие лежит в основе целого ряда патологических состояний. Поэтому антиоксиданты, природные и синтетические, все шире используются в комплексной терапии целого ряда заболеваний (диабет, ожоговая болезнь, ИБС, атеросклероз, инфаркт миокарда, язвенная болезнь и т. д.), т. к. коррекция с их помощью процессов свободнорадикального окисления в мембранах способствует восстановлению гомеостаза и благоприятному исходу заболевания.

Фенозан К—синтетический антиоксидант из ряда пространственно экранированных фенолов, обладает широким спектром биологического действия. В настоящее время проводятся исследования по всестороннему изучению механизма его действия на метаболизм с целью использования в медицине и сельском хозяйстве [5].

Как ингибитор свободнорадикальных реакций фенозан К стабилизирует лизосомальные мембраны при ожоговой травме и ускоряет заживление ран, защищает организм от гипероксии, повышает выносливость к физическим нагрузкам, оказывает антистрессовый эффект при хроническом эмоционально-болевым стрессе [2, 8, 9].

Для коррекции интенсифицированного ПОЛ при различных экстремальных состояниях фенозан К используется в дозах 40—100 мг/кг. Од-

нако в литературе имеются указания о том, что нередко в данной концентрации антиоксидант оказывает диаметрально противоположный эффект в зависимости от исходного метаболического фона [9]. Поэтому мы поставили цель выяснить, проявляет ли антиоксидантное действие в условиях активации ПОЛ более низкая доза фенозана К—5 мг/кг массы. В качестве модели интенсификации ПОЛ был использован острый иммобилизационный стресс.

### Материал и методы

Опыты проводили на белых крысах-самцах массой 100—150 г. Животные были разделены на три группы: I—интактные крысы, II—острый стресс (иммобилизация животных фиксацией головы и конечностей в течение 30 минут), III—острый стресс+фенозан К (за 24 часа до иммобилизации крысам вводили внутривенно солюбилизованный в твине-80 фенозан К в дозе 5 мг/кг массы). Каждая группа включала 18 животных. Кровь для исследования стабилизировали оксалатом, эритроцитарные мембраны выделяли по методу Limber [18]. Содержание фоновых липидных перекисей определяли по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой и выражали наномолях малонового диальдегида (МДА) на 1 мл плазмы или 1 мг белка гомогената [17]. Активность индуцированного ПОЛ в системах аскорбат-(АЗП) и НАДФН-зависимого (НЗП) перекисления выражали в наномолях МДА на 1 мг белка [4].

Уровень конъюгированных диенов определяли по методу Плацера, выражали в мкмольях на 1 мл крови и 1 г ткани (по [4]). Содержание витамина Е определяли флуорометрическим методом по Duggan, выражая в мкг на мг белка или в мг на 100 мл плазмы [15]. Белок в пробах определяли по Lowry [19].

Неэстерифицированные жирные кислоты (НЭЖК) в плазме крови определяли колориметрическим микрометодом, выражали в мкмольях на 1 л плазмы [12]. Содержание общего холестерина определяли по методу Златкиса-Зака (по [13]), выражали в мг на 100 мл плазмы и мкг на 1 мг белка эритроцитарных мембран.

Фосфолипиды мембран определяли в суммарном липидном экстракте, полученном по Folch [16] с последующим фракционированием методом одномерной восходящей хроматографии на бумаге по методу Marinetti и Stotz [20] в модификации А. А. Смирнова и сотр. [14] и К. Г. Карагезяна [7].

Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по ингибированию генерации супероксидных анионов в модели фенозинметасульфат—НАДФН—нитротетразолий синий. Пересчет единиц активности производили на мг белка [21]. Активность глутатионпероксидазы (GSH-P) и глутатионредуктазы (GSH-P) определяли по методу, описанному нами ранее [10].

Активность GSH-P выражали в мкмольях восстановленного глутатиона, окисленного за 1 мин на 1 мг белка, GSH-P—в мкмольях НАДФН, окисленного за 1 мин на 1 мг белка.

Суммарную пероксидазную активность (СПА) плазмы определяли спектрофотометрически при 600 мМ, выражали в единицах оптической плотности на 1 мл плазмы [11]. Активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ф-д) выражали в наномолях НАДФН на 1 мл плазмы в минуту [6].

### Результаты и обсуждение

Острый иммобилизационный стресс характеризуется существенным активированием симпатoadренальной и адренортикаральной систем. Высокий уровень катехоламинов служит пусковым моментом активирования ПОЛ.

Как показали наши исследования, при остром стрессе происходит интенсификация ПОЛ в системах как ферментативного, так и неферментативного переокисления в эритроцитарных мембранах и печеночной ткани в пределах от 23 до 40 процентов (табл. 2, 3). Уровень продуктов липидной пероксидации (промежуточных—конъюгированных диенов и конечных—МДА)—величина переменная, зависящая от интенсивности двух взаимоисключающих одновременно протекающих процессов—их образования и элиминирования. Поэтому количественные сдвиги продуктов ПОЛ и интенсивность индуцированного переокисления не всегда однозначны. Так, уровень конъюгированных диенов снижается в печени и крови на 40—49% (табл. 1, 2).

Таблица 1

Динамика ПОЛ в крови белых крыс

Показатели	Контроль	Острый стресс	% от 2	Острый стресс + фенотазан К	%	
					от 1	от 2
Диеновые конъюгаты	22,45±2,1	11,42±1,43*	-49	20,16±0,69**	-10	+76,5
Фоновые липоперекиси	6,68±0,2	5,35±0,17*	-22	3,7±0,34**	-43	-30
Холестерин	26,98±0,74	38±1,68*	+40	33,25±0,56**	+23	-12
Н Э Ж К	584,68±16,9	716,12±40,8*	+22,5	552,4±13,8**	-4	-23
СПА	10,59±1,09	41,16±3,03*	+289	17,49±2,02**	+65	-57
Г-6-Ф-Д	3,4±0,07	18±1,34*	+429	0		
Витамин Е	3,58±0,059	2,8±0,11*	-22	3,2±0,056**	-10	+14
С О Д	33,75±0,97	36,47±1,18	+8	41,21±2,5*	+22	

Примечание. х—достоверно относительно контроля, хх—достоверно относительно острого стресса.

Это, на наш взгляд, объясняется существенным активированием в условиях острого стресса (в 2 раза) глутатионпероксидазы, фермента, детоксицирующего гидроперекиси, предшественники конъюгированных диенов (табл. 2). Содержание конечного продукта пероксидации МДА, определяющего фоновый уровень липидных перекисей в тканях, снижено в плазме крови на 22% и, наоборот, повышено в печени на 90% (табл. 1 и 2).

Одновременно с активированием ПОЛ при стрессе включаются адаптационные механизмы регуляции гомеостаза. Происходит перераспре-

деление биоантиоксиданта токоферола между кровью и тканями—он накапливается в эритроцитарной мембране и печени, снижаясь в плазме крови (табл. 1—3).

Таблица 2

Динамика ПОЛ в печени белых крыс

Показатели	Контроль	Острый стресс	% 1 от 2	Острый стресс + фенозан К	%	
					3 от 1	3 от 2
А З П	2,24±0,09	2,76±0,16*	+23	2,07±0,19**	-8	-25
Н З П	2,006±0,07	2,8±0,1*	+40	0,44±0,04**	-78	-84
Фоновые липопер.	0,17±0,009	0,32±0,04*	+90	0,064±0,006**	-63	-80
Дневные конъюг.	27,5±1,1	16,44±2,2*	-40	21,9±0,8**	-20	+33
Витамин Е	0,55±0,01	0,857±0,04*	+55	0,545±0,01**	-1	-36
СОД	25,99±0,7	30,96±1,84*	+19	32,57±0,45*	+25	+5
GSH-П	0,199±0,005	0,29±0,015*	+100	0,157±0,008**	-21	-60
GSH-Р	0,029±0,001	0,027±0,001	-7	0,02±0,001**	-31	-25

Активируются антиоксидантные ферменты СОД и GSH-П (табл. 1 и 2). Повышенный фон перекисеобразования вносит свои нежелательные коррективы в структурную и функциональную активность эритроцитарной мембраны, отражающиеся, в первую очередь, на картине мембранной проницаемости. В них резко возрастает содержание лизофосфатидилхолина (ЛФХ), который в комплексе с НЭЖК оказывает мембранотоксический и мембранолитический эффект (табл. 1 и 3). Повышение количества ЛФХ свидетельствует об активировании при остром стрессе реакции деградации мембранных фосфолипидов. Однако одновременно включаются компенсаторные механизмы, активирующие биосинтез липидов, т. к. их суммарное содержание возрастает на 164% (табл. 3).

Таблица 3

Динамика ПОЛ и фосфолипидный состав в эритроцитарных мембранах белых крыс

Показатели	Контроль	Острый стресс	% 2 от 1	Острый стресс + фенозан К	%	
					3 от 1	3 от 2
Л Ф Х	187,3±0,9	421,6±7,3*	+125	67,7±0,6**	-32	-84
С Ф	143,2±6,7	576,7±2*	+303	166,2±0,8**	+16	-71
Ф Х	336,3±6,7	927±3,2*	+175	307,4±2,6**	-9	-67
СФ/ФХ	0,42	0,62	+47	0,54	+28	-13
Н Ф Л	666,8±9,9	1925±12,4*	+188	541,3±1,5**	-19	-72
К Ф Л	300,4±8,3	633,1±6,4*	+110	223,8±0,6**	-25	-65
НФЛ/КФЛ	2,2	3	+36	2,4	+9	-20
С Ф Л	967,23±7,2	2558±8,2*	+164	765,14±2,3**	-21	-70
Холестерин	50,65±1,33	55,32±0,19*	+9,2	32,26±1,7**	-36	-42
Х/СФЛ	0,05	0,02	-60	0,042	-16	+110
А З П	1,97±0,06	2,47±0,1*	+25	1,51±0,02**	-23	-20
Н З П	2,44±0,064	3,38±0,08*	+38,5	0,9±0,03**	-67	-76
Витамин Е	2,98±0,08	3,58±0,15*	+20	2,79±0,037**	-6,4	-22

Изменяется соотношение нейтральных (НФЛ) и кислых (КФЛ) фосфолипидов в сторону преобладания первых. Аналогичные данные о накоплении в мембране в процессе ПОЛ трудноокисляемых липидов и снижении легкоокисляемых ненасыщенных получены Е. Б. Бурлаковой [1].

Исходя из гетерогенности и асимметричности расположения фосфолипидов в мембране эритроцитов для ее ригидности существенное значение имеет соотношение сфингомиелин/фосфатидилхолин (СФ/ФХ). Оно увеличивается при остром стрессе на 47—0,62% против 0,42% в контроле (табл. 3).

В стабилизации структурно-функциональной полноценности биомембраны немаловажную роль играет холестерин. Даже незначительное отклонение от нормы соотношения холестерин /фосфолипид вызывает существенные сдвиги микровязкости липидной фазы с сопутствующими изменениями активности мембраносвязанных, липидзависимых ферментов. При остром стрессе, несмотря на увеличение содержания холестерина в эритроцитарных мембранах на 9%, отношение холестерин/ фосфолипид падает на 60% за счет существенного роста суммарных фосфолипидов (СФЛ). Выявленные сдвиги в количественном и качественном составе липидов эритроцитарных мембран при стрессе вызывают повышение их проницаемости, что проявляется существенным ростом ферментемии—ростом в плазме крови СПА и активности Г-6-ф-д соответственно на 288 и 429% (табл. 1).

Фенозан К в дозе 5 мг/кг, предварительно введенный перед стрессовым воздействием, оказывает антирадикальное действие, значительно снижая интенсивность индуцированного АЗП и НЗП, уровень диеновых конъюгатов и МДА (табл. 1—3).

Содержание токоферола в плазме крови, эритроцитарных мембранах и печени корригируется, приближаясь к исходным величинам. Одновременно фенозан К оказывает антиоксидантный эффект, опосредованно повышая активность СОД на 22—25%. Система глутатионпероксидаза—глутатионредуктаза в тех же условиях заторможена (табл. 2).

Фенозан К вызывает также понижение уровня холестерина и НЭЖК в крови. Аналогичный результат был отмечен другими авторами под влиянием фенозана калия или натрия в дозе 10—25 мг/кг массы в условиях экспериментальной гиперхолестеринемии и гиперлипидемии [3].

Как видно из табл. 3, профилактическое введение фенозана К модифицирует липидный состав эритроцитарных мембран, что изменяет их физико-химические параметры и проницаемость. В результате стабилизации мембран в плазме крови резко снижается активность ферментов, являющихся своеобразными маркерами—СПА и Г-6-ф-д (табл. 1). Стабилизация мембраны, несомненно, связана с понижением уровня ЛФХ, а также с коррекцией липид/липидных отношений: СФ/ФХ, НФЛ/КФЛ, Х/СФЛ (табл. 3).

Полученные нами результаты могут быть учтены в качестве рекомендации возможного использования фенозана К в дозе 5 мг/кг для

Է. Մ. ՄԻՔԱԵԼԻԱՆ

ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԳԵՐՕՔՍԻԳԱՑՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄԸ  
ՖԵՆՈՉԱՆ-Կ-ՈՎ՝ ՍՈՒՐ ՍՏՐԵՍԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ապացուցվել է, որ ֆենոլան-Կ-ն սուր ստրեսից 24 ժամ առաջ ներարկելիս (5 մգ/կգ ըաշին) զգալիորեն ճնշում է լիպիդների գերօքսիդացման պրոցեսը, ակտիվացնում է սուպերօքսիդիզմոտազը, կարգավորում է հյուսվածքներում  $\alpha$ -տոկոֆերոլի մակարդակը, վերափոխում է էրիթրոցիտային թաղանթների լիպիդային կազմը, իջեցնում է լիզոֆոսֆատիդիլսոլինի պարունակությունը, կարգավորում է լիպիդ լիպիդային, խոլեսթերին/ֆոսֆոլիպիդային հարաբերությունը, վերացնում է էնդամէթիան:

E. M. MIKAELIAN

THE CORRECTION OF THE LIPIDS PEROXIDE OXIDATION  
BY PHENOSAN—K AT ACUTE STRESS

It has been established that phenosan—K inhibits significantly the intensity of the lipids peroxide oxidation process. The results obtained testify to the possibility of the application of phenosan—K in clinical conditions in case of pathologic states accompanied by the lipid peroxide oxidation intensification.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бурлакова Е. Б. Кардиол., 1980, 8, с. 42.
2. Бурлакова Е. Б., Заец Т. Л., Дубинская Н. И., Молочкина Е. М., Архипова Г. В. Пат. физиология и эксперим. терапия, 1984, 5, с. 13.
3. Василенко Ю. К., Лисевичкая Л. И. и др. Тезисы II Всесоюз. конф. «Биоантиоксидант». М., 1986, 1, с. 65.
4. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
5. Домбровский В. С. Тезисы II Всесоюз. конф. «Биоантиоксидант». М., 1986, 1, с. 60.
6. Захарьин Ю. Л. Лаб. дело, 1976, 6, с. 327.
7. Карагезян К. Г. Лаб. дело, 1969, 1, с. 23.
8. Кричевская А. А., Лукаш А. И., Внукон В. В., Кузнецова И. Н. Тезисы Всесоюз. совещания «Биоантиоксидант». М., 1983, с. 148.
9. Левшина И. П., Обидин А. Б., Курочкина Е. В., Гуляева Н. В. Тезисы II Всесоюз. конф. «Биоантиоксидант». М., 1986, 1, с. 103.
10. Микаелян Э. М., Мелконян М. М., Мелик-Агаева Е. А., Мхитарян В. Г. Ж. экспер. и клин. мед. АН АрмССР, 1979, XIX, 5, с. 11.
11. Покровский А. А. Биохимические методы исследования в клинике. М., 1969.
12. Прохорова М. Ю., Тиунов М. П., Шакалис Д. А. Лаб. дело, 1977, 9, с. 535.
13. Сентябова Г. А. Лаб. дело, 1977, 6, с. 375.
14. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. Биохимия, 1961, 26, 6, с. 1023.

15. Duggan D. D. Arch. Biochem. Biophys., 1954, 84, 1, 116.
16. Folch J. J. Biol. Chem., 1949, 177, 2, 497.
17. Isodloka J., Kawada K., Shimada T., Mori M. Amer. J. Obstet. and Gynecol., 1979, 3, 372.
18. Limber G. R., Davie R. F., Baker A. M. S. Blood, 1970, 36, 2, III.
19. Lowry O. H., Rosebrough, Faur A. L. et al. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
20. Marinetti G. V., Stotz E. Biochem. et Biophys. Acta, 1956, 21, 168.
21. Morimitsu Nishikami N., Appaj Rao, Kunio Yagi Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 46, 3, 849.

УДК 616.5—089.844 : 617—001.17

Г. А. ИЗМАЙЛОВ, С. М. ГОРБУНОВ

### АУТОАЛЛОДЕРМОПЛАСТИКА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТЕРМИЧЕСКОГО ОЖОГА

На основании экспериментальных исследований установлена возможность применения аутоаллодермопластики с использованием поперечно срезанных кожных аутомикротрансплантатов. Клиническое и гистологическое изучение иссеченных тканей показало, что к концу месяца после пластики кожный дефект полностью закрывается непрерывным регенератом, близким по своему строению к нормальной коже.

В основе активной комплексной терапии больных с обширными глубокими ожогами кожи лежит замещение кожного дефекта собственной кожей больного. Однако серьезным недостатком всех существующих методов аутоаллодермопластики считается резкое возрастание степени выпадения функции кожи, так как для закрытия кожного дефекта необходим забор трансплантата, что неизбежно приводит к образованию дополнительной раны, а следовательно, и к ухудшению общего состояния больного [3, 5, 9].

Наибольшие трудности в проведении кожно-пластических операций возникают у лиц с ожоговым истощением, с резко выраженной паренхиматозной дистрофией внутренних органов, с тяжелыми сопутствующими заболеваниями и осложненным течением раневой болезни, а также с острым дефицитом донорских участков. Так, для одномоментного закрытия кожного дефекта общей площадью более 5% поверхности тела срезание расщепленного лоскута у тяжелого больного значительно усугубляет его состояние [1, 4, 8]. Операционный риск возрастает по мере увеличения площади раневой поверхности. Поэтому у людей с малыми абсолютными ресурсами донорских мест с целью снижения операционного риска применяют комбинированную аутоаллодермопластику [2, 6, 7, 12, 14, 16]. Использование аллокожи (АК) в 23—49% случаев [10, 11] позволяет добиваться излечения больных с ожогами 3-й Б степени площадью поражения более 90% [15].

Цель настоящего исследования—показать возможность практического осуществления нового способа оптимальной утилизации аутогенной кожи у животных с глубокими термическими ожогами.