

Веремейчик Анжелика Петровна

ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРОТЕРАПИИ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ ДЕРМАТОЗЕ

Модель экспериментального аллергического контактного дерматоза (АКД) воспроизводилась на 105 морских свинок, разделенных на 7 групп. Для лечения АКД использовали низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ), витамин Е и сочетанное действие НИЛИ и витамина Е. Для оценки эффективности проводимой терапии исследовали активность ферментов антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в гемолизатах эритроцитов морских свинок. Наиболее благоприятным для лечения АКД оказалось совместное действие НИЛИ и витамина Е, при котором активность СОД и каталазы приближалась к показателям контрольных групп. Ключевые слова: экспериментальный аллергический контактный дерматоз (АКД), низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ), витамин Е, ферменты антиоксидантной системы, супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, гемолизаты эритроцитов морских свинок.

A.P.Veremeichik

Effects of Laser Therapy on the Activity of Antioxidant Enzymes in Experimental Allergic Contact Dermatitis. Belarusian State Medical University, Biology Chair.

The model of an experimental allergic contact dermatosis (ACD) was replicated on 105 Guinea pigs divided into 7 groups. For treatment ACD used low power laser irradiance (LPLI), vitamin E and combined action LPLI and vitamin E. For an estimation of efficiency of spent therapy investigated the activity enzymes of antioxidant system: a superoxide dismutase (SOD) and catalase in hemolysates of erythrocytes of the Guinea pigs. Most favorable for treatment ACD there was a joint action LPLI and vitamin E, approaching the activity of SOD and catalase to the contents in control group. Key words: an experimental allergic contact dermatosis (ACD), low power laser irradiance (LPLI), vitamin E, enzymes of antioxidant system, superoxide dismutase (SOD), catalase, hemolysates of erythrocytes of the Guinea pigs.

Среди аллергических заболеваний кожи самыми распространенными являются аллергические дерматозы. На долю атопического дерматита приходится примерно 50-60% всех аллергических заболеваний [1]. Исходя из этого, лечение аллергических дерматозов в настоящее время остается актуальной проблемой дерматологии.

Одним из патогенетических звеньев аллергических дерматозов является усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Первичные свободные радикалы вызывают окисление ненасыщенных жирных кислот в клеточных мембранах, в результате образуются гидроперекиси, которые в дальнейшем распадаются на вторичные и конечные продукты ПОЛ: диеновые конъюгаты жирных кислот (ДК ЖК), малоновый диальдегид (МДА), Шиффовы основания. Продукты ПОЛ повреждают иммунокомпетентные клетки, снижают

неспецифическую резистентность организма [3]. Кроме того, усиление ПОЛ сопровождается повышенным образованием простаноидов, лейкотриенов, приводящих, в конечном счете, к изменениям сосудистой реактивности, нарушению проницаемости сосудов, повышению агрегационной способности тромбоцитов, что определяет развитие аллергических дерматозов [4].

Повреждение мембранных структур клетки при процессах ПОЛ предотвращается системой антиперекисной защиты (АПЗ), состоящей из двух подсистем – неферментативной и ферментативной. Неферментативная подсистема образована антиоксидантами - ловушками свободных радикалов. Эти вещества, отдавая свой атом водорода, превращают свободные радикалы в стабильные молекулы и предупреждают цепное развитие реакций перекисного окисления. К числу природных антиоксидантов относят токоферолы (витамин E), витамин A, убихиноны (коэнзим Q) и т.д. [2]. Ферментативная подсистема включает несколько ферментов супероксиддисмутазу, каталазу, глутатионпероксидазу, глутатионредуктазу, глутатион-s-трансферазу и церулоплазмин. Все они катализируют реакции, в результате которых токсичные свободные радикалы и перекиси превращаются в безвредные соединения. Одним из главных компонентов ферментативного звена системы АПЗ клеток является супероксиддисмутаза (СОД), содержащая в своем активном центре медь, цинк или марганец. СОД катализирует реакцию дисмутации - взаимодействия двух супероксидных радикалов друг с другом, превращая токсичный супероксиданионный радикал кислорода в менее токсичную перекись водорода [11]. Поскольку увеличение в клетке концентрации H_2O_2 , образовавшейся в результате супероксиддисмутазной и ряда других реакций, представляет для клетки не меньшую опасность, чем увеличение супероксид-анионов, необходима ее постоянная инактивация в реакции, катализируемой каталазой. Особенностью фермента является то, что он обладает как каталазной, так и пероксидазной активностью. Это можно представить в виде уравнений, в которых RH_2 - условное обозначение субстрата, R – радикала.

$2 H_2O_2 = 2 H_2O + O_2$ (каталазная реакция):

$H_2O_2 + RH_2 = 2 H_2O + R$ (пероксидазная реакция).

Каталазная активность преобладает при высоких концентрациях H_2O_2 , пероксидазное действие регистрируется при низких уровнях в клетке H_2O_2 .

В первой реакции каталаза весьма специфична по отношению к субстратам. Она расщепляет преимущественно перекись водорода. В то же время пероксидазное действие каталазы обеспечивает окисление разнообразных соединений (спиртов, фенилендиаминов, фенолов и др.). Каталаза, как и СОД, относится к числу очень активных ферментов. Она фактически не требует никакой энергии активации, и скорость ее определяется диффузией H_2O_2 . Одна молекула фермента способна разложить 44000 молекул H_2O_2 в минуту [10].

В настоящее время для лечения различных по этиологии и патогенезу дерматозов, кроме традиционных методов используется низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ). НИЛИ является таким физическим фактором, который не имеет аналогов в лечебной практике. Это излучение обладает высокой когерентностью, монохроматичностью, большой энергетической плотностью, строгой направленностью и возможностью фокусировки.

Биологическое действие НИЛИ обеспечивает антиаллергический, иммуномодулирующий, противовоспалительный, обезболивающий и регенеративный эффекты [9]. Клиническое использование лазеротерапии так же связано с ее достаточно высокой ролью в борьбе с гипоксическими состояниями. НИЛИ повышает устойчивость мембран к продуктам ПОЛ главным образом за счет активации каталазы и супероксиддисмутазы [6], потому что спектры поглощения этих ферментов совпадают со спектром лазерного излучения. В результате поглощения энергии СОД и каталаза переходят в активное состояние и запускают регулируемые ими биохимические процессы, что особенно важно при процессах ПОЛ.

В доступной нам литературе отсутствуют сведения о влиянии НИЛИ на активность антиокислительных ферментов при аллергических дерматозах.

Цель исследования - изучение активности СОД и каталазы при экспериментальном аллергическом дерматозе на фоне лазеротерапии, что позволит оценить возможность коррекции процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма с помощью лазерного излучения и обосновать целесообразность применения НИЛИ при аллергических дерматозах в клинической практике.

Материалы и методы

Экспериментальный аллергический контактный дерматоз (АКД) широко используется как модель для изучения различных звеньев течения аллергического процесса. Воспроизведение модели экспериментального аллергического АКД осуществлялось на морских свинках по методике Залкан П.М. [5]. Сенсibilизацию проводили 2,4-динитрохлорбензолом (ДНХБ). 3 капли 5% раствора ДНХБ однократно в виде аппликации наносили на очаг сенсibilизации (поверхность спины) с дополнительным нанесением на 7 других участков кожи по 1 капле 1% раствора. В развитии сенсibilизации у морских свинок по клинической и морфологической картине кожи различали 2 этапа: 1) первично-контактную реакцию в виде ограниченного отека и гиперемии; 2) спонтанную воспалительную реакцию или реакцию воспламенения с тотальным некрозом эпидермиса и образованием обширных субэпидермальных пузырей (на 8 сутки).

105 морских свинок массой 400-500 г. разделили на 7 групп (по 15 животных). I группа – интактные животные. II группа – интактные животные, у которых облучали участок кожи на поверхности спины гелий-неоновым лазером (АФЛ-1, длина волны 633 нм) по 10 мин. ежедневно в течение 10 суток при плотности мощности 10 мВт/см². III группа – интактные животные, которым вводили перорально через зонд масляный раствор витамина Е в дозе 0,1 мг/г массы тела. IV группа – животные с экспериментальным АКД. V группа – животные с экспериментальным АКД, у которых участок сенсibilизации облучали гелий-неоновым лазером, начиная с 8-х суток опыта в течение 10 суток. VI группа – животные с экспериментальным АКД, которым, начиная с 8-ых суток вводили масляный раствор витамина Е в дозе 0,1 мг/г массы тела в течение 10 суток. VII группа – животные с экспериментальным АКД, у которых участок сенсibilизации облучали гелий-неоновым лазером, начиная с 8-х суток опыта в течение 10 суток и вводили масляный раствор витамина Е в дозе 0,1 мг/г массы тела в течение 10 суток.

Исследование ферментов антиоксидантной системы (СОД и каталазы) проводилось в гемолизатах эритроцитов на 21-е сутки эксперимента. Для определения активности каталазы использовали метод М.Королюк [7], основанный на спектрофотометрической регистрации количества окрашенного продукта реакции H_2O_2 с молибденово-кислым аммонием, имеющего максимальное светопоглощение при длине волны 410 нм. Активность фермента выражали в мкмоль мин/мг. Нв. Для определения активности СОД использовали спектрофотометрический метод Костюка В.А. [8], основанный на определении степени торможения реакции кверцетина. Активность фермента выражали в ед/мг.Нв. Цифровые результаты обработаны статистически по параметрическому критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Активность СОД и каталазы в гемолизатах эритроцитов морских свинок при различных вариантах лечения экспериментального аллергического дерматоза

Группы животных	СОД (ед/мг.Нв)	P	Каталаза (мкмоль мин/мг.Нв)	P
Интактные животные	8,23 ± 0,41	—	20,15 ± 1,17	—
Интактные + лазер	8,24 ± 0,5	0,985	20,53 ± 0,76	0,794
Интактные +Vit. E	8,04 ± 0,41	0,733	20,03 ± 1,16	0,941
АКД	6,70 ± 0,42	< 0,05	14,28 ± 1,06	< 0,01
АКД + лазер	8,04 ± 0,52	0,78	19,80 ± 0,70	0,802
АКД +Vit. E	6,80 ± 0,38	< 0,05	16,02 ± 1,31	< 0,05
АКД + лазер +Vit. E	8,41 ± 0,44	0,784	20,93 ± 1,35	0,677

В результате проведенных исследований установлено, что во II-ой и III-ей контрольных группах животных активность антиоксидантных ферментов практически не изменилась по сравнению с группой интактных животных. При экспериментальном аллергическом дерматозе отмечался дефицит резервов антиоксидантной активности, что выразилось в достоверном снижении активности СОД ($P < 0,05$) и каталазы ($P < 0,01$) в гемолизатах эритроцитов. При этом активность СОД снизилась примерно на 25%, а каталазы – на 30%. Дисбаланс антиоксидантной системы способствовал сохранению активности аллергического воспаления. Снижение активности ферментов, вероятно, было связано с интенсификацией процессов ПОЛ.

Введение витамина E, одного из главных факторов неферментативной подсистемы АПЗ, не привело к нормализации активности СОД ($P < 0,01$) и каталазы ($P < 0,05$). Действие же гелий-неонового лазера способствовало, по

нашему мнению, активации ферментов и поэтому их содержание приблизилось к показателям контрольной группы интактных животных. НИЛИ фотоактивизировало СОД и каталазу, которые запускают каскад реакций, обеспечивающих множественность клеточных и системных эффектов, в том числе противовоспалительный и иммуномодулирующий. Наиболее благоприятным вариантом оказалось сочетанное действие лазеротерапии и витамина Е и активность СОД и каталазы даже несколько превысил их содержание в контрольной группе интактных животных.

Таким образом, комбинация витаминной терапии с инфракрасным лазерным излучением восстанавливает статус антиоксидантной защиты и тем самым ослабляет гиперактивацию оксидантных процессов. Сравнительный анализ показателей СОД и каталазы позволит рассматривать определение активности антиоксидантной системы как информативный показатель, характеризующий эффективность лазеротерапии при экспериментальном аллергическом дерматозе.

Выводы

1. Экспериментальный аллергический дерматоз повышает ПОЛ и приводит к снижению активности СОД и каталазы.
2. Действие НИЛИ при АКД повышает активность СОД и каталазы и нормализует их уровень в эритроцитах.
3. Сочетанное действие НИЛИ и витамина Е является наилучшим вариантом лечения из изученных нами, так как активировать антиперекисную защиту организма.

Литература

1. Балаболкин И. И., Ефимова А. А., Авдеенко Н. В. и соавт. Влияние экологических факторов на распространенность и течение аллергических болезней у детей. // Иммунология. – 1991. - №4. - С. 34 - 37.
2. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты. // Успехи химии. – 1985. – Т. 52. - № 9. – С. 1540-1558.
3. Владимиров Ю.А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран // Биофизика. - 1987. - Т. 32, вып. 5. - С. 830-844.
4. Гончаренко М.С. Сидорова Ю.В., Сидоренко С.В. Простаноиды и лейкотриены как факторы, приводящие к изменению сосудов. // Дерматология: Респ. Сборник. – Киев. – 1983. – Вып. 18. - С. 36 – 40.
5. Залкан П.М., Иевлева Е.А. Экспериментальная модель аллергического дерматита. // В кн. Актуальные вопросы профессиональной дерматологии. М., - 1965. – 106 с.
6. Зырянцова Т.Н., Лаврова В.М., Канапацкая И.А., Пикулев А.Т. Влияние низкоэнергетического лазерного излучения на интенсивность перекисного окисления липидов. // Вестник дерматологии и венерологии. – 1990. - № 2. – С. 31 – 32.
7. Королюк М.А, Иванова Л.И, Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. // Лаб. дело. - 1988. - № 1. - С. 16-19.

8. Костюк В. А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. //Вопросы химии. – 1990. Т. 36. - № 2. – С. 88 – 91.
9. Ляндрес И.Г. Механизмы биостимуляции низкоинтенсивного лазерного излучения. Минск, 1998. – 185 с.
10. Higashi T., Takei H., Sando T. Cytosol catalase: comparison with peroxisomal catalase // Cell. Struct. Funct. - 1983. - V. 8, № 4. - P. 480.
11. Marklund S. Distribution of Cu- Zn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in human tissue and extracellular fluids // Acta Physiol. Scand. - 1980. - V. 110, Suppl. 492. - P. 19-22.