

## ИЗМЕНЕНИЯ АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

И.А.ВОЛЧЕГОРСКИЙ, Е.И.ЛЬВОВСКАЯ\*, М.И.ГЛУЗМИН\*,  
О.Л.КОЛЕСНИКОВ\*\*, Л.Ф.ТЕЛЕШЕВА\*\*, Р.У.ГИНИАТУЛЛИН\*\*\*

Челябинская государственная медицинская академия (\* — кафедра биохимии, \*\* — кафедра микробиологии, \*\*\* — кафедра судебной медицины, 454092, г.Челябинск, ул.Воровского, 64. факс: (512)34-0-36.

Локальный воспалительный процесс сопровождается приростом антиокислительной активности (АОА) сыворотки крови. Этот феномен продемонстрирован в условиях экспериментального воспаления, вызванного термическим ожогом кожи крыс, а также у мужчин, страдающих хроническим простатитом в фазе обострения. Увеличение АОА крови при воспалительной патологии направлено на ограничение деструктивных процессов в очаге воспаления. Адаптивный характер накопления антиоксидантов в крови проиллюстрирован отдельными экспериментами, в которых показана противовоспалительная и антигипоксическая активность центрального антиоксиданта плазмы крови — церулоплазмينا.

**Ключевые слова:** антиокислительная активность, воспаление, церулоплазмин.

**Введение.** Любое повреждение тканей вызывает стереотипный комплекс местных процессов, направленных на ограничение тканевой деструкции, изоляцию и уничтожение инфекционного начала, отторжение некроза и инициирование репарации. Эта неспецифическая локальная реакция называется воспалением и сопровождается комплексом системных сдвигов, известных как острофазовый ответ (ОФО) [1].

Одной из характерных черт ФО является усиление печеночного синтеза церулоплазмينا [1], который в наибольшей степени определяет антиокислительную активность (АОА) плазмы крови [2]. Последний факт позволяет предположить, что воспаление является фактором, усиливающим антиокислительный потенциал крови. Представленная работа посвящена проверке высказанного предположения при разнородной воспалительной патологии, а также изучению возможных адаптивных эффектов, связанных с увеличением уровня важнейшего антиоксиданта крови — церулоплазмينا.

**Методика.** Экспериментальное моделирование воспалительного процесса проводилось на беспородных крысах массой тела 180-250 грамм (для контроля использовались интактные животные). В качестве флогогенного воздействия применялся термический ожог кожи III-IV степени, площадью 8-10% поверхности тела. Животных наркотизировали диэтиловым эфиром, после чего наносили термическую травму на предварительно депилированную поверхность спины при помощи кварцево-галогеновой лампы. Глубину ожога контролировали гистологически. Наряду с АОА, в динамике послеожогового периода (1,3,7,14 и 21-е сутки) изучали объем печеночной паренхимы (гистологически) [3] и площадь первичного очага воспаления (ожоговой раны). Размеры кожной раны определяли при помощи полиэтиленового шаблона, разбитого на квадраты со стороной 5 мм. Площадь раны выражали в % от общей поверхности тела, которую рассчитывали по формуле А.А.Тимофиевского ( $S = 10 \cdot (0,8762 + 0,698 \times 10^{-4} P^2)$ ), где S — площадь поверхности тела в см<sup>2</sup>, а P — масса тела в граммах).

Клиническая часть работы представляла собой обследование мужчин, проходивших амбулаторное лечение по поводу хронического простатита (ХП). В качестве контроля обследовались здоровые курсанты одного из военных училищ г. Челябинска.

АОА сыворотки крови людей и лабораторных животных определяли по степени угнетения липопероксидации в стандартизованных пробах гомогената крысиного мозга, инкубируемых при 37°C на воздухе [4]. АОА выражали в процентах уменьшения выхода продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой [4]. При выполнении клинической части работы дополнительно изучалась АОА цельного секрета предстательной железы, в котором также определяли общее содержание лейкоцитов.

В отдельной серии экспериментов изучалось возможное адаптивное значение прироста АОА плазмы крови при воспалении. С этой целью intactным мышам C57Bl/6 вводили 30 мг/кг основного антиоксиданта крови — церулоплазмина и через 60 минут моделировали острый асептический перитонит путем внутрибрюшинной инъекции 3 мл 1,2% раствора казеина. Контрольным мышам вместо церулоплазмина вводили внутривенно эквивалентное количество 0,9% NaCl. Выраженность экспериментального воспаления оценивали через 6 часов после введения казеина по общему содержанию и составу лейкоцитов перитонеального экссудата, а также по уровню “спонтанной” продукции свободнорадикальных форм кислорода нейтрофилами экссудата. Последний показатель регистрировали цитохимически и выражали в виде процентной доли клеток, способных к трансформации нитросинего тетразолия в диформаза [5].

Для оценки неспецифического адаптогенного действия церулоплазмина исследовалось его влияние на устойчивость к гипоксии. Через 1 час после внутривенного введения антиоксидантного белка (30 мг/кг) мышей подвергали острому гипоксическому воздействию (помещали под воду) и оценивали латентность их гибели по критерию прекращения спонтанных движений [6]. Как и в предыдущей серии экспериментов контрольным мышам вместо церулоплазмина вводили 0,9% NaCl.

Результаты обработаны статистически. О достоверности различий судили по критерию Стьюдента ( $t$ ) и Вилкоксона-Манна-Уитни ( $U$ ). В качестве статистических показателей связи между изучаемыми параметрами рассчитывались коэффициенты ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ) и Кэндела ( $r_k$ ).

**Результаты и обсуждение.** Показатели АОА в контрольных подгруппах intactных крыс варьировали в весьма широком диапазоне табл. 1. По-видимому, это отражает лабильность исследуемого показателя и его чувствительность к биоритмологическим изменениям состояния здоровых животных. Термический ожог кожи вызывал фазные изменения АОА, которые можно проследить по значениям данного параметра, выраженным в процентах от соответствующего контроля. Как видно (табл. 1, рис.), через 24 часа после термической травмы АОА сыворотки крови увеличилась более чем вдвое. В дальнейшем этот показатель снижался вплоть до 7 суток после ожога, когда его величина была на 43,4% меньше контрольного уровня. Затем АОА начинала вновь нарастать и к 21-ому дню послеожогового периода превышала значение контроля на 133,5%. Важно заметить, что динамические изменения АОА сыворотки крови обожженных крыс прямо соответствуют сдвигам плотности паренхиматозных клеток в препаратах печени этой группы животных (табл. 1). Отмеченное сходство

---

\*В работе использован препарат церулоплазмина из крови человека, произведенный в НПО “Иммунопрепарат” (г. Уфа).

хорошо соотносится с общеизвестными представлениями о печени как эффекторном органе ОФО, существенным моментом которого является цитокин-зависимая интенсификация печеночного синтеза острофазовых белков, и в том числе главного антиоксиданта крови — церулоплазмينا [1,2,7].

Таблица

Послеожоговая динамика АОА сыворотки крови и объемной плотности гепатоцитов в печени крыс

сутки после ожога/ показатели	1	3	7	14	21
АОА (%)	14,1±1,5 30,7±4,3	39,3±3,1 42,0±1,4	41,8±8,8 23,6±3,3	23,0±3,5 17,6±2,4	24,5±2,8 57,1±9,4
% от контроля	217,9**	106,9	56,6*	76,4	233,5**
объемная плотность гепатоцитов	96,0±0,5 89,4±0,5	95,2±0,6 83,6±0,5	96,0±0,7 75,0±0,7	94,8±0,6 76,2±0,6	95,0±0,7 78,8±0,4
% от контроля	93,1***	87,8***	78,1***	80,4***	83,0***

- 1.) Данные представлены в виде дроби (в числителе — значения контроля, в знаменателе — опыта).
- 2.) Каждая контрольная и опытная подгруппа состояла из 5 крыс.
- 3.) Звездочками обозначена достоверность различий с контролем — \* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$ ; \*\*\* —  $P < 0,001$ .

Отдельного обсуждения заслуживает разнонаправленность динамики размеров кожной раны и АОА сыворотки крови у обожженных крыс (рис ). Как видно, снижение АОА сопровождается расширением ожоговой раны в течении первой недели после ожога, а нарастание АОА с 7 по 21 сутки после термической травмы сопряжено с уменьшением раневой поверхности. При этом корреляционный анализ выявил наличие статистически значимой отрицательной корреляции между динамическими изменениями АОА и площади ожоговой раны ( $r_k = -0,8$ ;  $P < 0,05$ ). Подобную взаимосвязь фазных сдвигов АОА и размеров первичного очага воспаления можно объяснить известной синхронностью флогистических процессов в ожоговой ране и печени [8]. При этом установлено, что в условиях применения нами модели термической травмы максимальная выраженность вторичного некроза в кожной ране и “пик” дегенеративно-дистрофических процессов в печени развиваются одновременно — к концу первой недели после ожога [8]. По-видимому, потеря функциональной паренхимы печени в этот период ведет к снижению количества церулоплазмин-синтезирующих гепатоцитов, что является причиной падения АОА сыворотки крови. Вполне возможно, что уменьшение АОА крови, в свою очередь, является одной из причин развития вторичного некроза в ожоговой ране. Это предположение базируется на сведениях об участии свободнорадикальных интермедиатов кислорода в патогенезе эксудативно-деструктивных процессов при воспалении [9,10]. Отсюда, прирост АОА сыворотки крови при ожоговом воспалении целесообразно рассматривать как компенсаторно-приспособительный феномен, направленный на ограничение тканевой деструкции в кожной ране. Очевидно, что неперенным условием такого адаптивного ответа является сохранность паренхимы печени и ее достаточная способность к синтезу церулоплазмينا.



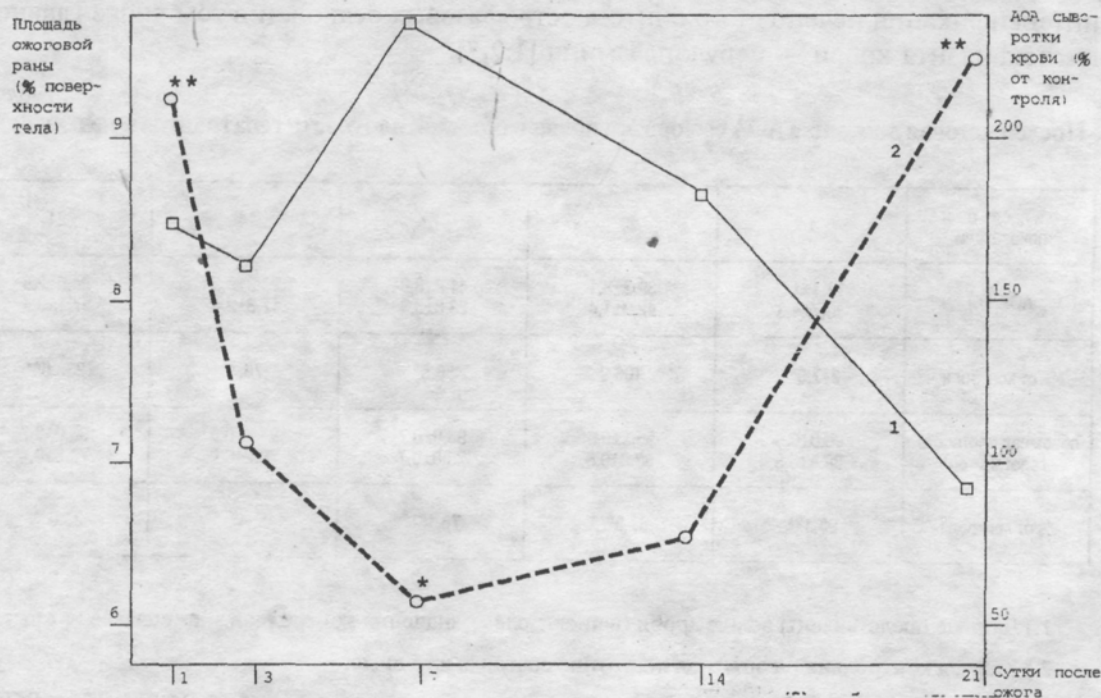


Рис. Динамика размеров кожной раны (1) и АОА сыворотки крови (2) у обожженных крыс.

Примечание: звездочками обозначены достоверные отличия от контроля (\* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$ ).

Справедливость вышеприведенных рассуждений наглядно иллюстрируется способностью экзогенного церулоплазмينا уменьшать выраженность казеинового перитонита (табл 2). Как видно, предварительное внутривенное введение этого антиоксидантного белка уменьшало количество лейкоцитов перитонеального экссудата и перераспределяло их состав в сторону уменьшения доли мононуклеаров и увеличения нейтрофилов. При этом нейтрофилы, являющиеся главными эффекторами экссудативно-деструктивного воспаления [9,10], в значительной мере утрачивают способность к секреции диформаза-положительных радикалов кислорода. Последний факт представляется особенно важным, поскольку свободнорадикальные формы кислорода известны как медиаторы тканевой альтерации в очаге воспаления [7,10].

По-видимому, адаптогенные эффекты церулоплазмينا не исчерпываются его противоспалительным действием. Об этом свидетельствует позитивное влияние данного белкового антиоксиданта на устойчивость к гипоксии. Так, латентность гибели мышей, подвергнутых асфиксии утопления на фоне введения 30 мг/кг церулоплазмينا, в 1,57 раза превышала аналогичный показатель в группе контрольных животных (соответственно:  $41,87 \pm 5,73$  секунды,  $n=11$ , против  $26,60 \pm 4,18$  секунд,  $n=10$ ,  $P < 0,05$ ). Последний факт заслуживает особенного внимания, т.к. устойчивость к гипоксии является неспецифической основой резистентности организма к разнородным неблагоприятным воздействиям [11]. Вполне возможно, что умеренно выраженное локальное воспаление способно увеличивать неспецифическую устойчивость к стрессогенным факторам благодаря интенсификации печеночного синтеза церулоплазмينا и сопутствующему приросту АОА крови.

Таблица 2

**Влияние внутривенной инъекции церулоплазмина (ЦП) на выраженность казеинового перитонита**

показатели/группы	количество лейкоцитов ( $\times 10^6$ ) в 1 мл перитонеального смыва	% нейтрофилов	% мононуклеарных фагоцитов	% диформазан-положительных нейтрофилов
асептический перитонит (контроль) (n=11)	64,11 $\pm$ 2,17	68,4 $\pm$ 1,3	32,5 $\pm$ 1,3	50,64 $\pm$ 0,98
асептический перитонит на фоне введения ЦП (n=11)	30,12 $\pm$ 9,71 p<0,01	90,2 $\pm$ 1,2 p<0,001	9,8 $\pm$ 1,2 p<0,001	30,30 $\pm$ 1,16 p<0,001

Примечание: Церулоплазмин вводили внутривенно в дозе 30 мг/кг за 60 минут до индукции перитонита.

Увеличение антиокислительного потенциала крови при воспалении позволяет рассматривать АОА крови как один из маркеров острофазовой реакции. Это положение подтвердилось в клиническом разделе нашего исследования. Так, у больных с обострением ХП уровень АОА сыворотки крови составил 43,67  $\pm$  2,83% (n=36), что достоверно превышает значение АОА у здоровых доноров (33,52  $\pm$  2,64% n=20, P<0,01). Важно заметить, что одновременно с увеличением АОА сыворотки крови при ХП отмечается более чем двухкратное снижение АОА секрета предстательной железы. В группе здоровых доноров последний показатель составил 81,62  $\pm$  3,37% (n=16), а у больных простатитом — 40,28  $\pm$  5,86% (n=333, P<0,001). При этом в объединенной группе больных и здоровых мужчин отмечалась статистически достоверная связь между содержанием лейкоцитов в секрете предстательной железы и величиной АОА простатического секрета ( $r_s = -0,28$ ; P<0,05). По-видимому, данная корреляция отражает местное потребление антиоксидантов, которые расходуются на нейтрализацию свободнорадикальных продуктов секреции лейкоцитов. Вероятно, выявленное нами увеличение АОА сыворотки крови у больных ХП, также как при экспериментальных ожогах, направлено на компенсацию усиленного потребления антиоксидантов и ограничение деструктивных процессов в очаге воспаления.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Baumann H., Gauldie J.//Immunology Today.-1994.-Vol.15.N2.-p.74-80
2. Stocks J., Gutteridge J.M.C., Sharp R.J., Dormandy T.L.//Clin.Sci. and Molec.Med.-1974.-Vol.47.-p.223-233.
3. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии.-М.:Медицина, 1973.-258 с.
4. Волчегорский И.А., Глузман М.И., Скобелева Н.А., Лифшиц Р.И. — Рукопись деп. во ВИНТИ N4733-B91.-М.1991.
5. Долгушин И.И., Зурочка А.В., Эберт Л.Я. и др. Изучение кооперации нейтрофилов с клетками иммунной системы в норме и патологии. Челябинск, 1992. 20 с.
6. Кулинский В.И., Ольховский И.А., Ковалевский А.Н.//Бюлл.экспер.биол,мед.-1986.-N6.-669-671.
7. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). -М.:Медицина, 1989.-368 с.
8. Волчегорский И.А. Неспецифическая регуляция адаптивных процессов при термических ожогах и некоторых других экстремальных состояниях: Автореф.дисс. - Челябинск, 1993. -34 с.

9. *Маянский Д.Н.* Хроническое воспаление. -М.:Медицина, 1991. -272 с.
10. *Till G.O.Hatherill J.R., Tourtellotte W.W. et al.*//Am.J.Pathol.-1985.-Vol.119.-N3.-p.376-384.
11. *Меерсон Ф.З.* Адаптация, стресс и профилактика. -М.:Медицина, 1981. -278 с.

# CHANGES OF BLOOD SERA ANTIOXIDATIVE ACTIVITY IN INFLAMMATORY PATHOLOGY

*I.A.Volchegorsky\*<sup>1</sup>, E.I.Lvovskaya\*, M.I.Gluzmin\*, O.L.Kolesnikov\*\*, L.F.Telesheva\*\*,  
R.U.Giniattulin\*\*\**

Chelyabinsk State Medical Academy (\* — Department of Biochemistry, \*\* — Department of Microbiology, \*\*\* — Department of forensic medicine,  
454092 Chelyabinsk, ul.Vorovsky, 64; fax: (3512)34-03-36.

Local inflammatory process is associated with enhancement of blood sera antioxidative activity (BSAA). The latter phenomenon was demonstrated in rats exposed to burn injury and in man with chronic prostatitis (HP). BSAA increment seems to be intended for limiting of necrosogenic process in inflammatory focus. Adaptive character of BSAA increase is illustrated by results of separate experimental series which prooved antiinflammatory and antihypoxic activity of central blood plasma antioxidant — caeruloplasmin.

**Key words:** antioxidative activity, inflammation, caeruloplasmin.