

УДК 577.15.158:616.5.001.17

©Коллектив авторов

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ КОЖИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖОГАХ

Е.В. Михальчик¹, С.М. Титкова², М.В. Ануров², Л.Ю. Пеньков², Л.Г. Коркина¹

¹Отдел молекулярной биологии Российского государственного медицинского университета, 117997, Москва, ул.Островитянова, д.1; факс: (495)4348740; тел.: (495)4348219; эл. почта: lemik@zmail.ru

²Отдел физиологии Российского государственного медицинского университета, 117997 Москва, ул. Островитянова, д.1.

Исследована динамика изменения активности миелопероксидазы (МПО) и антиоксидантных ферментов (каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатион-S-трансферазы (ГСТ)) в полнослойной коже и эпидермисе неповрежденных участков (2 см от зоны ожога) и в зоне повреждения при экспериментальных ожогах у крыс (20% поверхности тела). Обнаружен быстрый рост активности МПО на первые сутки после ожога и отсроченный (после 4-х суток) рост активности ГСТ и ГПО. По увеличению активности МПО и антиоксидантных ферментов выявлен провоспалительный эффект операционных вмешательств (двукратное удаление ожогового струпа) и бактериального липополисахарида (введенного интраперитонеально).

Ключевые слова: кожа, эпидермис, ожоги, миелопероксидаза, антиоксидантные ферменты.

ВВЕДЕНИЕ. Воспалительная реакция, вызываемая тяжелыми ожогами, характеризуется ростом радикал-продуцирующей активности нейтрофилов периферической крови [1] и их миграцией в зону ожога [2]. Активные формы кислорода (АФК; супероксидный радикал, пероксид водорода, гидроксильный радикал, синглетный кислород, гипохлорит) и азота (оксид азота, пероксинитрит) необходимы для удаления бактерий и продуктов термического распада биомолекул в области повреждения. При этом возрастает угроза окислительного повреждения клеток и тканей организма. Данные экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о том, что нейтрофилы и образуемые ими АФК непосредственно участвуют в формировании ожоговой раны [3] и в развитии посттравматического некроза [4], а также в повреждении кожных лоскутов при трансплантации [5].

В норме продукция АФК в коже, как и в других тканях, находится под контролем антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и др.) и низкомолекулярных антиоксидантов (альфа-токоферол, глутатион, аскорбат и др.) [6].

Клетки кожи (фибробласты и кератиноциты) способны адаптироваться к повышенному уровню образования АФК в ране и на ее краях, для того чтобы иметь возможность активно пролиферировать и дифференцироваться. Описана экспрессия мРНК супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы в ткани и в коже на краях эксцизионной раны у мышей [7]. Роль индукторов антиоксидантных ферментов играют сами АФК [8]; однако увеличение их концентрации способно приводить к обратному эффекту и прямой инактивации ферментов [9].

При ожогах показано ослабление антиоксидантной защитной системы кожи в зоне повреждения, в первую очередь, снижение активности глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и содержания альфа-токоферола [10].

Однако сведения об изменении активности антиоксидантных ферментов в коже вне зоны ожога в литературе отсутствуют. Между тем, у пациентов с ожогами в необожженной коже был зарегистрирован повышенный уровень образования интерлейкина-8, являющегося хемоттактантом нейтрофилов [11], а у овец через 48 часов после ожога отмечался рост содержания нитратов/нитритов в коже, удаленной на 2 см от зоны повреждения [4].

При тяжелых ожогах (свыше 60% общей поверхности тела) большинство донорских участков кожи для аутодермопластики находятся вблизи от зоны повреждения и состояние их защитной антиоксидантной системы может являться важным фактором, влияющим на приживание трансплантата.

В литературе есть данные о том, что состояние прилегающих к ожоговой ране участков кожи активно влияет на ранозаживление [12].

Поэтому изучение динамики и степени изменения про- и антиоксидантных систем кожи вне зоны ожога необходимо для понимания адаптационных механизмов организма и для разработки эффективной антиоксидантной терапии (местной и системной) при тяжелых ожогах.

В настоящей работе мы поставили целью оценить динамику изменения в коже и в ране при ожоговой травме у крыс активности миелопероксидазы (маркерного фермента азурофильных гранул нейтрофилов) и антиоксидантных ферментов, а также характер влияния хирургической травмы и эндотоксемии при ожогах на изучаемые показатели.

МЕТОДИКА.

Животные. Эксперименты выполнены на крысах-самцах породы Вистар весом 300-400 г. Животных содержали на стандартном рационе вивария. После начала эксперимента животных размещали в индивидуальных клетках. Количество животных составляло не менее 6 в каждой экспериментальной группе. Контактный ожог IIIA, Б степени на площади 20% создавали под общей анестезией, как описано ранее [1]. На 4 сутки формировался струп, который в ряде экспериментов удаляли методом тангенциального очищения (первичная некрэктомия). На рану накладывали вазелиновую сеточку Lomatuell. На 8 сутки делали повторную некрэктомию и вновь накладывали сеточку.

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 1,4,8,12 сутки. Площадь раны оценивали методом планиметрии после удаления струпа. На 1,4,12-е сутки забирали биоптат полнослойной кожи в 20 мм от зоны ожога. Биоптат ткани раны забирали на 4, 8, 12 сутки при выведении животных из опыта. На 1 сутки после ожога забирали пробы эпидермиса (в 20 мм от зоны ожога).

Моделирование ожоговой травмы, осложненной эндотоксемией, осуществляли по той же схеме; на 4-е сутки животным опытной группы внутривенно вводили раствор липополисахарида в дозе 1 мг/кг. В эксперименте забирали пробы эпидермиса на 4 сутки (контрольная группа) и 5 сутки (опытная группа) после ожога из зоны в 20 мм от зоны ожога.

Все манипуляции проводили в асептических условиях.

Моделирование ожога ex vivo. Изолированные полнослойные кожные лоскуты помещали на подложку и создавали ожог с помощью аппликации

латунного цилиндра, наполненного водой (85°C) на 10 сек, что соответствовало условиями моделирования ожога *in vivo*. Затем кожные лоскуты замораживали и отделяли эпидермис соскабливанием. Контролем служил эпидермис необработанных кожных лоскутов, полученный тем же способом.

Реактивы. В работе с животными применяли повязки Lomatuell (Германия), липополисахарид *E. coli* O111:B4 ("Sigma", США). Для биохимических анализов использовали бычий сывороточный альбумин (BSA), тритон X-100, *o*-дианизидин, Na-соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA), 1-хлоро-2,4-динитробензол (CDNB), восстановленный глутатион (GSH), азид натрия, *трет*-бутилгидроперекись (t-BHP), дитио-*бис*-(2-нитро)-бензойную кислоту (DTNB), эpineфрин фирмы "Sigma"; остальные реактивы были отечественного производства, квалификации ч.д.а.

Биохимические методы. Образцы кожи, эпидермиса, ткани раны гомогенизировали на холоду (10°C) в 0,1 М К-фосфатном буфере (pH 7,4) в гомогенизаторе Поттера, добавляя буфер в 10-кратном избытке по отношению к весу образца. Пробы тщательно перетирали в течение 5-8 минут, после чего центрифугировали на холоду при 800 g (30 мин). Прозрачный супернатант использовали для анализов.

Результаты выражали в пересчете на белок, определяемый по методу Лоури [13] (в качестве стандарта использовали BSA).

Активность ферментов определяли спектрофотометрическими методами.

Активность миелопероксидазы (МПО) измеряли при 560 нм в реакции с *o*-дианизидином (с остановкой реакции *o*-фосфорной кислотой) [14]. Результат рассчитывали с помощью коэффициента экстинкции для окисленного *o*-дианизидина $20040 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Активность глутатионпероксидазы (ГПО) оценивали по способности катализировать реакцию восстановленного глутатиона с t-BHP (измеряли содержание восстановленного глутатиона в пробах до и после инкубации с t-BHP с помощью цветной реакции с DTNB) [15].

Активность глутатион-S-трансферазы (ГСТ) оценивали по скорости катализируемого ферментом образования продукта конъюгации восстановленного глутатиона с CDNB, имеющего максимум поглощения при 340 нм [16]. Измерение активности каталазы проводили по снижению поглощения перекиси водорода при 240 нм [17]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в пробах измеряли по степени ингибирования аутоокисления эpineфрина в карбонатном буфере (pH 10,3) [18]. Содержание ТБК-активных продуктов оценивали в системе с ортофосфорной кислотой [19].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica (версия 6.0) по критерию Стьюдента. Данные представляли как среднее \pm стандартное отклонение. Достоверной считали разницу между вариантами при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ. На первом этапе работы мы оценивали активность МПО и антиоксидантных ферментов (ГПО и ГСТ) в ткани раны и в биоптатах полнослойной кожи с целью выявить динамику их изменения. Оценку показателей проводили в эксперименте с двукратным удалением струпа и без удаления струпа вплоть до 12 суток.

Динамика ранозаживления. Формирование раны как таковой происходило на 3-4 сутки после ожога, когда кожа на обожженном участке постепенно сменялась струпом. Площадь раны оценивали после хирургического удаления струпа (некрэктомии) на 4 сутки (первичный струп) и 8 сутки (вторичный струп), а также при выведении животных из эксперимента на 12 сутки. Площадь раны, образующейся после удаления первичного струпа, соответствовала площади ожога.

В отдельном эксперименте некрэктомии не проводили и оценивали площадь раны только на 12 сутки.

Данные, отражающие динамику ранозаживления, представлены на рисунке 1.



Рисунок 1.

Динамика изменения площади ожоговой раны (светлый столбик - эксперимент без операций (некрэктомий)).

Мы не обнаружили достоверных различий по площади раны на 12 сутки после ожога в экспериментах с некрэктомией ($2092,6 \pm 196,3 \text{ мм}^2$) и без некрэктомии ($1717,8 \pm 449,5 \text{ мм}^2$).

Миелопероксидаза. На 4 сутки после ожога уровень активности МПО в ткани раны был достоверно выше, чем в нормальной коже (рис. 2).

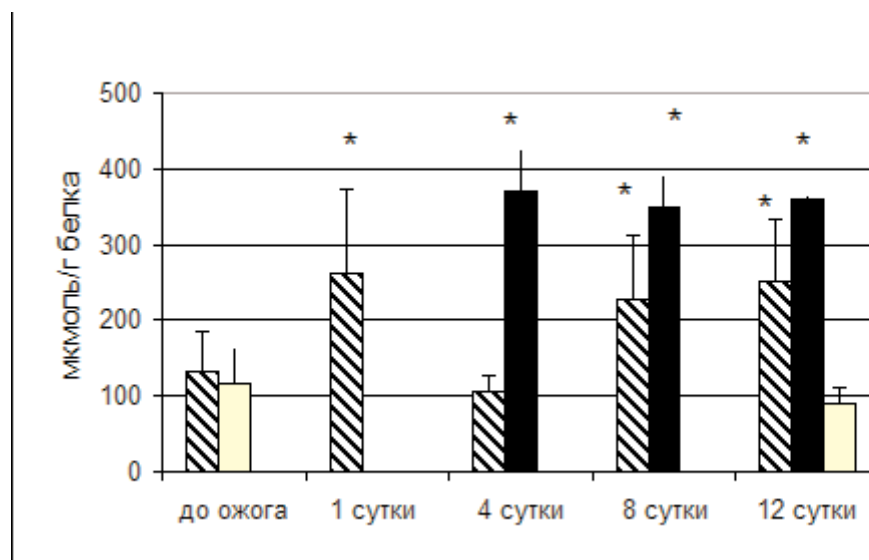


Рисунок 2.

Активность миелопероксидазы в образцах полнослойной кожи и ткани раны после ожога (заштрихованные столбики - в экспериментах с операциями, светлые - в экспериментах без операций, тёмные - ткань раны) (* - $p < 0,05$ относительно нормы).

Анализ первичных струпов, сформировавшихся на месте ожога к 4 суткам, обнаружил прямую корреляцию между уровнем активности МПО и содержанием ТБК-активных продуктов, образующихся в реакциях липидной пероксидации (рис. 3).

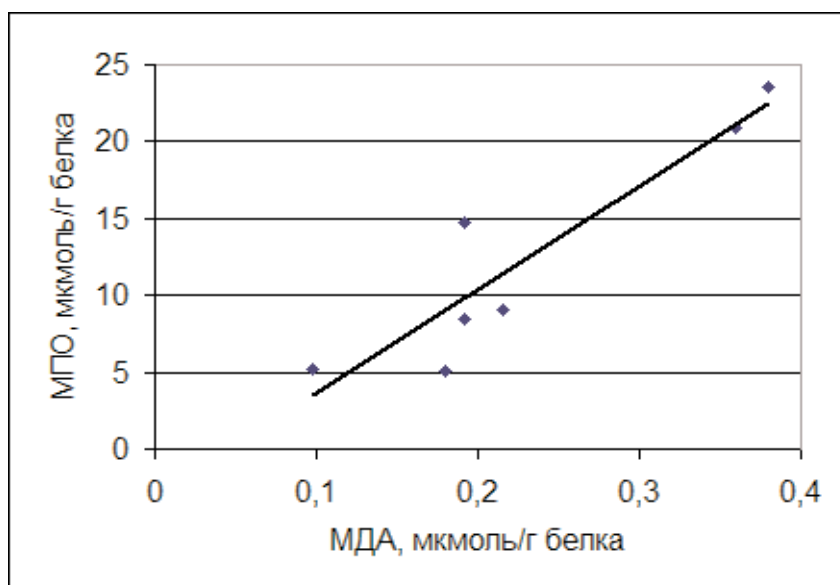


Рисунок 3.

Связь между активностью МПО и содержанием МДА в ожоговых струпах (4 сутки) ($r=0,9$).

Даже на 12 сутки активность МПО в ткани раны превышала нормальные для кожи значения.

В неповрежденной коже в 20 мм от зоны ожога обнаружили рост активности МПО уже на 1 сутки после травмы, а к четвертым суткам показатель снижался до нормальных значений. На 12 сутки активность МПО в коже была повышена только в экспериментах с удалением струпа (рис. 2).

Активность антиоксидантных ферментов. Анализ ткани раны показал, что на 4 сутки активность ГПО была снижена относительно нормы для кожи, но затем постепенно возрастала и на 12 сутки достоверно превышала нормальные для кожи значения (рис. 4).

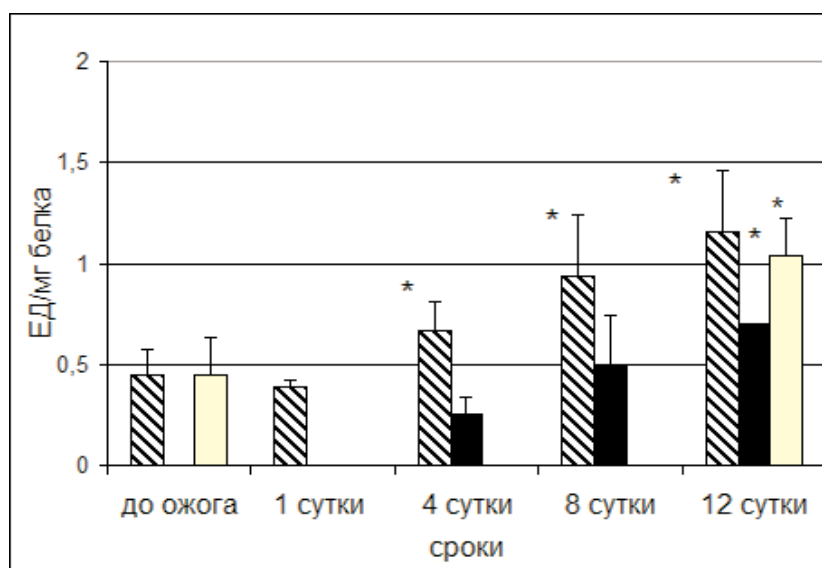


Рисунок 4.

Активность глутатионпероксидазы в коже и ткани раны после ожога (заштрихованные столбики - в экспериментах с операциями, светлые - в экспериментах без операций, тёмные - ткань раны) (* - $p<0,05$ относительно нормы).

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ПРИ ОЖОГАХ

В то же время, в неповрежденной коже активность ГПО уже на 4 сутки была достоверно выше нормы и продолжала увеличиваться к 12 суткам. На 12 сутки активность ГПО в коже не зависела от того, проводились ли операции (некрэктомии) и была выше, чем активность, измеренная в ране.

Изменение активности ГСТ в ране характеризовалось постепенным снижением к 8 суткам и возвращением к норме на 12 сутки (рис. 5). В коже наблюдалось повышение активности ГСТ на 8 сутки после ожога и дальнейший рост к 12 суткам в эксперименте с некрэктомиями. В том случае, если эксперимент проводили без удаления струпа, активность ГСТ в коже на 12 сутки не отличалась от нормы.

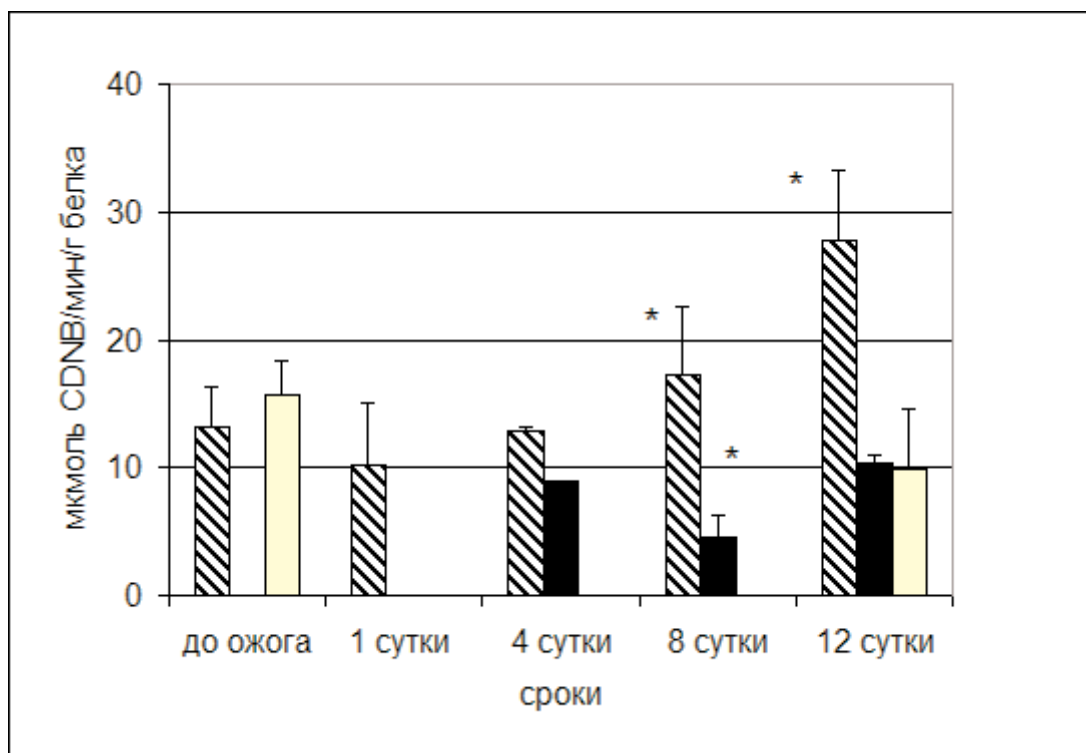


Рисунок 5.

Активность глутатион-S-трансферазы в коже и ткани раны после ожога (заштрихованные столбики - в экспериментах с операциями, светлые - в экспериментах без операций, тёмные - ткань раны) (* - $p < 0,05$ относительно нормы).

Таким образом, воспалительная реакция в ткани раны характеризовалась стойким повышением активности МПО и постепенным ростом активности ГПО. В близлежащей коже характер изменения активности МПО, ГПО и ГСТ зависел от проведения кратных операций по удалению струпа; в эксперименте с некрэктомиями наблюдался рост этих показателей вплоть до 12 суток.

На втором этапе работы более детально были изучены изменения в эпидермисе после травмы. Предварительно провели оценку изменения активности ферментов в эпидермисе кожного лоскута, подвергнувшегося термическому воздействию *ex vivo*.

Как видно из приведенных в таблице 1 данных, термическое воздействие вызывало снижение активности каталазы и ГПО, но не СОД.

Таблица 1. Изменение активности миелопероксидазы и антиоксидантных ферментов в эпидермисе кожного лоскута при ожоге *ex vivo*.

Показатель	Эпидермис	
	До ожога	После ожога
МПО, Ед/мг белка	30,1 ± 3,9	56,9 ± 17,1*
СОД, Ед/мг белка	5,2 ± 0,5	6,7 ± 1,0
Каталаза, Ед/мг белка	19,7 ± 10,4	6,5 ± 3,6*
ГПО, Ед/мг белка	0,21 ± 0,06	0,12 ± 0,02*

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно значений до ожога.

Далее мы провели оценку изменения активности ферментов в обожженной зоне и вне зоны ожога на 1 сутки, а также на 4 и 5 сутки у животных контрольной и опытной группы соответственно.

Обнаружили, что на 1 сутки после ожога происходило резкое увеличение активности МПО в эпидермисе в зоне ожога на фоне достоверного снижения активности антиоксидантных ферментов - СОД и каталазы, но не глутатион-пероксидазы (табл. 2)

Таблица 2. Изменение активности миелопероксидазы и антиоксидантных ферментов в эпидермисе зоны ожога у животных через 24 часа после ожога.

Показатель	Группы животных	
	контрольная	опытная
МПО, Ед/мг белка	42,0 ± 11,7	420,5 ± 54,1*
СОД, Ед/мг белка	2,7 ± 0,6	0,6 ± 0,1*
Каталаза, Ед/мг белка	14,1 ± 2,2	1,7 ± 0,9*
ГПО, Ед/мг белка	0,18 ± 0,05	0,14 ± 0,04

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно контрольной группы.

Одновременно были зафиксированы изменения активности ферментов и в эпидермисе кожи вне зоны ожога (табл. 3). Так, был выявлен рост активности МПО и снижение активности СОД и каталазы на 1 сутки при отсутствии достоверных изменений ГПО.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ПРИ ОЖОГАХ

Таблица 3. Изменение активности ферментов в эпидермисе вне зоны повреждения при ожоговой травме.

Показатель	Норма (до ожога)	Время с момента ожога		
		1 сутки	4 сутки	5 сутки (24 часа после введения ЛПС)
МПО, Ед/г белка	36,9 ± 20,8	64,4 ± 25,6*	52,1 ± 13,1*	103,9 ± 34,9*,**
ГПО, Ед/мг белка	0,22 ± 0,13	0,27 ± 0,05	0,34 ± 0,11*	0,69 ± 0,17*,**
ГСТ, мкмоль CDNB/ мин/г белка	18,4 ± 4,6	n.d.	24,3 ± 5,7	31,5 ± 7,8*
Каталаза, Ед/мг белка	19,4 ± 4,1	10,1 ± 2,3*	19,7 ± 6,1**	19,3 ± 2,9
СОД, Ед/мг белка	4,3 ± 1,6	1,4 ± 0,6*	4,5 ± 2,5**	6,9 ± 1,5*

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно нормы; ** - $p < 0,05$ относительно предыдущей точки.

На 4 сутки сохранялась повышенная активность МПО, наблюдался достоверный подъем активности ГП и восстановление активности каталазы и супероксид дисмутаза до уровня нормы.

Интраперитонеальное введение животным ЛПС на фоне ожога приводило к значительному увеличению всех измеряемых параметров за исключением каталазы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Ожоговая травма создавала очаг воспаления, характеризующийся миграцией в зону повреждения нейтрофилов уже на 1 сутки после ожога. Инфильтрация тканей нейтрофилами регистрировалась как подъем активности МПО в эпидермисе в зоне повреждения. Этот результат хорошо согласуется с данными гистологических исследований у пациентов с ожогами [20] и биохимических анализов у крыс [2].

Образование собственно раны в результате ожога происходило к 4-м суткам, когда на месте ожога формировался струп. Участие нейтрофилов в деструкции поврежденной кожи подтверждалось корреляцией между уровнем перекисного окисления липидов и активности МПО в первичном струпе. Ранее связь между ростом этих показателей в коже была описана при ишемии [5].

По данным Baskaran с соавт. [2], высокий уровень активности МПО в очаге сохраняется вплоть до 7 суток с момента ожога; по нашим данным, при двукратном удалении струпа этот срок составляет как минимум 12 суток.

Повышенная инфильтрация неповрежденной полнослойной кожи (на 1 сутки) и эпидермиса неповрежденной кожи (вплоть до 4 суток) может быть следствием системного воспаления, вызванного ожогом. На функциональную активность и миграцию нейтрофилов влияют и медиаторы, выделяемые фибробластами и кератиноцитами под действием травмы, в первую очередь, интерлейкин-8 [11].

Системный характер регуляции миграции нейтрофилов наблюдался в эксперименте с интраперитонеальным введением ЛПС, который усиливает адгезию нейтрофилов к эндотелию сосудов [21].

К сожалению, в настоящее время нет надежных методов, позволяющих оценить образование радикалов в коже. Поэтому рост активности антиоксидантных ферментов можно рассматривать как косвенное подтверждение усиления реакций радикалообразования. В то же время, сопоставление данных о миграции нейтрофилов в кожу и характере изменения активности антиоксидантных ферментов позволяет судить об адаптационных возможностях ткани.

Данные по оценке активности ферментов в зоне ожога через 24 часа подтверждают ранее описанное снижение активности ГПО и СОД [10]. Кроме того, мы обнаружили и снижение активности каталазы; при этом активность МПО в очаге возрастала в 10 раз относительно нормы. Возможно, что резкое местное повышение уровня продукции АФК (за счет притока нейтрофилов) вызывает прямое окислительное повреждение ферментов в обожженной коже. Еще одной причиной может быть их термическая инактивация при ожоге. В отдельном эксперименте мы моделировали ожог кожи *ex vivo* и обнаружили, что активность МПО возрастала в два раза, активность СОД не менялась, а активность основных ферментов, утилизирующих пероксиды (каталазы и ГПО) резко снижалась. Мы полагаем, что рост активности МПО в этом случае связан с инактивацией каталазы, поскольку МПО и каталаза имеют общий субстрат - пероксид водорода.

Анализ активности ГПО и ГСТ в ткани раны выявил различную динамику для этих ферментов: постепенный рост у ГПО и временное снижение - у ГСТ. Возможно, снижение экспрессии и /или активности ГСТ происходило под действием пероксида водорода, что описывалось для случаев тяжелого воспаления [22].

Сравнение воспалительной реакции в ткани раны и в коже вне зоны ожога выявило не только общие закономерности, но и существенные различия.

Мы обнаружили, что на первые сутки после ожога и в полнослойной коже, и в эпидермисе рост активности МПО не сопровождался активацией других ферментов; напротив, активность СОД и каталазы в эпидермисе была ниже нормы, что напоминало характер реакции в зоне ожога. Однако на 4 сутки в полнослойной коже и в эпидермисе активность ГПО достоверно возрастала, и наблюдалась тенденция к подъему ГСТ. В эксперименте с некрэктомиями был обнаружен рост активности обоих ферментов в коже вплоть до 12 суток. Обращает на себя внимание разница в уровне активности МПО и ГСТ между экспериментами с некрэктомиями и без них: в последнем случае оба показателя на 12 сутки были на уровне нормы. В то же время, площадь ран достоверно не различалась и активность ГП в коже в обоих экспериментах была на одном уровне. Возможно, активация ГПО прямо связана с незавершенностью процесса ранозаживления на 12 сутки.

Действительно, показана связь между индукцией синтеза фактора роста кератиноцитов и ГПО на генном уровне [17], что может быть обусловлено отрицательным влиянием пероксида водорода на рост клеток эпидермиса [23]. В то же время, активация ГСТ, по-видимому, связана с образованием продуктов повреждения биомолекул в коже [22] и таким образом напрямую зависит от степени инфильтрации кожи нейтрофилами.

Эндотоксемия вызывает снижение активности каталазы и рост уровня липидной пероксидации в легких и печени экспериментальных животных, причем на 3 сутки после ожога у овец прооксидантные эффекты в печени усиливались при введении ЛПС [24]. В нашем эксперименте наблюдалось усиление миграции нейтрофилов в эпидермис через 24 часа после интраперитонеального введения животным ЛПС. Характер изменения активности антиоксидантных ферментов в эпидермисе при эндотоксемии подтверждает выявленные при ожогах закономерности: рост активности антиоксидантных ферментов за исключением каталазы.

Полученные в нашей работе результаты показывают, что воспалительные изменения, связанные с миграцией нейтрофилов, затрагивают не только зону

ожога, но и близлежащие области кожи. На первые сутки после ожога и при ожоге кожного лоскута *ex vivo* зафиксировано резкое снижение активности каталазы и СОД в зоне ожога, причем *in vivo* эти изменения затрагивали и неповрежденный эпидермис вблизи очага. На 4 сутки и позже адаптационные реакции в коже характеризовались ростом активности антиоксидантных ферментов - ГПО и ГСТ. Хирургическая травма, сопряженная с удалением ожогового струпа, и эндотоксемия усиливали выход нейтрофилов в неповрежденную зону кожи и вызывали дополнительный рост активности антиоксидантных ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Михальчик Е.В., Иванова А.В., Ануров М.В., Туткова С.М., Пеньков Л.Ю., Хараева З.Ф., Коркина Л.Г. (2004) Бюлл. exper. биол. мед., **137**, 638-640.
2. Baskaran H., Yarmush M.L., Berthiaume F. (2000) J.Surg Res., **93**, 88-96.
3. Porto da Rocha R., Lucio D.P., de Lima Souza T., Pereira S.T., Fernandes G.J.M. (2002) Aesth. Plast.Surg., **26**, 197-202.
4. Oliveira G.V., Shimoda K., Enkhbaatar P., Jodoin J., Burke A.S., Chinkes D.L., Hawkins H.K., Herndon D.N., Traber L., Traber D., Murakami K. (2004) Shock, **22**, 278-282.
5. Goldstein R.K., Augustin A., Milz J., Burg G., Lutz J. (1992) in Oxygen Transport to Tissue XIII (Goldstick et al ed.), Plenum Press, N.Y., pp.253-258.
6. Thiele J.J., Schroeter C., Hsieh S.N., Podda M., Packer L. (2001) in Oxidants and Antioxidants in Cutaneous Biology. Curr. Probl. Dermatol. (Thiele J., Elsner P. eds), Basel, Karger, vol.29, pp 26-42.
7. Steiling H., Munz B., Werner S., Brauchle M. (1999) Exp.Cell Res., **247**, 484-494.
8. Hanselmann C., Mauch C., Werner S. (2001) Biochem. J., **353**, 459-466.
9. Kono Y., Fridovich I. (1982) J. Biol. Chem., **257**, 5751-5754.
10. Naziroglu M., Kokcam I., Yilmaz S. (2003) Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol., **16**, 36-45.
11. Garner W.L., Rodriguez J.L., Miller C.G., Till G.O., Rees R.S., Smith D.J., Remick D.G. (1994) Surgery, **116**, 42-48.
12. Troshev K., Kozarev I., Markov D. (1990) Acta Chir. Plast., **32**, 152-163.
13. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951) J. Biol. Chem., **193**, 265-275.
14. Andrews P.C., Krinsky N.I. (1985) in CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research (Greenwaid R., ed.), Boca Raton, Florida, pp. 297-302.
15. Карпищенко А.И. (ред.) (1999) Медицинские лабораторные технологии. Санкт-Петербург, Интермедика, т.2, с.22-23.
16. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. (1974) J. Biol. Chem., **249**, 7130-7139.
17. Aebi H. (1984) in Methods of Enzymatic Analysis, vol.2 (Bergmeyer H.U., ed.), Academic press, N.Y., London, pp. 673-684.
18. Misra H.P., Fridovich I. (1972) J. Biol. Chem., **247**, 3170-3174.
19. Uchiyama M., Mihara M. (1978) Anal. Biochem., **86**, 271-275.
20. Tyler M.P.H., Watts A.M.I., Perry M.E., Roberts A.H.N., McGrouther D.A. (2001) Burns, **27**, 433-438.
21. Magnuson D.K., Maier R.V., Pohlman T.H. (1989) Surgery, **106**, 222-223.
22. Kimura J., Hayakari M., Kumano T., Nakano H., Satoh K., Tsuchida S. (1998) Biochem. J., **335**, 605-610.
23. Thang P.T., Patrick S., Teik L.S., Yung C.S. (2001) Burns, **27**, 319-327.
24. Daryani R., LaLonde C., Zhu D., Weidner M., Knox J., Demling R.H. (1990) J. Trauma, **30**, 1330-1334.

Поступила: 18. 05. 2005.

ANTIOXIDANT ENZYMES IN SKIN EXPERIMENTAL BURN TRAUMA

E.V. Mikhal'chik¹, S.M. Titkova², M.V. Anurov², L.Yu. Pen'kov², L.G. Korkina¹

¹Department of Molecular Biology and ²Department of Physiology, Russian State Medical University, Russia, ul. Ostrovityanova, 1, 117997 Moscow; fax: (495)4348740; e-mail: lemik@zmail.ru

The effect of experimental burn trauma (20%) on myeloperoxidase (MPO) and antioxidant enzymes (catalase, glutathione peroxidase (GPO), glutathione-S-transferase (GST)) was studied in unburned skin, epidermis (20 mm from the burned area) and the wound tissue of rats. The most common features were the increase of MPO on the 1st day and a delayed increase of GPO and GST after the 4th day. The additional operations (necrectomy) and lipopolysaccharide administration induced marked inflammatory reaction in skin and epidermis (evaluated by the increase in MPO and GPO/GST activities).

Key words: skin, epidermis, burns, myeloperoxidase, antioxidant enzymes.