

С. І. Миронченко, Т. В. Звягінцева

Специфічна активність рослинних препаратів при місцевих променевих ушкодженнях шкіри щурів

Харківський національний медичний університет, м. Харків

Ключові слова: альтан, олія обліпихи, місцеві променеві ушкодження, міжфазна тензіореометрія крові

Проблема якості життя онкологічних хворих набуває все більшої актуальності, враховуючи зростання тривалості їх життя в зв'язку з комплексним застосуванням променевої та хіміотерапії. Хоча за останні роки досягнуті великі успіхи в зменшенні токсичності, пов'язаної з хіміотерапією, проблема попередження та лікування місцевих променевих реакцій залишається актуальною [1, 2]. Основні методи лікування і профілактики променевих ускладнень включають як правильний підбір і проведення власне променевої терапії, так і застосування лікарських засобів. Адекватна профілактика гострої променевої реакції – епітеліта є важливою ланкою профілактики пізнього променевого ускладнення з боку шкіри – дерматофіброзу. Для зменшення суб'єктивних проявів променевих реакцій у процесі опромінення використовують мазі, вітамінізовані креми, що містять вітаміни А, Е, 10 % метилурацилову мазь, 0,2 % тезанову емульсію, мазь або крем «Бепантен» та ін. [3, 4]. Оскільки існуючі препарати мають низьку терапевтичну активність, актуальним є пошук та дослідження нових ефективних препаратів для профілактики та лікування променевих ушкоджень шкіри.

Першорядна роль перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у патогенезі променевих ушкоджень слугує підставою пошуку радіопротекторів серед антиоксидантів, особливо рослинного походження [5–7]. Так, при місцевих променевих ушкодженнях шкіри та слизових оболонок використовують олію обліпихи, яка містить суміш каротину та каро-

тиноїдів, поліфенольних сполук (дубильних речовин), флавоноїдів, токоферолів, олеїнової, лінолевої, пальмітинової, стеаринової кислот та виявляє протизапальну, антиоксидантну та ранозагоювальну дію [8, 9]. Перспективними в цьому плані є поліфенольні речовини, зокрема, дубильні, які здатні гальмувати активність процесів ПОЛ. Їхній антирадіаційний ефект пов'язаний зі здатністю нейтралізувати вільні радикали, а також зв'язувати іони Fe^{2+} , які є важливими факторами ініціації ПОЛ [10], що також призводить до зниження інтенсивності цього процесу [11, 12]. Вітчизняною фармпромисловістю випускається рослинний препарат поліфенольної природи – альтан, який має антиоксидантні, мембраностабілізуючі, протизапальні, імуномодулюючі властивості [13–15]. Таким чином, застосування альтану при місцевих пошкодженнях є патогенетично обґрунтованим, однак його ефективність при даній патології не вивчена.

Критерієм оцінки важкості місцевих променевих ушкоджень шкіри та їх фармакологічної корекції традиційно є продукти ПОЛ, які характеризують інтенсивність вторинних реакцій, що розвиваються не відразу, а через деякий час після дії окисного стресу. Ці методи придатні для реєстрації більш довготривалих змін прооксидантно-антиоксидантного стану. Порівняно новий метод міжфазної тензіометрії та реометрії, заснований на вивченні динамічного (вимірюється протягом деякого часу) поверхневого натягу (ПН) [16], а також реологічних властивостей крові, дозволяє оцінити безпосередньо процеси ПОЛ за прямими, а не за опосередкованими показниками [17]. Метод інтегрально відображає складні адсорбційні процеси, що протікають на межі фаз у

біологічній рідині та на клітинних мембранах [18]. Тому навіть незначні коливання поверхнево-активних речовин внаслідок пошкодження клітинних мембран, що супроводжуються зміною якісного та кількісного складу сироватки крові (білків, ліпідів, продуктів ПОЛ), впливають на міжфазний натяг та реологічні властивості крові [19–21].

Мета дослідження – вивчення ефективності лікувально-профілактичної дії альтану та олії обліпихи при місцевих променевих ушкодженнях шкіри й можливість використання показників міжфазної тензіометрії та реометрії у якості критеріїв оцінки ефективності лікування даної патології.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 24 статевозрілих крисах-самицях лінії Вістар масою 200–220 г на моделі локального опромінення стегна щурів у дозі 80 Гр (апарат ТУР-60, $I = 10$ мА, $U = 50$ кВ, фільтр 0,3 мм). Тварини були розподілені на 4 групи (6 тварин у кожній групі): інтактні (1 група); контроль – тварини, що підлягали локальному іонізуючому опроміненню, без лікування (2 група); тварини, яким наносили олію обліпихи (3 група) до та після опромінення; тварини, що отримували альтан до та після опромінення (4 група).

Альтан вводили внутрішньошлунково в дозі 1 мг/кг у вигляді завису препарату в 3 % слизу крохмалю за 1 годину до опромінення та 1 раз на добу протягом 10 діб після опромінення. Олію обліпихи наносили тонким шаром на опромінену поверхню за допомогою ватного тампона, змоченого олією (1 мл), за 1 годину до опромінення та 1 раз на добу протягом 10 діб після опромінення. Ефективність дослідних препаратів оцінювали³ за тривалістю перебігу та строками загоєння променевих реакцій у шкіри щурів протягом 35 діб. У сироватці крові визначали інтенсивність перекисного окиснення ліпідів за змістом продуктів пероксидації – дієнові кон'югати (ДК) та ТБК-активні продукти (ТБК-АП) [22, 23]. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю ключових ферментів – супероксиддисмутази (СОД) та каталази (КАТ) [24, 25]. Окрім того, у сироватці

крові визначали показники міжфазної тензіометрії та реометрії. Динамічний ПН визначали методом міжфазної тензіометрії на апараті МРТ-2 Lauda (Німеччина), заснованому на вивченні максимального тиску в бульбці [16, 17]. Результати поверхневого натягу надавали у вигляді тензіограм (кривих залежності ПН від часу t_{eff}), на яких за допомогою комп'ютера визначали крапки, що відповідають $t = 0,01$ с (ПН1, мН/м) і $t = 1$ с (ПН2, мН/м), $t = 100$ с (ПН3, мН/м). Крім того, підраховували кут нахилу кривої тензіограм (КНК, $\text{мНм}^{-1}\text{с}^S$) у координатах t^S [16, 17].

Для вивчення ПН крові при довгому часу життя поверхні ($t \rightarrow \infty$) – ПН4 (мН/м) та кут нахилу кривої тензіограм (КНК2, $\text{мНм}^{-1}\text{с}^S$) – додатково використовували метод висячої краплі. Аналіз форми цих крапель покладений в основу роботи апарату AD5A (Канада), за допомогою якого також досліджували швидку стресову деформацію розширення поверхні (при $t = 12000$ – 18000 с) з визначенням модуля в'язкоеластичності (ϵ , $\text{мНм}^{-1}\text{с}^S$) та часу релаксації (τ , с), який характеризує здатність моношару відновлювати первинний стан [16].

Експериментальні дані були статистично оброблені методом варіаційної статистики (вираховували середню арифметичну та її стандартну помилку). Для отримання статистичних висновків застосовували дисперсійний аналіз (ANOVA, критерій Крускала-Уолліса), при порівнянні вибірок – методи множинних порівнянь (критерій Ньюмена-Кейлса) та критерій Манна-Уїтні з поправкою Бонфероні при рівні вірогідності $P \leq 0,05$ [26].

Результати та їх обговорення. Результати дослідження виявили, що опромінення стегна щурів призводить до розвитку гострого променевого пошкодження шкіри з розгортанням наступної динаміки. Еритема виникала у всіх тварин через 12–48 годин після опромінення та зберігалася до 7 доби. Реакції сухої та вологої десквамації розвивалися у всіх тварин послідовно, починаючи з 7 дня після опромінення. На 7–9 добу ознаки сухого епітеліиту, тобто поява сухих жовтих кірок та виразне

лущення, спостерігалися у всіх тварин. Тривалість сухої десквамації складала 8 діб. У 3 тварин уже в цей термін порушувалася цілісність шкіри, і відшаровувався епітелій. Волога десквамація розвивалася у всіх тварин на 15–17 добу після опромінення та тривалість її складала в середньому 17–18 діб. При цьому виникали великі ділянки мокнучої поверхні з подальшим формуванням бурих корок та виразкового дефекту. Виразки із гнійно-некротичними проявами виникали в 5 тварин.

Застосування олії обліпихи полегшувало перебіг променевих реакцій порівняно з контролем. Еритема розвивалася в 5 опромінених тварин та продовжувалася протягом 7 діб. Реакція сухої десквамації, тривалість якої складала 7 діб, полягала в появі на фоні гіперемії жовтих кірок у всіх тварин із подальшим розвитком виразного лущення. Волога десквамація характеризувалася виникненням ділянок поверхні, що мокне, з утворенням бурих кірок, тріщин шкіри, продовжуючись протягом 15 діб. У 4 тварин опромінення призводило до формування поверхні, вкритої виразкою. Зникнення променевих реакцій починалося з 28 доби після опромінення.

Встановлено, що альтан сприяв зниженню важкості променевих реакцій у порівнянні з контролем на рівні проявів еритеми, сухого та вологого епідерміту. Еритема спостерігалася протягом 5 діб у 4 щурів. Виразного лущення не спостерігалось. Тривалість сухого дерматиту не перевищувала 6 діб, у той час як олія обліпихи скорочувала цей процес до 7 діб. Під впливом альтану зменшувалися час перебігу вологого дерматиту до 11–12 діб та ступінь його виразності. У 3 тварин виникали променеві виразки. Відновлення цілісності епітелію та загоєння відмічалось з 23 доби після опромінення, тобто на 5 діб раніше ніж у групі із застосуванням олії обліпихи.

Біохімічні дослідження крові показали, що у контрольних тварин, поряд із розвитком клінічних проявів ушкоджень, що індуковані променевим опроміненням, спостерігалася активація процесів ліпопероксидації у крові: концентрація ДК збільшувалася в 1,4 разів, концентрація ТБК-реактантів – в 1,3 разів порівняно з показниками інтактних тварин (рис. 1). Паралельне дослідження антиоксидантної системи встановило, що активність антиоксидантних ферментів у групі опромінених тварин нижча порівняно з інтактними: активність СОД зменшувалася в 2 рази, Кат – в 2,7 разів (рис. 1).

Олія обліпихи сприяла зменшенню концентрації ДК на 25,5 %, ТБК-АП – на 43,7 % порівняно з нелікованим контролем. Активність СОД перевищувала в 2 рази, тоді, як активність КАТ залишалася на рівні показника опромінених тварин (рис. 1).

Застосування альтану призводило до зниження первинних та вторинних продуктів ПОЛ: концентрація ДК зменшувалася на 30,5 %, ТБК-АП – на 42 % порівняно з контролем. Альтан сприяв посиленню активності АО ферментів, що характеризувалося збільшенням активності СОД у 2,4 разів та КАТ у

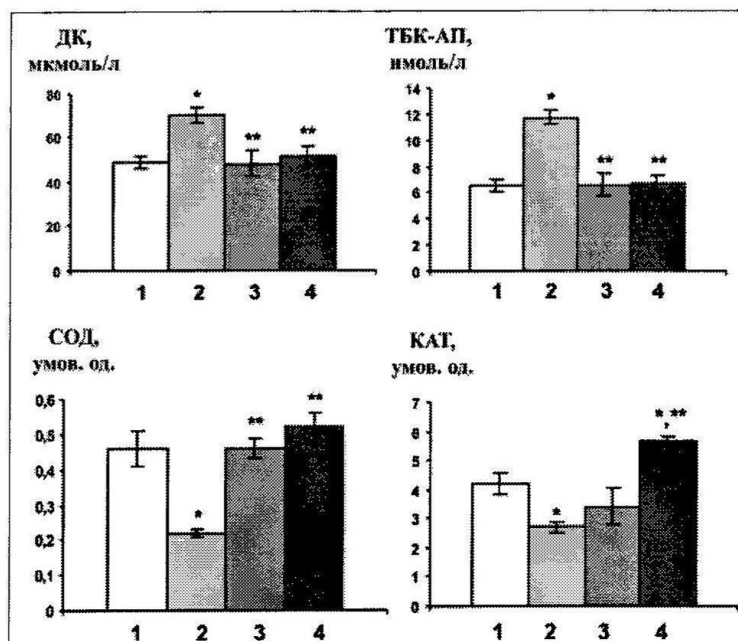


Рис 1. Показники ПОЛ та АОС у сироватці крові щурів на 35 добу після локального опромінення: інтактні (1); контроль (2); застосування олії обліпихи (3) та альтану (4).

Примітка. * Вірогідність у порівнянні з показниками інтактних тварин; ** вірогідність у порівнянні з показниками контролю.

2,7 разів відносно тварин без лікування (рис. 1). Активність КАТ перевищувала цей показник у інтактних тварин.

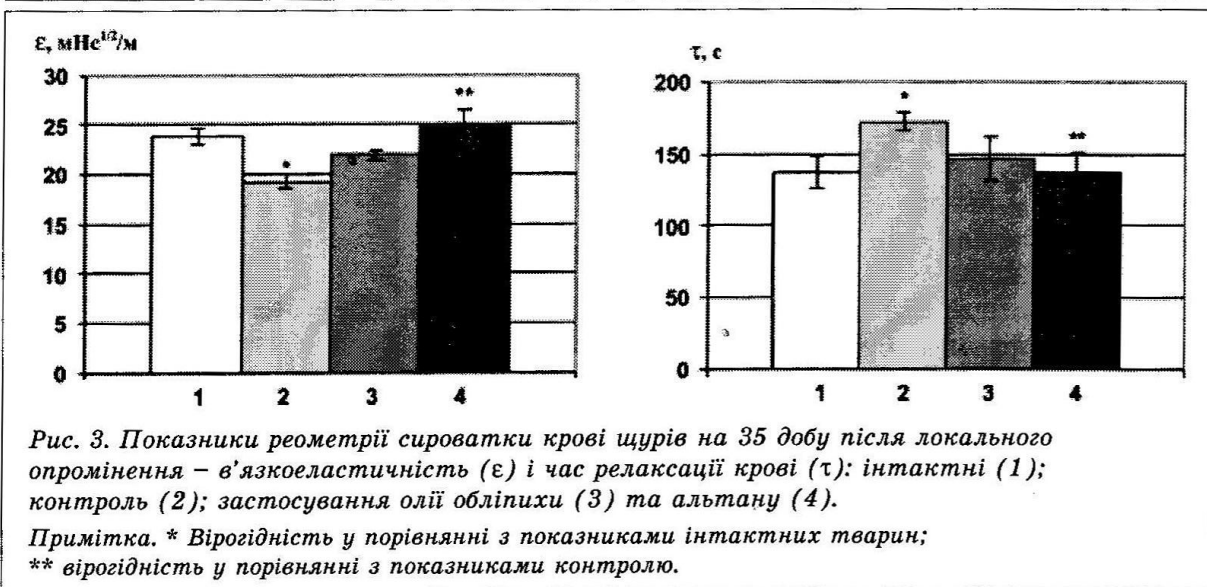
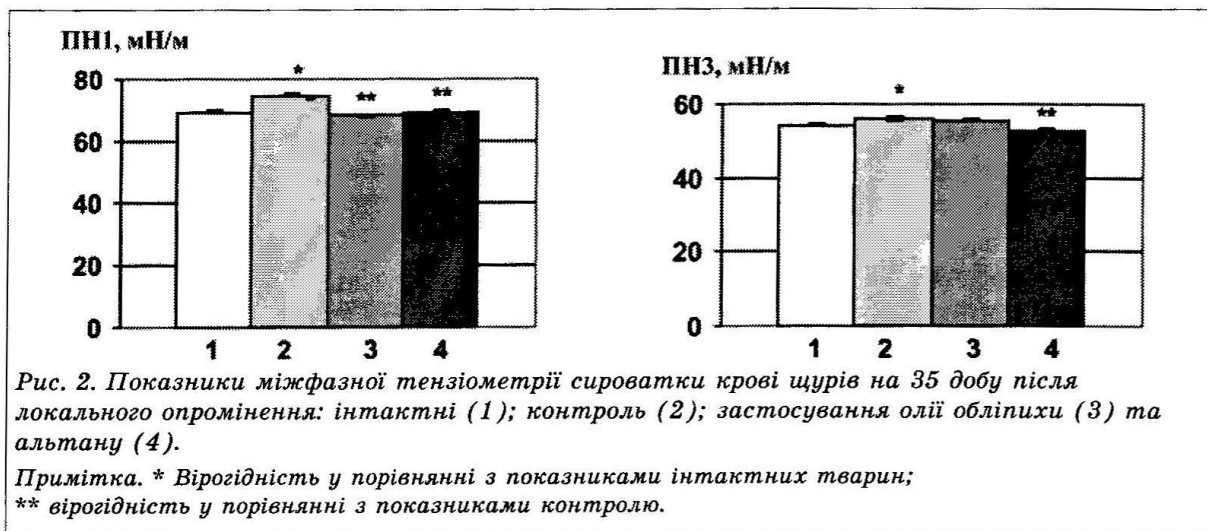
Розвиток місцевих променевих пошкоджень шкіри також супроводжувався змінами показників міжфазної тензіометрії та реометрії крові. Міжфазні тензіограми в групі контролю характеризувалися вірогідним збільшенням поверхневого натягу при $t = 0,01$ с (ПН₁) і $t = 100$ с (ПН₃) порівняно з інтактними тваринами (рис. 2). Поверхневий натяг при $t = 1$ с (ПН₂), $t \rightarrow \infty$ с (ПН₄), КНК та КНК₂ не змінювався.

Відмічалось вірогідне зменшення модуля в'язкоеластичності (ϵ) у порівнянні з інтактними тваринами, що можна пояснити зрушенням рівноваги в адсорбційному шарі, яке настає в результаті перебудови адсорбованих молекул на фоні патологічного процесу. Також було зафіксовано підвищення часу релаксації (τ), що характеризує здатність моношару понов-

лювати первинний стан, тобто відображати кінетику адсорбції з розчину і процеси перебудови адсорбованих молекул (рис. 3). В умовах рівноваги моношару подібні зміни свідчать про значні порушення реологічних властивостей крові.

При застосуванні олії обліпихи констатовано зниження поверхневого натягу при $t = 0,01$ с (ПН₁), але поверхневий натяг у зоні довгих часів життя поверхні при $t = 100$ с (ПН₃), модуль в'язкоеластичності ϵ та часу релаксації τ крові залишалися збільшеними порівняно зі значеннями у тварин без лікування (рис. 2, 3).

Альтан сприяв нормалізації фізико-хімічних параметрів крові. Крім пригнічення поверхневого натягу при коротких та довгих часів життя поверхні альтан викликав вірогідне збільшення модуля в'язкоеластичності ϵ та зниження часу релаксації τ порівняно з нелікованим контролем (рис. 2, рис. 3).



Таким чином, локальне променеве опромінення шкіри, що супроводжується ушкодженням клітинної мембрани та активацією процесів ліпопероксидації, проявляється вірогідними змінами показників міжфазної тензіометрії та реометрії крові. Застосування альтану призводить до нормалізації прооксидантно-антиоксидантних процесів (знижуються продукти ПОЛ на фоні підвищення активності ферментів АО-захисту) та нормалізації фізико-хімічних властивостей крові (зменшуються показники ПН1, ПН3 та час релаксації крові, а також підвищується модель в'язкоеластичності). На відміну від альтану олія обліпихи, відновлюючи показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, виявляє менш виразний ефект на зміни показників міжфазної тензіометрії та реометрії, що проявляється тільки в зниженні поверхневого натягу при $t = 0,01$ с (ПН1).

Висновки

1. Застосування альтану в лікувально-профілактичному режимі при місцевих променевих ушкодженнях шкіри проявляє більш виразний фармакотерапевтичний ефект, ніж олія обліпихи, що обґрунтовує перспективність його застосування після відповідних клінічних досліджень для лікування і профілактики місцевих променевих ушкоджень шкіри.
2. Перебіг місцевих променевих ушкоджень супроводжується вірогідними змінами показників міжфазної тензіометрії та реометрії крові, що можливо використовувати в якості критеріїв інтегральної оцінки ступеня важкості патологічного процесу.
3. Альтан при місцевих променевих ушкодженнях шкіри проявляє більш виразний коригувальний ефект на фізико-хімічні властивості крові, ніж олія обліпихи.

1. Іванкова В. С. Онкопатологія: проблеми та перспективи лікування / В. С. Іванкова // Український радіологічний журнал. – 2005. – Т. 8, № 3. – С. 300–302.
2. Бардычев М. С. Лечение местных лучевых повреждений / М. С. Бардычев // Лечащий врач. – 2003. – № 5. – С. 78–79.
3. Комплексна профілактика та корекція променевих дерматитів при хемопроменевому лікуванні поширеного раку грудної залози / О. С. Бондарук, В. С. Іванкова, Л. М. Барановська [та ін.] // Український радіологічний журнал. – 2002. – Т. 10, № 3. – С. 260–262.
4. Пономарьова О. В. Лікування ранніх та пізніх променевих уражень шкіри з використанням поліензимних препаратів: Матеріали II Українського з'їзду терапевтичних радіологів та радіаційних онкологів 10–12 черв. 2001 р / О. В. Пономарьова, Г. О. Губарева. // Український радіологічний журнал. – 2001. – Т. 9, № 2. – С. 188–190.
5. Звягинцева Т. В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная активность в очаге кожной раны, вызванной радиационным и механическим воздействием / Т. В. Звягинцева // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2000. – № 1. – С. 44–47.
6. Барабой В. А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В. А. Барабой // Успехи современной биологии. – 1991. – № 3. – С. 922–931.
7. Можливість антиоксидантної корекції порушень перекисного окислення ліпідів у хворих на рак легень під час проведення променевої терапії / В. П. Старенький, Л. П. Абрамова, Г. І. Ткаченко [та ін.] // Український радіологічний журнал. – 1999. – Т. 7, № 1. – С. 85–86.
8. Машковский М. Д. Лекарственные средства. Т. 2, 14-е изд., перераб., испр. и доп / М. Д. Машковский. – М.: ООО «Новая Волна», 2002. – С. 105–106.
9. Химический состав и биологическая активность экстрактов из компонентов плодов облепихи / В. А. Миронов, Т. Н. Гусева-Донская, Ю. Ю. Дубровина [и др.] // Хим.– фарм. журн. – 1989. – Т. 23, № 11. – С. 1357–1364.
10. Перекисное окисление и стресс / [Барабой В. А., Брехман И. И., Глотин В. Г., Кудряшов Ю. Б.]. – М.: Наука, 1992. – 148 с.
11. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія. – Київ: «Видавництво АСК». – 2003. – С. 26–28.
12. Гордиенко А. Д. Антиоксидантная активность растительных полифенолов в системе in vitro // Фармацевтический журнал. – 1995. – № 6. – С. 67–68.
13. Яковлева Л. В. Експериментальне вивчення кардіопротекторної активності альтану порівняно з кверцетином / Л. В. Яковлева, Є. М. Горбань, Т. С. Сахарова // Одеський медичний журнал. – 2002. – № 1(69). – С. 19–22.
14. Яковлева Л. В. Радипротекторные свойства нового полифенольного препарата «Альтан» / Л. В. Яковлева, И. В. Карбушева, Л. А. Френкель // Экспериментальная і клінічна медицина. – 2001. – № 4. – С. 17–21.

15. Гордієнко А. Д. Вплив таблеток альтан на перекисне окиснення ліпідів і гідроксолазну активність мікросом із печінки щурів при CCL4-гепатиті / А. Д. Гордієнко, Л. В. Яковлева // Експериментальна і клінічна медицина.– 2000.– № 4.– С. 16–17.
16. Казаков В. Н. Межфазная тензиометрия и реометрия биологических жидкостей в терапевтической практике / В. Н. Казаков, А. Ф. Возианов.– Донецк: Изд-во мед. ун-та, 2000.– 180 с.
17. Физико-химические свойства биологических жидкостей в ревматологии / [В. Н. Казаков, О. В. Синяченко, Г. А. Игнатенко и др.].– Донецк: Донеччина, 2003.– 279 с.
18. Трухін Д. В. Рання діагностика променевиx реакцій за допомогою динамічної міжфазної тензиометрії у хворих на рак шийки матки / Д. В. Трухін, М. Л. Тараненко, В. О. Помазан // Український радіологічний журнал.– 2003.– Т. 11, № 2.– С. 228–230.
19. Оценка с помощью межфазной тензиометрии эффективности противовоспалительного лечения больных раком прямой кишки / Г. В. Бондарь, А. В. Борота, С. Э. Золотухин [та ін.] // Онкология.– 2002.– Т. 4, № 2.– С. 121–122.
20. Синяченко О. В. Клинико-патогенетическое значение изменений физико-химических свойств биологических жидкостей и их коррекция при хроническом рецидивирующем панкреатите / О. В. Синяченко, Н. Б. Губергриц, О. А. Челоманова // Сучасна гастроентерологія.– 2003.– № 1 (11).– С. 59–66.
21. Лыков А. А. Динамика показателей межфазной тензиометрии у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки / А. А. Лыков // Архив клинической и экспериментальной медицины.– 2003.– Т. 12, № 1.– С. 20–23.
22. Карпищенко А. И. Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы) / А. И. Карпищенко (ред.). // Спектрофотометрическое определение продуктов перекисного окисления липидов.– Санкт-Петербург: «Интермедика».– 1997.– С. 48–52.
23. Скорняков В. И. Продукты перекисного окисления липидов в спинномозговой жидкости у больных с черепномозговой травмой / В. И. Скорняков, Л. А. Кожемякин, В. В. Смирнов // Лаб. дело.– 1988.– № 8.– С. 14–16.
24. Костюк В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // Вопр. мед. химии.– 1990.– № 2.– С. 88–91.
25. Барабой В. А. Методические особенности исследования перекисного окисления и радиация / В. А. Барабой, В. Э. Орел, И. М. Карнаух.– К.: «Наукова думка», 1991.– С. 52–75.

С. И. Миронченко, Т. В. Звягинцева

Специфическая активность растительных препаратов при местных лучевых повреждениях кожи крыс

Статья посвящена изучению в эксперименте лечебно-профилактической эффективности растительных препаратов – альтана и масла облепихового при местных лучевых повреждениях кожи. Течение местных лучевых повреждений сопровождается достоверными изменениями показателей межфазной тензиореометрии крови, которые возможно использовать в качестве чувствительных критериев интегральной оценки степени тяжести патологического процесса. Показано, что альтан в лечебно-профилактическом режиме при лучевых повреждениях кожи проявляет более выраженную фармакотерапевтическую активность, чем облепиховое масло, что характеризуется нормализацией процессов ПОЛ и физико-химических свойств крови.

Ключевые слова: альтан, облепиховое масло, местные лучевые повреждения, межфазная тензиореометрия крови

S. I. Mironchenko, T. V. Zvyagintseva

Specific activity of medicinal plant preparations in local radiation damage of skin in rats

The article deals with the experimental study of therapeutic-prophylactic effectiveness of plant preparations – altan and sea-buckthorn oil in local radiation damages of skin in rats. The course of local radiation damages is accompanied by significant changes in interphase tensio-rheometry of blood that can be used as sensitive criteria of integral evaluation of pathological process severity. It is shown that altan used in therapeutic-prophylactic regimen in radiation damage of skin exerts more expressed pharmacotherapeutic activity than sea-buckthorn oil that is characterized by normalization of lipid peroxidation and physicochemical properties of blood.

Key words: altan, sea-buckthorn oil, in local radiation damages, interphase tensio-rheometry of blood

Надійшла: 24.11.2009 р.

Контактна особа: Миронченко Світлана Іванівна, асистент, кафедра фармакології та медичної рецептури, Харківський національний медичний університет, пр-т Леніна, 4, м. Харків, 61022.
Тел.: (57) 707-73-59. E-mail: visus69@mail.ru