

DOI 10.31718/2077-1096.19.3.142

УДК 616.5-001.15-001.17-092.9-078:612.015.11

Миронченко С.И.

## ОКИСЛИТЕЛЬНО-АНТИОКСИДАНТНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КОЖЕ ОЧАГА ОБЛУЧЕНИЯ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТА

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

*Цель исследования – изучить влияние локального ультрафиолетового облучения на содержание продуктов перекисного окисления липидов, липофусцина, активность антиоксидантных ферментов в коже морских свинок. Материалы и методы. Исследования были выполнены на 24 морских свинках-альбиносах, которые подвергались однократному локальному ультрафиолетовому облучению. Группой контроля служили интактные животные. Через 2 часа, 4 часа, на 3-и и 8-е сутки после облучения в коже определяли содержание первичных (диеновых конъюгатов) и вторичных (ТБК-активных продуктов) продуктов перекисного окисления липидов, активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и каталазы), содержание липофусцина. Результаты исследования. Под влиянием локального ультрафиолетового облучения у всех морских свинок развивается эритема (ее максимум отмечается через 4 часа, на 3-и сутки), которая исчезает на 8-е сутки. Во все сроки эксперимента наблюдается резкая активация процессов перекисного окисления липидов за счет накопления его первичных и вторичных продуктов в коже морских свинок. Параллельно нарастанию продуктов перекисного окисления липидов происходит снижение активности антиоксидантных ферментов (каталазы и супероксиддисмутазы) в очаге облучения. Содержание липофусцина в коже прогрессивно нарастает в течение всего периода исследования. Выводы. 1. В ранний эритемный период после локального ультрафиолетового облучения в коже морских свинок наблюдается повышение содержания диеновых конъюгатов и ТБК-активных продуктов (через 2, 4 часа, 3-и сутки); снижение активности каталазы и увеличение концентрации липофусцина (на 3-и сутки после облучения). 2. Ранний постэритемный период (8-е сутки) после локального ультрафиолетового облучения характеризуется накоплением диеновых конъюгатов, ТБК-активных продуктов и липофусцина на фоне снижения активности каталазы и супероксиддисмутазы в коже морских свинок.*

Ключевые слова: ультрафиолетовое облучение кожи, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, липофусцин.

*Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами – работа выполнена соответственно плану научно-исследовательской работы Харьковского национального медицинского университета «Механизмы и фармакологическая коррекция ультрафиолет-индуцированных повреждений кожи» (№ державної реєстрації 0113U002281).*

Известно, что негативное воздействие тотального ультрафиолетового облучения (УФО) сопровождается увеличением образования свободных радикалов в организме, ведущим к развитию окислительного стресса [1]. Однако, при местном УФО эти процессы не изучены. Ранее мы обнаружили, что локальное УФО приводит к оксидантно-антиоксидантному дисбалансу в крови, характеризующемуся активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ) и уменьшением активности антиоксидантных (АО) ферментов [2]. Дальнейший интерес представляет изучение окислительно-антиоксидантного баланса на тканевом уровне, поскольку системное действие ультрафиолета зависит от количества биологически активных веществ и токсических продуктов, образующихся непосредственно в коже очага облучения. С окислительным стрессом тесно связано возрастное накопление пигмента липофусцина, что становится причиной накопления поврежденных митохондрий и других органелл, и, как следствие, клеточной дисфункции постмитотических клеток, дисфункции органов и старения [3,4].

### Цель исследования

Изучить влияние локального УФО на содержание продуктов ПОЛ, липофусцина, активность АО ферментов в коже морских свинок.

### Материалы и методы

Исследования были выполнены на 24 морских свинках-альбиносах, которые подвергались локальному УФО. Эритему вызывали облучением выбритого участка кожи ультрафиолетовыми лучами с помощью ртутно-кварцевого облучателя (ОКН-11-М), помещенного на расстоянии 10 см от животного, в течение 2 минут [5]. Уровень повреждающего действия оценивали по интенсивности эритемной реакции. Группой контроля служили интактные животные. Животных выводили из эксперимента в соответствии с правилами биоэтики. Через 2 часа, 4 часа, на 3-и и 8-е сутки после облучения в коже определяли содержание продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) и ТБК-активных продуктов (ТБК-АП); активность АО-ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) [6]; содержание липофусцина [7]. Результаты исследований обрабатывали стандартными методами вариационной статистики [8].

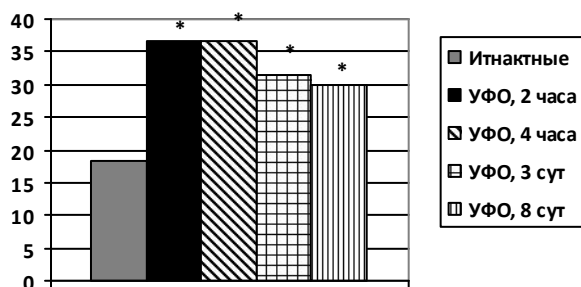
### Результаты и их обсуждение

Под влиянием УФО у всех морских свинок развивается выраженная эритема. Эритема появляется через 2 часа после облучения, через 4 часа после облучения регистрируется ее максимум. На 3-и сутки интенсивность суммарной эритемы остается выраженной, но затем посте-

пенно уменьшается и исчезает на 8-е сутки. Во все сроки эксперимента, с 2-х часов до 8 суток, регистрируется резкая активация процессов

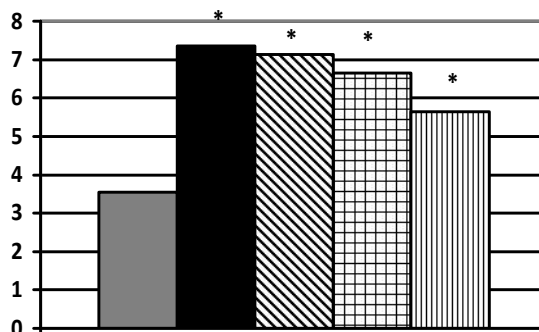
ПОЛ, как следует из данных, представленных на рис.1. При этом происходит увеличение содержание в коже как ДК, так и ТБК-АП.

мкмоль/г



а)

нмоль/г

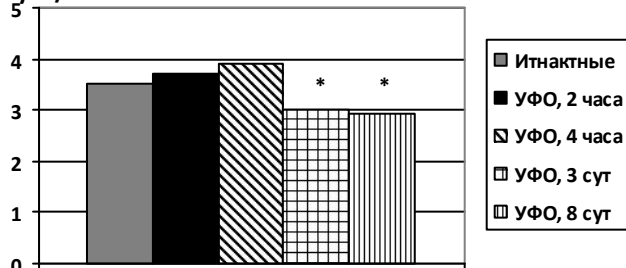


б)

Рис. 1. Содержание ДК (а) и ТБК-АП (б) в коже морских свинок при локальном УФО

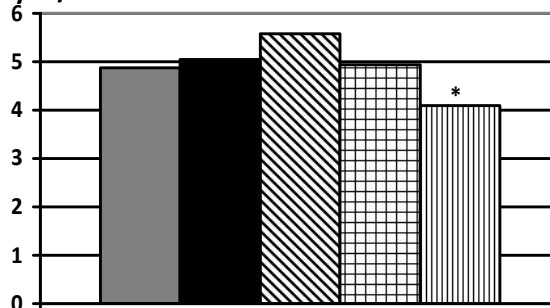
\*-достоверно относительно интактных животных ( $p < 0,05$ )

у.е./г



а)

у.е./г



б)

Рис. 2. Активность КАТ (а) и СОД (б) в коже морских свинок при локальном УФО

\*-достоверно относительно интактных животных ( $p < 0,05$ )

ед.опт. пл./г

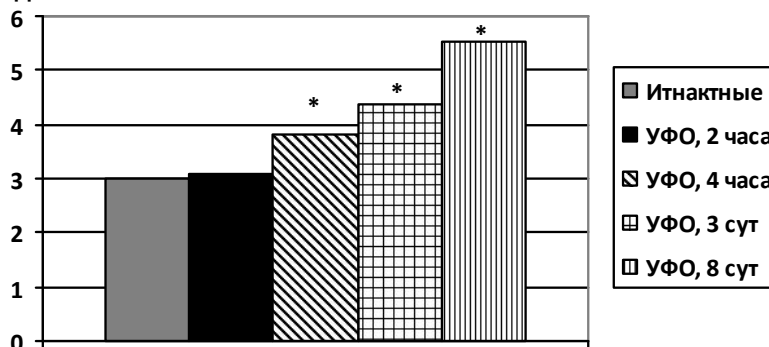


Рис. 3. Содержание липофусцина в коже морских свинок при локальном УФО

\*-достоверно относительно интактных животных ( $p < 0,05$ )

Повышение продуктов ПОЛ было максимальным через 2 и 4 часа после облучения (в 2 раза выше нормы). На 3-и сутки после облуче-

ния содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ превышает норму в 1,7 и 1,8 раза соответственно, на 8-е сутки – в 1,6 раза (рис. 1).

Параллельно нарастанню продуктів ПОЛ происходит снижение активности АО ферментов (рис. 2).

Активность КАТ в период 2-4 часа не изменяется. Начиная с 3-х суток, активность фермента уменьшается в 1,2 раза. На 8-е сутки активность КАТ остается сниженной в 1,2 раза по сравнению с интактными морскими свинками. Активность СОД на протяжении раннего эритемного периода находится в пределах нормы, однако уменьшается на 8-е сутки в 1,2 раза относительно интактных животных (рис. 2).

Содержание липофусцина прогрессивно нарастает в течение всего периода исследования. Через 4 часа после облучения его концентрация увеличивается в 1,2 раза по отношению к интактным животным (рис. 3).

В дальнейшем — на 3-и сутки после облучения — содержание липофусцина продолжает возрастать (в 1,5 раза по сравнению с интактными морскими свинками). В последующем (на 8-е сутки) его содержание остается высоким, превышая норму в 1,9 раза (рис. 3).

Таким образом, локальное УФО способствует формированию окислительного стресса за счет накопления первичных и вторичных продуктов ПОЛ и снижения активности ферментов АО системы в коже морских свинок. Обращает внимание увеличение в облученной коже липофусцина, который традиционно считают пигментом старения [9] или проявлением патологических процессов, происходящих в организме [10]. В любом случае причиной образования липофусцина считают повреждение липидной пероксидацией мембран клеточных органелл. Последнее служит еще одним подтверждением срыва окислительно-антиоксидантного баланса вследствие локального УФО.

### Выводы

1. В ранний эритемный период после локального УФО в коже морских свинок наблюдается

повышение содержания ДК и ТБК-активных продуктов (через 2, 4 часа, 3-и сутки); снижение активности КАТ и увеличение концентрации липофусцина (на 3-и сутки после облучения).

2. Ранний постэритемный период (8-е сутки) после локального УФО характеризуется накоплением ДК, ТБК-АП и липофусцина на фоне снижения активности КАТ и СОД в коже морских свинок.

### Литература

1. Naidoo Khimara, Birch-Machin Mark A. Oxidative Stress and Ageing: The Influence of Environmental Pollution, Sunlight and Diet on Skin. *Cosmetics*. 2017; 4, 4; doi:10.3390/cosmetics4010004
2. Myronchenko SI, Zvyagintseva TV. Pro- i antioksidantnye mekhanizmy ultrafiolet-indutsirovannykh povrezhdenij kozhi i ikh yeksperimentalnaya terapiya [Pro- and antioxidant mechanisms of ultraviolet-induced skin damages and their experimental therapy]. *Aktualni problemy transportnoi medytsyny: navkolnyshnie seredovyshchie; profesiine zdorovya; patologiya*. 2016; 2 (44): 133-7. (Russian).
3. Teussink MM, Lambertus S, de Mul FF, Rozanowska MB, Hoyng CB, Klevering BJ, et al. Lipofuscin-associated photo-oxidative stress during fundus autofluorescence imaging. *PLoS ONE*. 2017; 12(2): e0172635. doi:10.1371/journal.pone.0172635.
4. Chaplygina AV, Vekshin IL. Lipofuscin i mitolipofuscin v organah molodyh i vzroslyh krys [Lipofuscin and mitolipofuscin in the organs of young and adult rats]. *Uspekhi gerontologii*. 2018; 2: 197-202. (Russian).
5. Stefanov AV. Bioskrining. Lekarstvennye sredstva [Bioscreening. Drugs]. Kyiv: Avitsenna; 1998. 189 p. (Russian).
6. Shcherban NG, Horbach TI, Huseva NR. Laboratornye metodiki dlya izucheniya sostoyaniya antioksidantnoi sistemy organizma i urovnya perekisnogo oksleniya lipidov. *Metodicheskie rekomendatsii dlya doktorantov, aspirantov, magistrantov*. [Laboratory methods for studying of the state of the antioxidant system of the body and the level of lipid peroxidation] // Guidelines for doctoral candidates, postgraduate students, master candidates Kharkov: KhDMU; 2004. 36 p. (Russian).
7. Baraboj VA, Orel VYe, Karnaukh IM. Metodicheskie osobennosti issledovaniya perekisnogo oksleniya i radiatsiya [Methodological features of the study of peroxidation and radiation]. Kiev: Naukova Dumka; 1991. P. 52–75. (Russian).
8. Giants S. *Mediko-biologicheskaya statistika [Biomedical statistics]*. M.: Praktika; 1998. 459 p. (Russian).
9. Skoczyńska Anna, Budzisz Elżbieta, Trznadel-Grodzka Ewa, Rotszejn Helena. Melanin and lipofuscin as hallmarks of skin aging. *Postepy Dermatol Alergol*. 2017; Apr; 34(2): 97–103. doi: 10.5114/ada.2017.67070
10. Efimov AA, Maslyakova GN. O roli lipofustsina v involyutivnykh i patologicheskikh processakh [On the role of lipofuscin in involutive and pathological processes]. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2009; 5 (1): 111-115. (Russian).

### Реферат

ОКИСЛЮВАЛЬНО-АНТИОКСИДАНТНІ ПРОЦЕСИ У ШКІРІ ВОГНИЩА ОПРОМІНЕННЯ ПРИ ЛОКАЛЬНОМУ ВПЛИВІ УЛЬТРАФІОЛЕТУ

Миронченко С.І.

Ключові слова: ультрафіолетове опромінення шкіри, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантні ферменти, ліпофусцин.

Мета дослідження - вивчити вплив локального ультрафіолетового опромінення на вміст продуктів перекисного окислення ліпідів, ліпофусцину, активність антиоксидантних ферментів в шкірі морських свинок. Матеріали та методи. Дослідження були виконані на 24 морських свинках-альбіносах, які зазнали однократного локального ультрафіолетового опромінення. Групою контролю служили інтактні тварини. Через 2 години, 4 години, на 3-ю і 8-у добу після опромінення в шкірі визначали вміст первинних (дієнових кон'югатів) і вторинних (ТБК-активних продуктів) продуктів перекисного окислення ліпідів, активність антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази і каталази), вміст ліпофусцину. Результати дослідження. Під впливом локального ультрафіолетового опромінення у всіх морських свинок розвивається еритема (її максимум відзначається через 4 години, на 3-ю добу), яка зникає на 8-у добу. В усі терміни експерименту спостерігається різка активація процесів перекисного окислення ліпідів за рахунок накоплення його первинних і вторинних продуктів в шкірі морських свинок. Паралельно зростанню продуктів перекисного окислення ліпідів відбувається зниження активності антиоксидантних ферментів (каталази і супероксиддисмутази) в осередку опромінення. Зміст ліпофусцину в шкірі прогресивно зростає протягом усього періоду дослідження. Висновки. 1. У ранній еритемний пе-

ріод після локального ультрафіолетового опромінення в шкірі морських свинок спостерігається підвищення вмісту дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів (через 2, 4 години, 3-ю добу); зниження активності каталази і збільшення концентрації ліпофусцину (на 3-ю добу після опромінення). 2. Ранній постеритемний період (8-а доба) після локального ультрафіолетового опромінення характеризується накопиченням дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів і ліпофусцину на тлі зниження активності каталази та супероксидисмутази в шкірі морських свинок.

### **Summary**

OXIDATIVE AND ANTIOXIDANT PROCESSES IN THE FOCUS OF THE SKIN EXPOSED TO LOCAL ULTRAVIOLET IRRADIATION  
Myronchenko S. I.

Key words: skin ultraviolet irradiation, lipid peroxidation, antioxidant enzymes, lipofuscin.

The purpose of this study was to investigate the effect of local ultraviolet radiation on the content of lipid peroxidation products, lipofuscin, and the functioning of antioxidant enzymes in the skin of guinea pigs. Materials and methods. The studies were performed on 24 albino guinea pigs exposed to a single local ultraviolet radiation. The control group was made up of intact animals. The content of primary (diene conjugates) and secondary (TAC-active products) lipid peroxidation products, the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase), and the content of lipofuscin were assessed in the skin in 2 hours, 4 hours, and on the 3rd and 8th day following the UV irradiation. Results. Under the influence of local ultraviolet radiation, all guinea pigs develop erythema (its peak is observed in 4 hours, and on the 3rd day), which disappears on the 8th day. There is a sharp enhancement of lipid peroxidation processes due to the accumulation of lipid peroxidation primary and secondary products in the skin of guinea pigs in all periods of the experiment. In parallel with the increase in lipid peroxidation products, there is a decrease in the activity of antioxidant enzymes (catalase and superoxide dismutase) in the focus of radiation. The content of lipofuscin in the skin progressively increases throughout the study period. Conclusions. The early erythema period following the local ultraviolet irradiation in the skin of guinea pigs, is characterized by increased content of diene conjugates and TBA-active products (in 2, 4 hours, on the 3rd day); decreased catalase activity and increased lipofuscin concentration (on the 3rd day after irradiation). The early post-erythema period (8th day) following the local ultraviolet irradiation is characterized by the accumulation of diene conjugates, TBA-active products and lipofuscin against the background of a decrease in the activity of catalase and superoxide dismutase in the skin of guinea pigs.