

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЛЕГЕНЯХ У РІЗНІ ПЕРІОДИ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

Як відомо, в патогенезі запальних реакцій, у тому числі пневмонії, значну роль відіграє порушення окисно-відновних процесів за рахунок зростання вільних радикалів кисню.

Метою даної роботи було вивчити стан оксидантної та антиоксидантної систем у легенях морських свинки у різні періоди формування експериментальної пневмонії (ЕП).

Дослідження проводили на 36 морських свинках (самцях) масою 180–220 г, поділених на 3 групи по 12 тварин у кожній: 1-ша група – інтактні морські свинки (контроль); 2-га – морські свинки з ЕП на 6-ту добу; 3-тя – морські свинки з ЕП на 10-ту добу. Відтворювали ЕП шляхом інтраназального введення тваринам культури *Staphylococcus aureus* за методом В. Н. Шляпникова та ін. У легеневій тканині визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК) за методом В. Б. Гаврилова, М. І. Мишкорудної, малонового діальдегіду (МДА) – за методом Е. Н. Коробейникової, активність супероксиддисмутази (СОД) – за методом R. Fried, каталази (КТ) – за методом R. Holmes, C. Masters.

У ранній період ЕП відзначали помірне зростання вмісту ДК на 34,8 % і незначне збільшення МДА на 15,3 %, підвищення активності СОД лише на 10,57 % та вірогідне збільшення КТ на 12,69 % порівняно з групою контролю, в пізній – подальше зростання ДК на 53,86 % і МДА на 37,4 %, зниження активності СОД на 21,37 % та КТ на 16,0 % порівняно з контролем.

Результати наших біохімічних досліджень показали порушення процесів ліпопероксидації і стану антиоксидантного захисту в легеневій тканині в різні періоди формування ЕП.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальна пневмонія, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

ВСТУП. Пневмонія – одна з найбільш поширених хвороб респіраторної системи людини, що може виникати в будь-який віковий період. Захворювання на пневмонію складає в середньому від 10 до 13,8 на 1000 населення, що становить 30–40 % від усіх захворювань легень [1]. За сучасними даними, навіть у країнах з високим соціально-економічним розвитком захворюваність на пневмонії становить від 3,6 до 16 на 1000 осіб. Підтвердженням зазначеної сумної статистики є дані про те, що пневмонії займають 4–5-те місце в структурі причин смертності після серцево-судинної, онкологічної, цереброваскулярної патологій і хронічно-обструктивних захворювань легень, а серед інфекційних хвороб – 1-ше.

В основі патологічного процесу за умов пневмонії лежить інфекційне, ексудативне, рідше

© О. О. Чугай, Л. А. Любінець, 2016.

проміжне, запалення, викликане мікроорганізмами різної природи, у більшості випадків – бактерійної. Важлива ланка патогенезу пневмонії – пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ). За значимо, що ПОЛ в організмі є фізіологічним процесом і необхідною складовою окисного гомеостазу. Це один з універсальних механізмів, який дозволяє контролювати цілісність, вибірково проникність і в'язкість клітинних мембран [2].

Дія будь-яких зовнішніх і внутрішніх чинників призводить до посилення або пригнічення ПОЛ. Зокрема, встановлено прямий зв'язок і залежність між гостротою (тяжкістю) запальної реакції та ступенем активації ПОЛ, насамперед безпосередньо у вогнищі запалення, а також у гуморальних середовищах організму – крові, плазмі, лімфі, спинномозковій рідині, куди ці продукти потрапляють вторинно із запального вогнища [3]. Характерною особливістю є те, що при цьо-

му етіологія запалення, ділянка ураження, участь мікроорганізмів (асептичне або інфекційне запалення) відіграють лише вторинну роль – реакція активації ПОЛ завжди присутня [1].

Серед основних продуктів ПОЛ визначають первинні та вторинні. Первинні продукти ПОЛ є результатом окиснення поліненасичених вищих жирних кислот на стадії утворення та реалізації вільних радикалів. При цьому утворюються кон'юговані подвійні зв'язки – дієнові кон'югати (ДК).

При подальшому переокисненні поліненасичених жирних кислот, що вже мають декілька дієнових зв'язків, утворюється кінцевий продукт ПОЛ – малоновий діальдегід (МДА). МДА ще називають ТБК-активним продуктом, який реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою [4].

Отже, можна констатувати, що активізація ПОЛ – невід'ємна складова частина, важлива ланка запального процесу, яка відображає і характеризує його гостроту, тяжкість, особливість перебігу, ефективність терапевтичних заходів [5].

Метою даного дослідження було вивчити стан оксидантної та антиоксидантної систем у легенях морських свинок у різні періоди формування експериментальної пневмонії (ЕП).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на 36 морських свинках (самцях) масою 180–220 г, поділених на 3 групи по 12 тварин у кожній: 1-ша група – інтактні морські свинки (контроль); 2-га – морські свинки з ЕП на 6-ту добу; 3-тя – морські свинки з ЕП на 10-ту добу.

З метою раціональної з ЕП інтерпретації одержаних цифрових даних умовно виділяли два періоди (ранній і пізній) розвитку ЕП. Ранній період охоплював групу тварин з ЕП на 6-ту добу експерименту, а пізній – тварин з ЕП на 10-ту добу.

Усіх тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Евтаназію морських свинок проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи

86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IVIV “Про захист тварин від жорстокого поводження”, ухвалених на Першому національному конгресі України з біоетики (2001).

Відтворювали ЕП шляхом інтраназального введення тваринам культури *Staphylococcus aureus* за методом В. Н. Шляпникова та ін. [6]. Морських свинок декапітували на 6-ту й 10-ту доби розвитку ЕП і визначали в легеневій тканині вміст продуктів ПОЛ та ферментів антиоксидантної системи (АОС). Вміст ДК визначали за методом В. Б. Гаврилова, М. І. Мишкорудної [7], МДА – за методом Е. Н. Коробейникової [8], активність супероксиддисмутази (СОД) – за методом R. Fried [9], каталази (КТ) – за методом R. Holmes, C. Masters [10].

Отримані результати статистично оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Дані представлено у вигляді середнього арифметичного (M) за результатами кожного дослідження \pm стандартне відхилення (m). Достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$ (95,5 %).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати наших біохімічних досліджень показали порушення процесів ліпопероксидації і стану антиоксидантного захисту в легеневій тканині в різні періоди формування ЕП.

На 6-ту добу експериментальної пневмонії відзначали помірне зростання вмісту ДК на 34,8 % ($p < 0,05$) та незначне збільшення МДА на 15,3 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою (табл. 1). На цю ж добу експерименту активність ферментів АОС була такою: спостерігали незначне підвищення активності СОД лише на 10,57 % ($p < 0,05$) та вірогідне збільшення КТ на 12,69 % ($p < 0,05$) порівняно з групою контролю (табл. 2). Отримані дані свідчать про надмірне утворення в легеневій тканині ушкоджувальних продуктів ПОЛ і компенсаторну реакцію з боку ферментів АОС. Ушкодження клітинних мембран, що розвиваються за умов оксидантного стресу, супроводжується підвищенням активності пероксидного окиснення жирнокислотних залишків мембранних фосфоліпідів [11].

Пізній період розвитку пневмонії, який включав 10-ту добу експерименту, характеризувався деякими особливостями. Зокрема, ЕП на 10-ту

Таблиця 1 – Динаміка активності дієнових кон'югатів та маленового діальдегіду в легенях морських свинок за умови формування експериментальної пневмонії на 6-ту і 10-ту доби ($M \pm m$, $n=36$)

| Форма досліджу | Тривалість досліджу, доба | Кількість тварин | ДК, нмоль/мл (г) | МДА, нмоль/мл (г) |
|-----------------------------|---------------------------|------------------|------------------|-------------------|
| Інтактні тварини (контроль) | – | 12 | 13,7 \pm 0,7 | 22,8 \pm 0,8 |
| Морські свинки з ЕП | 6 | 12 | 18,47 \pm 0,4* | 26,3 \pm 1,0* |
| | 10 | 12 | 21,08 \pm 0,8* | 31,33 \pm 1,2* |

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Динаміка активності каталази та супероксиддисмутази в легенях морських свинок за умови формування експериментальної пневмонії на 6-ту і 10-ту доби ($M \pm m$, $n=36$)

| Форма досліду | Тривалість досліду, доба | Кількість тварин | КТ, МО/мл (г) | СОД, ум. од./мл (г) |
|-----------------------------|--------------------------|------------------|---------------|---------------------|
| Інтактні тварини (контроль) | – | 12 | 47,1±2,9 | 127,6±3,4 |
| Морські свинки з ЕП | 6 | 12 | 53,08±2,8 | 141,1±3,6* |
| | 10 | 12 | 39,54±1,8* | 100,32±2,9* |

доду супроводжувалася ще більшим зростанням ДК на 53,86 % ($p < 0,05$) і МДА на 37,4 % ($p < 0,05$) (табл. 1) та помітним зниженням активності в легеневій тканині ферментів АОС, а саме: СОД – на 21,37 % ($p < 0,05$), КТ – на 16,0 % ($p < 0,05$) порівняно з інтактними морськими свинками (табл. 2). Отримані дані вказували на те, що процеси ліпопероксидації на 10-ту добу ЕП продовжували зростати, а система антиоксидантного захисту була недостатньою для утилізації продуктів ПОЛ.

ВИСНОВКИ. Результати біохімічних досліджень оксидантної та антиоксидантної систем показали виражені зміни в пізній період експериментальної пневмонії з перевагою механізмів ушкодження над механізмами захисту, які проявлялися поступовим інтенсивним зростанням продуктів ПОЛ у легенях. Динаміка активності антиоксидантної системи характеризується зни-

женням усіх досліджуваних показників у пізній період експериментальної пневмонії, що свідчить про пригнічення активності окисно-відновних процесів у легенях, які впливають на виведення ДК та МДА і підтримання активності вільнорадикальних реакцій, а також на мобілізацію та утилізацію енергетичних ресурсів.

Одержані нами результати біохімічних досліджень дозволяють висловити думку про те, що одним з основних механізмів розвитку ЕП є виснаження антиоксидантної системи, що проявляється посиленням синтезу вільних радикалів і, як наслідок, порушенням клітинного гомеостазу та розвитком оксидантного стресу.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується вивчення особливостей зміни показників ліпопероксидації та активності ферментів антиоксидантного захисту в слизовій пародонта за умов експериментальної пневмонії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Окороков А. Н. Диагностика болезней внутренних органов / А. Н. Окороков. – М. : Мед. лит., 2001. – Т. 3 : Диагностика болезней органов дыхания. – 464 с.
2. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов биологических мембран / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – 259 с.
3. Регада М. С. Пневмония : монографія / М. С. Регада. – 3-тє вид. – Львів : Сполом, 2005. – 138 с.
4. Гудима А. А. Дослідження процесів вільнорадикального окиснення при гострому ураженні легень / А. А. Гудима // Бюл. Х читань ім. В. В. Підвисоцького. – Одеса, 2011. – С. 42–43.
5. Регада М. С. Запальні хвороби легень та бронхів : монографія / М. С. Регада. – Львів, 2008. – 206 с.
6. Экспериментальные модели острых пневмоний, вызванных условно-патологическими бактериями и их ассоциацией : метод. указания / В. Н. Шляпников, Т. Л. Солодова, С. А. Степанов [и др.]. – Саратов, 1988. – 30 с.
7. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – К. : Здоров'я, 1989. – С. 170–171.
8. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.
9. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilii / R. Fried // Biochemie. – 1975. – 57, № 5. – P. 657–660.
10. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes, C. Masters // FEBS Lett. – 1970. – 11, No. 1. – P. 45–48.
11. Процеси ліпопероксидації та стан АО системи в міокарді щурів за умов інтоксикації антрацикліновими антибіотиками / І. В. Ніженковська, О. І. Ніженковський, В. В. Вільчинська [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. – 2012. – № 2. – С. 724–727.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЛЕГКИХ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

Резюме

Как известно, в патогенезе воспалительных реакций, в том числе пневмонии, значительную роль играет нарушение окислительно-восстановительных процессов за счет роста свободных радикалов кислорода.

Целью данной работы было изучить состояние оксидантной и антиоксидантной систем в легких морских свинок в разные периоды формирования экспериментальной пневмонии (ЭП).

Исследования проводили на 36 морских свинках (самцах) массой 180–220 г, разделенных на 3 группы по 12 животных в каждой: 1-я группа – интактные морские свинки (контроль); 2-я – морские свинки с ЭП на 6-е сутки; 3-я – морские свинки с ЭП на 10-е сутки. Воспроизводили ЭП путем интраназального введения животным культуры *Staphylococcus aureus* по методу В. Н. Шляпникова и др. В легочной ткани определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК) по методу В. Б. Гаврилова, М. И. Мишкорудной, малоннового диальдегида (МДА) – по методу Э. Н. Коробейниковой, активность супероксиддисмутазы (СОД) – по методу R. Fried, каталазы (КТ) – по методу R. Holmes, С. Masters.

В ранний период ЭП отмечали умеренный рост содержания ДК на 34,8 % и незначительное увеличение МДА на 15,3 %, повышение активности СОД только на 10,57 % и достоверное увеличение КТ на 12,69 % по сравнению с группой контроля, в поздний – дальнейший рост ДК на 53,86 % и МДА на 37,4 %, снижение активности СОД на 21,37 % и КТ на 16,0 % по сравнению с контролем.

Результаты наших биохимических исследований показали нарушения процессов липопероксидации и состояния антиоксидантной защиты в легочной ткани в разные периоды формирования ЭП.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальная пневмония, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система.

O. O. Chuhay, L. A. Liubinetz
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

FEATURES INDICATORS OF LIPID PEROXIDATION AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN THE LUNGS IN DIFFERENT PERIODS OF EXPERIMENTAL PNEUMONIA

Summary

Violations of redox processes play a significant role in the pathogenesis of inflammatory due to the increase of oxygen free radicals.

The aim of the work was to study oxidant and antioxidant systems in the lungs of guinea pigs in different periods of the formation of experimental pneumonia.

The study was carried out on 36 guinea pigs (male) weighing 180–220 grams, divided into 3 groups of 12 animals. I group – intact guinea pigs (control); II group – with the EP on the 6th day; III group – with EP on the 10th day. EP was reproduced by intranasal administration to animals *Staphylococcus aureus* culture according to V. N. Shlyapnyko and conduthors method. In lung tissue there was determined the content of diene conjugates (DC) V. B. Havrylova, M. I. Myshkorudna method, malondialdehyde (MDA) – there was E. N. Korobeynikov method, superoxide dismutase (SOD) – R. Fried method, catalase (CT) – R. Holmes and C. Masters method.

The early period of EP: moderate growth of content DC at 34.8 % and a slight increase of content MDA at 15.3 %, increase SOD activity only at 10.57 % and the likely increase of CT at 12.69 % compared to control group. Late period of EP: further growth DC at 53.86 % and MDA at 37.4 %, SOD activity decrease at 21.37 % and CT at 16.0 % compared with the control.

The results of our biochemical studies revealed disruption of lipid peroxidation and antioxidant status in lung tissue at different periods of the formation of the experimental pneumonia.

KEY WORDS: experimental pneumonia, POL, antioxidant system.

Отримано 21.10.16

Адреса для листування: О. О. Чугай, вул. Зарицьких, 2/1, Львів, 79011, e-mail: olhachuhay1@gmail.com.