

РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИРАДИКАЛЬНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРІАЛЬНОГО КЕРАТИТУ НА ТЛІ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ І ПНЕВМОНІЇ

У роботі наведено порівняльну характеристику результатів досліджень процесів пероксидного окиснення ліпідів та оцінку функціонального стану системи антиоксидантного захисту на 1-шу, 14-ту і 21-шу доби розвитку експериментального бактеріального кератиту на тлі бронхіальної астми та пневмонії з наступною депресією антиоксидантної системи, що свідчить про порушення про- й антиоксидантних процесів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бактеріальний кератит, бронхіальна астма, пневмонія, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати, супероксиддисмутаза, каталаза.

ВСТУП. Відомо, що вільні радикали (ВР) відіграють важливу роль у підтриманні транспорту електронів у дихальному ланцюзі, індукції утворення пор у мітохондріальній мембрані, які регулюють спряження дихання з окисним фосфорилуванням і лежать в основі окисних процесів у мітохондріях. Окисні процеси з участю активованих кисневих метаболітів – невід'ємна частина існування живих організмів. Вони виконують функцію між- і внутрішньоклітинних месенджерів, модуляторів та індукторів у біохімічній регуляції й реалізації метаболічних процесів, є найбільш мобільною ланкою в адаптаційній перебудові організму при екстремальних впливах [17].

Установлено, що при екстремальних впливах в організмі активуються окисно-відновні процеси, які призводять до утворення ліпо- і гідропероксидів, подальше розкладання яких сприяє утворенню ендогенного кисню, необхідного для життєдіяльності. Подвійна властивість активованих кисневих метаболітів припускає, що у фізіологічних умовах існує деяка рівновага між продукуванням ВР та їх нейтралізацією, а також різні механізми її підтримки.

Швидкість вільнорадикального окиснення (ВРО) в органах і тканинах підтримується на певному рівні. При стресі та різних патологічних станах ВРО є неспецифічною ланкою патогенезу багатьох захворювань [8].

© Б. Б. Кравець, М. С. Регада, 2015.

Слід підкреслити, що зміна ВРО звичайно передуює появі клінічних симптомів пошкодження, а також порушує структурно-функціональну організацію біомембран і є одним із провідних механізмів пошкодження клітини [10]. Синдром пероксидації – патогенетичний фактор при низці хронічних захворювань [5]. Найбільш активно ВРО перебігає в ліпідах. Це вільнорадикальні молекули ненасичених гліцеридів і жирних кислот цитоплазми клітин, плазми крові й лімфи, які є токсичними, викликають катаболічні процеси [11].

Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) – один із важливих окисних процесів у тваринних організмах.

Певну роль у розвитку патології відіграють проміжні та кінцеві продукти пероксидного окиснення, які мають цитотоксичні й мутагенні ефекти [2–4, 13]. Внаслідок цього процесу зі стабільних молекул ліпідів утворюються радикали, які піддаються поступовому руйнуванню.

У фізіологічних умовах існує рівновага між продукуванням ВР та їх нейтралізацією, а також різні механізми її підтримки. Стаціонарний рівень ВРО і ПОЛ в організмі підтримується завдяки активності ферментних і неферментних антиоксидантних систем. Остання включає антиоксиданти, локалізовані як у гідрофобному мембранному (токоферол), так і гідрофільному внутрішньоклітинному й неклітинному середовищі (тіолові сполуки, селенові похідні, система

глутатіону), а також три основні групи ферментів (антирадикальний фермент супероксиддисмутаза (СОД), антипероксидний фермент каталаза й головний сироватковий антиоксидант – фермент церулоплазмін) [16].

Початкові стадії процесу ПОЛ контролюються супероксиддисмутазою, яка дезактивує супероксидний радикал і, відповідно, зменшує загальний токсичний ефект активних форм кисню (АФК) [7]. Пероксид водню, що утворюється при дисмутації супероксидного аніона, розкладається каталазою. Гідропероксиди ліпідів відновлюються глутатіонпероксидазою і глутатіонтрансферазою.

Зсув антиоксидантного захисту викликає посилення ПОЛ. Це супроводжується зміною конформації ліпідів, що призводить до порушення структурних і функціональних властивостей біологічних мембран, підвищення їх лабільності й проникності, розбалансування ферментних систем мембран, порушення електронних транспортних ланцюгів мітохондрій [15].

Тісно пов'язані з виділенням АФК процеси ПОЛ спричиняють пошкодження клітинних мембран, посилюють їх проникність, потенціюють запалення бронхів, викликають гіперкоагуляцію. У результаті дії ВР окисненню піддаються всі молекули, але найбільшу небезпеку становить окиснення ненасичених ліпідів – ПОЛ [14].

Метою цього дослідження було з'ясувати стан про- та антиоксидантної систем крові морських свинок при експериментальному бактеріальному кератиті (БК) на тлі бронхіальної астми (БА) і пневмонії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на морських свинках-самцях масою тіла 0,35–0,40 кг, поділених на чотири групи по 10 тварин у кожній: 1-ша – інтактні морські свинки (контроль); 2-га – 1-ша доба експерименту; 3-тя – 14-та доба розвитку експериментального захворювання; 4-та – 21-ша доба модельного процесу. Всіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Дослідження проводили, дотримуючись науково-практичних рекомендацій щодо утримання лабораторних тварин і роботи з ними та положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Стан вільнорадикального окиснення ліпідів у бронхах визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) за методом В. Б. Гаврилова,

М. І. Мишкорудної (1989) [6] і малонового діальдегіду (МДА) за методом Є. Н. Коробейникова (1989) [12]. Ступінь активності антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом ферментів – супероксиддисмутази за методом R. Fried (1975) [20], каталази за методом R. Holmes, C. Masters (1970) [21].

Експериментальну модель БА відтворювали на морських свинках за методом В. І. Бабича (1979) [1]. Експериментальну пневмонію моделювали за методом В. Н. Шляпникова, Т. Л. Солодової, С. А. Степанова та ін. (1988) [18]. Експериментальний бактеріальний кератит моделювали за методикою О. П. Сотникової та ін. (2010) [19]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Надлишкове неферментне вільнорадикальне окиснення ліпідів у тканинах тваринного організму призводить до характерних змін – синдрому пероксидації, який включає деструкцію мембран, інактивацію і трансформацію ферментів, порушення процесів поділу клітин.

Зростання інтенсивності ПОЛ за умов розвитку тканинної гіпоксії є одним із вагомих факторів патогенезу бронхіальної астми. При цьому захворюванні порушуються окисно-відновні процеси, що, у свою чергу, спричинює зміни метаболізму кисню, утворення активних його форм. Останні можуть відігравати роль у формуванні автоімунного процесу, оскільки одна з АФК – пероксид водню – є відносно стійкою, здатною до тривалої дифузії та окисної модифікації ендogenous макромолекул, що викликає появу тканинних структур із властивостями автоантигенів.

Посилення продукування АФК, особливо за умов виснаження антиоксидантного захисту, що характерно для хворих з легеневою патологією, пов'язане також із приєднанням вірусної та бактеріальної інфекцій.

Як свідчать результати досліджень процесу вільнорадикального окиснення, ранній період (1-ша доба) розвитку БК, БА і пневмонії характеризувався зростанням рівня в крові експериментальних тварин дієнових кон'югатів на 37,54 % ($p < 0,05$) проти контролю (табл.). Пізніше, на 14-ту і 21-шу доби формування цих експериментальних моделей хвороб, відбувалося подальше підвищення вмісту ДК – на 85,04 і 103,23 % відповідно ($p < 0,05$) порівняно з інтактними тваринами (табл.), що вказувало на інтенсифікацію процесів пероксидного окиснення ліпідів, яке було найбільш виражене в пізній період захворювання.

Таблиця – Результати темпу зростання показників у крові тварин (%)

Показник	Порівняно з контролем		
	1-ша доба	14-та доба	21-ша доба
ДК	37,54	85,04	103,23
МДА	24,10	70,40	75,69
СОД	26,31	49,75	-33,87
Каталаза	20,87	61,78	-41,17

У ході аналізу рівня МДА як маркера інтенсифікації процесів ПОЛ у крові експериментальних тварин встановлено, що цей показник зростає на 24,10 % ($p < 0,05$), 70,40 % ($p < 0,05$) та 75,69 % ($p < 0,05$), відповідно, на 1-шу, 14-ту і 21-шу доби порівняно з групою здорових морських свинок (табл.).

Отже, дослідження як первинних, так і кінцевих продуктів ПОЛ у динаміці розвитку БА дозволило констатувати надмірне їх утворення, яке було найвищим у пізній термін (21-ша доба) спостереження.

Процеси вільнорадикального окиснення гальмує у клітині антиоксидантна система захисту, яка включає антиоксиданти ПОЛ на стадії ініціювання утворення вільних радикалів (токофероли, поліфеноли) або продукування активних форм кисню – ферментна система захисту. За умов нормального обміну СОД підтримує стаціонарну концентрацію супероксидних радикалів на певному рівні, захищаючи цим самим клітинну структуру як від шкідливої дії радикалів кисню, так і від появи гідроксильних радикалів [15].

У літературі значну роль у розвитку запальних процесів відводять супероксидним радикалам, тому велику увагу приділяють вивченню зміни активності СОД при деяких захворюваннях, таких, як БА, пневмонія, гемолітична анемія, ішемія, низці неврологічних захворювань [9].

На фоні БК, БА та пневмонії відбулася стимуляція оксидативних реакцій, що спричинювало порушення параметрів антиоксидантної системи крові. Встановлено, що активність СОД підвищилася на 26,31 % ($p < 0,05$), а каталази – на 20,87 % ($p < 0,05$) на 1-шу добу відносно 1-ї групи експериментальних тварин

(табл.). Однак пізніше, на 14-ту добу, спостерігали подальше зростання активності СОД на 49,75 % і каталази на 61,78 % ($p < 0,05$) (табл.). У пізній термін, на 21-шу добу формування експериментальних моделей хвороб, відзначали зниження активності СОД на 33,87 % і каталази на 41,17 % ($p < 0,05$) проти контролю (табл.), що свідчило про виснаження активності антиоксидантної системи.

Отримані результати вказують на порушення рівноваги між прооксидантною та антиоксидантною системами крові в період розвитку БК, БА і пневмонії.

ВИСНОВКИ. При БК, БА та пневмонії включаються механізми як ПОЛ, так і антиоксидантного захисту.

Порушення процесів пероксидного окиснення ліпідів відіграє важливу роль у розвитку бактеріального кератиту, ускладненого бронхіальною астмою та пневмонією. Основні показники інтенсивності й динаміки ВРО в живих системах – це продукти ВРО, що є каталізаторами даного процесу, і стан антиоксидантної системи. Таким чином, процеси пероксидного окиснення ліпідів розглядають як один із важливих механізмів виникнення клітинної патології, яка лежить в основі багатьох негативних ефектів.

Перспективи подальших досліджень. Визначення продуктів ПОЛ та антиоксидантного захисту крові може слугувати додатковим критерієм діагностики запального стану при БК, БА і пневмонії, тому доцільним є вивчення цих показників у процесі лікування. Своєчасна діагностика та корекція порушень ПОЛ сприяють попередженню прогресування запального процесу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабич В. И. Модификация метода экспериментальной модели бронхиальной астмы у морских свинок / В. И. Бабич // Проблемы патологии в эксперименте и клинике. – Львов, 1979. – Т. 3. – С. 159.

2. Білоус Т. М. Показники місцевого запалення дихальних шляхів у дітей із астма-фенотипом різного початку / Т. М. Білоус // Клініч. та експерим. патологія. – 2012. – 11, № 3. – С. 11–14.

3. Владимиров Ю. А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю. А. Владимиров // Биохимия. – 2004. – **69**, вып. 1. – С. 53–66.
4. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю. А. Владимиров // Вестн. РАМН. – 1998. – № 7. – С. 3–51.
5. Вознесенский О. Н. Биоантиоксиданты – облигативные факторы питания / О. Н. Вознесенский, В. Н. Бобырев // Вопр. мед. хим. – 1992. – № 2. – С. 21–25.
6. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – К.: Здоровье, 1989. – С. 170–171.
7. Говта Л. Загальний механізм патології / Л. Говта // Медико-біологічні студії екосистем: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. – 2008. – Т. 20. – С. 25–31.
8. Гончарук Є. Г. Вільнорадикальне окиснення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля (огляд літератури та власних досліджень) / Є. Г. Гончарук, М. М. Коршун // Журн. АМН України. – 2004. – **10**, № 1. – С. 131–150.
9. Дитятковська Є. М. Стан перекисного окиснення ліпідів у хворих на поліноз / Є. М. Дитятковська // Ринологія. – 2011. – № 3. – С. 11–16.
10. Зинчук В. В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма / В. В. Зинчук, М. В. Борисюк // Усп. физиол. наук. – 1999. – **30**, № 3. – С. 38–48.
11. Кожевников Ю. Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии (обзор) / Ю. Н. Кожевников // Вопр. мед. химии. – 1985. – № 1. – С. 2–7.
12. Коробейникова Е. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Е. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.
13. Липид-модифицирующий компонент в патогенетической терапии / [А. П. Власов, В. Г. Крылов, Т. В. Тарасова и др.]. – М.: Наука, 2008. – 374 с.
14. Продукты вільнорадикального перекисного окиснення та методи їх ідентифікації (огляд літератури) / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, С. І. Коваленко [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. – № 4. – С. 9–13.
15. Стежка В. А. Сезонні та циркадні ритми взаємопов'язаного фізіологічного функціонування систем вільнорадикального окиснення та ендогенних біоантиоксидантів у людини / В. А. Стежка, О. В. Падакіна // Довкілля та здоров'я. – 1999. – № 1. – С. 213–215.
16. Стежка В. А. Функциональное состояние системы свободнорадикального окисления как патогенетически обоснованный критерий гигиенической оценки воздействия на организм факторов производственной и окружающей среды / В. А. Стежка // Довкілля та здоров'я. – 1999. – № 1. – С. 2–9.
17. Тимочко М. Ф. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль / М. Ф. Тимочко, Л. І. Кобилінська // Мед. хімія. – 1999. – **1**, № 1. – С. 19–25.
18. Экспериментальные модели острых пневмоний, вызванных условно-патогенными бактериями и их ассоциацией: мет. указ. / укл. В. Н. Шляпников, Т. Л. Солодова, С. А. Степанов и др. – Саратов, 1988. – 30 с.
19. Эффективность биопелоидов в лечении экспериментального травматического кератита / Е. П. Сотникова, Г. С. Фесюнова, А. Б. Абрамова [и др.] // Офтальмол. журн. – 2010. – № 4. – С. 55–59.
20. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide radical / R. Fried // Biochemie. – 1975. – **57**, № 5. – P. 657–660.
21. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes, C. Masters // FEBS Lett. – 1970. – **11**, № 1. – P. 45–48.

Б. Б. Кравец, М. С. Регада

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО КЕРАТИТА НА ФОНЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И ПНЕВМОНИИ

Резюме

В работе приведены сравнительная характеристика результатов исследований процессов пероксидного окисления липидов и оценка функционального состояния системы антиоксидантной защиты на 1-е, 14-е и 21-е сутки развития экспериментального бактериального кератита на фоне

бронхиальной астмы и пневмонии с последующей депрессией антиоксидантной защиты, что свидетельствует о нарушении про- и антиоксидантных процессов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бактериальный кератит, бронхиальная астма, пневмония, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, супероксиддисмутаза, каталаза.

B. B. Kravets, M. S. Regeda
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

ROLE OF VIOLATIONS OF PROCESSES OF PEROXIDE LIPIDS OXIDATION AND ANTIRADICAL DEFENCE IN BLOOD IN THE DYNAMICS OF DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL BACTERIAL KERATITIS ON A BACKGROUND OF BRONCHIAL ASTHMA AND PNEUMONIA

Summary

Comparative description over of results of researches of processes is in process brought of peroxide lipids oxidation and estimation of the functional state of the system of the antioxidant securing for 1-th, 14-th and 21-th twenty-four hours of development of experimental bacterial keratitis on a background bronchial asthma and pneumonia with next depression of the antioxidant system that testifies to violation about pro- and antioxidant processes.

KEY WORDS: bacterial keratitis, bronchial asthma, pneumonia, malonic dialdehyde, dienic conyugate, superoxide dismutase, katalase.

Отримано 01.12.14

Адреса для листування: Б. Б. Кравець, вул. Репіна, 5 а/4, Львів, 79014, e-mail: bohdan.kravets@gmail.com.