

ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У БРОНХАХ МОРСЬКИХ СВИНОК У ПІЗНІЙ ПЕРІОД РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

©М. С. Регада, М. А. Колішецька

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

РЕЗЮМЕ. У роботі встановлено значне зростання продуктів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду, особливо виражене на 33 добу експерименту. Виявлено зниження активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази в бронхах морських свинок у пізній період формування експериментальної бронхіальної астми (26 і 33 доби), що свідчить про порушення балансу прооксидантної та антиоксидантної систем, яке проявляється посиленням синтезу вільних радикалів на тлі виснаження компенсаторних реакцій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бронхіальна астма, вільнорадикальне окиснення, антиоксидантна система.

Вступ. В усіх країнах світу, незалежно від рівня їх розвитку, бронхіальна астма (БА) продовжує залишатися серйозною соціальною та медичною проблемою. Основні тенденції наукових досліджень зазначеної патології спрямовані на розробку додаткових діагностичних критеріїв БА, які дозволять своєчасно діагностувати, верифікувати тяжкість та прогнозувати перебіг захворювання, можливість ускладнень [1, 2]. Впродовж останніх років уявлення про патогенез розширилися. Часто в якості першої лінії захисту виступають фактори неспецифічної імунної реактивності, зокрема активні форми кисню (АФК). В організмі постійно утворюються АФК [3, 4], які можуть взаємодіяти з різними біологічними сполуками шляхом вільнорадикальних взаємодій. За впливу екстремальних факторів різного походження (хімічне забруднення, іонізуюче випромінювання, гіпоксія, токсичні речовини, запальні процеси) утворення АФК у живих організмів посилюється [5]. За умов їх надмірної генерації розвивається дисбаланс між про- та антиоксидантними системами – окисний стрес, що зумовлює мембранодеструктивні зміни внаслідок активації вільнорадикального окиснення (ВРО) ліпідів, білків та нуклеїнових кислот [4,]. Окисний стрес тісно пов'язаний з патогенетичними змінами при БА, зумовлюючи зниження активності сурфактанту, порушення функції гладких м'язів та β -адренорецепторів дихальних шляхів, гіперпродукцію слизу, активацію опасистих клітин, підвищену проникність епітелію та ендотелію [7].

Проявом токсичної дії активованих метаболітів кисню є інтенсифікація реакцій ВРО, яке є універсальним механізмом, за допомогою чого контролюються найважливіші гомеостатичні фізіко-хімічні параметри клітини [8]. Інтенсифікація процесів ВРО під дією АФК призводить до посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), окисної модифікації білків (ОМБ), деструкції нуклеїнових кислот.

Як згадувалося вище, пошкоджувальній дії вільних радикалів і пероксидних сполук запобігає антиоксидантна система (АОС). Вивчення механізмів функціонування АОС дає можливість регулювати процеси ПОЛ та ОМБ. Антиоксидантний захист включає високомолекулярні (супероксиддисмутаза (СОД), глутатіонпероксидаза (ГПО) і каталаза (КТ), глутатіонредуктаза (ГР) та глутатіонзалежні трансферази) і низькомолекулярні антиоксиданти (відновлений глутатіон, вітаміни Е, С, А і каротиноїди та ін.) [4, 6]. Загальною властивістю всіх ферментних антиоксидантів є наявність у їхньому складі іонів змінної валентності, які, залежно від умов, виступають як окисник або відновник. СОД є внутрішньоклітинним ферментом, який бере участь у реакціях дисмутації супероксидного аніонрадикала. ГПО каталізує реакцію окиснення глутатіону, пероксиду водню, а також розкладає гідроперокси ліпідів із малим розміром молекул. КТ, як і ГПО, каталізує розщеплення пероксиду водню, який утворюється в результаті дії СОД і органічних гідропероксидів ліпідів [8].

Дезорганізація процесів перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту має важливе значення в патогенезі багатьох захворювань, однак ці взаємозв'язки вивчено недостатньо, що спонукало нас провести дослідження власне такого аспекту роботи.

Не вивченим на сьогодні є питання, які стосуються ПОЛ і АОС в органах дихання, зокрема, при бронхіальній астмі, тому **мета нашого дослідження** – з'ясування стану прооксидантної та антиоксидантної систем в бронхах морських свинок у пізній період формування експериментальної моделі БА.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводили на 60 морських свинок (самцях) масою 180 – 220 г, поділених на 5 груп по 12 тварин у кожній. До I групи (контроль) відносили інтактних морських свинок, до II – тварин з експериментальною БА (5 доба),

до III – морських свинок на 19 добу модельного процесу, до IV – тварин з експериментальною БА (26 доба), до V – мурчаки на 33 добу БА. З метою детального аналізу та інтерпретації показників прооксидантної та антиоксидантної систем у різні доби експерименту виділяли умовно два періоди розвитку експериментальної БА: ранній і пізній. Ранній період включав групу тварин із БА на 5 та 19 доби експерименту, пізній – морські свинки на 26 та 33 доби БА.

Експериментальну модель БА відтворювали на морських свинках за методом В. І. Бабича (1979). Усіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985). Стан ВРО ліпідів у бронхах визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) за методом В. Г. Гаврилова, М. І. Мишкорудної (1989) [9], і малонового діальдегіду (МДА) за методом Е. Н. Коробейникова (1989) [10]. Ступінь активності АОС оцінювали за вмістом ферментів – СОД за методом R. Fried (1975) [11], КТ за методом R. Holmes, C. Masters (1970) [12] та ГПО за методом О. Г. Архиповой (1988) [13]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

Результати й обговорення. Результати біохімічних досліджень свідчать, що у тварин за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми наявні характерні ознаки розвитку оксидантного стресу. Це проявляється значною інтенсивністю окисних реакцій з надмірним накопиченням у бронхах продуктів вільнорадикального окиснення. Так, на 26 добу розвитку цієї патології виявлено підвищення вмісту ДК на 93,8 % ($p \leq 0,05$) проти групи тварин контролю. Пізніше, на 33 добу БА, спостерігалось ще суттєвіше зростання рівня ДК в бронхах на 157,1 % ($p \leq 0,05$) проти I групи мурчаків, що свідчить про стимуляцію процесів перекисного окиснення ліпідів, особливо в пізній період цієї експериментальної моделі хвороби (рис. 1).

Результати досліджень показали, що вміст МДА в бронхах зростав на 74,3 % ($p \leq 0,05$) на 26 добу БА і залишався стабільно високим, на 94% ($p \leq 0,05$) вищим від контрольної групи тварин, що вказує на прискорення процесів ліпопероксидації.

Гіперпродукція вільних радикалів при експериментальній БА зумовлює зрушення системи антиоксидантного захисту. Визначення активності СОД в бронхах у пізній період формування БА виявило поступове зниження її на 23,8 % ($p \leq 0,05$) на 26 і на 30,6 % ($p \leq 0,05$) на 33 доби експерименту,

порівняно з першою групою морських свинок (рис. 2).

Дослідження наступного ферменту АОС – каталази, дало можливість виявити аналогічний напрямок змін, подібних до СОД за умов розвитку БА. Так, на 26 і 33 доби цієї експериментальної моделі хвороби встановлено зниження активності АОС, відповідно, на 31,6 % ($p \leq 0,05$) та на 36,2 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контролем, що вказує на пригнічення антиоксидантного захисту в бронхах за умов розвитку БА (рис. 2).

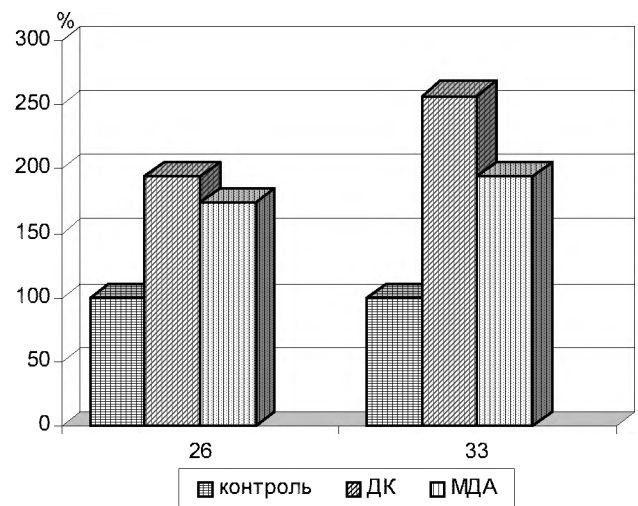


Рис. 1. Вміст продуктів ПОЛ у бронхах морських свинок в динаміці формування БА (% від контролю).

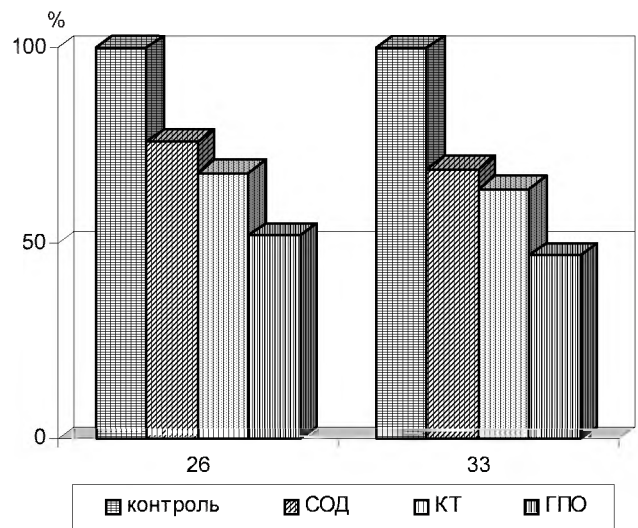


Рис. 2. Активність ферментів АОС у бронхах морських свинок в динаміці формування БА (% від контролю).

Важливим ферментом, який доповнює характеристику інших, є глутатіонпероксидаза. Пізній період формування БА супроводжувався зниженням рівня ГПО проти інтактної групи на 47,5% ($p \leq 0,05$) і на 52,5% ($p \leq 0,05$), відповідно, на 26 і на 33 доби експерименту.

Висновки. Оцінюючи результати проведених біохімічних досліджень показників вільноради-

кального окиснення і антиоксидантного захисту можна зробити висновок про суттєву перевагу активності прооксидантної системи, яка зростає по мірі розвитку патологічного процесу, і, водночас, зниження системи захисту. Встановлено значне зростання продуктів перекисного окиснення ліпідів у бронхах у пізній період формування бронхіальної астми, особливо виражене на 33 добу експерименту. Динаміка активності АОС характеризується зниженням рівня всіх досліджуваних ферментів як на 26, так і на 33 доби експериментальної БА. Таким чином, визначення окремих компонентів прооксидантної та АОС в бронхах в динаміці

розвитку БА дозволило виявити надмірне утворення продуктів ліпопероксидації на тлі депресії ферментативної ланки антиоксидантної системи, особливо у пізній період експерименту, що свідчить про суттєве порушення функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної систем і розвиток оксидативного стресу.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується дослідження впливу фармакологічної корекції на прооксидантну та антиоксидантну системи в бронхах і легенях мурчаків за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми.

ЛІТЕРАТУРА

1. Победьонна Г. П. Деякі маркери загострення бронхіальної астми тяжкого перебігу / Г. П. Победьонна, К. М. Філоненко, С. Ю. Борисова // Астма та алергія. – 2009. – № 1–2. – С. 147.
2. Регада М. С. Бронхіальна астма / М. С. Регада, М. М. Регада, Л. О. Фурдичко, М. А. Колішецька. – Вид. п'яте, доп. та переробл. – Львів, 2012. – 147 с.
3. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Сорос. обр. журнал. – 2000. – № 12. – С. 13–19.
4. Меньшикова Е. Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньшикова. – М.: Слово. – 2006. – 556 с.
5. Гудима А. А. Дослідження процесів вільнорадикального окиснення при гострому ураженні легень / А. А. Гудима // Бюлетень Х читань ім. В. В. Підвисоцького. – Одеса, 2011. – С. 42–43.
6. Packer L. Oxidant and antioxidant revisited. New concept of oxidative stress / L. Packer, E. Cadenas // Free Rad. Research. – 2007. – № 9. – P. 951–952.
7. Patterson A. Asthma: Etiology, pathogenesis and treatment / A. Patterson – 2008. – 166 p.

8. Зинь А. Р. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах / А. Р. Зинь // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2012. – Випуск 60. – С. 21–39.
9. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкуродная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – К.: Здоровье, 1989. – С. 170–171.
10. Коробейникова Е. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуратовой кислотой / Е. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.
11. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifillii / R. Fried // Biochemie. – 1975. – Vol. 57, № 5. – P. 657–660.
12. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes // FEBS Lett. – 1970. – Vol. 11, № 1. – P. 45–48.
13. Определение активности пероксидазы в крови. Методы исследования в профпатологии; под. ред. О. Г. Архиповой. – М.: Медицина, 1988. – С. 153.

DISTURBANCES OF FUNCTIONAL STATE OF PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN THE BRONCHI OF GUINEA PIGS IN THE LATE PERIOD OF DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL BRONCHIAL ASTHMA

©M. S. Reheda, M. A. Kolishetska

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

SUMMARY. Significant increasing of lipid peroxidations products - malonic dialdehyde, diene conjugates was determined in this research, especially expressed on the 33th day of experiment. Decreasing of the indices of superoxidodismutase, glutationperoxidase and catalase was investigated in the bronchi of guinea pigs in the late period of formation of experimental bronchial asthma (26th and 33th days), which testifies about imbalance in antioxidant and prooxydant systems in pathogenesis of bronchial asthma development. It shows up increasing of free radicals synthesis on base of exhaustion of compensatory reactions.

KEY WORDS: bronchial asthma, free radical oxidation, antioxidant system.

Отримано 04.04.2014