



УДК 616.36-092-06.616.245

М. С. Регеда, Н. М. Небелюк

ЗНАЧЕННЯ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ДЛЯ ПАТОГЕНЕЗУ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ ТА АДРЕНАЛІНОВОГО УШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
Львів, Україна

УДК 616.36-092-06.616.245

М. С. Регеда, Н. М. Небелюк

ЗНАЧЕНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ДЛЯ ПАТОГЕНЕЗА РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И АДРЕ- НАЛИНОВОГО ПОРАЖЕНИЯ МИОКАРДА

*Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Львов,
Украина*

В работе изучалась роль процессов пероксидного окисления липидов (ПОЛ) и состояние системы антиоксидантной защиты в легких морских свинок при экспериментальной бронхиальной астме (ЭБА) в сочетании с адреналиновым повреждением миокарда (АПМ). Анализы проводились на 1, 4, 18 и 25-е сутки. Результаты исследований показали, что на всех этапах развития ЭБА с АПМ возрастает содержание продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов и малонового диальдегида), в то же время на 1-е и 4-е сутки увеличивается активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионредуктазы в легких с последующим снижением их на 18-е и 25-е сутки.

Ключевые слова: пероксидное окисление липидов, антиоксидантная защита, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, супероксиддисмутазы, каталаза, глутатионредуктаза.

UDC 616.36-092-06.616.245

M. S. Reheda, N. M. Nebelyuk

ROLE OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION FOR PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL ASTHMA DEVELOPMENT IN COMBINATION WITH ADRENALINE MYOCARDIAL DAMAGE

Danylo Halytskyi National Medical University, Lviv, Ukraine

The paper examined the role of lipid peroxidation (LP) and antioxidant protection in the lungs of guinea pigs in experimental asthma (EA) in combination with adrenaline myocardial damage (AMD). Researches were performed on the 1st, 4th, 18th and 25th day. The results showed that at all stages of the development of EA with AMD there increased lipid peroxidation products level (diene conjugates and malondialdehyde), while at the same time on the 1st and 4th day increases the activity of superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase in the lungs, followed by reduction in their on the 18th and 25th day.

Key words: malondialdehyde, diene conjugates, superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase.



Вступ

Бронхіальна астма (БА) належить до досить розповсюджених захворювань бронхолегеневого апарату. Питома вага БА становить від 0,6 до 2 % від усієї патології органів дихання, у різних країнах на неї хворіють від 1 до 10 % жителів, а загалом у світі — не менше 2 % усього населення [1; 2].

Серцево-судинні захворювання і надалі залишаються однією з найвагоміших та найпоширеніших проблем у медицині [3]. Причина цього — велика кількість стресів різного походження, які викликають порушення адаптації, розвиток функціональних і структурних змін в організмі, що врешті призводять до некротичного ушкодження міокарда. Стрес супроводжується виділенням у кров значної кількості катехоламінів і спричинює розвиток гіперадреналемії. Переважно рівень адреналіну зростає у крові й міокарді за умов його ішемії та гіпоксії, що відіграє провідну роль у розвитку ішемічної хвороби серця, яка сьогодні дуже розповсюджена. Шкідлива дія стресу на міокард пов'язана з багатьма ефектами адреналіну: активацією процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), нагромадженням іонів кальцію, пригніченням захисних сил організму [4].

Проблема патогенезу, ранньої діагностики та лікування БА ще остаточно не вивчена, вона і досі є одним із серйозних питань сучасної медицини. Незважаючи на тривале вивчення, серйозні витрати на дослідження, участь провідних спеціалістів світу, методи профілактики та лікування захворювань серцево-судинної системи, а також реабілітація па-

цієнтів залишаються недосконалими, хоча уже досягнуто певних успіхів і серйозних результатів.

Тому **метою** нашого дослідження було з'ясувати роль процесів ПОЛ і стану антиоксидантної системи (АОС) в легенях у патогенетичних механізмах розвитку експериментальної БА (ЕБА) у поєднанні з адреналіновим ушкодженням міокарда (АУМ) на різних етапах (1-ша, 4-та, 18-та і 25-та доба) та встановити взаємозв'язок показників ліпопероксидації — дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) й антиоксидантного захисту — супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ) і глутатіонредуктази (ГР).

Матеріали та методи дослідження

Дослідження було проведено на 45 морських свинках, яких розподілено на 5 дослідних груп, по 9 тварин у кожній:

1-ша група — інтактні тварини (контроль);

2-га група — ЕБА й АУМ на 1-шу добу;

3-тя група — ЕБА й АУМ на 4-ту добу;

4-та група — ЕБА й АУМ на 18-ту добу;

5-та група — ЕБА й АУМ на 25-ту добу.

З метою раціональної інтерпретації одержаних цифрових даних умовно виділяли два періоди експерименту: ранній і пізній. Ранній період включав груп дослідження тварин на 1-шу і 4-ту добу формування ЕБА й АУМ, а пізній — на 18-ту і 25-ту добу експериментальних моделей хвороб.

Експериментальну БА відтворювали за методикою В. І. Бабича [5]. Попередньо тварин одноразово сенсibiliзували нормальною кінською сироват-

кою (НКС) — 0,1 мл внутрішньоочередовинно. Наступні 3 дні підряд вводили підшкірно 0,1 мл НКС із вбитою в автоклаві БЦЖ (на 1 мг БЦЖ — 1,0 мл НКС). Наступні 14 днів щодня протягом 30 хв у щільно закритій камері за допомогою розпилювача морські свинки піддавалися інгаляції НКС по 1,0 мл на кожну тварину. Ще одна інгаляція проводилася через 7 днів, що призводило до виникнення у піддослідних нападу БА.

Гостре АУМ моделювали шляхом одноразового внутрішньоочередовинного введення 0,18 % адреналіну гідротартрату («Дарниця», Україна) з розрахунку 1 мг/кг за методом О. О. Маркової [6].

Тварин декапітували на 1-шу, 4-ту, 18-ту і 25-ту добу розвитку ЕБА та розвитку ЕБА з АУМ і визначали у легенях вміст продуктів ПОЛ та ферментів АОС. Вміст ДК визначали за методом В. Б. Гаврилова, М. І. Мишкорудної [7], МДА — за методом Е. Н. Коробейникової [8], активність СОД — за методом R. Fried [9], КТ — за методом R. Holmes [10], ГР — за методом В. М. Моїна [11].

Опрацювання одержаних результатів здійснювали за t-критерієм Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати біохімічних досліджень виявили зрушення процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантного захисту у легенях у різні періоди формування ЕБА й АУМ.

Для порівняння наводяться дані, отримані при попередньому дослідженні з відтворення експериментальної моделі БА за тією ж методикою у ті ж періоди.

На 1-шу добу розвитку ЕБА з АУМ відбулося помірне



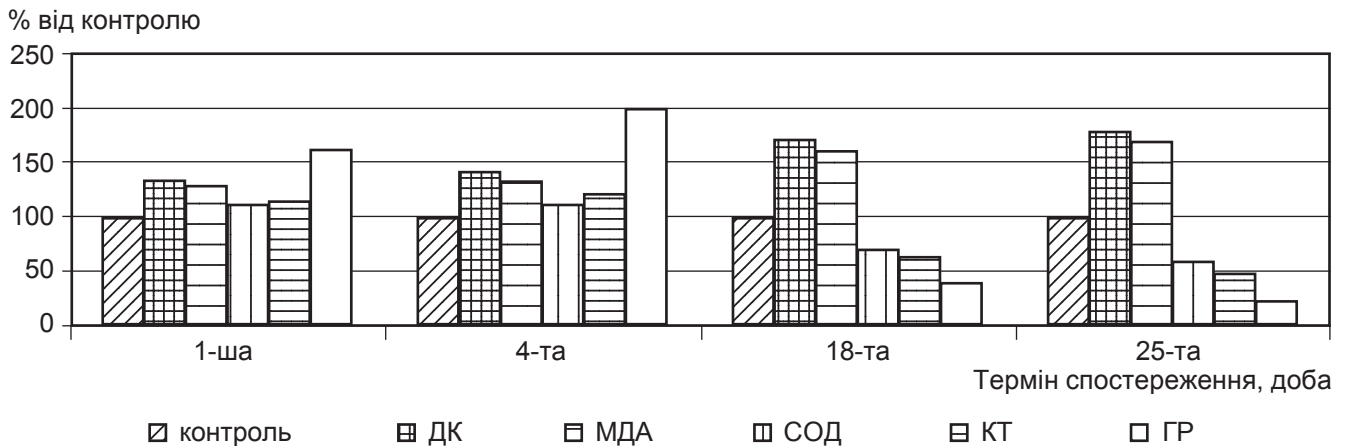


Рис. 1. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів і стан антиоксидантної системи у легенях у динаміці розвитку експериментальної бронхіальної астми й адреналінового ушкодження міокарда

зростання ДК — на 35,3 % ($p < 0,05$) і МДА — на 28,6 % ($p < 0,05$), підвищення активності СОД — на 10,8 % ($p < 0,05$), КТ — на 14,8 % ($p < 0,05$), а також ГР — на 61,1 % ($p < 0,05$) у легенях порівняно з контролем (рис. 1).

На 1-шу добу ЕБА спостерігалось незначне зростання вмісту ДК — на 19,8 % ($p < 0,05$) і МДА — на 12,3 % ($p < 0,05$), а також активності КТ — на 6 % ($p < 0,05$) і ГР — на 33,3 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем, результат визначення активності СОД виявився недостовірним.

Такі показники свідчать про надмірне нагромадження продуктів ліпопероксидації та компенсаторну реакцію з боку АОС.

Дослідження цих показників на 4-ту добу формування ЕБА й АПМ показало подальше зростання: концентрації ДК — на 42,7 % ($p < 0,05$), МДА — на 33,9 % ($p < 0,05$), а також підвищилась активність СОД — на 11,9 % ($p < 0,05$), КТ — на 21,1 % ($p < 0,05$) і ГР — на 100 % ($p < 0,05$) у легенях порівняно з групою тварин (див. рис. 1).

При ЕБА на 4-ту добу було меншим підвищення концентрації ДК — на 20,6 % ($p < 0,05$) і МДА — на 15,4 % ($p < 0,05$), а

також підвищення активності СОД — на 8,5 % ($p < 0,05$), КТ — на 12,7 % ($p < 0,05$) і ГР — на 61,1 % ($p < 0,05$) у легенях порівняно з 1-ю групою тварин.

На пізніх етапах розвитку ЕБА з АУМ, на 18-ту і 25-ту добу експерименту, тенденція динаміки показників змінилась. На 18-ту при ЕБА й АУМ відбулося ще більше зростання вмісту ДК — на 71,3 % ($p < 0,05$), МДА — на 59,5 % ($p < 0,05$). Водночас спостерігалось помітне зниження активності СОД, КТ і ГР відповідно на 29,2, 35,1 і 61,1 % ($p < 0,05$; див. рис. 1).

Динаміка при ЕБА на 18-ту добу була такою ж, але показники були меншими: зростання ДК — на 27,2 % ($p < 0,05$), МДА — на 24,7 % ($p < 0,05$), зниження СОД — на 11,3 % ($p < 0,05$), КТ — на 12,7 % ($p < 0,05$), ГР — на 38,9 % ($p < 0,05$).

Це дає змогу зробити висновки, що процеси ПОЛ на 18-ту добу ЕБА та ЕБА з АУМ зростають, а система антиоксидантного захисту є недостатньо активною для утилізації продуктів ліпопероксидації.

Зміни такого ж характеру виникли і на 25-ту добу експерименту, але були більше ви-

раженими. У цьому періоді відбувалося найінтенсивніше утворення продуктів ПОЛ: рівень ДК зростав на 78,7 % ($p < 0,05$) і МДА — на 68,7 % ($p < 0,05$) при ЕБА з АУМ, на фоні неспроможності АОС знижувалась активність СОД на 40,3 % ($p < 0,05$), КТ — на 52 % ($p < 0,05$) і ГР — на 77,8 % ($p < 0,05$; див. рис. 1).

При ЕБА на 25-ту добу все відбувалося як при ЕБА з АУМ, але з меншими показниками: зростання ДК та МДА на 50 і 29,5 % ($p < 0,05$) відповідно, зниження СОД, КТ, ГР на 15, 26,2 і 50 % ($p < 0,05$) відповідно.

Висновки

Проведені біохімічні дослідження показників ПОЛ і АОС у різних груп тварин (інтактних, з ЕБА, з ЕБА й АУМ у динаміці їх розвитку) довели, що на всіх етапах їх формування відбувається послідовне надмірне утворення продуктів ліпопероксидації, яке характеризується компенсаторним підвищенням активності СОД, КТ і ГР (1-ша і 4-та доба) у легенях на початковому стані з подальшим їх суттєвим зниженням (18-та і 25-та доба), що вказує на переважання механізмів ушко-



дження над механізмами захисту й участь процесів ПОЛ і роль стану АОС у патогенезі ЕБА з АУМ.

Порівняння динаміки показників у легневих тканинах, отриманих у тварин тільки з ЕБА та у тварин інших груп із поєднанням ЕБА й АУМ вказує на те, що за умов двох патологій водночас спостерігається значно тяжчий для організму перебіг захворювань, незважаючи на те, що уражені різні системи, а також набагато вираженіше домінування процесів ушкодження над механізмами захисту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Регада М. С. Бронхіальна астма : монографія / М. С. Регада. – 5-те вид. – Львів, 2012. – 141 с.
2. Регада М. С. Алергічні захворювання легенів : монографія / М. С. Регада. – Львів, 2009. – С. 168–324.
3. Коваленко В. М. Міокардит: сучасні аспекти патогенезу та діагностики / В. М. Коваленко // Український ревматологічний журнал. – 2001. – № 1. – С. 18–22.
4. Сусла О. Б. Вікові зміни метаболізму в серцевому м'язі щурів у динаміці розвитку адреналінової міокардіодистрофії / О. Б. Сусла // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 1. – С. 41–47.
5. Бабич В. І. Модифікація метода експериментальної моделі бронхіальної астми у морських свинок / В. І. Бабич // Проблеми патології в експерименті і клініці. – Львов, 1979. – Т. 3. – С. 159.
6. Маркова О. О. Міокардіодистрофія і реактивність організму / О. О. Маркова. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. – 152 с.
7. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме / 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 // Лабораторное дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.

9. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilii / R. Fried // Biochemie. – 1975. – Vol. 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. – Vol. 11, № 1. – P. 45–48.

11. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионредуктазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.

12. Донич С. Г. Прогнозування періодів перебігу бронхіальної астми : метод. рекомендації / С. Г. Донич, С. С. Солдатченко, Й. П. Ігнатоніс. – Ялта, 2009. – 20 с.

13. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2003. – Т. 22, № 2. – С. 108–109.

REFERENCES

1. Reheda M.S. Asthma. Monografia. 5-th ed. Lviv, 2012. 141 p.
2. Reheda M.S. Allergic lung disease. Monografia. Lviv, 2009: 168-324.
3. Kovalenko V.M. Myocarditis: Modern aspects of pathogenesis and diagnosis. *Ukrainskyi revmatologichnyi zhurnal* 2001; 1: 18-22.
4. Susla O.B. Age-related metabolism changes in the rat's heart muscle in dynamics of adrenal myocardiodystrophy development. *Medychna khimiya* 2004; 6 (1): 41-47.
5. Babich V.I. Modification of the method of experimental model of asthma in guinea pigs. *Problemy patologii v experimente i klinike*. Lviv, 1979; 3: 159.
6. Markova O.O. Myocardiodystrophy and organism reactivity. Ternopil : Ukrmedknyha, 1998, 152 p.
7. Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I. The spectrophotometric determination of the content of lipid hydroperoxide in plasma. *Laboratornaya diagnostika ishemicheskoi bolezni serdtsa*. Kyiv, Zdorovya, 1989: 170-171.
8. Korobeynikova E.N. Modification of lipid peroxidation products determination in reaction with thiobarbituric acid. *Laboratornoe delo* 1989; 7: 8-10.
9. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilii. *Biochemie* 1975; 57 (5): 657-660.
10. Holmes R., Masters C. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase. *FEBS Lett* 1970; 11 (1): 45-48.
11. Moin V.M. A simple and specific method for determining glutathione reductase activity in red blood cells. *Laboratornoe delo* 1986; 12: 724-727.
12. Donich S.G., Soldatchenko S., Ihnatonis Y.P. Prediction of asthma flow periods. *Metodychni rekomendatsii*. Yalta, 2009. 20 p.
13. Doctor's ethics and human rights: position on the use of animals in biomedical experiments. *Experimental and Clinical Physiology and Biochemistry*. 2003; 22 (2): 108-109.

Надійшла 24.05.2016

Рецензент д-р мед. наук,
проф. В. В. Годован

