УДК 616.24-002.092:611.005

М. М. РЕГЕДА, М. С. РЕГЕДА
Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Вміст продуктів ліпопероксидації та активність ферментів антиоксидантної системи в бронхоальвеолярних змивах за умов розвитку експериментальної пневмонії та корекція їх порушень корвітином

Пневмонія за останні десятиріччя набула важливого соціально-економічного значення через те, що призводить до економічних збитків і спричинює періоди непрацездатності. Згідно зі статистичними даними, в Україні щорічно хворіють на пневмонію близько 200–250 тис. осіб. Ця патологія становить 30–40% усіх захворювань легень. За останні тридцять років летальність від пневмонії зросла від 1 до 9% і найчастіше спостерігається в осіб віком старше 55 років [1, 2].

Етіологічні чинники цього захворювання сьогодні уже відомі, проте до кінця невивченими є патогенетичні механізми його розвитку [2]. Важливу роль у механізмах формування пневмонії відіграють процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантної системи (АОС).

Порушення процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) ліпідів має велике значення в патогенезі багатьох захворювань респіраторної системи [3]. Оксиданти внаслідок нейтрофільного запалення в дихальній системі призводять до деструкції протеїнів і порушення функції легень [4].

Процеси ПОЛ в нормі здійснюються безперервно в усіх тканинах і клітинах живих організмів і підтримуються спеціальними регуляторними системами на низькому базальному рівні. Вони беруть участь у нормальних метаболічних процесах і регуляторних функціях клітин. Добре відома руйнівна дія первинних і вторинних продуктів ПОЛ на мембрани клітин [5].

Захист від пошкоджувального впливу активних форм кисню (АФК) забезпечують антиоксидантні ферменти: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КТ), ферменти редокс-системи глутатіону (ГР). У нормі в системі оксиданти–антиоксиданти перебувають у рівновазі. Порушення цього балансу в бік оксидантів зумовлює розвиток оксидантного стресу. При цьому спостерігається надлишкова продукція АФК і недостатність антиоксидантного захисту. Неконтрольована генерація АФК і їх похідних спричинює пошкодження білків, нуклеїнових кислот, ферментів, ліпідів, біомембран і призводить до розвитку патологічних процесів [6].

Окрім цього, деструкція легеневої тканини зумовлена і прямою токсичністю АФК. Оксиданти не тільки пошкоджують молекули (білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти), але й сприяють розвитку запальних змін у легенях: пошкодженню фібробластів, зниженню активності сурфактанту, утворенню тромбаксану, підвищенню проникності епітелію, погіршенню функції війок тощо [4, 5, 6].

У плані корекції порушень вільнорадикального окиснення (ВРО) і стану антиоксидантного захисту (АОЗ) за умов формування різних патологічних процесів в організмі перспективним є застосування біофлавоноїдів, серед яких особливе місце посідає природний флавоноїд –

©Регеда М.М., Регеда М.С., 2013

кверцетин, а саме його водорозчинна форма – корвітин. Цей препарат має антиоксидантні, протизапальні, протинабрякові, антигістамінні та імуномоделюючі властивості [7].

Тому мета нашого дослідження – визначити вплив препарату корвітину на показники стану прооксидантної та антиоксидантної системи в бронхоальвеолярних змивах (БАЗ) морських свинок за умов розвитку експериментальної пневмонії (ЕП).

Матеріали та методи дослідження. Дослідження були проведені на 66 морських свинках-самцях масою тіла – 0,20...0,23 кг. Тварин було поділено на 6 груп, по 11 у кожній.

I група – інтактні морські свинки (контроль), II – тварини з ЕП на 1-у добу до лікування корвітином, III – морські свинки з ЕП на 3-ю добу до застосування препарату, IV група – тварини з ЕП на 5-у добу до лікування, V – ЕП на 7-у добу до лікування, VI – морські свинки з ЕП після лікування препаратом корвітином, який вводили дозою 40 мг/кг доочеревинно впродовж 7 днів. Для раціональної інтерпретації одержаних даних та їх подання умовно визначили два періоди: ранній – морські свинки на 1-у і 3-ю доби розвитку ЕП, пізній період – тварини на 5-у і 7-у доби ЕП.

Модельний процес експериментальної пневмонії відтворювали завдяки культурі *Staphylococcusaureus* шляхом інтраназального введення її за методом В.Н. Шляпникова, Т.Л. Солодової, А.С. Степанова [8]. Потім декапітували під ефірним наркозом інтактних тварин і морських свинок на 1-у, 3-ю, 5-у і 7-у доби розвитку ЕП до та після лікування корвітином на 7-у добу експерименту.

Вміст дієнових кон'югатів (ДК) в бронхоальвеолярних змивах визначали за методом В.Б. Гаврилова, М.І. Мишкорудної [9], малонового діальдегіду (МДА) – за методом Е.Н. Коробейникова [10], активність супероксиддисмутази (СОД) – за методом R. Fried [11], каталази (КТ) – за методом R. Holmes [12], бронхоальвеолярні змиви (БАЗ) забирали за методом А.А. Биркун [13]. Опрацювання одержаних цифрових результатів здійснювали за методом Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати біохімічних досліджень виявили порушення процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантного захисту в БАЗ у різні періоди формування пневмонії як до, так і після застосування антиоксиданту корвітину.

Серед показників ПОЛ одним з найважливіших є малоновий діальдегід, кінцевий продукт ліпопероксидації. Його частка становить 40% усіх продуктів окиснення ліпідів, а дієнові кон'югати є первинними продуктами ВРО [14].

Результатами досліджень встановлено, що на 1-у добу зараження тварин стафілококом вміст ДК і МДА в бронхоальвеолярних змивах не зазнавав достовірних змін проти показників групи здорових морських свинок.

Згодом, на 3-ю добу експериментальної пневмонії, спостерігалося незначне зростання вмісту ДК на 23,8% ($p<0,05$) і МДА на 17,6% ($p<0,05$) у БАЗ порівняно з контролем. Далі на 5-у добу експерименту відбувалося поступове підвищення рівня ДК на 28,5% ($p<0,05$) і МДА на 17,7% ($p<0,05$); у найпізніший період (7-а доба) ЕП ці показники досягали найвищих змін: ДК зросли на 33,8% ($p<0,05$), а МДА на 23,5% ($p<0,05$) у бронхоальвеолярних змивах порівняно з I групою тварин (рис. 1).

Отже, зростання рівня ДК і МДА у бронхоальвеолярних змивах при експериментальній пневмонії у морських свинок свідчить про поступове надмірне утворення продуктів ліпопероксидації залежно від тривалості запального процесу в легенях. Як видно з одержаних результатів дослідження, надмірне радикалоутворення спричинило порушення стану антиоксидантного захисту. Проте в ранньому періоді формування ЕП (1-а доба) встановлено, що активність СОД і КТ у бронхоальвеолярних змивах не зазнавала достовірних змін. Ці показники перебували на рівні контролю.

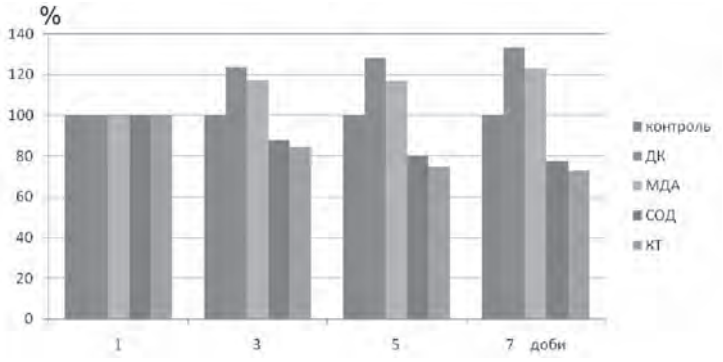

Рис. 1. Вміст продуктів ПОЛ і стан АОС у БАЗ в динаміці розвитку ЕП (% від контролю)

Активність СОД на 3-ю добу розвитку ЕП пригнічується на 12,6% ($p<0,05$) і каталази на 15,3% ($p<0,05$) у БАЗ проти I групи тварин. Пізніше, на 5-у добу ЕП, активність СОД ще більше знижується: на 19,6% ($p<0,05$) і каталази на 25,1% ($p<0,05$) у БАЗ порівняно з інтактною групою тварин, що свідчить про депресію АОС.

Пізній період, який включав 7-у добу експерименту у бронхоальвеолярних змивах, характеризувався значними змінами системи антиоксидантного захисту, зокрема, активність СОД пригнічується на 22,6% ($p<0,05$), а активність КТ – на 27,2% ($p<0,05$) порівняно з I групою тварин.

Таким чином, дослідження показників перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи у БАЗ самців при ЕП свідчать про надмірне накопичення продуктів ліпопероксидації (на 3-ю, 5-у і 7-у доби), що призводить до пригнічення АОС, яка не здатна їх нейтралізувати.

Застосування препарату корвітину впродовж 7 днів дозою 40 мг/кг доочеревинно призводило до зниження ДК на 14,5% ($p<0,05$) та МДА на 19,0% ($p<0,05$) і паралельного зростання СОД на 19,6% ($p<0,05$) і КТ на 16,8% ($p<0,05$) у БАЗ порівняно з групою морських свинок з ЕП, яким не вводили цей лікарський засіб, що дає підстави відзначити його коригуючу дію на досліджувані показники (рис. 2).

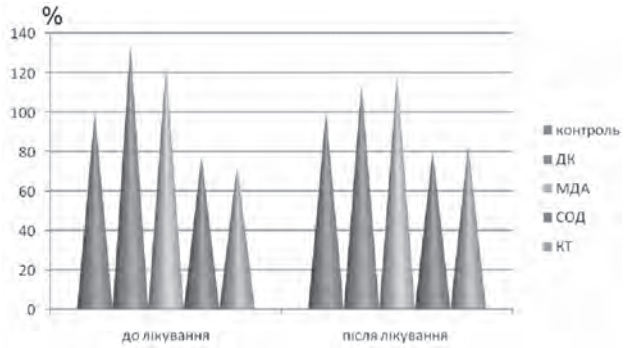

Рис. 2. Вплив корвітину на вміст ДК і МДА та активність СОД, КТ у БАЗ на 7-у добу ЕП (% до та після лікування корвітином)

Висновок. Отже, ЕП супроводжується надмірним нагромадженням продуктів ПОЛ на тлі дефіциту ферментативної ланки АОС до лікування в БАЗ, а застосування препарату корвітину призводить до коригуючого впливу на порушені метаболічні процеси за умов формування запального процесу в легенях.

Рекомендовано до друку комісією з біоетики

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Регеда М.С.* Пневмонія / М.С. Регеда, 3-є вид. – Львів: Сполом, 2005. – С. 138. 2. *Регеда М.С.* Запальні хвороби легень та бронхів / М.С. Регеда – Львів, 2008. – С. 206. 3. *Волков И.К.* Антиоксидантная терапия при хронических заболеваниях легких у детей / И.К.Волков // Педиатрия (прил. к журналу "ConsiliumMedicum"). – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 43–44. 4. *Oxidative* changes of bronchoalveolar proteins in cystic fibrosis / V. Starosta, E. Rietschel, K. Paul et al // Chest. – 2006. – Vol. 129, № 2. – P. 431–437. 5. *Valko M.* Metals, Toxicity and Oxidative Stress / M. Valko, H. Morris, M. Cronin // Curr. Med. Chem. – 2005. – Vol. 12, № 10. – P. 1161–1208. 6. *Звягина Т.В.* Клиническое значение изменений метаболизма оксида азота в пульмонологии / Т.В. Звягина, Т.В. Алексеева, Т.М. Белоконь // Укр. пульмонол. журн. – 2002. – № 1. – С. 66–68. 7. *Биофлавоноиды* как органопротекторы: кверцетин, корвитин, квертин / Под ред. акад. НАН Украины А.А. Мойбенко. – К.: Наукова думка, 2012. – С. 274. 8. *Экспериментальные* модели острых пневмоний, вызванных условно-патогенными бактериями и их ассоциацией: метод. реком. / В.Н. Шляпников, Т.Л. Солодова, С.А. Степанов и др. – Саратов, 1988. – 30 с. 9. *Гаврилов В.Б.* Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. диагностика ишемической болезни сердца. – К.: Здоровье, 1989. – С. 170–171. 10. *Коробейникова Э.Н.* Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э.Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989.–№ 7. – С. 8–10. 11. *Fried R.* Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilii / R. Fried // Biochemie. – 1975. – Vol. 57, № 5. – P. 657–660. 12. *Holmes R.* Epigenetic interconversions of the multipleforms of mouseliver catalase / R. Holmes, C. Masters // FEBS Lett. – 1970. – Vol. 11, № 1. – P. 45–48. 13. *Бронхоальвеолярный* смыв. Сурфактант легких / А.А. Биркун, Е.Н. Нестеров, Г.В. Кобозев. – К.: Здоров'я, 1981. – 160 с. 14. *Ростока-Резнікова М.В.* Показники системи перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту при бронхіальній астмі середньої важкості, можливості їх корекції / М.В. Ростока-Резнікова, М.І. Товч-Коршинська, М.М. Бугір та ін. / Лаб. діагностика. – 2010. – № 2 (52). – С. 7–10.

Стаття надійшла до редколегії 11.03.13

СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНЫХ СМЫВАХ ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ И КОРРЕКЦИЯ ИХ НАРУШЕНИЙ КОРВИТИНОМ

М.М РЕГЕДА, М.С. РЕГЕДА

Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого

Результаты биохимических исследований выявили нарушения процессов липопероксидации и состояния антиоксидантной защиты в бронхоальвеолярных смывах (БАС) в разные периоды формирования пневмонии до и после применения антиоксиданта корвитина.

Установлено, что на 1-е сутки заражения животных стафилококком содержания диеновых коньюгат (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в бронхоальвелярных смывах не подвергалось достоверным изменениям по сравнению с показателями здоровых морских свинок. Позже, на 3-е сутки экспериментальной пневмонии (ЭП), наблюдается незначительное возростание уровня ДК на 23,8% ($p<0,05$) и МДА на 17,6% ($p<0,05$) в БАС по сравнению с контролем. Далее, на 5-е сутки эксперимента, происходит постепенное увеличение уровня ДК на 28,5% ($p<0,05$) и МДА на 17,7% ($p<0,05$) и на 7-е сутки ЭП эти показатели достигли наивысших изменений по сравнению с I группой животных.

Таким образом, возрастание уровня ДК и МДА в БАС при ЭП, у морских свинок свидетельствует о постепенном увеличении образования продуктов липопероксидации в зависимости от длительности воспалительного процесса в легких. Эти изменения вызывали нарушения состояния антиоксидантной защиты (АОЗ).

Показано, что в ранний период ЭП (1-е сутки) активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КТ) в БАС не изменилась, эти показатели находились на уровне контроля. Активность СОД на 3-е сутки развития ЭП угнеталась на 12,6% ($p<0,05$) и КТ на 15,3% ($p<0,05$) в БАС по отношению к контрольной группе животных.

Позже, на 5-е сутки ЭП, наблюдалось снижение СОД на 19,6% ($p<0,05$) и КТ на 25,1% ($p<0,05$) у БАС против интактной группы животных, что свидетельствует о депрессии АОЗ.

Поздний период (7-е сутки эксперимента) характеризовался значительными изменениями системы АОЗ, активность СОД снижается на 22,6% ($p<0,05$), а КТ – на 27,2% ($p<0,05$) по сравнению с I группой животных.

Таким образом, исследования показателей ПОЛ и АОС в БАС самцов при ЭП свидетельствуют об усиленном накоплении продуктов ПОЛ (на 3-е, 5-е и 7-е сутки), что вызывает угнетение АОЗ, которая не в состоянии их утилизировать.

Применение препарата корвитина в течение 7 дней дозой 40 мг/кг массы внутрибрюшинно сопровождается снижением содержания ДК и МДА и повышением активности СОД и КТ в БАС по сравнению с группой животных с ЭП, которым не вводили это лекарственное средство, что свидетельствует о корригирующем его влиянии на нарушенные метаболические процессы при экспериментальной пневмонии.

Ключевые слова: пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система, экспериментальная пневмония, корвитин.

CONTENT PRODUCTS OF LIPID PEROXYDATIONS AND ACTIVITY ENZYMES OF ANTIOXIDANT SYSTEMS IN BRONCHO-ALVEOLAR WASHINGS UNDER DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL PNEUMONIA AND ITS CORRECTION WITH CORVITINI

M. REGEDA, M. REGEDA
Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Biochemical researches results revealed disruption of lipid peroxidation and antioxidant status in bronchoalveolar washings (BAW) in different periods of pneumonia forming, both before and after the application of antioxidant corvitin.

Among lipid peroxidation indicators malonic dialdehyde is one of the most important – it is the end product of lipid peroxidation and its share is 40% of all lipid products and dien conjugates – are the primary products of BPO.

The results of the research conducted have demonstrated that on the first day the DC and MDA content in broncho-alveolar washings of staphylococcus infected animals did not change significantly in comparison with indicators of healthy guinea pigs group.

Later, on the third day of experimental pneumonia, one could experience a slight increase in DC content of 23,8% ($p<0,05$) and MDA of 17,6% ($p<0,05$) in BAW compared with the controls. Then, on the fifth day of the experiment, gradual increase in control of 28,5% ($p<0,05$) took place and MDA of 17,7% ($p<0,05$) and in the latest period (on the seventh day) of EP these indicators gained the biggest changes: DK increased of 33,8% ($p<0,05$), and MDA of 23,5% ($p<0,05$) in bronchoalveolar washings in comparison with the first group of animals.

Thus, the increase in DC and MDA in broncho-alveolar washings in experimental pneumonia in guinea pigs indicates a gradual excessive formation of lipid peroxidation products, depending on the duration of the inflammatory process in the lungs. According to the results of the research conducted, an excessive radical formation caused violation of antioxidant protection. However, in the early period of VC formation (the first day) it was found that the activity of SOD and CT in bronho-alveolar washings did not change significantly. These indicators were at the control level.

On the third day of EP an activity of superoxide dismutase (SOD) inhibited by 12,6% ($p<0,05$) and catalase by 15,3% ($p<0,05$) in the first group against BAW animals. Later, on the fifth day of EP, an activity of SOD further reduced to 19,6% ($p<0,05$) and CT to 25,1% ($p<0,05$) in BAW compared with the intact group of animals, indicating AOC depression.

Late period, which included the seventh day of the experiment in broncho-alveolar washings, was characterized by significant changes in antioxidant defense system, including SOD activity is inhibited by 22,6% ($p<0,05$), and the activity of CT by 27,2% ($p<0,05$) compared with the I-st group of animals.

Thus, the research of indicators of lipid peroxidation and antioxidant system in BAW males with EP indicates an excessive accumulation of lipid peroxidation products (on the 3rd, 5th and 7th day), which causes AOS inhibition, that is unable to neutralize.

The use of corvitini during 7-day period in 40 mg/kg intraperitoneum dose led to reduced control to 14,5% ($p<0,05$) and MDA to 19,0% ($p<0,05$) and increase in SOD in 19,6% ($p<0,05$) and CT in 16,8% ($p<0,05$) in BAW compared with the group of guinea

pigs with EP that were not treated with this drug – the fact that gives reasons to state the corrective effect of the parameters studied.

Conclusion. EP is accompanied by an excessive accumulation of lipid peroxidation products against enzymatic deficiency link to AOS before treatment with corvitini medication led to corrective effect on affected metabolic processes in the conditions of inflammation in the lungs.

Key words: lipid peroxydations, antioxidant systems, experimental pneumonia, corvitini.