

*М.С. Регеда, С.І. Нестерук***ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА ПОКАЗНИКИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ В ЛЕГЕНЯХ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ В УМОВАХ СТРЕСУ***Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
м. Львів, Україна*

e-mail: patfiz@i.ua

Резюме: В роботі вивчався вплив тіотриазоліну на показники прооксидантної та антиоксидантної систем у легенях морських свинок з експериментальною пневмонією в умовах іммобілізаційного стресу (на 1-у, 6-у і 16-у доби). Після проведення експериментів було встановлено, що при пневмонії в умовах стресу підвищується рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів та виснажується система антиоксидантного захисту в легенях тварин із поступовим зниженням активності супероксиддисмутази, каталази, пероксидази та рівня церулоплазміну на 1-у, 6-у та 16-у доби. При дії тіотриазоліну спостерігається підвищення показників антиоксидантної системи та зменшення рівня дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду, що свідчить про коригуючий вплив засобу на прооксидантну та антиоксидантну системи в легенях тварин при сукупних патологічних процесах.

Ключові слова: пневмонія, іммобілізаційний стрес, тіотриазолін.

Вступ. На сьогодні пневмонія належить до актуальних питань пульмонології, яка займає 30–40% від усіх захворювань легень та посідає 4 місце серед причин смертності. За останні десятиріччя пневмонія залишається важливою медико-соціальною проблемою, оскільки призводить до економічних збитків, спричиняє періоди непрацездатності. Незважаючи, на значні досягнення в патогенезі пневмонії та великі успіхи в її лікуванні, збільшується кількість хворих із важким перебігом хвороби і зростає смертність, а коректний діагноз пневмонії встановлюють лише в кожного 3-го хворого^{9,10}.

Важливу роль для розуміння патогенезу пневмонії відіграють процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи (АОС). За фізіологічних умов рівень ПОЛ підтримується завдяки рівновазі про- та АОС. ПОЛ розглядається, як універсальний механізм пошкодження клітини на мембранному рівні за умов різних патологічних станів. Зокрема, гіпоксія, запалення, стрес, алергія активізують процеси ліпопероксидації та пригнічують як ферментативну, так і неферментативну ланку антиоксидантного захисту. Продукти ліпопероксидації негативно впливають на мембрани клітин і виявляють безпосередню пошкоджуючу дію на легеневу тканину^{5,9,10}.

У даний час не повністю з'ясованим залишається механізми розвитку пневмонії, зокрема, не вивчені питання, що стосуються ролі та значення про- та АОС у патогенезі розви-

тку пневмонії, особливо в умовах іммобілізаційного стресу.

Щодо коригуючого впливу на порушення процесів ПОЛ та АОС велике зацікавлення у науковців і практичних лікарів викликає тіотриазолін (Т). Він має мембрано-стабілізуючі властивості, нормалізує окислювально-відновлювальну систему організму (відновлення активності ферментів антирадикального захисту, активує антирадикальну та антиперекисну ланки)³.

У доступній нам літературі відсутні дослідження, що стосуються вивчення дії Т на показники про- і АОС у легенях в динаміці розвитку експериментальної пневмонії (ЕП) при іммобілізаційному стресі. Власне, це визначає актуальність проведення нами експериментальних досліджень і вказує на доцільність пошуку нових способів вище наведеної корекції.

Метою дослідження було з'ясувати роль процесів про- та АОС в патогенезі пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу в експерименті та встановити вплив на них Т.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження були 84 морські свинки (самці), поділені на 6 дослідних груп, по 14 тварин у кожній. 1, 2, 3 групи – експериментальна модель пневмонії (1; 6; 16 доби) до лікування. 4, 5, 6 групи – експериментальна модель пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу (1; 6; 16 доби) до лікування. 7 група – експериментальна модель пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу (16-та доба) піс-

ля лікування Т, який вводили внутрішньом'язово в дозі 100 мг/кг протягом 10-ти днів (починаючи з 6-ої по 16-ту доби).

ЕП відтворювали шляхом інтраназального зараження тварин культурою *Staphylococcus aureus* за методом В.Н. Шляпникова, Т.Л. Солодова, С.А. Степанова⁴, іммобілізаційний стрес – за методом П.Д. Горизонтова². Далі тварин декапітували і визначали у легенях вміст продуктів ПОЛ та ферментів АОС. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом В.Г. Гаврилова, В.І. Мишкорудної¹, малонового діальдегіду (МДА) – за методом Е.Н. Коробейнікова⁷, активність супероксиддисмутази (СОД) – за методом R. Fried¹¹, активність каталази (КТ) – за R. Holmes¹², церулоплазміну (ЦП) – за В.Г. Колб, В.С. Камышнікова⁶, пероксидазу (ПО) досліджували за методом О.Г. Архиповой⁸. Статистичне опрацювання одержаних результатів здійснювали за методом Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Враховуючи значну роль запалення та гіпоксії у патогенезі пневмонії було проведено дослідження чутливих маркерів про- та АОС (ДК, МДА, СОД, КТ, ПО, ЦП). Зокрема встановлено, що активність ДК в легенях при пневмонії на 6-у, 1-у добу експерименту зросла відповідно на 23,6% ($P<0,05$) та на 25,3% ($P<0,05$) vs 1-ої групи тварин, що свідчило про надмірне утворення продуктів ПОЛ. Слід зазначити підвищену інтенсивність утворення продуктів ПОЛ у самців із пневмонією на 6-у, 16-у доби, яку визначали за рівнем МДА. Зокрема, вміст МДА збільшився в легенях відповідно на 7,9% ($P<0,05$) та на 8,8% ($P<0,05$) у порівнянні з показниками тварин на 1-у добу. Дослідження показали, що для тварин з пневмонією характерні інтенсифікація процесів ПОЛ. Внаслідок активації цих процесів у легенях нагромаджувалися первинні та вторинні продукти ПОЛ.

Важливу роль у вивченні патофізіологічних механізмів розвитку пневмонії відіграє АОС, зокрема СОД, КТ, ПО, ЦП. Вже на 6-у, 16-у доби ЕП встановлено зниження активності СОД відповідно на 25% ($P<0,05$) і на 26,7% ($P<0,05$) vs показників у морських свинок 1-ої групи.

Для характеристики стану АОС має значення один із ключових ферментів – КТ. Результати досліджень засвідчили, що активність КТ в легенях на 6-у, 16-у доби після зараження стафілококом тварин знизилася відповідно на 49,5% ($P<0,05$) і на 51,4% ($P<0,05$) у порівнянні з показниками тварин 1-ої гру-

пи. Одержані результати вказували на виснаження АОС та неспроможність утилізувати продукти ПОЛ.

Особливу увагу приділено вивченню стану неферментативної ланки АОС при пневмонії, зокрема ЦП. Вже на 6-у, 16-у доби ЕП у морських свинок виявлено зниження активності ЦП на 65,0% ($P<0,05$) та на 70,5% ($P<0,05$) відповідно порівняно з 1-ою добою. А це дозволяє, на нашу думку, стверджувати про недостатність неферментативних механізмів антиоксидантного захисту на 6-у, 16-у доби експерименту.

Наступним показником, за яким оцінювали стан антиоксидантного захисту в легенях, була активність ПО. Зокрема, на 6-у, 16-у доби після зараження тварин стафілококом відбувається зниження активності ПО на 72,3% ($P<0,05$) та на 75,3% ($P<0,05$) відповідно проти 1-ої групи морських свинок. Таким чином, вивчення показників про- і АОС за умов розвитку ЕП показало зростання вмісту ДК і МДА та зниження активності ферментів – СОД, КТ, ЦП і ПО в легенях на 6-у, 16-у доби, що свідчило про поступову активацію процесів ПОЛ на тлі депресії антиоксидантного захисту, особливо на 16-у добу розвитку експерименту. Комплексна оцінка отриманих результатів дає підстави, на нашу думку, дійти висновку, що за умов формування ЕП відбувається порушення рівноваги між про та АОС.

З огляду на отримані результати, метою наступного етапу роботи було виявлення дисбалансу між про- та АОС при ЕП в умовах стресу. Результати дослідження засвідчили, що на 6-у, 16-у доби експериментальної моделі хвороби в умовах іммобілізаційного стресу спостерігалось суттєве зростання вмісту ДК у легенях відповідно на 28,1% ($P<0,05$) і 25,2% ($P<0,05$) у порівнянні з 1-ою добою, що вказувало на посилене утворення вільнорадикальних сполук. Надалі розвиток ЕП і стресу на 6-у, 16-у доби не вплинув на активність МДА, яка залишалася на рівні 1-ої групи тварин (табл.1). Важливе значення для оцінки і характеристики зрушень функціонального стану АОС при ЕП та стресі має активність СОД. Вже на 6-у добу формування ЕП і іммобілізаційного стресу спостерігалось зменшення рівня СОД в легенях на 8,9% ($P<0,05$), а надалі активність цього ферменту (16-а доба) знижувалася відповідно на 8,7% ($P<0,05$) стосовно тварин на 1-у добу, що вказує на порушення збалансованого функціонування систем антиоксидантного захисту, яке сприяє ще більшій інтенсифікації процесів ліпопероксидації. Аналогічна

ситуація спостерігалась з активністю КТ в легенях. У динаміці розвитку ЕП і стресу (на 6-у добу) виникало зниження активності КТ на 27,9% ($P < 0,05$), а пізніше (16-а доба) встановлено подальше зменшення її активності на 28,4% ($P < 0,05$) у порівнянні з 1-ою добою.

Ці результати, на нашу думку, вказують, що у морських свинок виснажується активність АОС, яка нездатна повністю утилізувати продукти вільнорадикального окиснення ліпідів, що посилено утворюються при ЕП в умовах стресу (табл. 1).

Таблиця 1. Показники ПОЛ та АОС в легенях в динаміці формування ЕП в умовах стресу до лікування

Форма модель	Пневмонія в умовах іммобілізаційного стресу						
	Показники активності ПОЛ та АОС	ДК, нмоль/мл(г)	МДА, нмоль/мл(г)	СОД, од./мл.(г)	КТ, од./мл.(г)	ЦП, мг/л	ПО, од./мг
1 доба		21,0±0,3 $P < 0,05$	37,6±0,3 $P < 0,05$	101,2±0,4 $P < 0,05$	39,1±0,4 $P < 0,05$	6,2±0,5 $P < 0,05$	3,2±0,2 $P < 0,05$
6 доба		26,9±0,3 $P < 0,05$	38,4±0,3 $P < 0,05$	92,2±0,5 $P < 0,05$	28,2±0,3 $P < 0,05$	4,3±0,3 $P < 0,05$	2,4±0,1 $P < 0,05$
16-та доба		26,3±0,3 $P < 0,05$	38,2±0,3 $P < 0,05$	92,4±0,5 $P < 0,05$	28,0±0,3 $P < 0,05$	3,9±0,3 $P < 0,05$	2,6±0,1 $P < 0,05$

Примітка: P – достовірність різниці в порівнянні з групою тварин на 1-у добу ЕП та іммобілізаційного стресу.

На 6-у добу після зараження тварин стафілококом та розвитку іммобілізаційного стресу спостерігалось помітне зниження активності ЦП у легенях на 30,6% ($P < 0,05$), а на 16-у добу – на 37,1% ($P < 0,05$) vs тварин на 1-у добу експерименту, що свідчить про поступову депресію окремих показників антиоксидантного захисту.

У ході дослідження встановлено, що при ЕП та іммобілізаційного стресу на 6-у добу спостерігалось зменшення рівня ПО на 25% ($P < 0,05$), а далі на 16-у добу експерименту відбувалося її зниження на 18,8% ($P < 0,05$) щодо 1-ої групи тварин. Можна припустити, що стрес, гіпоксія та запалення легень швидко призводять до пригнічення АОС, починаючи з 6-ої доби пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу, що веде до неспроможності її утилізувати продукти ПОЛ (табл.1). Одержані результати свідчать, що при ЕП та стресі відбувалися зміни показників про (ДК і МДА) і АОС (СОД, КТ, ЦП і ПО) у легенях, які проявлялися активізацією процесів ліпопероксидації на тлі пригнічення АОС. Це особливо чітко помітно на 6-у, 16-у добу експерименту.

В результаті проведених досліджень встановлено, що після 10-денного внутрішньом'я-

зевого введення Т тваринам з ЕП в умовах іммобілізаційного стресу (у дозі 100мг/кг) спостерігалось зниження вмісту продуктів ПОЛ – ДК на 44,2% ($P < 0,05$), МДА на 34,6% ($P < 0,05$) та зростання активності АОС – СОД – на 28% ($P < 0,05$), КТ – на 38,9% ($P < 0,05$), ПО – на 107,6% ($P < 0,05$), ЦП – на 105,1% ($P < 0,05$) у порівнянні з групою тварин, які не піддавалися дії цього засобу. Це свідчить, на нашу думку, про коригуючу дію Т на показники ПОЛ та антиоксидантного захисту (рис. 1).

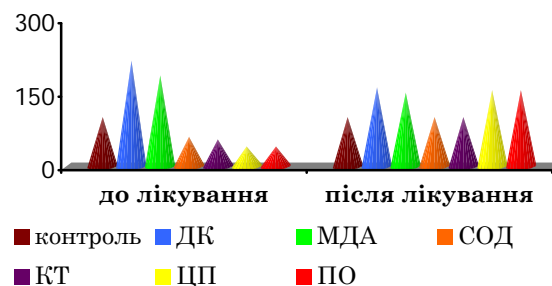


Рис. 1. Вплив Т на вміст продуктів ПОЛ і активність ферментів антиоксидантного захисту в легенях при пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу (у % до та після лікування на 16-у добу експерименту)

Висновки:

Одержані результати експериментів встановили неспроможність антиоксидантної системи утилізувати продукти ліпопероксидації при експериментальній пневмонії в умовах стресу та її виснаження на 6-у, 16-у доби експерименту до лікування. Застосування антиоксиданта тіотріазоліну спричинило гальмі-

вну дію на утворення продуктів пероксидації ліпідів та стимулюючий вплив на активність антиоксидантної системи в легенях, що вказує на його позитивний коригуючий вплив медикаменту на порушені показники метаболізму за умов формування експериментальної пневмонії та іммобілізаційного стресу.

Література:

1. *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.
2. *Горизонтов П.Д.* Стресс и система крови / *П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотов* // М.: Медицина, 1983. – 338 с.
3. *Добрянський С.Б.* Порушення функціонального стану прооксидантно-антиоксидантної системи у кістковому мозку морських свинок при експериментальному алергічному альвеоліті та їх корекція тиотриазоліном / *С.Б. Добрянський, В.Й. Кресюн, М.С. Регада* // Одеський медичний журнал. – 2010. – №3. – С. 34-35.
4. Экспериментальные модели острых пневмоний, вызванных условно-патогенными бактериями и их ассоциацией: метод. Указания / *В.Н. Шляпников, Т.Л. Солодова, С.А. Степанов* [и др.]. Саратов, 1988. – 30 с.
5. *Казанцев В.А.* Пневмония / *В.А. Казанцев, Б.Б. Удальцов.* Санкт-Петербург: СпецЛит, 2002. – 118 с.
6. *Колб В.Г.* Определение активности церулоплазмينا в крови / *Справочник по клинической химии / В.Г. Колб, В.С. Камышников.* Минск, «Беларусь». – 1982. – С. 290-291.
7. *Коробейников Э.Н.* Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / *Э.Н. Коробейников* // Лабораторное дело. – 1989. – №7. – С. 8-10.
8. Определение активности пероксидазы в крови / *Методы исследования в профпатологии / Под ред. О.Г. Архиповой.* – М.: Медицина. – 1988. – С. 153.
9. *Регада М.С.* Пневмония / *М.С. Регада.* – Львів: Сполом, 2005. – 138 с.
10. *Регада М.С.* Пульмонологія: навч. посібник / *М.С. Регада, І.Г. Гайдучок.* – Львів: Сполом, 2000. – 436 с.
11. *Fried R.* Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxidodismutase / *R. Fried* // *Biochemie.* – 1975. – №5. – P. 657-660.
12. *Holmes R.* Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver colase / *R. Holmes, C. Masters* // *FEBS lett.* – 1970. – №1. – P. 45-48.

УДК 616.24-002:612.014.484-08] - 085.274-092:612.015.11

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ТИОТРИАЗОЛИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ЛЕГКИХ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

М.С. Регада, С.И. Нестерук

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина

Резюме: В работе изучалось влияние тиотриазолина на показатели прооксидантной и антиоксидантной систем в легких морских свинок с экспериментальной пневмонией в условиях иммобилизационного стресса (на 1-е, 6-е и 16-е сутки). В результате проведения экспериментов было установлено, что при пневмонии в условиях стресса повышаются уровень продуктов пероксидного окисления липидов и истощается система антиоксидантной защиты в легких животных и с постепенным снижением супероксиддисмутазы и каталазы, пероксидазы, церулоплазмينا на 1-е, 6-е, 16-е сутки; а при действии тиотриазолина отмечено повышение показателей антиоксидантной системы и уменьшение диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, что свидетельствует о корригирующем влиянии препарата на прооксидантную и антиоксидантную системы в легких животных при этих сочетанных патологических процессах.

Ключевые слова: пневмония, иммобилизационный стресс, тиотриазолин.

UDC 616.24-002:612.014.484-08] - 085.274-092:612.015.11

THIOTRIAZOLIN EFFECT ON THE LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN THE LUNGS UNDER EXPERIMENTAL PNEUMONIA AND STRESS CONDITIONS IN THE DYNAMICS

M.S. Regeda, S.I. Nesteruk

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Summary: In this article the effect of thiotriazolin on the indices of lipid peroxidation and antioxidant systems in the lungs of guinea pigs' with experimental pneumonia in the conditions of immobilization stress (on the 1st, 6th and 16th day) has been studied. It was determined that pneumonia stressful conditions induced the increase of lipid peroxidation products level and depression of antioxidant system defense in the lungs of animals with gradual lowering of the superoxide dismutase and catalase, peroxidase activities and ceruloplasmin level from the 1st to the 6th and 16th days. Thiotriazolin treatment led to the increase of antioxidant system indices and decrease of diene conjugates and malonic dialdehyde levels. It proves its corrective effect on prooxidant and antioxidant systems in the lungs of animals in case of these combined pathological processes.

Keywords: pneumonia, immobilization stress, thiotriazolin.

Надійшла до редакції 27.06.2012 р.