

І.В.Челпанова

Львівський національний
медичний університет
імені Данила Галицького

Ключові слова: проокси-
дантно-антиоксидантний
статус, морфологія, пнев-
монія, щур.

Надійшла: 04.12.2013

Прийнята: 26.12.2013

УДК: 616.24-002-092.9-0.91:611.24-0.18.1]-0.92:612.0.15.11

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ПРООКСИДАНТНО- АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСУ ТА ДЕСТРУКТИВНИХ ЗМІН У ЛЕГЕНЯХ В ПІЗНІ ПЕРІОДИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИ- МЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

Реферат. Дослідження висвітлює особливості співвідношення процесів перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи та деструкції легеневої тканини на експериментальній моделі гострої пневмонії після інтраназального зараження культурою *Staphylococcus aureus*. Виявлено, що у хворих на пневмонію значно активізуються процеси перекисного окиснення ліпідів і при цьому утворюються вільні радикали та перекисні сполуки. Підвищення прооксидантної активності з одночасним пригніченням антиоксидантних систем призводить до деструкції судинно-стромальних компонентів легеневої тканини.

Morphologia. – 2013. – Т. 7, № 4. – С. 86-90.

© І.В.Челпанова, 2013

✉ ilo-sotnikova@yandex.ru

Chelpanova I.V. Interrelation between prooxidant-antioxidant status and destructive changes in the lungs of white rats with the later periods of an experimental pneumonia.

ABSTRACT. Background. Study of pathogenic mechanisms, early diagnosis and early treatment of acute pneumonia has acquired the special significance and is one of the approach in modern therapy, pulmonology and pathological physiology. Still unknown, is the interrelation between prooxidant-antioxidant status and destructive changes in the lung tissue in experimental pneumonia in it's later periods. **Objective.** To reveal the peculiarities between the processes of lipid peroxidation and antioxidant status and destruction of the lung tissue in experimental models of acute pneumonia. **Methods.** The study was conducted on 60 mature rats Wistar. The control group were 20 intact animals, and 40 rats were infected by *Staphylococcus aureus*, which caused an experimental model of acute pneumonia. Indicators of lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of lung tissue were determined in intact rats and in animals with experimental models of acute pneumonia on the fourth and tenth day after infection. **Results.** We found the increased rate of lipid peroxidation products on the fourth day after intranasal infection by *Staphylococcus aureus*, which caused an experimental model of acute pneumonia in rats. At the same time, in the lung tissue, the activity of SOD and catalase were decreased. Changes in the rate of superoxidedismutase / diene conjugates acquired in this period, the lowest value among all periods of the experiment of acute staphylococcal pneumonia. **Conclusion.** This is confirmed by increase in the value of the ratio of superoxidedismutase activity / diene conjugates content in the lung tissue. In lung tissue specimens were absorbed the regression of pneumonia foci. In these areas the alveoli were not fully straightened, the alveolar septum were thickened infiltrated by cell round infiltration. In specimens there are some areas of edema of the lung tissue.

Key words: prooxidant-antioxidant status, morphology, pneumonia, rat.

Citation:

Chelpanova IV. [Interrelation between prooxidant-antioxidant status and destructive changes in the lungs of white rats with the later periods of an experimental pneumonia]. *Morphologia*. 2013;7(4):86-90. Ukrainian.

Вступ

Вивчення патогенетичних механізмів, ранньої діагностики та своєчасного лікування гострої пневмонії (ГП) набула сьогодні особливого значення і є одним з актуальних напрямків у сучасній терапії, пульмонології та патологічній фізіології. У середньому від 10 до 13,8 на 1000 населення хворіють на пневмонію. Ця патологія займає 30-40% від усіх захворювань легень. За останні 30 років летальність від пневмонії зросла від 1 до 9%, а за умови розвитку тяжких ускладнень у реанімаційних відділеннях досягає 40-

50%. До цього часу, незважаючи на, здавалось би, значні успіхи в її лікуванні, за даними ВОЗ, пневмонія займає четверте місце у структурі смертності після серцево-судинних захворювань, злоякісних новоутворень, травм та отруєнь, а в США шосте місце в структурі летальності [1; 2; 3].

Встановлено, що інфекція, гіпоксія та токсичні фактори створюють умови для підсилення окислення ліпідів клітинних мембран, активації ендогенних фосфоліпаз, пригнічення активності антиоксидантів. Виявлено, що у хворих на пнев-

монію значно активізуються процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і при цьому утворюються вільні радикали та перекисні сполуки, які спричиняють безпосередній пошкоджуючий вплив на легеневу тканину і сприяють розвитку в ній запального процесу. Не з'ясованим залишається взаємозв'язок стану прооксидантно-антиоксидантної системи та деструктивних змін у легеневій тканині при експериментальній пневмонії в пізні періоди розвитку захворювання [4].

Мета нашого дослідження – вивчення особливостей співвідношення процесів ПОЛ і АОС та деструкції легеневої тканини на експериментальній моделі ГП на четверту та десятю добу після інтраназального зараження щурів культурою *Staphylococcus aureus*.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на 60 статевозрілих щурах лінії Вістар масою 180-210 г. Контрольною групою були 20 інтактних тварин (по 10 самиць і самців), і 40 щурів (по 20 самиць і самців) підлягали інтраназальному зараженню культурою *Staphylococcus aureus*, чим відтворювали у них експериментальну модель ГП. Моделювання ГП здійснювали за методом В.Н.Шляпнікова та співавт. [5]. Усі тварини утримувалися в умовах віварію і робота з ними відповідала «Правилам проведення робіт з використанням експериментальних тварин» та згідно положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших навчальних цілей» (Страсбург, 1986), загальних етичних принципів експериментів на тваринах, прийнятих I Національним конгресом України по біоетиці (Київ, 2001г.), Закону України № 3447 -IV «Про захист тварин від жорстоко-

го поводження».

Забір матеріалу для мікроскопічного дослідження здійснювали після евтаназії щурів шляхом декапітації після передозування ефірного наркозу. Тканину легень забирали оперативним шляхом та фіксували взятий матеріал у 10% розчині формаліну, ущільнювали і заливали у парафін. Зрізи товщиною 5-7 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином. Мікроскопічні дослідження та фотографування препаратів здійснювали з використанням мікроскопа МБИ-1 та цифровим фотоапаратом Nikon D3100 при збільшенні $\times 200$ [6].

Показники пероксидації ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи визначали у легеневій тканині інтактних щурів та у тварин при експериментальній моделі ГП на четверту та десятю добу після зараження [7; 8; 9; 10].

Стан вільнорадикального окиснення ліпідів визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) [11] і малонового діальдегіду (МДА) [9]. Ступінь активності антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за вмістом ферментів супероксиддисмутази (СОД) та каталази [9; 12].

Результати досліджень оброблено статистично з використанням критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що інтенсивність утворення продуктів ПОЛ і активність антиоксидантних ферментів у легенях самців і самиць дещо відрізняється за фізіологічних умов. Так, у самиць у легенях більший вміст ДК і МДА на 12,5 і 12,3%, активність СОД була вищою на 13,0%, а каталази на 12,5% порівняно з самцями (табл. 1).

Таблиця 1
Інтенсивність утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів і активність антиоксидантної системи у легеневій тканині інтактних щурів, у щурів на 4-ту та 10-ту добу після зараження ($M \pm m$, $n=20$)

| Група тварин | Дієнові кон'югати нмоль/мл | Малоновий діальдегід, нмоль/мл | Супероксид дисмутаза, ум.од.мл | Каталаза, МО/мл | Активність супероксиддисмутази /вміст дієнових кон'югатів/ |
|---|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------|--|
| Самці (n=10) | 12,6 \pm 0,8 | 21,3 \pm 0,2 | 120,3 \pm 5,8 | 44,6 \pm 2,1 | 9,5 \pm 0,6 |
| Самиці (n=10) | 14,4 \pm 0,4 | 24,3 \pm 0,9 | 138,3 \pm 3,7 | 51,0 \pm 2,3 | 9,6 \pm 0,4 |
| Тварини з експериментальною моделлю ГП на 4 добу | | | | | |
| Самці (n=20) | 38,4 \pm 1,2 | 72,4 \pm 2,5 | 59,9 \pm 2,8 | 23,8 \pm 1,1 | 1,6 \pm 0,8 |
| Самиці (n=20) | 34,1 \pm 1,4 | 59,3 \pm 2,3 | 100,8 \pm 4,8 | 36 \pm 1,5 | 3 \pm 0,11 |
| Тварини з експериментальною моделлю ГП на 10 добу | | | | | |
| Самці (n=20) | 35,2 \pm 1,0 | 65,9 \pm 2,0 | 78 \pm 3,5 | 31,8 \pm 1,3 | 2,2 \pm 0,1 |
| Самиці (n=20) | 30 \pm 1,3 | 52,2 \pm 2,0 | 118,7 \pm 5,1 | 44,7 \pm 1,5 | 4 \pm 0,11 |

Примітка: різниця показників у всіх групах достовірна.

Слід відмітити підвищену інтенсивність утворення продуктів пероксидації ліпідів у сам-

ців на четверту добу після після інтраназального зараження культурою *Staphylococcus aureus*.

Вміст ДК і МДА підвищувався у легеневій тканині самців на 205% і 240% відповідно. У цей же час активність СОД та каталази пригнічувалась на 50,2% і 46,6% відповідно порівняно з інтактними щурами (табл. 1). Зміни співвідношення активність супероксиддисмутази/вміст дієнових кон'югатів набуває в цей період найменшого кількісного значення серед всіх досліджуваних періодів розвитку гострої стафілокової бронхопневмонії. Так, на четверту добу після зараження у легеневій тканині це співвідношення зменшувалося на 83,2%, порівняно з інтактними щурами. У сукупності виявлені зміни свідчили про повне виснаження ферментативної ланки антиоксидантної системи хворих самців і неспроможність її нейтралізувати зростаючу кількість продуктів перекисного окиснення ліпідів.

У свою чергу, на четверту добу після зараження в легенях самиць виявлено подальше накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів. Паралельно зцим, у хворих самиць спостерігалось пригнічення ферментів антиоксидантної системи. Так, порівняно з інтактними тваринами, у хворих самиць активність СОД у легенях знижувалась на 27,1%, а активність каталази на 29,4%.

Зазначені зрушення призводили до того, що співвідношення активності супероксиддисмутази/вміст дієнових кон'югатів у легеневій тканині самиць зменшувалося і становило 31,3% від показників інтактних тварин.

Слід зазначити, що виразність негативних зрушень у цей період у самиць була меншою, ніж у самців. У легеневій тканині самиць містилося на 11,2% та 18,1% менше відповідно дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду; активність супероксиддисмутази була вищою на 68,3%, каталази на 51,3%. У сукупності це призводило до переважання у самиць співвідношення активності супероксиддисмутази/вміст дієнових кон'югатів 87,5% у легенях.

На відміну від інтактних тварин (рис. 1), на четверту добу після зараження у мікропрепаратах легеневої тканини (рис. 2) поруч з осередками зливної десквамативно-гнійної пневмонії, зустрічались осередки некрозу тканин легень, стінки судин у цих ділянках були некротизовані. У багатьох гілках легеневої і бронхіальних артерій просвіти заповнені тромботичними масами (рис. 3).

В осередках десквамативно-гнійної пневмонії навколо судин утворювалися проліферати з лімфоцитарних елементів. Міжальвеолярні перетинки інфільтровані. Поруч з цим, відмічались прояви бронхіту та перибронхіту. На окремих ділянках стінки дрібних вен були некротично змінені, паренхіма легень була інфільтрована еритроцитами і лейкоцитами (рис.4).

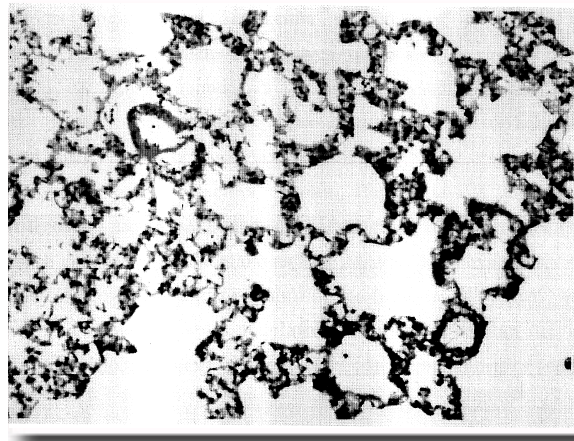


Рис. 1. Тканина легень інтактного статевозрілого щура. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

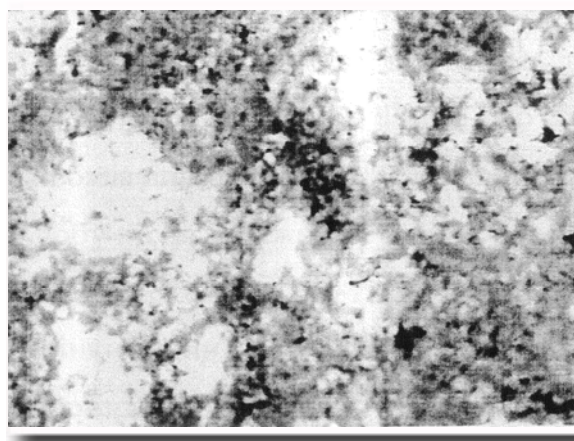


Рис. 2. Тканина легень самиць через 4 доби після зараження. Осередки гострої бронхопневмонії. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

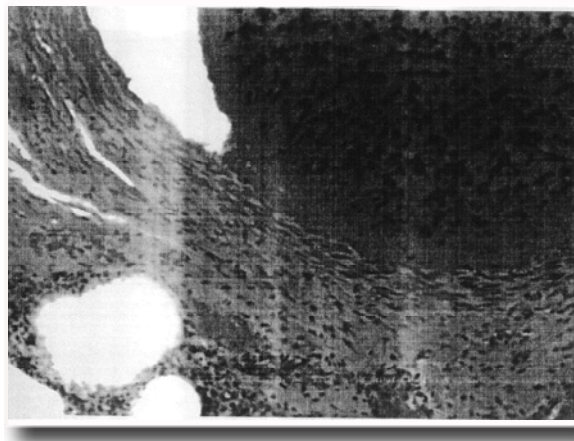


Рис. 3. Тканина легень самиць через 4 доби після зараження. Тромботичні маси в просвіті судин. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

Продовжуючи дослідження самців на 10 добу після зараження активність антиоксидантних ферментів у тканинах легень самців поступово відновлювалася. Так, порівняно з показниками тварин забитих на четверту добу після зараження, у легенях активність супероксиддисмутази зростала на 30,2%, а каталази на 33,6%. Природ-

но, що активність зазначених ферментів сприяла зменшенню вмісту в тканинах легень продуктів перекисного окиснення ліпідів. Так, у легенях містилося на 8,3% менше дієнових кон'югатів і 9% малонового діальдегіду, ніж у самців досліджених на 4 добу після зараження (табл. 1).

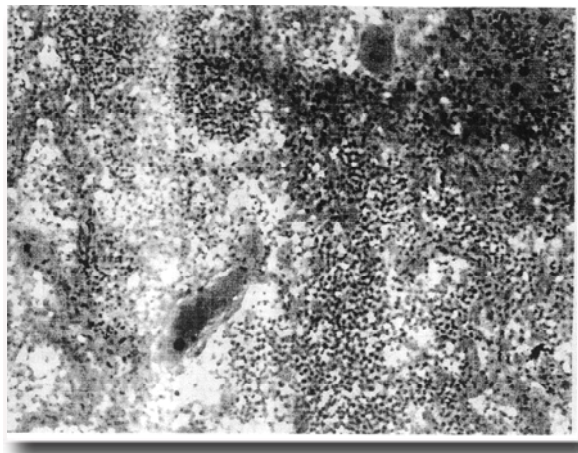


Рис. 4. Тканина легень самця через 4 доби після зараження. Осередки геморагічної пневмонії. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 200$.

Порівняно з інтактними тваринами, у легенях хворих самців активність супероксиддисмутази була меншою лише на 35,2%, а каталази на 28,7% і на 179,4% більше дієнових кон'югатів і 209,4% малонового діальдегіду.

У цей період, під час розрешення гострої бронхопневмонії, починалося відновлення функціональної спроможності антиоксидантної системи, що супроводжувалося зменшенням вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів. Крім вищенаведених показників на користь останнього твердження свідчило і збільшення значення співвідношення активності супероксиддисмутази/вміст дієнових кон'югатів у легеневій тканині. Так, порівняно з показниками отриманими при заборі біоматеріалу у щурів на четверту добу після зараження, на десятю добу після зараження співвідношення активності супероксиддисмутази/вміст дієнових кон'югатів у легеневій тканині зростало на 37,5%. При цьому зменшувалися відмінності і від показників інтактних тварин.

У свою чергу у самиць, на десятю добу після зараження, виявлено зменшення вмісту ДК і МДА на 12%, порівняно з показниками тварин, у яких забирали біоматеріал для дослідження на 4 добу. Наведені зрушення забезпечувались поступовим відновленням активності ферментів антиоксидантної системи на десятю добу після зараження. Так, активність СОД і каталази зростала на 17,8% і 24,2% відповідно. У результаті у самиць на десятю добу після зараження співвідношення активності супероксиддисмутази/вміст дієнових кон'югатів у легенях зростало на 33,3%.

Завдяки цим змінам зменшувалися розбіж-

ності між показниками хворих на гостру пневмонію самиць і інтактних тварин. Так, порівняно з останніми вміст дієнових кон'югатів і малонового альдегіду був вищим ніж у інтактних тварин на 108,3% і 111,8% відповідно, а активність супероксиддисмутази і каталази залишалася пригніченою лише на 14,2% і 12,4%. Нарешті у самиць цієї групи співвідношення активності супероксиддисмутази/вміст дієнових кон'югатів у легеневій тканині залишалось нижчим, ніж у інтактних тварин на 58,3%.

Таким чином, на 10 добу після зараження тварин, коли у мікропрепаратах легень виявлені ділянки розрешення гострої стафілококової бронхопневмонії, відбувалося відновлення функціональної спроможності ферментної ланки антиоксидантної системи у легеневій тканині.

Слід зазначити, що у самців відновлення активності ферментної ланки антиоксидантної системи відбувалося повільніше, ніж у самиць. Так, на 10 добу після зараження у самиць, порівняно з самцями, вміст ДК і МДА у легенях був меншим на 14,8% і 20,8% відповідно. У свою чергу активність СОД і каталази була вищою у самиць на 52,2% і 40,6% відповідно. Нарешті, у самиць було більшим співвідношення активності супероксиддисмутази/вміст дієнових кон'югатів у легеневій тканині на 81,8%.

На 10 добу після зараження у мікропрепаратах легеневої тканини спостерігався процес розрешення пневмотичних фокусів. У цих ділянках альвеоли були не повністю розправлені, міжальвеолярні перетинки потовщені, інфільтровані круглоклітинним інфільтратом. У препаратах зустрічалися ділянки набряку легеневої тканини.

Підсумок

Зрушення у прооксидантно-антиоксидантному статусі тварин з експериментальною пневмонією знаходить морфологічне відтворення у легенях. Підвищення прооксидантної активності з одночасним пригніченням антиоксидантних систем призводить, в кінцевому результаті, до деструкції судинно-стромальних компонентів легеневої тканини. Такий же механізм, очевидно, лежить в основі дезорганізації структур аерогематичного бар'єру. В результаті порушення проникності судин мікроциркуляторного руслу та стінки альвеол посилюється ексудація в альвеоли тканинної рідини, наростають процеси еміграції клітин макрофагічної системи. У більш віддалені періоди (на 4 та 10 добу), описані зміни наростають, що веде до подальшої деструкції легеневої тканини.

Перспективи подальших досліджень

У перспективі планується більш детальне вивчення топографічних особливостей розподілу глікокон'югатів клітинних елементів та міжклітинного матриксу легеневої тканини з використанням методів лектиногістохімії.

Літературні джерела References

1. Ewig S. Community-acquired pneumonia. Epidemiology, risk and prognosis / S. Ewig // *Eur. Respir. Mon.* – 1997. – № 3. – P. 13-35.
Ewig S. Community-acquired pneumonia. Epidemiology, risk and prognosis. *Eur. Respir. Mon.* 1997;(1):13-35.
2. Grey G. S. Acute respiratory disease in the military / G. S. Grey // *Federal Practitioner.* – 1995. – № 12. – P. 27-33.
Grey GS. Acute respiratory disease in the military. *Federal Practitioner.* 1995;(12):27-33.
3. Surgical lung biopsy for diffuse pulmonary disease: experiens of 196 patients / Y-C. Lee, C-T. Wu, H-H. Hsu [et al.] // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2005. – Vol. 129, № 5. – P. 984-990.
Lee YC, Wu CT, Hsu HH, Huang PM, Chang YL. Surgical lung biopsy for diffuse pulmonary disease: experiens of 196 patients. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2005;129(5):984-90.
4. Hedrick J. A. Community-acquired upper respiratory tract infections and the role of third-generation oral cephalosporins / J. A. Hedrick // *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* – 2010. – Vol. 8, № 1. – P. 15-21.
Hedrick JA. Community-acquired upper respiratory tract infections and the role of third-generation oral cephalosporins. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2010;8(1):15-21.
5. Шляпников В. Н. Экспериментальные модели острых пневмоний, вызванных условно-патогенными бактериями и их ассоциацией / В. Н. Шляпников, Т. Л. Солодова, С. А. Степанов. – Саратов : Изд-во Саратов. Мед.ин-та, 1988. – 33 с.
Shlapnikov VN, Solodova TL, Stepanov SA, authors. Eksperimental'nyye modeli ostrykh pnevmoniy, vyzvannykh uslovno-patogennymi bakteriyami i ikh assotsiatsiyey [Experimental models of acute pneumonia, caused by opportunistic bacteria and their association]. *Saratov: Izdat.Saratov. Med.inst-ta*; 1988. 33 p. Russian.
6. Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники. / Г. А. Меркулов. – Л. : Медицина, 1969. – 406 с.
Merculov VA, author. Kurs patologogistologicheskoy tekhniki [The course of pathohistological techniques]. L: Medicina; 1969. 406 p. Russian.
7. Артишевский А. А. Гистология с техникой гистологических исследований / А.А. Артишевский, А.С. Леонтьук. – Минск : Выш.школа, 1999. – 236 с.
Artyshvsky AA, Leontuk AS, authors. Gistologiya s tekhnikoy gistologicheskikh issledovaniy [Histology with the technique of histological study]. Minsk: Vyshcha shkola; 1999. 236 p. Byelorussian.
8. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // *Лабораторная диагностика ИБС.* – К. : Здоров'я. – 1989. – С. 170-171.
Gavrilov VB, Mishkorudnaya MI, authors. Spektrofotometricheskoye opredeleniye sodержaniya gidroperekisey lipidov v krovi [Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxide levels in blood]. *Lab. Diagnostica IBS. K.: Zdorov'ya*; 1989:170-1. Russian.
9. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // *Лаб. дело.* – 1989. – № 7. – С. 8-10.
Corobeynikova EN. [Modification of the definition of lipid peroxidation products in the reaction with thiobarbituric acid]. *Lab.delo.* 1989;(7):8-10. Russian.
10. Пневмония / М. С. Регада, М. М. Регада, І. В. Челпанова, С. І. Мироненко. – [монографія, 5-е вид.]. – Львів, 2012. – 154 с.
Regeda MS, Regeda MM, Chelpanova IV, Mironenko SI, authors. Pnevmoniya [Pneumonia]. Monograph. Lviv; 2012. 154 p. Ukrainian.
11. 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.
Gudyma AA. [Investigation of free radical oxidation in acute lung injury]. In [Buleten X chitan im.V.V.Pidvysotskogo; 2011; Odessa]. 2011:42-3. Ukrainian.
12. Переслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов у здоровых детей / И. А. Переслегина // *Лаб. дело.* – 1989. – № 11. – С. 20.
Pereslegina IA. [The activity of antioxidant enzymes in healthy children]. *Lab. delo.* 1989;(11):20. Russian.

Челпанова І.В. Взаємозв'язь прооксидантно-антиоксидантного статусу і деструктивних змін у легенях в пізні періоди розвитку експериментальної пневмонії.

Реферат. Исследование освещает особенности соотношения процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы и деструкции легочной ткани на экспериментальной модели острой пневмонии после интраназального заражения животных-крыс культурой *Staphylococcus aureus*. Выявлено, что у больных пневмонией значительно активизируются процессы перекисного окисления липидов и при этом образуются свободные радикалы и перекисные соединения. Повышение прооксидантной активности с одновременным угнетением антиоксидантных систем приводит к деструкции сосудисто-стромальных компонентов легочной ткани.

Ключевые слова: прооксидантно-антиоксидантный статус, морфология, пневмония, крыса.