УДК 616.24-002.98-085:577.11 DOI: http://doi.org/10.30978/TB2018-3-26

В.М. Жадан, В.І. Коржов

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф.Г. Яновського НАМН України», Київ

Корекція мексидолом метаболічних порушень при експериментальній емфіземі легень

Мета роботи — вивчити ефективність дії мексидолу на систему ПОЛ/АОЗ в умовах експериментальної емфіземи легень.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 58 статевозрілих білих щурах з масою тіла 180—200 г. Модель папаїнової емфіземи легень (ЕЛ) відтворено шляхом одноразового інтратрахеального введення під легким ефірним наркозом 0,5 мл розчину папаїну у дозах 50, 75 та 100 мг/кг. Протягом 2 тиж після введення папаїну їм призначали мексидол по 25 мг/кг внутрішньом'язово щодня. Визначали вміст малонового діальдегіду і активність глутатіонозалежних ферментів.

Результати та обговорення. Досліджено і оцінено показники оксидантно-антиоксидантної системи крові щурів із експериментальною ЕЛ залежно від дози папаїну й вплив на них мексидолу. Через 2 тиж після моделювання ЕЛ при всіх дозах папаїну спостерігаються порушення у системі ПОЛ/АОЗ: вірогідне підвищення вмісту малонового діальдегіду в еритроцитах та зниження активності основних глутатіонозалежних ферментів. Призначення мексидолу незалежно від дози папаїну супроводжується зниженням інтенсивності процесів ліпопероксидації, підвищенням активності ферментів ГТ, ГР та ГПО.

Висновки. Метаболічні порушення при експериментальній емфіземі легень підлягають корекції мексидолом. Він сприяє зниженню концентрації продуктів ПОЛ, активізації глутатіонозалежних ферментів у крові.

Ключові слова

Емфізема легень, мексидол, малоновий діальдегід, глутатіонозалежні ферменти.

Емфізема легень (ЕЛ) посідає одне з провідних місць серед захворювань органів дихання як за поширеністю, так і тяжкістю виявів [2]. Поряд із хронічним обструктивним бронхітом і бронхіальною астмою належить до групи хронічних обструктивних захворювань легень. Захворюваність на цю недугу постійно зростає, особливо осіб літнього віку. На автопсії емфізему виявляють у понад 60 % пацієнтів, що вмерли після 60 років, хоча клініцисти ставлять цей діагноз у менше ніж 20 % випадків. Значна поширеність цього захворювання, прогресуючий перебіг, тимчасова непрацездатність і рання інвалідизація хворих через розвиток дихальної недостатності та легеневого серця наносять значний економічний збиток, що свідчить про нестачу розробок про біохімічні механізми порушень і можливості їхньої корекції за згаданої патології [1].

Одним із основних вторинних травмівних чинників при ЕЛ є оксидативний стрес, який супроводжується активізацією перекисного окиснення ліпідів, окисною модифікацією білків, змінами в ферментативній та неферментативній ланках антиоксидантної захисної системи [3, 7, 11, 12]. Гіпоксія є однією з найголовніших причин активізації процесів вільнорадикального й пероксидного окиснення та розвитку оксидативного стресу [5, 9, 15]. Надійність захисту клітин від травмівного впливу вільних

© В.М. Жадан, В.І. Коржов, 2018

радикалів і продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) залежить від ступеня збалансованості в системі антиоксидантного захисту (АОЗ). В умовах утрудненого дихання і гіпоксії біологічні антиоксиданти та антиоксидантні ферменти відіграють істотну роль у процесах окиснення й відновлення та компенсаторно-пристосовних механізмах, у розвитку адаптаційних процесів за патологічного стану [5, 13].

Бурштинова кислота і її похідні впливають на клітинний метаболізм і транспорт вільного кисню в тканинах. Її препарати мають властивості антиоксидантів як фармакологічні засоби для захисту тканин від патологічних станів на тлі гіпоксії [6, 11]. Тому видається цілком виправданим використання мексидолу — антиоксиданта похідного 3-оксипіридину з метою корекції метаболічних порущень при ЕЛ. Мексидол належить до мембраноактивних антиоксидантів і здатний інгібувати перекисне окиснення ліпідів біомембран та модифікувати їхню функціональну активність, є одним із препаратів широкого спектра антиоксидантної дії.

Мета роботи — вивчити ефективність дії мексидолу на систему ПОЛ/АОЗ в умовах експериментальної емфіземи легень.

Роботу виконано за кошти держбюджету.

Матеріали та методи

Експерименальні дослідження проведено на 58 статевозрілих безпородних білих щурах обох статей з масою тіла 180—200 г, яких утримували на стандартній дієті віварію.

Експериментальну папаїнову ЕЛ відтворювали шляхом одноразового інтратрахеального введення під легким ефірним наркозом 0,5 мл розчину папаїну у дозах 50 мг/кг, 75 мг/кг та 100 мг/кг відповідно [8].

Згідно з дозою папаїну тварин розподілили на три групи: перша — контроль (інтактні щури); друга — з ЕЛ; третя — з ЕД, яким щодня протягом 2 тиж вводили мексидол внутрішньом'язово в середньотерапевтичній дозі 25,0 мг/кг.

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом.

Об'єктом дослідження були відмиті від плазми і гемолізовані еритроцити щурів. Матеріал для дослідження брали за суворого дотримання правил роботи з експериментальними тваринами [10].

Про активність процесів ліпопероксидації судили за рівнем малонового діальдегіду (МДА).

Стан захисної антиоксидантної системи оцінювали за активністю глутатіонозалежних ферментів: глутатіон-S-трансферази (ГТ), глутатіон-редуктази (ГР) та глутатіон-пероксидази (ГПО).

Математичний аналіз даних виконували з використанням методу варіаційної статистики за стандартними ліцензійними комп'ютерними програмами. Різницю між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Вірогідною вважали різницю в разі ймовірної похибки до 5 % ($p < 0,05$).

Результати та обговорення

Інтратрахеальне введення тваринам папаїну закономірно супроводжувалось розвитком емфіземи, що підтверджувалося гістоморфологічними дослідженнями тканини легень. Отримані результати свідчать про залежність ступеня емфіземи від дози папаїну. Гістологічні зміни легеневої тканини в разі застосування папаїну в дозі 50 мг/кг свідчать про I ступінь (слабко виразний), 75 та 100 мг/кг — приблизно про I—II.

Одним із можливих критеріїв розвитку ЕЛ може бути стан перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи, оскільки ці системи контролюють стан клітинних мембран як у нормі, так і в разі патологічних станів, їхня рівновага забезпечує нормальну проникність мембран та іонний транспорт, регулює біоенергетичні реакції мітохондрій, впливає на репарацію клітинних мембран, а зміна властивостей клітинних мембран — одна зі складових будь-якого патологічного процесу [3, 5].

У разі розвитку експериментальної ЕЛ стан вільнорадикального окиснення оцінювали за концентрацією малонового діальдегіду (МДА) в еритроцитах як вторинного продукту окиснення, підвищення якого свідчить про активізацію окисних процесів на мембранах клітин. МДА утворюється в процесі окисної деструкції ліпідів, зміна його кількості є методом раннього виявлення метаболічних порушень у організмі, навіть на доклінічній стадії захворювання [9, 15].

Введення тваринам папаїну в дозі 50 мг/кг через 2 тиж призводило до вірогідного збільшення вмісту МДА на 18,4 % порівняно з контролем. У еритроцитах тварин після введення їм папаїну в дозі 75 мг/кг також через 2 тиж збільшувався вміст МДА на 22,6 %, по 100 мг/кг — на 26,6 % відносно показників інтактних тварин (таблиця).

Таким чином, вміст МДА в еритроцитах щурів з ЕЛ вірогідно підвищувався після введення всіх досліджуваних доз папаїну. Простежується певна залежність від дози папаїну, яку застосовували для моделювання ЕЛ.

Комплекс ферментів ГПО, ГТ і ГР в умовах окисного стресу є найпотужнішою лінією антиоксидантного захисту. Глутатіонозалежні ферменти обмежують процеси ПОЛ і виявляють

Таблиця. **Вплив мексидолу на рівень продуктів ліпопероксидації та активність глутатіонозалежних ферментів у крові при експериментальній ЕЛ (M ± m, n = 8—10)**

Група	Термін дослідження	Показники			
		МДА, мкмоль/мл ер.	ГР, мкмоль НАДФН × (хв/г Hb)$^{-1}$	ГТ, мкмоль GSH × (хв/г Hb)$^{-1}$	ГПО, мкмоль GSH × (хв/г Hb)$^{-1}$
I — інтактні тварини (контроль)		61,36 ± 2,68	3,45 ± 0,19	2,13 ± 0,15	276,04 ± 14,60
II (ЕЛ):	–	–	–	–	–
папаїн по 50 мг/кг	2 тиж	72,67 ± 2,16*	2,46 ± 0,17*	1,78 ± 0,13	205,40 ± 18,66*
папаїн по 50 мг/кг + + мексидол	2 тиж	50,09 ± 2,02*#	2,75 ± 0,29	2,89 ± 0,31*#	277,09 ± 15,70#
папаїн по 75 мг/кг	2 тиж	75,20 ± 5,49*	2,06 ± 0,16*	1,74 ± 0,10*	232,74 ± 16,62
папаїн по 75 мг/кг + + мексидол	2 тиж	56,80 ± 4,14#	2,62 ± 0,16	2,35 ± 0,11#	294,38 ± 17,22#
папаїн по 100 мг/кг	2 тиж	77,68 ± 2,82*	2,32 ± 0,12*	2,10 ± 0,04	170,84 ± 10,41*
папаїн по 100 мг/кг + + мексидол	2 тиж	42,84 ± 0,89*#	2,85 ± 0,15	2,75 ± 0,12*#	292,35 ± 16,40#

Примітка. * Різниця показників відносно інтактних щурів вірогідна ($p < 0,05$); #різниця показників відносно щурів з ЕЛ без введення мексидолу вірогідна ($p < 0,05$).

мембраностабілізувальний ефект шляхом детоксикації H_2O_2 і відновлення нестабільних органічних гідропероксидів клітинних мембран. Ступінь порушення системи глутатіону, зокрема й декомпенсацію її функціональних можливостей, мабуть, слід оцінювати не тільки за такими параметрами, як рівень відновленого глутатіону й сульфгідрильних груп білків, але й за рівнем активності ферментів обміну глутатіону, що входять до неї [4, 14].

Отже, зміни ферментативної ланки обміну глутатіону беруть участь у патогенезі ЕЛ.

Порівняльна оцінка динаміки активності глутатіонозалежних ферментів у еритроцитах дала змогу виявити такі закономірності. Зміни активності в разі введення різних доз папаїну не пов'язані з виразністю ЕЛ.

На підставі порівняльної оцінки динаміки активності ГР у еритроцитах виявлено такі закономірності. За дози папаїну 50 мг/кг через 2 тиж після моделювання патології знижувалася активність ГР на 28,7 % відносно контролю (див. таблицю). У разі введення 75 мг/кг активність ГР вірогідно знижувалася на 40,3 %, 100 мг/кг — на 32,8 %.

ГТ посідає одне із центральних місць у механізмах природної детоксикації, включно з особистою участю у процесах як кон'югації, так і захисту клітини від органічних гідропероксидів. У зміні активності ГТ при експериментальній ЕЛ виявлено такі особливості: у разі введення папаїну в дозі 50 мг/кг активність ГТ мала тенденцію до зниження, тобто через 2 тиж після моделювання патології була невірогідно знижена на 16,4 % порівняно з контролем. У разі застосування папаїну в дозі 75 мг/кг вона вірогідно знижувалася на 18,3 %, проте після призначення папаїну по 100 мг/кг майже не відрізнялася від контролю (див. таблицю).

В умовах окисного стресу особливо важлива роль ГПО, бо вона запобігає виникненню й розвитку пероксидації, усуває її джерела й продукти, ГПО є одним із найважливіших компонентів ферментативної антиоксидантної системи [4]. Ми встановили, що розвиток ЕЛ супроводжувався зниженням ферментативної активності ГПО у крові лабораторних тварин. Через 2 тиж після введення папаїну в дозі 50 мг/кг активність ферменту вірогідно знижувалася на 25,6 % порівняно з контролем. У разі застосування дози папаїну 75 мг/кг через 2 тиж вона мала тенденцію до зниження, тобто була невірогідно знижена на 15,7 %, а після введення щурам папаїну по 100 мг/кг вірогідно знижувалася на 38,1 %. Така метаболічна особливість може свідчити про високу інтенсивність системного оксидативного стресу.

Отже, можна зазначити, що при ЕЛ знижується активність основних глутатіонозалежних ферментів у крові, що свідчить про зниження процесів антиоксидантного захисту, яке може призводити до системних метаболічних порушень. Не встановлено чітких закономірностей між згаданими біохімічними порушеннями і дозою папаїну.

Таким чином, при ЕЛ порушується координація метаболічних процесів, що призводить до низької збалансованості пристосовних реакцій організму, одними із яких є баланс системи перекисного окиснення ліпідів й антиоксидантної активності. Результати дослідження свідчать

про порушення в системі антирадикального та антипероксидного захисту. Зниження антиоксидантного захисту й неконтрольоване посилення процесів перекисного окиснення ліпідів є однією з важливих ланок патогенезу легеневого набряку. При цьому в крові виявляють високі концентрації продуктів перекисного окиснення ліпідів, зокрема малонового діальдегіду, що може призвести до дестабілізації клітинних мембран.

Зміни в оксидантно-антиоксидантній системі, які виникали в разі експериментальної ЕЛ, підлягають корекції за допомогою мексидолу. Він сприяє зниженню інтенсивності перекисного окиснення ліпідів у крові. Так, у разі застосування папаїну в дозі 50 мг/кг для моделювання ЕЛ введення мексидолу протягом 2 тиж сприяло вірогідному зниженню концентрації МДА на 31,1 % (див. таблицю). При ЕЛ, що була змодельована шляхом введення папаїну по 75 та 100 мг/кг, застосування мексидолу протягом 2 тиж сприяло нормалізації вмісту МДА в крові. Кількість МДА вірогідно знизилася на 24,5 та 44,9 % відповідно.

Таким чином, мексидол справляв виразний індукуючий вплив на активність глутатіонозалежних ферментів у крові щурів з експериментальною ЕЛ. Введення мексидолу з лікувальною метою протягом 2 тиж при дозі папаїну 50 мг/кг супроводжувалося вірогідним підвищенням активності ферменту ГТ на 59,4 % відносно показників тварин з ЕЛ без корекції цим препаратом. Активність ферменту ГПО підвищувалася під дією мексидолу на 34,9 %, активність ГР мала тенденцію до підвищення, її активність невірогідно зростала на 11,8 % порівняно з показниками у тварин з ЕЛ без введення мексидолу.

При експериментальній ЕЛ, змодельованій шляхом введення папаїну в дозі 75 мг/кг, встановлено вірогідне підвищення активності ферменту ГТ на 35,1 % порівняно з показниками у щурів без лікування, активність ферменту ГПО вірогідно підвищувалася на 26,5 %, ГР — на 27,2 % порівняно з показниками у тварин з ЕЛ без введення мексидолу, однак залишалася вірогідно нижчою за норму (див. таблицю).

Після застосування мексидолу з лікувальною метою протягом 2 тиж спрямованість змін активності глутатіонозалежних ферментів у крові тварин з експериментальною ЕЛ, змодельованою шляхом введення папаїну в дозі 100 мг/кг, була такою, як за інших доз папаїну, тобто активність ферментів ГТ і ГПО нормалізувалася, а ГР мала тенденцію до підвищення. Після введення мексидолу підвищувалася активність ГТ на 31,0 %, ГПО — на 71,1 %, ГР — на 22,8 % відносно щурів з ЕЛ без лікування препаратом.

Таким чином, встановлено, що незалежно від дози папаїну мексидол має виразний реактивуючий вплив на ферменти ГР, ГТ та ГПО.

Висновки

Розвиток емфіземи легень призводить до активізації процесів перекисного окиснення та пригнічення активності редокс-системи глутатіону. Метаболічні порушення в разі експериментальної ЕЛ підлягають корекції мексидолом. Застосування мексидолу з лікувальною метою протягом 2 тиж сприяло зниженню концентрації МДА — вторинного продукту ПОЛ, супроводжувалося виразним індукуючим ефектом на функціональний стан глутатіонозалежної ферментної системи, яка забезпечує численні процеси метаболізму в тваринних клітинах. Ступінь коригуючої дії препарату, його антиоксидантні властивості та ефект впливу на досліджені біохімічні системи не залежать від дози папаїну.

Дані про коригуючий влив мексидолу на функціональний стан системи глутатіону й процесів ПОЛ у крові тварин з експериментальною емфіземою легень підтверджують припущення про те, що ушкодження досліджуваних біохімічних систем посідають важливе місце в механізмах формування згаданого захворювання.

Конфлікту інтересів немає. Участь авторів: концепція й дизайн дослідження — В.І. Коржов, В.М. Жадан; збір і обробка матеріалу, статистична обробка даних, написання тексту — В.М. Жадан.

Список літератури

1. Аверьянов А.В. и др. Аспекты патогенеза эмфиземы легких у больных ХОБЛ // Пульмонология.— 2008.— № 3.— С. 35—41.
2. Григорьева Н.Ю., Кузнецов А.Н., Шарабрин Е.Г. Хроническая обструктивная болезнь легких: новое о патогенетических механизмах // Современные технологии в медицине.— 2011.— № 1.— С. 112—116.
3. Калматов Р.К., Жолдошев С.Т. Роль механізмів вільнорадикального окиснення в патогенезі локальної поразки верхніх дихальних шляхів // Молодий учений.— 2015.— № 10.— С. 417—422.
4. Минаева Л.В. Экспериментальная оценка роли изменений системы глутатиона в реализации побочных цитотоксических эффектов повторного введения циклофосфана: дис. ...канд. мед. наук: 14.00.20, 03.00.04.— СПб, 2007.— 178 с.
5. Муравлева Л.Е., Клюев Д.А., Демидчик Л.А., Колесникова Е.А. Роль окислительного стресса в патогенезе хронической обструктивной болезни легких // Успехи современного естествознания.— 2012.— № 9.— С. 12—16.
6. Нечипуренко Н.И., Василевская Л.А., Грибоедова Т.В. и др. Эффективность применения мексидола при экспериментальной ишемии головного мозга // Бюл. экспер. биол. и мед.— 2006.— Приложение 1.— С. 224—229.
7. Русінчук Я.І. та ін. Біохімічні та фізіологічні зміни в крові

при експериментальній емфіземі // Здобутки клінічної і експериментальної медицини.— 2016.— № 3.— С. 65—67.

8. Серебровская М.Т., Шишканов В.В., Айтуков М.Т. Сурфактантная система легких при экспериментальной папаиновой эмфиземе // Пат. физиол. и экспер. тер.— 1982.— № 5.— С. 63—64.
9. Соодаева С.К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания // Пульмонология.— 2006.— № 5.— С. 122—126.
10. Червонская Г.П., Панкратова Г.П., Миронова Л.А. Этика медико-биологического эксперимента в доклинических исследованиях // Токсикологический вестник.— 1998.— № 3.— С. 2—8.
11. Boots A.W., Haenen G.R., Bast A. Oxidant metabolism in chronic obstructive pulmonary disease // Eur. Respir. J.— 2003.— Vol. 22, suppl. 46.— P. 14—27.
12. Fischer B.M., Pavlisko E., Voynow J.A. Pathogenic triad in COPD: oxidative stress, protease-antiprotease imbalance and inflammation // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.— 2011.— Vol. 6.— P. 413—421.
13. Lin J.L., Thomas P.S. Current perspectives of oxidative stress and its measurement in chronic obstructive pulmonary disease // COPD.— 2010.— Vol. 7, N 4.— P. 291—306.
14. Miller D.P. Purification and characterization of a glutathione dependent dehydroascorbate reductase from human erythrocytes // Biochem. Biophys. Res. Commun, — 1995.— Vol. 64, N 3.— P. 485—491.
15. Vucević D., Radosavljević T., Zunić S., Dordević-Denić G., Pesić B.C., Radak D. The role of oxidative stress in the pathogenesis of pulmonary emphysema // Med. Pregl.— 2005.— Vol. 58, N 9—10.— P. 472—477.

В.Н. Жадан, В.И. Коржов
ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф.Г. Яновского НАМН Украины», Киев

Коррекция мексидолом метаболических нарушений при экспериментальной эмфиземе легких

Цель работы — изучить эффективность действия мексидола на систему ПОЛ/АОЗ при экспериментальной эмфиземе легких.

Материалы и методы. Исследования проведены на 58 половозрелых белых крысах с массой тела 180—200 г. Модель папаиновой эмфиземы легких (ЭЛ) воспроизведена путем одноразового интратрахеального введения под легким эфирным наркозом 0,5 мл раствора папаина в дозах 50, 75 и 100 мг/кг. На протяжении 2 нед после введения папаина им вводили мексидол в дозе 25 мг/кг внутримышечно ежедневно. Определяли количество малонового диальдегида и активность глутатионзависимых ферментов.

Результаты и обсуждение. Исследованы и оценены показатели оксидантно-антиоксидантной системы крови крыс с экспериментальной ЭЛ в зависимости от дозы папаина и влияние на них мексидола. Через 2 нед после моделирования ЭЛ при всех дозах папаина отмечаются нарушения в системе ПОЛ/АОЗ: достоверное повышение количества малонового диальдегида в эритроцитах и снижение активности основных глутатионзависимых ферментов. Применение мексидола независимо от дозы папаина приводит к снижению интенсивности процессов липопероксидации, повышению активности ферментов ГТ, ГР и ГПО.

Выводы. Метаболические нарушения при экспериментальной эмфиземе легких подлежат коррекции мексидолом. Он способствует снижению концентрации продуктов ПОЛ, активизации глутатионзависимых ферментов в крови.

Ключевые слова: эмфизема легких, мексидол, малоновый диальдегид, глутатионзависимые ферменты.

V.M. Zhadan, V.I. Korzhov
SI «National Institute of Phthisiology and Pulmonology named after F.G. Yanovsky NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Correction of mexidol metabolic disorders in experimental pulmonary emphysema

Objective — to study the effectiveness of mexidol on the lipid peroxidation system/antioxidant protection in experimental pulmonary emphysema (PE).

Materials and methods. The study is undertaken on 58 mature white rats weighing 180—200 g. The model of papainic emphysema in animals was reproduced by a single intratracheal injection under light ether anesthesia with 0,5 ml of papain solution at doses of 50 mg/kg, 75 mg/kg and 100 mg/kg of body weight. For 2 weeks after the administration of the papaini to animals, mexidol was administered at a dose

of 25 mg/kg intramuscular every day. The amount of MDA and the activity of glutathione-dependent enzymes were determined.

Results and discussion. Indices of the oxidant-antioxidant system in rat's blood with experimental PE depending on the dose of papain and influence on them of mexidol were investigated. It was found that in 2 weeks after PE modeling at all doses of papain, there was a violation in the lipid peroxidation system/antioxidant protection: a significant increase in the amount of MDA in erythrocytes and a decrease in the activity of the main glutathione-dependent enzymes. It has been proven that the use of mexidol for therapeutic purposes, regardless of the dose of papain, leads to a decrease in the intensity of lipid peroxidation processes, an increase in the activity of GT, GR and GPO enzymes.

Conclusions. The revealed metabolic disturbances in experimental PE are subject to correction by mexidol. Using of mexidol for therapeutic purposes helps to reduce the concentration of lipid peroxidation products, the activation of glutathione-dependent enzymes in the blood.

Key words: pulmonary edema, mexidol, malonic dialdehyde, glutathione-dependent enzymes.

Контактна інформація:

Жадан Вікторія Миколаївна, к. біол. н., ст. наук. співр. лабораторії мікробіології і біохімії
03680, м. Київ, вул. М. Амосова, 10
Тел. (044) 275-40-00
E-mail: vikki.nik@i.ua

Стаття надійшла до редакції 13 червня 2018 р.