

© М. А. Колішецька

УДК 612.215.1.015.11:616.248-036.6-092.9

**М. А. Колішецька**

## **РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В БРОНХАХ МОРСЬКИХ СВИНОК У РАННІЙ ПЕРІОД ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ**

**Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького (м. Львів)**

Дане дослідження є фрагментом планової наукової роботи кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького «Патогенетичні аспекти формування алергічних і запальних процесів, вплив їх на реактивність організму та фармакокорекція», № державної реєстрації 0106U012669.

**Вступ.** У всьому світі спостерігається неухильний ріст алергопатології [1,9]. Одне з провідних місць серед респіраторних алергозів займає бронхіальна астма (БА) [5]. Упродовж останніх років уявлення про патогенез БА значно розширилися за рахунок ролі неімунних механізмів, які зумовлюють гіперчутливість бронхів [1,5,9]. Роль процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) при різноманітних формах патологій, зокрема і при бронхіальній астмі, в останні роки привертає все більшу увагу дослідників. ПОЛ – це універсальний біологічний механізм, який постійно знаходиться в мембранах клітин, патологічне посилення його зумовлює порушення структури і, відповідно, функції біологічних мембран, має важливе значення в збереженні фізіологічної життєдіяльності клітин [1,4]. Перекисне окиснення ліпідів має важливе значення для оновлення біологічних мембран, ротації їх білкового й ліпідного компонентів, регуляції фізико-хімічних властивостей мембран клітин і субклітинних структур [1,4,15]. Посилення процесів ПОЛ відіграє істотну роль у патогенезі багатьох захворювань: захворювань бронхолегеневої та серцево-судинної систем, нирок, мозку, травного каналу, печінки, шкіри. В організмі постійно утворюються активні форми кисню (АФК), які можуть взаємодіяти з різними біологічними сполуками шляхом вільнорадикальних взаємодій [9,10,11,12]. Проявом токсичної дії активованих метаболітів кисню є інтенсифікація реакцій вільнорадикального окиснення (ВРО), яке є універсальним механізмом, за допомогою чого контролюються найважливіші гомеостатичні фізико-хімічні параметри клітини: в'язкість, вибіркова проникність і цілісність клітинних мембран [7]. За участю вільних радикалів відбувається детоксикація чужорідних сполук, що надходять в організм. У процесі окиснення складні органічні сполуки підлягають деструкції, деполімеризації та деградації. Інтенсифікація процесів ВРО під дією АФК призводить до посилення процесів ПОЛ, окисної модифікації білків, деструкції нуклеїнових кислот, вуглеводів, що спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах. У процесі розвитку патологічних процесів різко підвищується інтенсивність ліпопероксидації,

що робить її універсальним механізмом пошкодження клітинних мембран. Пошкодуючій дії вільних радикалів і пероксидних сполук запобігає система антиоксидантного захисту (АОС). До основних ферментів АОС традиційно зараховують каталазу (КТ), супероксиддисмутазу (СОД), глутатіонпероксидазу (ГПО), глутатіон\_S\_трансферазу, глутатіонредуктазу, а також пероксиредоксини. Неферментативна ланка АОС представлена низкою низькомолекулярних сполук, серед яких найважливішими є глутатіон, вітаміни Е, С, А, низькомолекулярні протеїни – церулоплазмін, трансферин, металотіонеїни тощо [3]. Характерними особливостями функціонування АОС є односпрямованість її регулюючої дії (нейтралізація всіх видів вільних радикалів) і серйозність наслідків навіть нетривалої її недостатності, що призводить до пошкодження біополімерів і мембран клітин. У фізіологічних умовах існує динамічна рівновага між виробленням вільних радикалів та їх нейтралізацією.

Таким чином, актуальність досліджень реакції ПОЛ обумовлена важливою патогенетичною роллю ВРО як потужного фактора мембранодеструкції, а значить більшості патологічних процесів [15]. Окрім того, вивчення механізмів функціонування системи антиоксидантного захисту надає можливості прослідкувати вплив продуктів перекисного окиснення ліпідів на бронхи.

**Мета дослідження** – з'ясування стану прооксидантної і антиоксидантної системи в бронхах морських свинок у ранній період формування експериментальної моделі БА.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експериментальні дослідження проводились на 60 морських свинок (самцях) масою 180 – 220г, поділених на 5 груп по 12 тварин у кожній. До I групи (контроль) відносили інтактні морські свинки, до II- тварини з експериментальною БА (5-а доба), до III – морські свинки на 19-у добу модельного процесу, до IV – тварини з експериментальною БА (26-а доба), до V – мурчаки на 33-ю добу БА. З метою детального аналізу показників прооксидантної та антиоксидантної систем у різні доби експерименту умовно виділяли два періоди розвитку експериментальної БА: ранній і пізній. Ранній період включав групу тварин із БА на 5-у та 19-у доби експерименту. Пізній – морські свинки на 26-у та 33-ю доби БА.

Експериментальна модель БА відтворювалась на морських свинок за методом В. І. Бабица (1979). Усіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного

**Динаміка активності ПОЛ у мурчаків при експериментальній БА ( $M \pm m$ ,  $n=36$ )**

Форма досліджу	Тривалість захворювання в добах	Кількість тварин	ДК в нмоль/мл (г)	МДА в нмоль/мл (г)
Інтактні тварини. Контроль		12	11,2±0,6	18,3±0,8
Морські свинки з експериментальною БА	5	12	15,9±0,6	26,1±0,9
	19	12	18,3±0,7	29,5±1,0

**Активність КТ, СОД та ГПО в бронхах морських свинок у ранній період експериментальної БА ( $M \pm m$ ,  $n=36$ )**

Форма досліджу	Тривалість захворювання в добах	Кількість тварин	КТ в м. о./мл (г)	СОД в у. о./мл (г)	ГПО в м. о./мл (г)
Інтактні тварини. Контроль		12	41,4±2,1	121,1±5,1	6,1±0,5
Мурчакі з експериментальною БА	5	12	52,4±1,0	172,1±1,1	8,3±0,2
	19	12	32,1±1,2	99,5±1,1	3,8±0,3

медичного університету ім. Данила Галицького. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985). Стан ВРО ліпідів у бронхах визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) за методом В. Г. Гаврилова, М. І. Мишкорудної (1989) [2], і малонового діальдегіду (МДА) за методом Е. Н. Коробейникова (1989) [6]. Ступінь активності АОС оцінювали за вмістом ферментів – СОД за методом R. Fried (1975) [13], КТ за методом В. Holmes, С. Masters (1970) [14] та ГПО за методом Архиповой О. Г. (1988) [8]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

**Результати досліджень та їх обговорення.**

Результати проведених досліджень показали активізацію процесів ПОЛ у ранній період експериментальної моделі бронхіальної астми. Так, було зафіксовано підвищення вмісту дієнових кон'югатів у бронхах на 5-у і 19-у доби БА відповідно на 42,0% ( $p < 0,05$ ) і 63,4% ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з контролем.

Визначення вмісту МДА в бронхах дало можливість встановити поступове його зростання на 42,6% ( $p < 0,05$ ) на 5-у добу експерименту і на 61,2% ( $p < 0,05$ ) на 19-у добу БА в порівнянні з тваринами І групи, що вказує на стимуляцію прооксидантної системи і її інтенсифікацію в міру розвитку патологічного процесу. Вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в бронхах морських свинок при експериментальній бронхіальній астмі в ранній період її розвитку представлено в **таблиці 1**.

Щодо активності ферментів антиоксидантної системи в бронхах за умов формування бронхіальної астми виявлено їх неоднаправлені зміни вже у ранньому періоді. Так, на 5-у добу розвитку БА спостерігається підвищення активності СОД у бронхах на 42,1% ( $p < 0,05$ ), а пізніше на 19-у добу експерименту виявлено достовірне її зниження на 17,8%

( $p < 0,05$ ) проти показників інтактною групи морських свинок, що дає підставу стверджувати про пригнічення антиоксидантного захисту. Аналогічний напрям змін встановлено під час дослідження рівня каталази в бронхах. Так, на 5-у добу БА виявлено підвищення її активності на 26,6% ( $p < 0,05$ ), а на 19-у добу цієї експериментальної моделі хвороби спостерігається зниження рівня КТ на 22,5% ( $p < 0,05$ ) при порівнянні з контролем, що вказує спочатку на стимуляцію, а згодом на виснаження АОС. Динаміка активності ферментів АОС у бронхах мурчаків представлена в **таблиці 2**.

Ранній період формування БА (на 5-у добу) характеризується підвищенням активності глутатіонпероксидази в бронхах

на 36,1% ( $p < 0,05$ ), а далі на 19-у добу цієї патології відбуваються зворотні зміни щодо активності ГПО, яка знижується на 38,7% ( $p < 0,05$ ) при порівнянні з інтактною групою тварин.

**Висновки.** Таким чином, проведений комплекс біохімічних досліджень показників прооксидантної та антиоксидантної системи показав порушення їх функціонального стану вже у ранньому періоді. Так, встановлено поступове інтенсивне зростання продуктів вільнорадикального окиснення в бронхах в ранній період формування бронхіальної астми, починаючи з 5-ї доби експерименту. Динаміка активності антиоксидантної системи характеризується початковим зростанням досліджуваних показників на 5-у добу експериментальної БА. Активізацію ферментної ланки вважаємо компенсаторною реакцією організму на підвищення концентрації медіаторів та продуктів ПОЛ, яка призначена для усунення надмірної кількості вільнорадикальних продуктів та їх метаболітів. Такий варіант можна розглядати, як нормальне реагування організму на прооксидантні стимули. Проте вже на 19-у добу фіксуємо порушення поєднаності паралельного зростання інтенсивності ПОЛ і АОС, виявлено зниження усіх досліджуваних ферментів, що може бути пов'язане насамперед із пошкодженням їх активними формами кисню. Таким чином, у бронхах морських свинок у ранній період розвитку експериментальної БА відмічається посилення вільнорадикальних реакцій з початковою активізацією, а далі інгібуванням активності ферментів антиоксидантного захисту, що свідчить про порушення співвідношення ПОЛ/АОС вже в ранньому періоді формування бронхіальної астми.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому планується дослідження функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної системи в бронхах мурчаків у пізній період розвитку експериментальної бронхіальної астми.

### Література

1. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Сорос. обр. журнал. – 2000. – № 12. – С. 13–19.
2. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкуродная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – К.: Здоровье, 1989. – С. 170–171.
3. Єлісеєва О. П. Сучасний погляд на механізми виникнення окисного стресу у патогенезі *Helicobacter pylori* асоційованих хвороб гастроудоденальної зони / О. П. Єлісеєва, Х. О. Семен, А. П. Черкас, Д. В. Камінський // Сучасна гастроентерологія. – 2008. – №1(39). – С. 39-44
4. Зинь А. Р. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах / А. Р. Зинь // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 60. – С. 21-39.
5. Зінченко Т. М. Стан перекисного окислення ліпідів, антиоксидантної системи та особливості вищої нервової діяльності у жінок, хворих на бронхіальну астму, в залежності від особливостей лікування / Т. М. Зінченко // Український медичний альманах. – 2000. – Т3, №4. – С. 77-80.
6. Коробейникова Є. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуратовой кислотой / Є. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.
7. Меньшикова Е. Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньшикова. – М.: Слово, 2006. – 556 с.
8. Определение активности пероксидазы в крови. Методы исследования в профпатологии / Под. ред. О. Г. Архиповой. – М.: Медицина, 1988. – С. 153.
9. Регада М. С. Бронхіальна астма. Вид. п'яте, доп. та переробл. / М. С. Регада, М. М. Регада, Л. О. Фурдичко, М. А. Колішецька. – Львів, 2012. – 147 с.
10. Awasthi Y. C. Regulation of 4-hydroxynonal mediated signaling by glutathione S-transferases / Y. C. Awasthi, Y. Yang, N. K. Tiwari // Free Radic. Biol. Med. – 2004. – Vol. 37, № 5. – P. 607-619.
11. Coleman J. D. The oxidative stress mediator hydroxynonal is an intracellular agonist of the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor  $\beta/\delta$  (PPAR  $\beta/\delta$ ) / J. D. Coleman, K. S. Prabhu, J. T. Thompson // Free Radic. Biol. Med. – 2007. – Vol. 42. – P. 1155-1164.
12. Dwiredi S. Role of 4-hydroxynonal and its metabolites in signaling / S. Dwiredi, A. Sharma, B. Patrick // Redox Rep. – 2007. – Vol. 12, № 1. – P. 4-10.
13. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilli / R. Fried // Biochemie. – 1975. – Vol. 57, № 5. – P. 657–660.
14. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes // FEBS Lett. – 1970. – Vol. 11, № 1. – P. 45–48.
15. Packer L. Oxidant and antioxidant revisited. New concept of oxidative stress / L. Packer, E. Cadenas // Free Rad. Research. – 2007. – № 9. – P. 951-952.

УДК 612.215.1.015.11:616.248-036.6-092.9

#### **РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В БРОНХАХ МОРСЬКИХ СВИНОК У РАННІЙ ПЕРІОД ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ**

**Колішецька М. А.**

**Резюме.** Мета дослідження – з'ясування стану прооксидантної і антиоксидантної системи в бронхах морських свинок у ранній період формування експериментальної моделі бронхіальної астми.

Експериментальні дослідження проводились на морських свинках, поділених на 5 груп: I група – контрольна, II – 5-а доба експеримента, III – 19-а доба розвитку бронхіальної астми, IV – 26-а доба і V – 33-я доба модельного процесу. Ранній період включав групу тварин на 5-у та 19-у доби експерименту. Пізній – морські свинки на 26-у та 33-ю доби бронхіальної астми. Експериментальна модель БА відтворювалась на морських свинках за методом В. І. Бабица (1979). Стан вільнорадикального окиснення ліпідів у бронхах визначали за вмістом дієнових кон'югатів за методом В. Г. Гаврилова, М. І. Мишкуродної (1989), і малонового діальдегіду за методом Е. Н. Коробейникова (1989). Ступінь активності антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом ферментів – супероксиддисмутази за методом Р. Фрієд (1975), каталази за методом В. Холмеса, С. Мастерса (1970) та глутатіонпероксидази за методом Архипової О. Г. (1988).

У роботі встановлено поступове зростання продуктів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду на 5-у і 19-у доби формування експериментальної бронхіальної астми. Виявлено початкове підвищення активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази в бронхах на 5-у добу, з наступним зниженням цих ферментів на 19-у добу експерименту.

Отримані результати свідчать про порушення рівноваги між прооксидантною та антиоксидантною системами в бронхах у ранній період розвитку захворювання.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати, антиоксидантна система.

УДК 612.215.1.015.11:616.248-036.6-092.9

#### **РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В БРОНХАХ МОРСКИХ СВИНОК В РАННИЙ ПЕРИОД ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ**

**Колішецька М. А.**

**Резюме.** Цель работы – изучить состояние прооксидантной и антиоксидантной систем в бронхах морских свинок в ранний период формирования экспериментальной модели бронхиальной астмы.

Исследования проводили на морских свинках, разделенных на пять групп: I группа – контрольная, II- 5-е сутки эксперимента, III – 19-е сутки развития бронхиальной астмы, IV – 26-е сутки и V – 33-е сутки модельного процесса. Ранний период включал группу животных на 5-е и 19-е сутки эксперимента. Поздний – морские свинки на 26-е и 33-е сутки бронхиальной астмы. Экспериментальная модель бронхиальной астмы воспроизводилась методом В. И. Бабыча (1979). Состояние свободнорадикального окисления липидов в бронхах определяли по содержанию диеновых конъюгатов методом В. Г. Гаврилова, М. И. Мышкорудной (1989), и малонового диальдегида методом Е. Н. Коробейникова (1989). Степень активности антиоксидантной защиты оценивали по содержанию ферментов супероксиддисмутазы методом R. Fried (1975), каталазы методом В. Holmes, C. Masters (1970) и глутатионпероксидазы методом Архиповой О. Г. (1988).

В работе установлен постепенный рост продуктов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгатов и малонового диальдегида на 5-е и 19-е сутки формирования экспериментальной бронхиальной астмы. Обнаружено исходное повышение активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы в бронхах на 5-е сутки, с последующим снижением этих ферментов на 19-е сутки эксперимента.

Полученные результаты свидетельствуют о нарушении равновесия между прооксидантной и антиоксидантной системами в бронхах в ранний период развития заболевания.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, антиоксидантная система.

UDC 612. 215. 1. 015. 11:616. 248-036. 6-092. 9

### **The Role of Disturbances of Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection in the Bronchi of Guinea Pigs in the Early Period of Formation of Experimental Bronchial Asthma**

**Kolishetska M. A.**

**Abstract.** During the last years picture of pathogenesis of bronchial asthma considerably broadened due to the role of unimmune mechanisms which predetermine the hypersensitivity of bronchial tubes. Role of processes of lipid peroxidation at the various diseases, in particular and at bronchial asthma, in the last years comes into the all greater notice of researchers. Lipid peroxidation is an universal biological mechanism which constantly is in the membranes of cells, its pathological strengthening predetermines the violation of structure and, accordingly, function of biological membranes, has an important value in the maintainance of physiology vital functions of cells. Strengthening of lipid peroxidation plays a substantial role in pathogenesis of many diseases: respiratory and cardiovascular systems, brain, liver, skin.

*The purpose* of work to study the conditions of prooxidant and antioxidant system in the bronchi of guinea pigs in the early period of formation of experimental bronchial asthma.

*Materials and methods.* Researches were conducted on guinea pigs, divided into five groups: I – control, II – 5<sup>th</sup> day of experiment, III – 19<sup>th</sup> day of bronchial asthma development, IV – 26<sup>th</sup> day and V – 33<sup>d</sup> day of model process. Early period included groups of animals on the 5<sup>th</sup> and 19<sup>th</sup> days of experiment. The late one – guinea pigs on the 26<sup>th</sup> and 33<sup>d</sup> days of bronchial asthma. Experimental bronchial asthma was simulated by method of Babych V. I. (1979). Condition of free radical lipid oxidization in the bronchi was determined on maintenance content of malonic dialdehyde by method of Corobeynikov E. G. (1989) and diene conjugates by method of Gavrylov V. G., Myshkorudna M. I. (1989). The degree of activity of antioxidant defence was estimated on maintenance enzymes – superoxidisedismutase by method of R. Fried (1975), catalase by the method of B. Holmes, C. Masters (1970), glutationperoxidase method of Arkhipova O. G. (1988).

*Results and discussion.* Gradual increasing of lipid peroxydations products – malonic dialdehyde, diene conjugate had been determined on the 5<sup>th</sup>, 19<sup>th</sup> days of experimental bronchial asthma development in this research. The dynamics of the activity of antioxidant system is characterized by an initial growth of indicators on the 5<sup>th</sup> day of the experimental bronchial asthma. Activation of the enzyme link is compensatory reaction of the organism to the increased concentration of mediators and lipid peroxidation products, which is designed to eliminate the excess amount of free radical products and their metabolites. This option can be regarded as a normal response of the body on prooxidant incentives. However, following decreasing of superoxidisedismutase, glutationperoxidase and catalase has been investigated in the bronchi on the 19<sup>th</sup> day of experiment which may be associated with the damage to their active forms of oxygen.

*Conclusions.* Thus, in the bronchi of the guinea pigs in the early period of development of experimental bronchial asthma free radical reactions has increased, initial activation and then inhibition of the activity of antioxidant enzymes have been observed. The got results testified about imbalance in antioxidant and prooxydant systems in the bronchi in early period of disease.

In future it is planned to study the functional state of prooxidant and antioxidant system in the bronchi of guinea pigs in the late period of the development of experimental bronchial asthma.

**Key words:** bronchial asthma, malonic dialdehyde, diene conjugate, antioxidant system.

*Рецензент – проф. Костенко В. О.*

*Стаття надійшла 5. 11. 2013 р.*