© Ковалишин О. А.

УДК 616. 24-002-092. 7

Ковалишин О. А.

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЛЕГЕНЯХ МОРСЬКИХ СВИНОК ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

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

orusia75@gmail.com

Дана робота є фрагментом НДР «Патогенетичні аспекти формування алергічних і запальних процесів, вплив їх на реактивність організму та фармакотерапія», № держ. реєстрації 0111U000126.

Вступ. За останні 30 років летальність від цього захворювання зросла від 1 до 9 %, а за умови розвитку тяжких ускладнень її у реанімаційних відділеннях досягає 40-50 % [1,3,4,9]. У США на пневмонію щорічно хворіє 5,6 млн дорослих і помирає 40-70 тис. захворілих [2].

Велику увагу як клініцисти так і експериментатори приділяють ролі і значенню процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) і стану антиоксидантної системи (АОС) в патогенезі розвитку експериментальної пневмонії (ЕП).

Метою дослідження було з'ясувати порушення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантної системи(АОС) в легенях при ЕП.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проведені на 60 морських свинках, самках, масою тіла 0,20-0.24 кг. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Тварин розподіляли на чотири групи, по 15 тварин у кожній. Перша група- контроль (інтактні морські свинки); друга- самки з ЕП на 3-ю добу; третя-морські свинки(самки) з ЕП на 7-у добу захворювання; четверта- тварини(самки) з ЕП на 14-у добу експерименту. З метою раціональної інтерпретації отриманих даних умовно виділяли два періоди: ранній- група тварин на 3-ю добу розвитку ЕП і пізній- морські свинки на 7-у і 14-у доби експерименту. Відтворення модельного процесу ЕП здійснювалось за методом В. Н. Шляпникова, Т. Л. Солодова, А. С. Степанова шляхом введення тваринам культури Staphylococcus aureus [10]. Усіх тварин декапітували під ефірним наркозом на 3, 7 і 14-у доби ЕП і забирали легеневу тканину для проведення біохімічних досліджень. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) визначали в легенях за методом В. Г. Гаврилова, В. І. Мишкорудної [3]; малонового діальдегіду (МДА)- за методом Е. Н. Коробейникова [5]; активність супероксиддисмутази (СОД) за методом R. Fried [11]; активність каталази (КТ) за методом R. Holmes, C. Masters [12]; активність глютатіонредуктази (ГР) – за методом В. М. Моін [6]. Цифровий матеріал був опрацьований статистично методом Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати проведених досліджень свідчать, що при ЕП відбувається надмірне утворення продуктів (ПОЛ) у легенях як в ранній (3-я доба ЕП), так і пізній (7-а і 14-а доби ЕП) періоди розвитку хвороби. Зокрема, на 3-ю, 7-у та 14-у доби розвитку ЕП відбувається поступове зростання вмісту ДК в легенях відповідно на 18,1 % ($p < 0,05$), 21,4 % ($p < 0,05$), 24,8 ($p < 0,05$) проти контролю. Аналіз іншого показника ВРО – малонового діальдегіду зазнав аналогічного напряму змін. Спостерігалось підвищення концентрації МДА в легенях на 20,5 % ($p < 0,05$), 23,7 % ($p < 0,05$), 27,4 ($p < 0,05$) проти групи інтактних тварин відповідно на 3-ю, 7-у та 14-у доби експерименту (**рис.)**. Нагромадження продуктів ПОЛ, в легенях, у ранній період розвитку експериментальної моделі хвороби спричинило зміну активності ферментів антиоксидантного захисту. Це стало поштовхом до компенсаторного підвищення СОД на 15,7 % ($p < 0,05$), КТ на 16,9 % ($p < 0,05$), та ГР на 25,1 % ($p < 0,05$) відносно першої групи тварин. Пізніше, на 7-у добу експерименту, надмірне утворення продуктів ПОЛ змінило активність окремих ферментів АОС в легенях. Різко знизилась активність ГР на 20,1 % ($p < 0,05$), проти групи інтактних тварин, а СОД і КТ досягнули рівня контрольних величин. Дослідження активності СОД, КТ, ГР на 14-у добу експерименту показали ще більше їх зниження, відповідно СОД змінилась на 29,5 % ($p < 0,05$), КТ- на 30,7 ($p < 0,05$), а ГР- на 38,2 % ($p < 0,05$) відносно групи контролю.

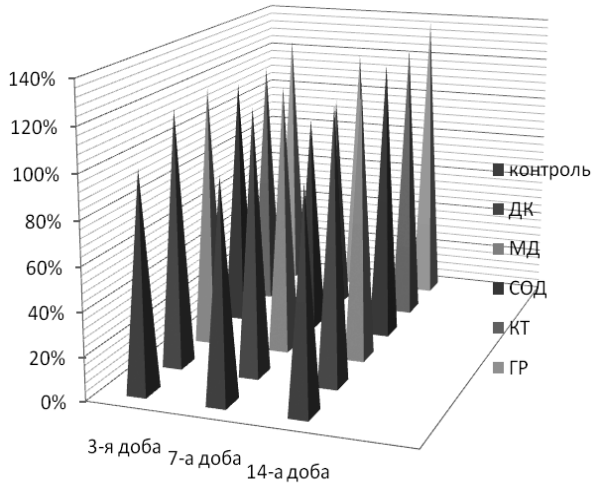

Рис. Вміст продуктів ПОЛ та стану АОС у легенях в динаміці розвитку ЕП (% від контролю).

Одержані результати досліджень показали, що різні етапи формування ЕП впливають на показники вільнорадикального окиснення ліпідів, та антиоксидантного захисту в легенях морських свинок порівняно з контрольними величинами. В ранньому періоді розвитку хвороби (3-я доба) зростали показники ДК, МДА, СОД, КТ, ГР. З початком пізнього періоду експерименту (7-а доба) активне нагромадження продуктів ПОЛ є причиною пошкоджуючого впливу на весь організм тварини. Захисні антиоксидантні механізми не здатні нейтралізувати шкідливі для організму продукти ліпопероксидації. Особливо це проявляється на 14-у добу експерименту, коли відбуваються суттєві порушення рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи в легенях, і переважають механізми пошкодження та розвиток оксидантного стресу.

Висновок. Таким чином, проведені дослідження показників ВРО і АОС в легенях самок в динаміці розвитку ЕП дозволяють зробити висновок про те, що нагромадження продуктів ПОЛ у легенях залежить від тривалості дії стафілокока, який виявляє пошкоджуючий вплив на організм тварини і виснажує захисні антиоксидантні механізми.

Перспективи подальших досліджень. Результати наших досліджень дозволяють розширити і поглибити знання про патогенез, дають змогу визначити активність запального процесу, удосконалюють діагностику та дозволяють обґрунтувати та розробити патогенетичну терапію.

Література

1. Барлетт Дж. Інфекції дихальних шляхів / Дж. Бартлетт. – 2000. – 192 с.
2. Внутрішня медицина : підручник / Н. М. Середюк, Є. М. Нейко, І. П. Вакалюк. – К. : Медицина, 2009. – 1104 с.
3. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. диагностика ишемичной болезни сердца. – К. : Здоров'я, 1989. – С. 170-171.
4. Казанцев В. А. Пневмония : Руководство для врачей / В. А. Казанцев, Б. Б. Удальцов. – Спб. : Спец. лит., 2002. – 118 с.
5. Коробейников Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н Коробейников // Лаб. дело. -1989. – №7. – С. 8-10.
6. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724-727.
7. Окороков Н. А. Лечение болезней органов дыхания / А. Н. Окороков. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Мед. лит., 2001. – 560 с.
8. Регеда М. С. Пневмонія / М. С. Регеда, М. М. Регеда, Л. О. Фурдичко. – Вид. шосте, доп. та перероб. – Львів, 2012. – 7 с.
9. Сильвестров В. П. О диагностике и лечении пневмоний / В. П. Сильвестров // Тер. архив. – 1998. – Т. 70, №9. – С. 45-49
10. Эксперментальные модели острых пневмоний, вызванных условно- патогенными бактериями и их ассоциацией : метод. Указания / В. Н. Шляпников, Т. Л. Солодова, С. А. Степанов [та ін.] – Саратов, 1988. – 30 с.
11. Fried R. Enzymatik and non- enzymatic assay of superoxide ifilii / R. Fried // Biochemie. – 1975. – Vol. 57, №5. – P. 657-660.
12. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holms, C. Masters // FEBS Lett. – 1970. – Vol. 11, № 11. – P. 45-48.

УДК 616. 24-002-092. 7

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЛЕГЕНЯХ МОРСЬКИХ СВИНОК ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

Ковалишин О. А.

Резюме. Проблема пневмонії відноситься до числа найбільш актуальних і маловивчених ділянок сучасної інфекційної патології та пульмонології. Захворювання на пневмонію складає в середньому від 10 до 13,8 на 1000 населення. Ця патологія займає 30-40 % від усіх захворювань легень, а у структурі загальної захворюваності – лише 0,33 %. З кожних 100 чоловік щорічно 1 хворіє на пневмонію. За даними А. Н. Окорокова (2001) на долю цього захворювання припадає не менше 10 відсотків усіх госпіталізацій.

В результаті досліджень встановлено, що в ранній період розвитку експериментальної пневмонії (3-а доба) зростає вміст ДК, МДА і збільшується активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ), глутатіонредуктази (ГР) в легенях. Пізній період експериментальної пневмонії (7-а і 14-а доба)

супроводжується зростанням продуктів перекисного окиснення ліпідів (диєнових кон'югатов і малонового діальдегіду) і зниженням активності ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази і каталази) в легенях самиць морських свинок, особливо на 14-у добу.

Ключові слова: експериментальна пневмонія, вільно радикальне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

УДК 616. 24-002-092. 7

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЛЕГКИХ МОРСКИХ СВИНОК В УСЛОВИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

Ковалишин О. А.

Резюме. Проблема пневмонии относится к числу наиболее актуальных и малоизученных разделов современной инфекционной патологии и пульмонологии. Заболевание пневмонией составляет в среднем от 10 до 13,8 на 1000 население. Эта патология занимает 30-40 % от всех заболеваний легких, а в структуре общей заболеваемости – лишь 0,33 %. Из каждых 100 человек ежегодно 1 болеет пневмонией. По данным А. Н. Окорокова (2001), на долю этого заболевания приходится не менее 10 процентов всех госпитализаций.

В результате исследований установлено, что в ранний период развития экспериментальной пневмонии (3-е сутки) возрастает содержание ДК, МДА и увеличивается активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КТ), глутатионредуктазы (ГР) в легких. Поздний период экспериментальной пневмонии (7-е и 14-е сутки) сопровождается возрастанием продуктов перекисного окисления липидов (диеновых коньюгатов и малонового диальдегида) и снижением активности ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы и каталазы) в легких самок морских свинок особенно на 14-е сутки.

Ключевые слова: экспериментальная пневмония, свободнорадикальное окисление липидов, антиоксидантная защита.

UDC 616. 24-002-092. 7

Characteristics of Changes of Free Radical Oxidation of Lipids and Antioxidant Protection in the Lungs of Guinea Pigs in the Formation of Experimental Pneumonia

Kovalyshin O. A.

Abstract. Pneumonia is one of the most actual and unexplored issues of contemporary infection pathology and pulmonology. Nowadays it occupies in general about 10-13,8 to 1000 cases among total population. This pathology takes about 30-40 % of all lung diseases and only 0,33 % in the general disease structure.

Out of every 100 people, 1 falls ill with pneumonia every year. According to A. N. Okorokov (2001), this illness is responsible for at least 10 % of all hospitalizations.

Objective. To determine breaking of free radical oxidation of lipids and antioxidant protection system in lungs under condition of EP development.

Materials and methods of the research. Experiments were conducted on 60 guinea pigs – females with body weight between 0,20-0,24 kg. Guinea pigs were divided into 4 groups, 15 in each group. First control group (intact guinea pigs), second – with EP on day 3, third – females with EP on the 7th day of the disease, fourth – females with EP on the 14th day of the experiment. The process of the EP was modelled using the method by U. N. Shljapnikov, T. L. Solodov, A. S. Stepanov in animals trigged by Staphylococcus aureus. After the experiment all the animals were decapitated using ether anesthesia on days 3, 7, and 14 of the EP., the lung tissue was taken for the biochemical studies.

The level of diene conjugate (DC) in lungs was determined using the method by V. G. Gavrilov, V. I. Myshkorudna, Malone dialdegid (MDA) level using the method by E. N. Korobeinikov, the SOD level using the method by R. Fried., catalase activity (CT) using the method by R. Holmes and C. Masters, the glutation reductase (GR) level using the method by V. M. Moin. Statistical processing of digital data was conducted using the Stjudent method.

Research results and discussion. The results of the researches show the increase of level of POL products in lungs under the EP in both early (day 3 of the EP) and later (7,14 days)periods of the disease development. So it can be concluded that the concentration of diene conjugate (DC) gradually increased in lungs by 18,1 % ($p < 0,05$), 21,4 % ($p < 0,05$),24,8 ($p < 0,05$) vs control. Analyzing the content of malone dialdegid (MDA)in the lungs showed the same results – the increasing of its level by 20,5 % ($p < 0,05$), 23,7 % ($p < 0,05$), 27,4 % ($p < 0,05$) vs the control intact group on days 3,7 and 14 of the experiment.

Accumulation of the POL products in lungs in the early period of the EP caused changes of the enzymes of the AOS which in its turn caused a compensatory increase of the SOD content by 15,7 % ($p < 0,05$), CT content by 16,9 % ($p < 0,05$) and GR content by 25,1 % (0,05) vs first group of animals.

Later, on the 7th day of the experiment, the overproduction of POL markers changed the activity of some AOS enzymes in the lungs. A significant decrease of GR activity by 20,1 % ($p < 0,05$) vs group of intact animals was observed, at the same time the SOD and CT contents increased by control levels.

Examination of the SOD, CT and GR activity on the day 14 of the experiment showed further decrease, SOD changed respectively by 29,5 % ($p < 0,05$), CT – to 30,7 ($p < 0,05$), and GR – to 38,2 % ($p < 0,05$) vs control group.

These results showed that different periods of the EP modeling can change the indicators of free radical oxidation of lipids and antioxidant protection in the lungs of guinea pigs vs control levels. In the early period of disease development (day 3) the DC, MDA, SOD, CT, GR increased concentration. During the later period of the EP (7 day) the active increasing of POL products level initiated the general destructive processes in animal bodies. The system of antioxidant protection cannot neutralize these injurious products of lipid peroxidation. Especially it can be manifested on the day 14th of the experiment by significant imbalance in the oxidant-antioxidant system in the lungs with predominance of destructive mechanisms and the oxidant stress development.

Conclusion. Thus, the analysis of free radical oxidation and AOS markers in the lungs of guinea pigs (females) under condition of EP development indicate that accumulation of POL products in the lungs depends on the duration of Staphylococcus aureus invasion, its general destructive influence on the animal body which exhausts the antioxidant protective mechanisms.

Keywords: experimental pneumonia, free radical oxidation of lipids, antioxidant protection.

Рецензент – проф. Тарасенко Л. М.

Стаття надійшла 19. 02. 2015 р.