

УДК: 612.2.-018-092.9

Нетюхайло Л. Г., Сухомлин Т. А., Басараб Я. О.

## СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЛЕГЕНЬ ПРИ ГОСТРОМУ ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОМУ СТРЕСІ У ЩУРІВ З РІЗНИМ ТИПОМ РЕАГУВАННЯ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ ГЛУТАПІРОНОМ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

basarab.yaroslav.doc@gmail.com

Дана робота є фрагментом НДР «Біохімічні і патофізіологічні механізми ушкодження внутрішніх органів при опіковій хворобі», № державної реєстрації 0111U005142.

**Вступ.** За даними ВООЗ, респіраторні хвороби посідають друге місце в структурі загальної смертності [8]. В патогенезі розвитку багатьох захворювань дихальної системи важлива роль належить стресорним пошкодженням [4,7]. Тому дослідження впливу нейрогенного стресу на легеневу тканину є актуальним питанням сучасної медицини. Відомо, що стрес може призводити до активації вільнорадикальних процесів в тканинах [3,5,6,11]. Глутапірон – це похідне 1,4-дигідропіридину, що володіє антигіпоксантиною, антиоксидантною та цитопротекторною дією [15,12,11]. Глутапірон застосовується в неврологічній, кардіологічній практиці [13,14,16,17], проте можливість його застосування для корекції пошкодження легень при стресі вивчена недостатньо.

**Метою дослідження** було вивчення вільнорадикальних процесів та змін активності антиоксидантної системи в легенях щурів різного типу реагування в умовах гострого емоційно-больового стресу та при корекції цих змін глутапіроном.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проведено на 78 статевозрілих щурах лінії «Wistar» масою 150 – 180 г. Типування тварин проводили методом «відкрите поле». Щурів розділили на три типи: активні, середні та пасивні. Експерименти було проведено з тваринами активного та пасивного типів [9]. Гострий емоційно-больовий стрес відтворювали за методикою O. Disederato [10]. Евтаназію тварин здійснювали під гексеналовим наркозом. Експерименти виконані з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006).

Для вивчення вільнорадикальних процесів визначали рівень ТБК-реактивних в легеневій тканині, який виступає маркером оксидативного стресу [1]. Для оцінки антиоксидантної системи досліджували активність каталази [2] та вміст аскорбінової кислоти в тканинах легень [1]. Глутапірон вводили внутрішньоочеревинно дозою 1 мг/кг відразу після моделювання гострого емоційно-больового стресу [15]. Отримані результати експериментальних досліджень аналізували з використанням U-критерію

Манна-Уїтні; достовірними даними вважали ті, що відповідають  $p < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Для дослідження вільнорадикальних процесів вивчали рівень ТБК-реактивних в легеневій тканині щурів (табл. 1). ТБК-реактивні є маркером перекисного окиснення ліпідів та оксидативного стресу,

Таблиця 1.

### Вміст ТБК-реактивних у тканинах легень щурів при гострому емоційно-больовому стресі за умов корекції глутапіроном, мкмоль/г тканини ( $M \pm m$ ; $n=7$ )

Групи тварин	Активний тип	Пасивний тип
Контроль	38,72 ± 1,49	28,67 ± 3,56
Гострий стрес	64,65 ± 4,16*	40,75 ± 5,96*
Глутапірон	35,85 ± 3,58	27,93 ± 2,24
Гострий стрес + глутапірон	48,22 ± 4,85*	34,59 ± 3,47*

Примітка: \* –  $p < 0,05$  порівняно з контролем.

їх вміст підвищується при деградації поліненасичених жирних кислот під впливом вільних радикалів. У тварин активного типу спостерігалось підвищення вмісту ТБК-реактивних у 1,67 разу ( $p < 0,05$ ), у пасивного типу – в 1,42 разу ( $p < 0,05$ ). В умовах експериментальної корекції глутапіроном, вміст ТБК-реактивних у легенях щурів був суттєво нижчим, ніж без введення препарату. Рівень ТБК-реактивних зріс у 1,24 разу ( $p < 0,05$ ) у тварин активного типу, та у 1,21 разу ( $p < 0,05$ ) у пасивного типу щурів. Ці дані свідчать про активацію перекисного окиснення ліпідів у щурів в умовах гострого стресу.

Для оцінки ефективності ферментативної ланки антиоксидантної системи в легенях експериментальних тварин вивчали активність каталази (табл. 2). При гострому емоційно-больовому стресі спостерігалось зниження рівня активності каталази у 1,85 разу ( $p < 0,05$ ) у тварин активного типу та у 1,53 разу ( $p < 0,05$ ) у щурів пасивного типу. За умов корекції глутапіроном активність каталази зменшувалась у 1,26 разу ( $p < 0,05$ ) у активного типу, і в 1,17 разу ( $p < 0,05$ ) у пасивного типу тварин. Зменшення активності каталази призводить до накопичення в легеневій тканині пероксиду водню та гідроксильних радикалів, які викликають активацію перекисного окиснення ліпідів клітинних мембран і окиснювальну модифікацію протеїнів. У щурів, які одержували глутапірон, зменшення активності каталази було не таке значуще, що вказує на активацію ферментативного шляху зв'язування вільних радикалів.

**Таблиця 2.**  
**Активність каталази в тканинах легень щурів при гострому емоційно-больовому стресі за умов корекції глутапіроном, мкмоль/хв·мг протеїну (M±m; n=7)**

Групи тварин	Активний тип	Пасивний тип
Контроль	2,85 ± 0,34	2,73 ± 0,31
Гострий стрес	1,54 ± 0,63*	1,78 ± 0,35*
Глутапірон	2,72 ± 0,14	2,17 ± 0,42
Гострий стрес + глутапірон	2,25 ± 0,27*	2,34 ± 0,11*

Примітка: \* – p<0,05 порівняно з контролем.

Також досліджували вміст аскорбінової кислоти в легеневій тканині щурів з гострим емоційно-больовим стресом для оцінки неферментативної ланки антиоксидантної системи (табл. 3). У тварин

**Таблиця 3.**  
**Вміст аскорбінової кислоти в тканинах легень щурів при гострому емоційно-больовому стресі за умов корекції глутапіроном, мкмоль/г тканини (M±m; n=7)**

Групи тварин	Активний тип	Пасивний тип
Контроль	335,97 ± 22,46	324,46 ± 14,62
Гострий стрес	254,86 ± 18,62*	275,39 ± 17,95*
Глутапірон	337,01 ± 18,13	329,97 ± 18,56
Гострий стрес + глутапірон	292,58 ± 21,11*	303,14 ± 13,11

Примітка: \* – p<0,05 порівняно з контролем.

спостерігалось зниження вмісту аскорбінової кислоти у 1,32 разу (p<0,05) у активного типу щурів, і в 1,18 разу (p<0,05) у пасивного типу. У тварин активного типу, яким вводили глутапірон, рівень аскорбінової кислоти знижувався у 1,15 разу (p<0,05), у пасивного типу – в 1,07 разу. Аскорбінова кислота викликає зниження швидкості утворення вільних радикалів, таким чином, зменшення її вмісту, особливо у тварин активного типу, свідчить про порушення компенсаторних механізмів антиоксидантної системи захисту. Водночас, використання глутапірону призводить до зростання вмісту аскорбінової кислоти в тканинах щурів обох типів.

**Висновки.** Отже, в умовах гострого емоційно-больового стресу розвивається порушення балансу між дією прооксидантних факторів та антиоксидантною системою за рахунок активації вільнорадикальних процесів. Розвиток оксидативного стресу та зменшення антиоксидантного захисту були більш виражені у щурів активного типу. Це свідчить про те, що стресорні пошкодження легень залежать також і від типологічних особливостей нервової системи організму. Глутапірон нормалізує патологічні зміни у легеневій тканині щурів за умов гострого стресу.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується в подальшому встановити патологічні зміни в тканинах легень при гострому стресі в динаміці.

## Література

- Kamyshnikov V.S. Spravochnik po kliniko-biohimicheskoj laboratornoj diagnostike / V.S. Kamyshnikov. – Minsk: Belarus, 2000. – 463 s.
- Korolyuk M.A. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy / M.A. Korolyuk, L.Y. Ivanova, Y.H. Mayorova // Laboratornoe delo. – 1988. – № 1. – S. 16-19.
- Netyukhaylo L.H. Efekty metabolitiv arakhidonovoyi kysloty v lehenyakh / L.H. Netyukhaylo, T.A. Sukhomlyn, A.A. Sukhomlyn // Molodyy vchenyy. – 2016. – T. 36, № 9. – S. 136-140.
- Netyukhaylo L.H. Sostoyanie antioksydantnoy systemy vnutrennikh orhanov kryis pri ozhogovoy bolezni / L.H. Netyukhaylo, T.A. Sukhomlyn, Ya.A. Basarab, V.V. Bondarenko, S.V. Kharchenko // Byulleten sibirskoy meditsiny. – 2014. – Tom 13, № 3. – S. 51-55.
- Netyukhaylo L.H. Stan vil'no-radykal'nykh protsesiv, systemy antyoksydantnoho zakhystu ta proteolizu v lehenyakh shchuriv pry eksperymental'nyy opikoviy khvorobi / L.H. Netyukhaylo, T.A. Sukhomlyn // Zahal'na patolohiya ta patolohichna fiziolohiya. – 2012. – Tom 7, № 1. – S. 80-83.
- Sukhomlyn T.A. Aktyvnist' vil'noradykal'nykh protsesiv u lehenyakh shchuriv v umovakh eksperymental'noy opikovoyi khvoroby / T.A. Sukhomlyn, L.H. Netyukhaylo // Svit medytsyny ta biolohiyi. – 2012. – № 2. – S. 159-160.
- Sukhomlyn T.A. Protseyi perekysnoho oksynennya lipidiv u lehenyakh shchuriv za umov opikovoyi khvoroby ta yikh korektsiya preparatom «Lipin» / T.A. Sukhomlyn // Aktual'ni problemy suchasnoy medytsyny: Visnyk UMSA. – 2013. – Tom 13, vyp. 4 (44). – S. 187-190.
- Sukhomlyn T.A. Patohenetychni mekhanizmy ushkodzhennya lehen' pry opikoviy khvorobi / T.A. Sukhomlyn, L.H. Netyukhaylo // Svit medytsyny ta biolohiyi. – 2011. – № 2. – S. 184-189.
- Tarasenko L.M. Stressprotektorniy effekt glutapirona – novogo tipa aminokislotsoderzhaschih 1,4-digidropiridinov v otnoshenii tkaney parodonta i zheludka u kryis s raznoy stressoustoychivostyu / L.M. Tarasenko, K.S. Neporada, V.E. Klusha // Byul. eksperim. biol. i med. – 2002. – T. 133, № 4. – S. 426-428.
- Desiderato O. Development of gastric ulcerous in rats following stress termination / O. Desiderato, I.K. Mackinon, H. Hisson // J. comp. physiol. – 1974. – Vol. 37. – P. 208-214.
- Fernandes M.A. Effects of 1,4-dihydropyridine derivatives (cerebrocrast, gammapyrone, glutapyrone, and diethone) on mitochondrial bioenergetics and oxidative stress: a comparative study / M.A. Fernandes, M.S. Santos, J.A. Vicente, A.J. Moreno [et al.] // Mitochondrion. – 2003. – Vol. 3, № 1. – P. 47-59.
- Klusa V. Atypical 1,4-dihydropyridine derivatives, an approach to neuroprotection and memory enhancement / V. Klusa // Pharmacol Res. – 2016. – Vol. 113. – P. 754-759.
- Misane I. «Atypical» neuromodulatory profile of glutapyrone, a representative of a novel 'class' of amino acid-containing dipeptide-mimicking 1,4-dihydropyridine (DHP) compounds: in vitro and in vivo studies / I. Misane, V. Klusa, M. Dambrova, S. Germane [et al.] // Eur Neuropsychopharmacol. – 1998. – Vol. 8, № 4. – P. 329-347.

- Osina K. 1,4-Dihydropyridine derivatives without Ca<sup>2+</sup>-antagonist activity up-regulate Psmα6 mRNA expression in kidneys of intact and diabetic rats / K. Osina, E. Rostoka, J. Sokolovska, N. Paramonova [et al.] // Cell Biochem Funct. – 2016. – Vol. 34, № 1. – P. 3-6.
- Pupure J. Distinct influence of atypical 1,4-dihydropyridine compounds in azidothymidine-induced neuro- and cardiotoxicity in mice ex vivo / J. Pupure, S. Isajevs, V. Gordjushina, I. Taivans [et al.] // Basic Clin Pharmacol Toxicol. – 2008. – Vol. 103, № 5. – P. 401-406.
- Vaitkuvieni A. Study of the interaction of 1,4-dihydropyridine derivatives with glucocorticoid hormone receptors from the rat liver / A. Vaitkuvieni, A. Ulinskaite, R. Meskys, G. Duburs [et al.] // Pharmacol Rep. – 2006. – Vol. 58, № 4. – P. 551-558.
- Vartanian L.P. Antineoplastic effect of glutapyrone in continual gamma-irradiation of rats / L.P. Vartanian, E.V. Ivanov, S.F. Ver-shinina, A.B. Markchev [et al.] // Radiats Biol Radioecol. – 2004. – Vol. 44, № 2. – P. 198-201.

УДК: 612.2.-018-092.9

### СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЛЕГЕНЬ ПРИ ГОСТРОМУ ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОМУ СТРЕСІ У ЩУРІВ З РІЗНИМ ТИПОМ РЕАГУВАННЯ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ ГЛУТАПІРОНОМ

Нетухоайло Л. Г., Сухомлин Т. А., Басараб Я. О.

**Резюме.** В статті наведені результати впливу гострого стресу на легеневу тканину щурів з різним типом реагування. За цих умов спостерігається активація вільнорадикальних процесів на фоні зниження активності антиоксидантної системи, про що свідчить накопичення ТБК-реактантів, зменшення вмісту аскорбінової кислоти та зниження активності каталази. Показано, що вказані зміни більш виражені у щурів з активним типом реагування. Також наведено дані, що глутапірон ефективно нормалізує патологічні зміни у легеневій тканині щурів за умов гострого стресу.

**Ключові слова:** легені, глутапірон, оксидативний стрес.

УДК: 612.2.-018-092.9

### СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЛЕГКИХ ПРИ ОСТРОМ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОМ СТРЕССЕ У КРЫС С РАЗНЫМ ТИПОМ РЕАГИРОВАНИЯ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ГЛУТАПИРОНОМ

Нетухоайло Л. Г., Сухомлин Т. А., Басараб Я. О.

**Резюме.** В статье представлены результаты влияния острого стресса на ткани легких крыс с разным типом реагирования. В этих условиях наблюдается активация свободно-радикальных процессов на фоне снижения активности антиоксидантной системы, о чем свидетельствует накопление ТБК-реактантов, уменьшение содержания аскорбиновой кислоты и снижение активности каталазы. Показано, что указанные изменения более выражены у крыс с активным типом реагирования. Также представлены данные, что глутапірон эффективно нормализует патологические изменения в легочной ткани крыс в условиях острого стресса.

**Ключевые слова:** легкие, глутапірон, оксидативный стресс.

UDC: 612.2.-018-092.9

### CONDITION OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF LUNGS AT ACUTE EMOTIONAL-PAIN STRESS IN RATS WITH DIFFERENT TYPES OF REACTION AND CORRECTION BY GLUTAPYRONE

Netyukhaylo L. G., Sukhomlyn T. A., Basarab Y. O.

**Abstract.** Lung injury is a frequent consequence of acute stress. Better understanding of the mechanisms of pathological changes at acute emotional-pain stress contributes to searching for effective methods of treatment.

**Objective.** The aim of our research is a study of free-radical oxidation and changes of antioxidant system in rats lungs with different types of reaction under condition of acute emotional-pain stress and their correction by glutapyrone.

**Object and methods.** Experiments were carried out on 78 male Wistar rats, weight 150-180 g. The rats were divided into three groups (active, middle, passive). It was used open field test. Experimental investigation was carried out in accordance with international bioethical principles and the laws of Ukraine. We modeled acute emotional-pain stress on the rats of experimental and control groups (model by O. Disederato). The intensity of the free-radical processes was evaluated on the basis of the content of malondialdehyde (MDA) and antioxidant system – based on the activity of catalase, the content of ascorbic acid in homogenates of the lungs. Glutapyrone was injected intraperitoneally (1 mg/kg) after modelling of acute emotional-pain stress.

**Results.** Under conditions of emotional-pain acute stress is observed changes of antioxidant system in rats lungs. It was found the increasing of MDA in lungs: rats from active group – by 1,67 times ( $p<0,05$ ), after correction by glutapyrone by 1,24 times ( $p<0,05$ ); rats from passive group – by 1,42 times ( $p<0,05$ ), after correction – by 1,21 times ( $p<0,05$ ) compared to the control. This indicates the development of oxidative stress in rats under acute emotional-pain stress. Under these conditions it was observed the decrease of catalase and ascorbic acid in lungs. The activity of catalase decreased: in active group – by 1,85 times ( $p<0,05$ ), after correction by 1,26 times ( $p<0,05$ ); in passive group – by 1,53 times ( $p<0,05$ ), after correction – by 1,17 times ( $p<0,05$ ) compared to the control. It was observed the decreasing of ascorbic acid level in lungs: rats from active group – by 1,32 times ( $p<0,05$ ), after application of glutapyrone by 1,18 times ( $p<0,05$ ); in passive group – by 1,15 times ( $p<0,05$ ), with correction – by 1,07 times ( $p<0,05$ ) compared to the control. Thus, application of glutapyrone resulted to normalization of the activity of catalase and increasing of the content of ascorbic acid in the lungs tissues of both types of rats.

We found that the rats from active group had more significant changes than the rats from passive groupe.

**Conclusions.** At emotional-pain acute stress there is development of disbalance between the action of prooxidant and antioxidant systems due to the activation of free radical processes. The development of oxidative stress and reduction of antioxidant defense were more pronounced in active type rats. This indicates that stress lung damage also depends on the typological features of the nervous system. Experimental correction by glutapyrone leads to reduce of pathological changes in rats lungs at acute emotional-pain stress.

**Prospects for further research.** Further study of the pathological changes in the lungs tissues under condition of acute emotional-pain stress in dynamics.

**Keywords:** lungs, glutapyrone, oxidative stress.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 17.08.2017 року