

УДК: 577.1:616.24-092.9

Сухомлин Т.А.

ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ПРЕПАРАТОМ «ЛІПІН»

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

В умовах опікової хвороби в тканинах легень підвищується активність процесів ПОЛ на фоні зниження антиоксидатного захисту. Експериментальна корекція препаратом «Ліпін» сприяє нормалізації патологічних змін в легенях щурів за умов опікової хвороби, на що вказує підвищення активності антиоксидантних ферментів та пригнічення вільно-радикального окиснення.

Ключові слова: опікова хвороба, легені, перекисне окиснення ліпідів, ліпін

Робота є фрагментом НДР «Біохімічні і патофізіологічні механізми ушкодження внутрішніх органів при опіковій хворобі», державний реєстраційний номер №0111U005142.

Вступ

За даними ВООЗ, термічні опіки займають третє місце у структурі смертності внаслідок отриманих травм, зокрема через зростання частоти розвитку опікової хвороби [10]. Значно погіршують прогноз при опіковій хворобі ураження дихальних шляхів, що робить питання профілактики ушкодження легень при опіковій хворобі важливою проблемою сучасної медицини.

Відомо, що опікова хвороба супроводжується посиленням процесів вільно-радикального окиснення [11,13]. Вільні радикали впливають на різні компоненти клітини і перш за все – на ліпіди плазматичних мембран, які містять ненасичені жирні кислоти. За умов посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) при опіковій хворобі відбуваються зміни ліпідного складу в мембранах клітин легень та порушується утворення сурфактанту [14]. Опікова хвороба завжди супроводжується активацією ПОЛ, внаслідок розвитку стресової реакції, запальних змін та гіпоксії [12].

Ліпін - це метаболітотропний препарат, ліпосомна форма природного ліофілізованого яєчного фосфатидилхоліну [2]. У розчинах Ліпін переходить у суспензію з утворенням ліпосом. Ліпосоми, як наночастинки, впливають на процеси ПОЛ та стабілізують ліпідний склад мембран. Препарат Ліпін має антиоксидантну, антигіпоксичну та мембранопротекторну дію, а також покращує мікроциркуляцію та нормалізує вміст сурфактанту. Ліпін застосовується при різних захворюваннях, що супроводжуються активацією ПОЛ та гіпоксією. Але можливість застосування Ліпіну при опіковій хворобі вивчена недостатньо.

Мета

Метою дослідження було вивчення впливу препарату Ліпін на процеси ПОЛ та зміни ліпідного обміну в легенях щурів в умовах експериментальної опікової хвороби (ЕОХ) в докладній динаміці.

Матеріали і методи

Експерименти було виконано на 112 білих щурах-самцях, вагою 180-200г, згідно з Міжнародними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин. Щурів утримували

на звичайному раціоні, в стандартних умовах віварію. У тварин моделювали опікову хворобу за методом Довганського [5] шляхом занурення епільованої шкіри задньої кінцівки у гарячу воду ($t +70 -75 \text{ C}$) протягом 7сек, під легким ефірним наркозом. За таких умов утворювався опік IIIA-B ступеню, площею 12-15% поверхні тіла. Евтаназію тварин проводили під ефірним наркозом на 1-у, 7-у, 14-у, 21-у, 28-у добу, що відповідає стадіям опікового шоку, токсемії та септикотоксемії. Препарат «Ліпін» вводили внутрішньоочеревинно в дозі 5 мг/кг відразу після моделювання ЕОХ. В гомогенаті легеневої тканини визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) [12], окисномодифікованих білків (ОМБ) [6], молекул середньої маси (МСМ) [3], фосфоліпідів (ФЛ) [7], триацилгліцеролів (ТГ) [7], вільних жирних кислот (ВЖК) [7], холестерину (ХС) [7], активність супероксиддисмутази (СОД) [1] та каталази [9]. Отримані результати статистично обробляли з використанням U-критерію Манна-Уїтні.

Результати дослідження та їх обговорення

Встановлено, що рівень МДА в легенях щурів збільшився у порівнянні з контролем у 3,12 разу на 1-у добу ЕОХ, на 7-у добу – у 2,73 разу, на 14-у добу – у 2,31 разу, на 21-у добу – у 1,59 разу, на 28-у добу – у 1,36 разу, що вказує на активацію ПОЛ (табл. 1).

Найвищі рівні МДА припали на 1-у та 7-у добу ЕОХ, що відповідає стадії опікового шоку та токсемії. Окисна модифікація білків є найбільш раннім маркером оксидативного стресу. На 1-у добу ЕОХ підвищення вмісту ОМБ в тканинах легень порівняно з контролем склало в 1,58 разу, на 7-у добу – у 1,74 разу, на 14-у добу – у 1,83 разу, на 21-у добу – у 1,64 разу, на 28-у добу – у 1,41 разу. Дані зміни вказують на накопичення продуктів вільно-радикального окиснення в легенях щурів при ЕОХ. Активація процесів вільно-радикального окиснення також призводить до ендогенної інтоксикації та збільшення вмісту МСМ. При ЕОХ вміст МСМ в тканинах легень щурів збільшився в 1,72 разу на 1-у добу ЕОХ, на 7-у добу – у 2,09 разу, на 14-у добу – у 2,18 разу, на 21-у добу – у 1,91 разу, на 28-у добу – у 2,54 разу відповідно порівняно з контролем. Це свідчить про розвиток ендотоксемії та суттєвих метаболічних розладів при ЕОХ.

Таблиця 1

Вміст ОМБ, МДА та МСМ в тканинах легень щурів при опіковій хворобі та за умов корекції препаратом «Ліпін», (M±m)

Групи тварин	Окисно-модифіковані білки, у.о.	Молекули середньої маси, у.о.	Малоновий діальдегід, мкмоль/г
1.Контроль (n=7)	0,31 ± 0,013	0,11 ± 0,01	40,18 ± 1,63
2. ЕОХ 1-а доба (n=7)	0,49 ± 0,014*	0,19 ± 0,01*	125,01 ± 3,67*
3. ЕОХ 1-а доба (n=7) + Ліпін	0,37 ± 0,01*	0,14 ± 0,01*	74,15 ± 3,21*
4. ЕОХ 7-а доба (n=7)	0,54 ± 0,014*	0,23 ± 0,01*	109,89 ± 2,01*
5. ЕОХ 7-а доба (n=7) + Ліпін	0,41 ± 0,013*	0,17 ± 0,01*	52,64 ± 2,16*
6. ЕОХ 14-а доба (n=7)	0,57 ± 0,014*	0,24 ± 0,01*	92,72 ± 2,71*
7. ЕОХ 14-а доба (n=7) + Ліпін	0,46 ± 0,01*	0,21 ± 0,01*	49,73 ± 1,86*
8. ЕОХ 21-а доба (n=7)	0,51 ± 0,015*	0,21 ± 0,01*	64,22 ± 1,63*
9. ЕОХ 21-а доба (n=7) + Ліпін	0,44 ± 0,01*	0,16 ± 0,01*	46,38 ± 2,29*
10. ЕОХ 28-а доба (n=7)	0,44 ± 0,012*	0,28 ± 0,01*	54,94 ± 2,19*
11. ЕОХ 28-а доба (n=7) + Ліпін	0,39 ± 0,01*	0,13 ± 0,01*	42,54 ± 1,08*

Примітка: У таблиці позначено статистично вірогідні різниці між рівнем ОМБ, МДА та МСМ в дослідних групах відносно контролю.* – $p < 0,05$.

Також досліджували ферментну ланку антиоксидантної системи: СОД та каталазу. Спостерегалось зменшення активності СОД вже на 1-у добу в 1,65 разу порівняно з контролем, далі показник знижувався на 7-у добу в 2,03 разу та на 14-у добу – в 2,18 разу відповідно. Потім активність СОД дещо відновилась, але контрольних значень не досягла. Також відзначалось зниження активності каталази у 1,47 разу на 1-у добу, після чого вона дещо підвищувалась, але залишалась нижче за контрольну.

В умовах корекції Ліпіном вміст МДА в легенях був суттєво нижчим, ніж без введення препарату. Рівень МДА збільшився у порівнянні з контролем максимально у 1,84 разу на 1-у добу ЕОХ, а далі поступово знижувався, досягнувши контрольних показників. Це свідчить, що введення Ліпіну значно зменшує активацію ПОЛ при опіковій хворобі і призводить до більш ранньої нормалізації його показників. Також зафіксоване зростання рівню ОМБ у легенях, на 1-у добу воно становило в 1,19 разу, на 7-у добу – у 1,32 разу, на 14-у добу – у 1,48 разу, потім вміст ОМБ знижувався. Рівень МСМ в тканинах легень щурів на фоні введення Ліпіну зростав, але був значно нижчим ніж у контрольних тварин. Так, вміст МСМ збільшився в 1,27 разу на 1-у добу ЕОХ, досягши максимального показника на 14-у добу – у 1,91 разу, і нормалізувався на 28-у добу. Динаміка зміни показника МСМ свідчить, що застосування Ліпіну зменшує ступінь інтоксикації у досліджуваних тварин.

Активність СОД знижувалась на фоні ЕОХ і при введенні Ліпіну (табл. 2) максимально на 14-у добу – у 1,3 разу, що відповідає стадії пізньої токсемії, а на 28-у добу показник дорівнював контрольним значенням. Крім того, активність каталази також знижувалась найбільше на 14-у добу – у 1,44 разу, проте на 28-у добу поверталась до вихідних показників. Таким чином, у щурів, які отримували Ліпін, відбувалась активація ферментативної ланки антиоксидантного захис-

ту і показники швидше нормалізувались.

Вміст фосфоліпідів на 1-у добу знизився у 1,34 разу (табл. 3). В подальшому рівень фосфоліпідів дещо підвищився але залишався нижче контрольного. На 7-у добу ЕОХ, що відповідає стадії ранньої токсемії, вміст фосфоліпідів був нижче за контрольний у 1,27 разу, на 14-у добу – у 1,21 разу, на 21-у добу – у 1,09 разу відповідно. Рівень тригліцеридів в легеневій тканині в умовах ЕОХ також знижувався, на 1-у добу – у 1,85 разу, досягаючи мінімуму на 7-у добу – у 1,94 разу. В подальшому вміст ТГ починав зростати, але залишався нижчим за контрольний показник. Водночас, вміст ВЖК зростав і перевищував контрольні показники у всі стадії опікової хвороби. На 1-у добу опікової хвороби – у 2,27 разу, на 7-у добу – у 2,45 разу, на 14-у добу вміст ВЖК у легеневій тканині почав дещо знижуватись, але перевищував вихідні показники у контрольних тварин, на 21-у добу – у 1,65 разу, а на 28-у добу – у 1,47 разу. Підвищення вмісту ВЖК при ЕОХ може бути пов'язане зі збільшенням активності фосфоліпази А₂, зниженням інтенсивності окиснення вільних жирних кислот та пригніченням процесів реацилювання, а також зниженням інтенсивності включення жирних кислот у ФЛ та ТГ.

Отже, в умовах ЕОХ значно активується ліпідний обмін, про що свідчить зниження вмісту ФЛ, ТГ і збільшення вмісту ВЖК. Найбільш суттєвих змін вміст ФЛ зазнавав в стадію опікового шоку – в цей період даний показник знижувався максимально, вміст ТГ максимально знижувався у стадію ранньої токсемії, а концентрація ВЖК збільшувалась в усі стадії опікової хвороби: опікового шоку, токсемії, септикотоксемії. Введення Ліпіну на фоні ЕОХ вірогідно підвищувало вміст фосфоліпідів в усі стадії опікової хвороби, найсуттєвіше на 1-у та 7-у добу, у 1,21 разу і 1,11 разу відповідно. Рівень ТГ у легеневій тканині також знижувався у 1,27 разу на 1-у добу, але повертався до норми на 28-у добу. Застосуван-

ня препарату Ліпін також сприяло зниженню рівня ВЖК, в порівнянні з аналогічними показниками у щурів з ЕОХ без корекції. Так, на 1-у добу вміст ВЖК підвищився у 1,76 разу, а на 28- у добу майже повернувся до норми.

Таким чином, Ліпін сприяє нормалізації показників ліпідного обміну: підвищує рівень ФЛ, ТГ

та знижує вміст ВЖК. В умовах ЕОХ достовірно підвищувався вміст холестеролу в порівнянні з контролем. На 1-у добу він зріс у 1,31 разу, на 7-у добу – у 1,37 разу, потім дещо знизився. При введенні препарату «Ліпін» рівень холестеролу суттєво не зростав.

Таблиця 2
Активність каталази і СОД в тканинах легень щурів при ЕОХ та за умов корекції препаратом «Ліпін», (M±m)

Групи тварин	Активність каталази, нкат/г	Активність СОД, од/г
1. Контроль (n=7)	4,71 ± 0,13	2,58 ± 0,13
2. ЕОХ 1-а доба (n=7)	3,19 ± 0,09*	1,56 ± 0,23*
3. ЕОХ 1-а доба (n=7) + Ліпін	4,13 ± 0,35*	2,36 ± 0,27*
4. ЕОХ 7-а доба (n=7)	2,98 ± 0,12*	1,27 ± 0,17*
5. ЕОХ 7-а доба (n=7) + Ліпін	3,86 ± 0,42*	2,17 ± 0,24*
6. ЕОХ 14-а доба (n=7)	2,16 ± 0,11*	1,18 ± 0,13*
7. ЕОХ 14-а доба (n=7) + Ліпін	3,27 ± 0,29*	1,98 ± 0,33*
8. ЕОХ 21-а доба (n=7)	2,48 ± 0,1*	1,33 ± 0,14*
9. ЕОХ 21-а доба (n=7) + Ліпін	4,19 ± 0,45*	2,29 ± 0,32*
10. ЕОХ 28-а доба (n=7)	2,83 ± 0,19*	1,79 ± 0,12*
11. ЕОХ 28-а доба (n=7) + Ліпін	4,68 ± 0,36*	2,43 ± 0,25*

Примітка: У таблиці позначено статистично вірогідні різниці між активністю каталази та СОД в дослідних групах відносно контролю: * – p < 0,05.

Таблиця 3
Показники ліпідного складу в тканинах легень щурів при ЕОХ та за умов корекції препаратом «Ліпін», (M±m)

Групи тварин	Фосфоліпіди, ммоль/л	Тригліцериди, ммоль/л	Вільні жирні кислоти, мкмоль/л	Холестерол, ммоль/л
1. Контроль (n=7)	35,31 ± 0,13	13,81 ± 0,05	20,18 ± 1,63	19,68 ± 0,35
2. ЕОХ 1-а доба (n=7)	26,49 ± 0,24*	7,19 ± 0,01*	45,81 ± 3,67*	25,53 ± 1,61*
3. ЕОХ 1-а доба (n=7) + Ліпін	29,32 ± 0,24*	10,15 ± 0,14*	37,56 ± 2,52*	22,45 ± 0,06*
4. ЕОХ 7-а доба (n=7)	27,63 ± 0,31*	6,23 ± 0,01*	49,39 ± 2,01*	26,61 ± 1,52*
5. ЕОХ 7-а доба (n=7) + Ліпін	31,69 ± 0,31*	10,83 ± 0,15*	34,84 ± 2,31*	22,17 ± 0,12*
6. ЕОХ 14-а доба (n=7)	29,97 ± 0,25*	8,54 ± 0,01*	38,82 ± 2,71*	23,69 ± 1,42*
7. ЕОХ 14-а доба (n=7) + Ліпін	33,37 ± 0,25*	11,59 ± 0,18*	31,36 ± 2,01*	21,69 ± 0,07*
8. ЕОХ 21-а доба (n=7)	32,58 ± 0,33*	9,07 ± 0,01*	33,23 ± 1,63*	22,73 ± 1,87*
9. ЕОХ 21-а доба (n=7) + Ліпін	34,71 ± 0,33*	12,47 ± 0,13*	26,45 ± 1,93*	20,32 ± 0,04*
10. ЕОХ 28-а доба (n=7)	33,74 ± 0,24*	10,88 ± 0,01*	29,914 ± 2,19*	21,85 ± 1,75*
11. ЕОХ 28-а доба (n=7) + Ліпін	35,12 ± 0,24*	13,19 ± 0,14*	22,15 ± 1,58*	19,75 ± 0,08*

Примітка: У таблиці позначено статистично вірогідні різниці між рівнем ФЛ, ТГ, ВЖК та ХС в дослідних групах відносно контролю: * – p < 0,05.

Висновки

Таким чином, опікова хвороба призводить до патологічних змін в тканинах легень, а саме: до активації ПОЛ та зниження активності ферментних антиоксидантних систем. Експериментальна корекція препаратом Ліпін знижує інтенсивність вільно-радикальних процесів та підвищує активність ферментних антиоксидантних систем. Опікова хвороба призводить до зміни ліпідного складу мембран тканин легень, спостерігається зменшення кількості загальних фосфоліпідів та тригліцеролів, зростання рівня вільного холестеролу та вільних жирних кислот. Корекція Ліпіном нормалізує ліпідний склад мембран клітин легень, що може бути пов'язане зі зменшенням інтенсивності процесів ПОЛ в легеневій тканині щурів в умовах ЕОХ.

Перспективи подальших досліджень

Планується подальше вивчення активності

вільно-радикальних процесів при опіковій хворобі та можливості корекції патологічних змін в легенях шляхом використання препарату Ліпін.

Література

1. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині [Л.В. Беркало, О.В. Бобович, Н.О. Боброва и др.]; Під ред. І.П. Кайдашева. – Полтава: Полімет, 2003. – 320 с.
2. Бескаравайный Б. А. Препараты природного фосфатидилхолина: перспективы применения в педиатрии / Б. А. Бескаравайный, М. И. Когутницкая // Здоровье ребенка. – 2007. – Т. 9, № 6. – С. 100-106.
3. Габризян Н.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н.И. Габризян, В.И. Липатова // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 131-140.
4. Довганский А.П. Материалы к патогенезу ожоговой болезни: автореф. дис. доктора мед. наук: спец. 14765 «Патологическая физиология» / А.П. Довганский. – Кишинев, 1971. – 32 с.
5. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров // Вопросы медицинской химии. – 1995. – № 1. – С. 24-26.
6. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / Камышников В.С. – Минск, 2000. – 463 с.
7. Клименко М.О. Опікова хвороба (патогенез і лікування) / М.О. Клименко, Л.Г. Нетюхайло. – Полтава, 2009. – 118 с.

8. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-19.
9. Нетюхайло Л.Г. Механізми опікової хвороби та обґрунтування застосування препарату «Кріохор» для її лікування : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук : спец. 14.03.04 – "Патологічна фізіологія" / Л.Г. Нетюхайло. – Харків, 2007. – 34 с.
10. Нетюхайло Л.Г. Стан вільно-радикальних процесів, системи антиоксидантного захисту та протеолізу в легенях щурів при експериментальній опіковій хворобі / Л.Г. Нетюхайло, Т.А. Сухомлин // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 4, №3. – С.55-57.
11. Нетюхайло Л.Г. Особенности липидного состава плазматических мембран тканей легких при остром эмоционально-болевым стрессе у крыс / Л.Г. Нетюхайло, Л.М. Тарасенко // Український біохімічний журнал. – 2001. – Т. 73, №1. – С.115-117.
12. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили. – Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 66-68.
13. Armstrong D. Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols / Armstrong D. – Totowa, New Jersey : Humana Press Inc., 2002. – 186 p.
14. Dubick M.A. Indices of antioxidant status in rats subjected to wood smoke inhalation and/or thermal injury / M.A. Dubick, S.C. Carden, B.S. Jordan, P.C. Langlais // Toxicology. – 2002. – V.176, №1-2. – P.145-57.

Реферат

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ЛЕГКИХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРЕПАРАТОМ ЛИПИН

Сухомлин Т.А.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, легкие, перекисное окисление липидов, липин

В условиях ожоговой болезни в тканях легких повышается активность процессов ПОЛ на фоне снижения антиоксидантной защиты. Экспериментальная коррекция препаратом Липин способствует нормализации патологических изменений в легких крыс в условиях ожоговой болезни, на что указывает повышение активности антиоксидантных ферментов и угнетение свободно-радикального окисления.

Summary

PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION IN LUNGS OF RATS UNDER BURN DISEASE AND THEIR CORRECTION BY «LIPIN»

Sukhomlyn T.A.

Key words: burn disease, lungs, lipid peroxidation, lipin

Introduction. It is known that burn disease leads to oxidative stress. Lung injury is an important component in the structure of multiple organ failure syndrome at burn disease. Better understanding of the mechanisms of pathological changes in burn disease contributes to searching for effective methods of treatment.

Objective. The research was aimed to study the influence of «Lipin» on pathological changes in rats' lungs under modelled burn disease.

Materials and methods. Experiments were carried out on 112 white male rats-, weight 180-200g. The hind limbs of rats were exposed to + 75°C bath for 7s to induce experimental burn disease. The "Lipin" injected intraperitoneally (5 mg/kg) after burn. In homogenate of lung tissue were determined the content of malondialdehyde (MDA), oxidation-modified proteins (OMP) and middle mass molecules (MMM), superoxide dismutase (SOD), catalase, phospholipids, triglycerols, free cholesterol and fat acids on the 1, 7, 14, 21, 28 days of burn disease.

Results. We found that the level of MDA in the lungs of rats increased compared with the control in 3.12 times at 24 h, on the seventh day - in 2.73 times, indicating activation of free radical processes. At 24 h increase of OMP in lung tissues compared with the control was in 1.58 times on the seventh day - in 1.74 times. These changes indicated the accumulation of free radical oxidation in the lungs. It also leads to endogenous intoxication and increase content MMM. Content of MMM in the lungs of rats increased in 1.72 times on the first day, the seventh day - in 2.09 times compared with the control. This shows the development of endotoxemia and metabolic disorders in the lungs of rats. When correction of "Lipin" level of MDA increased 1.84 times at 24 h, on the seventh day - in 1.31 times. On the first day increase of OMP amounted in 1.19 times, on the seventh day - in 1.32 times. Content of MMM in lung tissues of rats increased in 1.27 times at 24 h, on the seventh day - in 1.54 times compared with the control. Under conditions of burn disease is observed the decrease of phospholipids and triglycerols, the increase in free cholesterol and fat acids. Experimental correction by «Lipin» leads normalization of lipid composition in rats' lungs at burn disease.

Conclusions. Under the conditions of burn disease in lungs the activity of free-radical process increases while antioxidant defense decrease. Experimental correction by «Lipin» leads to the normalization of pathological changes in rats' lungs at burn disease. Thus, the use of "Lipin" reduces the intensity of free radical processes and the degree of intoxication in lung tissues at burn disease.