

ВПЛИВ СУКЦИНАТУ НАТРІЮ НА АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОН-ЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ У КРОВІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЕМФІЗЕМІ ЛЕГЕНЬ

Жадан В.М., Коржов В.І.

*ДУ “Національний інститут фізіотерії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського
НАМН України”, Київ, Україна
zhadan@ifp.kiev.ua*

Рецензенти: проф. Мхитарян Л.С., д.мед.н. Рекалова О.М.

Актуальність. Вивчення функціональної активності глутатіон-залежної ферментної системи дасть змогу визначити критерії метаболічних порушень при емфіземі легень і обґрунтувати можливість їх корекції сукцинатом натрію.

Мета. Дослідити вплив сукцината натрію на функціональний стан глутатіон-залежних ферментів у крові в умовах експериментальної емфіземи легень при введенні різних доз папаїну.

Матеріали і методи. Емфізему легень у 48 щурів моделювали шляхом одноразового інтратрахеального введення розчину папаїну у дозах 50 мг/кг (n=16), 75 мг/кг (n=16) та 100 мг/кг (n=16) маси тіла. Після цього 24 щурам вводили 5 % розчин сукцината натрію з лікувальною метою підшкірно в дозі 100 мг/кг маси тіла щодня протягом 3 тижнів. Стан глутатіон-залежної ферментної системи вивчали за активністю ферментів – глутатіон-редуктази, глутатіон-трансферази й глутатіон-пероксидази.

Результати. При емфіземі легень відбувається зниження активності основних глутатіон-залежних ферментів у крові, що свідчить про зниження процесів антиоксидантного захисту, яке може призводити до системних метаболічних порушень. Не встановлено чітких закономірностей між виявленими біохімічними порушеннями і дозою папаїну. Доведено, що застосування сукцината натрію з лікувальною метою протягом трьох тижнів, незалежно від дози папаїну, призводить до нормалізації активності ферментів.

Висновки. Зниження активності ферментів глутатіонового метаболізму можна вважати однією з важливих ланок патогенезу емфіземи. Застосування сукцината натрію виявляло стимулюючий вплив на активність основних глутатіон-залежних ферментів.

Ключові слова: емфізема легень, глутатіон-залежні ферменти, сукцинат натрію.

Актуальність. Емфізема легень (ЕЛ) займає одне із провідних місць серед захворювань органів дихання як по поширеності, так і по тяжкості проявів [2]. Терміном “емфізема легень” позначаються патологічні процеси в легенях, що характеризуються підвищеним вмістом повітря в легеневої тканині. Це хронічне легеневе захворювання, що характеризується порушенням дихання й газообміну в легенях. Назва хвороби походить від греч. *emphysao* – “вдмухувати”, “роздмухувати”. Емфізема легень поряд із хронічним обструктивним бронхітом і бронхіальною астмою відноситься до групи хронічних обструктивних захворювань легень (ХОЗЛ). Захворюваність на емфізему легень постійно зростає, особливо в осіб літнього віку. На аутопсії емфізема виявляється більш ніж у 60 % пацієнтів, що вмерли після 60 років, у той час як клініцисти ставлять цей діагноз менш, чим у 20 % випадків. Значна поширеність цього захворювання, прогресуюче протікання, тимчасова непрацездатність і рання інвалідизація хворих через розвиток дихальної недостатності й легеневого серця наносять значний економічний збиток, що свідчить про нестачу розробок, які стосуються біохімічних механізмів порушень і можливості їх корекції при даній патології [11].

Сучасні дослідження свідчать, що одним із основних вторинних ушкоджуючих факторів при емфіземі легень є оксидативний стрес, який супроводжується активацією перекисного окиснення ліпідів, окисною модифікацією білків, змінами в ферментативній та неферментативній ланках антиоксидантної захисної системи [3, 5, 7]. Відомо, що гіпоксія є однією з найголовніших причин активізації процесів вільнорадикального й пероксидного окиснення й розвитку оксидативного стресу [3]. Надійність захисту клітин від ушкоджуючого впливу вільних радикалів і продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в цілому визначається ступенем збалансованості в системі антиоксидантного захисту. В умовах утрудненого дихання і гіпоксії біологічні антиоксиданти та антиоксидантні ферменти відіграють істотну роль у процесах окиснення й відновлення та компенсаторно-приспосовних механізмах, у розвитку адаптаційних процесів при патологічному стані [4, 5].

Не менш важливим є пошук засобів, за допомогою яких можна впливати на життєво важливі метаболічні процеси [9]. В значній мірі цим вимогам відповідають лікарські засоби, що коригують метаболічні порушення й підвищують стійкість тканин до гіпоксії. Перспективним у цьому напрямку представ-

ляється застосування сукцинатвмісних сполук, які мають цілий ряд властивостей. Відомо, що при глібокій гіпоксії, що розвивається при емфіземі легень, дихальний ланцюг мітохондрій одержує водень в основному від янтарної кислоти, тому що при її окисненні водень надходить на значно більш близьку до кисню ділянку дихального ланцюга [1]. У цей час янтарну кислоту і її солі досить широко використовують при різних патологічних станах, що супроводжуються активацією вільнорадикального окиснення й розвитком гіпоксії, зокрема при ішемічній хворобі серця, гострих і хронічних порушеннях мозкового кровообігу, токсичної енцефалопатії, судинних захворюваннях сітківки й зорового нерва. Однак ефекти сукцинатвмісних сполук при легеневої патології, зокрема при емфіземі легень, вивчені недостатньо.

Мета: дослідити вплив сукцинату натрію на функціональний стан глутатіон-залежних ферментів у крові в умовах експериментальної емфіземи легень при введенні різних доз папаїну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проведено на 58 статевозрілих, безпородних, білих щурах обох статей, масою 180-200 г, які утримувались на стандартній дієті віварію.

Експериментальну папаїнову емфізему легень відтворювали у 48 щурів шляхом одноразового інтратрахеального введення під легким ефірним наркозом 0,5 мл розчину папаїну у дозах 50 мг/кг (n=16), 75 мг/кг (n=16) та 100 (n=16) мг/кг маси тіла, відповідно [8].

При кожній дозі папаїну, що була застосована для моделювання емфіземи легень, тварин розподіляли на 2 підгрупи: 1 підгрупа (n=8) – тварини з емфіземою легень; 2 підгрупа (n=8) – тварини з емфіземою легень, яким вводили 5 % розчин сукцинату натрію з лікувальною метою підшкірно в дозі 100 мг/кг маси тіла щодня протягом 3 тижнів.

У контрольну групу увійшли 10 інтактних тварин.

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Об'єктом дослідження були відмиті від плазми і гемолізовані еритроцити щурів. Забір матеріалу для дослідження здійснювали при суворому дотриманні правил роботи з експериментальними тваринами [10].

Про стан глутатіон-залежної ферментної системи крові судили по активності глутатіон-редуктази (ГР), глутатіон-трансферази (ГТ), глутатіон-пероксидази (ГПО).

Математичний аналіз отриманих даних виконували з використанням методу варіаційної статистики за стандартними ліцензійними комп'ютерними програмами. Відмінності між групами оцінювали за допомогою t-критерію Ст'юдента. Вірогідною вважали різницю при ймовірній похибці менше ніж 5 % (P < 0,05).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Інтратрахеальне введення тваринам папаїну закономірно супроводжувалось розвитком емфіземи, що підтверджувалось гістоморфологічними дослідженнями тканини легень. Отримані результати свідчать про різницю ступеню емфіземи залежно від застосованої дози папаїну, що вводилась. По ступеню виразності гістологічних змін легеневої тканини при застосуванні папаїну в дозі 50 мг/кг спостерігається перший ступінь (слабо виражена). При застосуванні папаїну в дозі 75 мг/кг та 100 мг/кг емфізематозні зміни виражені набагато більше, приблизно відповідають I-II ступені виразності.

Комплекс ферментів – ГПО, ГТ і ГР в умовах окисного стресу є найбільш потужною лінією антиоксидантного захисту. Глутатіон-залежні ферменти обмежують процеси ПОЛ і виявляють мембраностабілізуючий ефект шляхом детоксикації H₂O₂ і відновлення нестабільних органічних гідропероксидів клітинних мембран. Ступінь порушення стану системи глутатіону, у тому числі й декомпенсацію її функціональних можливостей, мабуть, слід оцінювати не тільки виходячи з визначення таких параметрів, як рівень відновленого глутатіону й сульфгідрильних груп білків, але й з рівня активності ферментів обміну глутатіону, що входять до неї [6, 9].

Наведені нижче експериментальні дані дозволяють говорити, що зміни ферментативної ланки обміну глутатіону приймають участь у патогенезі емфіземи легень.

Ефективне виконання системою глутатіону таких функцій, як антирадикальний захист і підтримка тіол-дисульфідної рівноваги здійснюється завдяки збереженню достатнього рівня відновленого глутатіону (ВГ) у тканинах, підтримка якого в клітинах відбувається 2 шляхами: шляхом синтезу глутатіону *de novo* в γ -глутамілтрансферазному циклі й шляхом відновлення його з окисненої форми. При цьому активність глутатіон-редуктази (ГР) є фактором, що лімітує підтримку рівня ВГ у тканинах, тому що швидкість його синтезу в тканинах набагато нижче НАДФН-залежного відновлення окисненої форми глутатіону за допомогою ГР [6, 7, 12].

При всіх трьох застосованих дозах папаїну для моделювання емфіземи легень антиоксидантні ефекти компонентів глутатіон-залежної системи (ГР, ГТ і ГПО) в еритроцитах знижувалися, сприяючи збільшенню проявів окисного стресу.

Порівняльна оцінка динаміки активності ГР в еритроцитах дозволила виявити наступні закономірності. При дозі папаїну 50 мг/кг маси тіла через 3 тижні після введення препарату спостерігалось зниження активності ГР на 40,6 % (p < 0,05) відносно контролю (таблиця). При застосуванні більш високої дози папаїну для моделювання емфіземи легень –

75 мг/кг маси тіла, активність ГР вірогідно знижувалась через 3 тижні на 38,3 % відносно значень у інтактних щурів. Після введення щурам папаїну в дозі 100 мг/кг маси тіла через 3 тижні після моделювання експериментальної патології відбувалось зниження ферментативної активності ГР порівняно з контролем на 29,9 %.

ГТ займає одне з центральних місць у механізмах природної детоксикації, включаючи особисту участь, як у процесах кон'югації, так і в захисті клітини від органічних гідропероксидів [6]. У зміні активності ГТ при експериментальній емфіземі легень відзначалися наступні особливості: при введенні папаїну в дозі 50 мг/кг маси тіла активність ГТ мала тенденцію до зниження, тобто була не вірогідно знижена на 13,2 % через 3 тижні після моделювання патології порівняно з контролем. При застосуванні папаїну в дозі 75 мг/кг активність ГТ вірогідно знижувалась на 15,5 %. При застосуванні дози папаїну 100 мг/кг маси тіла через 3 тижні її активність вірогідно знижувалась на 17,0 %. Через зниження активності глутатіон-трансферази в крові зростає кількість токсичних для легеневої тканини ліпопероксидних та фенольних сполук, які відіграють певну роль у розвитку патологічного процесу.

В умовах окисного стресу особливо важлива роль ГПО, тому що вона попереджає виникнення й розвиток пероксидації, усуває її джерела й продукти, ГПО – є одним з найважливіших компонентів ферментативної антиоксидантної системи [6]. Проведене нами дослідження дозволило встановити, що розвиток емфіземи легень супроводжувався зниженням ферментативної активності ГПО у крові лабораторних тварин. Після введення папаїну в дозі 50 мг/кг через 3 тижні активність ферменту вірогідно знижувалась на 25,8 % в порівнянні з контролем. При застосуванні дози папаїну 75 мг/кг через 3 тижні після моделювання емфіземи її активність була вірогідно знижена на 47,0 %. Після введення щурам папаїну в дозі 100 мг/кг активність ГПО через 3 тижні вірогідно знижувалась на 21,9 % (табл.). Така метаболічна

особливість може свідчити про високу інтенсивність системного оксидативного стресу.

Підсумовуючи отримані дані про динаміку змін активності всіх трьох глутатіон-залежних ферментів, можна відзначити, що при емфіземі легень відбувається зниження активності основних глутатіон-залежних ферментів у крові, що свідчить про зниження процесів антиоксидантного захисту, яке може призводити до системних метаболічних порушень. Не встановлено чітких закономірностей між виявленими біохімічними порушеннями і дозою папаїну.

Аналізуючи ефективність використання сукцинату натрію при експериментальній емфіземі легень, було відзначено, що при його введенні з лікувальною метою нормалізується активність всіх трьох глутатіон-залежних ферментів. Дослідження показали, що застосування сукцинату натрію виявляло виражений індукуючий вплив на активність глутатіон-залежних ферментів у крові щурів з експериментальною емфіземою легень. Введення сукцинату натрію з лікувальною метою протягом 3 тижнів при дозі папаїну 50 мг/кг маси тіла призводило до вірогідного підвищення зниженої активності ферменту ГР на 79,5 % відносно показників у тварин з ЕЛ без корекції даним препаратом. Активність ферменту ГТ вірогідно зростала на 35,1 %, активність ферменту ГПО підвищувалась під дією сукцинату натрію на 46,0 % відносно групи тварин з ЕЛ без лікування.

При вивченні впливу сукцинату натрію на стан глутатіон-залежної ферментної системи крові при експериментальній ЕЛ, що була змодельована шляхом введення папаїну в дозі 75 мг/кг маси тіла, встановлено вірогідне підвищення активності ферменту ГР на 59,2 % порівняно з показниками у щурів без лікування. Активність ферменту ГТ після застосування сукцинату натрію з лікувальною метою протягом 3 тижнів підвищувалась на 45,6 %, активність ферменту ГПО підвищувалась під дією сукцинату натрію на 103,9 % порівняно групою тварин з ЕЛ, що не була пролікована препаратом (табл.).

Таблиця
Вплив 3-тижневого введення сукцинату натрію на активність глутатіон-залежних ферментів у крові в умовах експериментальної емфіземи легень

Група	Активність ферментів, М ± m		
	ГР, мкмоль НАДФН × (хв/г Hb) ⁻¹	ГТ, мкмоль GSH × (хв/г Hb) ⁻¹	ГПО, мкмоль GSH × (хв/г Hb) ⁻¹
Контроль (інтактні щури)	3,45 ± 0,19	2,13 ± 0,15	276,04 ± 14,60
Папаїн, 50 мг/кг	2,05 ± 0,17*	1,85 ± 0,13	204,83 ± 36,64*
Папаїн, 50 мг/кг+сукцинат Na	3,68 ± 0,15 [#]	2,50 ± 0,13 [#]	299,15 ± 38,79 [#]
Папаїн, 75 мг/кг	2,13 ± 0,16*	1,80 ± 0,09*	146,36 ± 15,14*
Папаїн, 75 мг/кг + сукцинат Na	3,39 ± 0,15 [#]	2,62 ± 0,15 [#]	298,43 ± 28,43 [#]
Папаїн, 100 мг/кг	2,42 ± 0,26*	1,77 ± 0,09*	215,56 ± 15,33*
Папаїн, 100 мг/кг+сукцинат Na	3,24 ± 0,17 [#]	2,62 ± 0,24 [#]	303,44 ± 19,90 [#]

Примітки: * – різниця показників відносно інтактних щурів вірогідна (P < 0,05);

– різниця показників відносно щурів з емфіземою легень без введення сукцинату натрію вірогідна (P < 0,05).

Після застосування сукцинату натрію з лікувальною метою протягом 3 тижнів спрямованість змін активності глутатіон-залежних ферментів у крові тварин з експериментальною ЕЛ, що була змодельована шляхом введення папаїну в дозі 100 мг/кг маси тіла, збігалася з такою як й при інших дозах папаїну, тобто, знижена активність ферментів циклу глутатіону відновлювалась до значень здорових тварин. Після введення сукцинату натрію відбувалось підвищення активності ГР на 33,9 %, активності ГТ – на 48,0 %, активності ГПО – на 40,8 % відносно щурів з ЕЛ без лікування препаратом.

Таким чином, в дослідженнях на щурах з експериментальною ЕЛ, які отримували фармакотерапію, було встановлено, що незалежно від дози папаїну, що застосовувалась для моделювання патології, сукцинат натрію має виражений реактивуєчий вплив на ферменти ГР, ГТ та ГПО в крові.

ВИСНОВКИ

Зниження активності ферментів глутатіонового метаболізму можна вважати однією з важливих ланок патогенезу емфіземи. В механізмах захисту при емфіземі значну роль відіграє ферментна система глутатіону.

Застосування сукцинату оказує коригуючий ефект на глутатіонову систему.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Робота виконана за кошти державного бюджету.

ЛІТЕРАТУРА

- Алексеева Л. В. Янтарная кислота – основное действующее вещество новых метаболических препаратов / Л. В. Алексеева [и др.] // Врач. – 2001. – № 12. – С. 29-31.
- Аспекты патогенеза эмфиземы легких у больных ХОБЛ // А. В. Аверьянов [и др.] // Пульмонология. – 2008. – № 3. – С. 35-41.
- Біохімічні та фізіологічні зміни в крові при експериментальній емфіземі / Я.І. Русінчук [и др.] // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2016. – № 3. – С. 65-67.
- Григорьева Н.Ю. Хроническая обструктивная болезнь легких: новое о патогенетических механизмах / Н.Ю. Григорьева, А.Н. Кузнецов, Е. Г. Шарабрин // СТМ. – 2011. – № 1. – С. 112-116.
- Калматов Р.К. Роль механізмів свободнорадикального окиснення в патогенезі локальної поразки верхніх дихальних шляхів / Р.К. Калматов, С.Т. Жолдошев // Молодий учений. – 2015. – № 10. – С. 417-422.
- Минаева Л. В. Экспериментальная оценка роли измененной системы глутатиона в реализации побочных цитотоксических эффектов повторного введения циклофосфана : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.20 / Минаева Любовь Валерьевна ; Военно-медицинская Академия им. С.М. Кирова. – С.-Пб., 2007. – 22 с.
- Роль окислительного стресса в патогенезе хронической обструктивной болезни легких / Л.Е. Муравлева [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2012. – № 9. – С. 12-16.
- Серебровская М.Т. Сурфактантная система легких при экспериментальной папаиновой эмфиземе / М.Т. Серебровская, В.В. Шишканов, М.Т. Айтуков // Пат. физиология и эксперим. терапия. – 1982. – № 5. – С. 63-64.
- Соодаева С. К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания / С.К. Соодаева // Пульмонология. – 2006. – № 5. – С. 122-126.
- Червонская Г.П. Этика медико-биологического эксперимента в доклинических исследованиях / Г.П. Червонская., Г.П. Панкратова., Л.А. Миронова // Токсикологический вестник. – 1998. – № 3. – С. 2-8.
- Шмелев Е.И. Свежий взгляд на ХОБЛ / Е.И. Шмелев // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2011. – № 4. – С. 51-54.
- Fischer V. M. Pathogenic triad in COPD: oxidative stress, protease-antiprotease imbalance, and inflammation / V.M Fischer, E. Pavlisko, J.A. Voynow // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. – 2011. – Vol. 6. – P. 413-421.

Отримано 28.05.2017

ВЛИЯНИЕ СУКЦИНАТА НАТРИЯ НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ В КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭМФИЗЕМЕ ЛЕГКИХ

Жадан В. Н., Коржов В. И.

*ГУ “Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины”,
Киев, Украина*

Актуальность. Изучение функциональной активности глутатіон-зависимой ферментной системы даст возможность определить критерии метаболических нарушений при эмфіземі легких и обосновать возможность их коррекции сукцинатом натрия.

Цель. Исследовать влияние сукцината натрия на функциональное состояние глутатіон-зависимых ферментов в крови при експериментальній емфіземі легких после введения разных доз папаина.

Матеріали и методи. Емфізему легких у крыс моделювали путем одноразового интратрахеального введения раствора папаина в дозах 50 мг/кг (n=16), 75 мг/кг (n=16) и 100 мг/кг (n=16) массы тела. После этого 24 крысам в течение 3 недель вводили 5% раствор сукцината натрия с лечебной целью подкожно в дозе 100 мг/кг массы тела ежедневно. Состояние глутатион-зависимой ферментной системы изучали по активности ферментов глутатион-редуктазы, глутатион-трансферазы и глутатион-пероксидазы.

Результаты. При эмфиземе легких происходит снижение активности основных глутатион-зависимых ферментов в крови, свидетельствующее о снижении процессов антиоксидантной защиты, что может приводить к системным метаболическим нарушениям. Не установлены четкие закономерности между установленными биохимическими нарушениями и дозой папаина. Доказано, что применение сукцината натрия с лечебной целью приводит к нормализации активности исследуемых ферментов.

Выводы. Снижение активности ферментов глутатионового метаболизма можно считать одним из важных звеньев патогенеза эмфиземы. Применение сукцината натрия оказывало стимулирующее влияние на активность основных глутатион-зависимых ферментов.

Ключевые слова: эмфизема легких, глутатион-зависимые ферменты, сукцинат натрия.

THE IMPACT OF SODIUM SUCCINATE ON THE ACTIVITY OF GLUTATHIONE-DEPENDENT ENZYMES IN THE BLOOD AT EXPERIMENTAL PULMONARY EMPHYSEMA

Zhadan V.N., Korzhov V.I.

SO "National institute of phthisiology and pulmonology named after F.G. Yanovsky NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Introduction. The study of the functional activity of the glutathione-dependent enzyme system will make possibility to determine the criteria for metabolic disturbances in pulmonary emphysema and to justify the possibility of their correction with sodium succinate.

Objective. To study the effect of sodium succinate on the functional state of glutathione-dependent enzymes in the blood at experimental emphysema after administration of different doses of papain.

Materials and methods. Emphysema of the lungs in rats was modeled by a single-dose intratracheal administration of papain solution at doses of 50 mg/kg (n=16), 75 mg/kg (n=16) and 100 mg/kg (n=16) of body weight. After this 24 rats were administered 5% sodium succinate solution for 3 weeks for a therapeutic purpose subcutaneously in a dose of 100 mg / kg body weight daily. The state of the glutathione-dependent enzyme system was studied according to activity of enzymes – glutathione-reductase, glutathione-transferase and glutathione-peroxidase.

Results. The obtained data on the dynamics of changes in the activity of three glutathione-dependent enzymes showed that with emphysema, the activity of the main glutathione-dependent enzymes in the blood is decrease, indicating about decreasing of antioxidant defense processes, which can lead to systemic metabolic disturbances. There are no clear correlation between the established biochemical disorders and the dose of papain. It has been proved that the use of sodium succinate for therapeutic purposes leads to a normalization of the activity of the enzymes under study.

Conclusions. The decrease in the activity of glutathione metabolism enzymes can be considered one of the important links in the pathogenesis of emphysema. The use of sodium succinate had a stimulating effect on the activity of the main glutathione-dependent enzymes.

Key words: pulmonary emphysema, glutathione-dependent enzymes, sodium succinate.