

УДК 57.023+57.04+577.171.5

О.М. Ларичева, О.І. Цебржинський, В.С. Черно

**ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС ЛЕГЕНЬ ЗА УМОВ  
КАРАГІНІНОВОГО ПЛЕВРИТУ ТА КОРОТКОТРИВАЛОЇ  
ГІПЕРФУНКЦІЇ ЕПІФІЗА**

Миколаївський національний університет імені В.О. Сухомлинського, м. Миколаїв

**Резюме.** Вивчено вільнорадикальні та антиоксидантні процеси в легенях щурів з карагініновим плевритом за умов 10-добової гіперфункції епіфіза. Встановлено, що мелатонін на викликав суттєвих змін з боку утворення супероксиду у тварин з карагініновим плев-

ритом, але він сприяв зниженню процесів пероксидації в досліджуваних органах. При цьому значних змін активності антиоксидантних ферментів не спостерігалось.

**Ключові слова:** мелатонін, епіфіз, карагініновий плеврит, прооксидантно-антиоксидантна система.

**Вступ.** Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) є необхідною ланкою життєдіяльності будь-якої клітини й за своєю хімічною природою є варіантом вільнорадикального окиснення [4, 5, 9, 16]. За норми у всіх тканинах живих організмів відбувається постійна генерація активних форм Оксигену (АФО), які як сигнальні молекули забезпечують збереження нормального метаболічного фону, необхідного для функціональної активності клітин, а також є складовою частиною неспецифічного захисту організму проти патогенів, мікроорганізмів, пухлинних клітин. Оскільки АФО є серйозною небезпекою для функціонування клітини, то існує достатньо складна багаторівнева система захисту від них. Фізіологічна прооксидантно-антиоксидантна система (ПАС) має захисну (ефекторну) й регуляторну функції.

Порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу на користь першого, що веде до потенційних пошкоджень, прийнято називати оксидативним стресом [20]. Оксидативний стрес має місце й в умовах звичайної життєдіяльності, що є свого роду її обов'язковим побічним продуктом, зумовленим функцією оксидоредуктаз (циклооксигеназ, ліпоксигеназ, ксантиоксидази), мультиферментних ансамблів мітохондрій, мікросом, наслідком імунних реакцій (фагоцитозу, імунного нагляду), а також неферментативних реакцій автоокиснення, які виникають внаслідок контакту газоподібного (легені, шкіра) й розчиненого кисню з ліпідними структурами мембран, які легко окиснюються.

ПОЛ та його регуляція мають особливе значення для респіраторної системи, що пов'язано з великою інтенсивністю ліпідного обміну в легенях та тісною залежністю функцій аерогематичного бар'єру від структури альвеолярних фосfolіпідів [15].

Нейрогормон мелатонін (МТ) є однією зі сполук, що має антиоксидантну активність. Його протекторна дія при перекичному окисненні здійснюється за двома механізмами, які включають безпосередню інактивацію вільних радикалів й/або гальмування їх генерації в клітині та регуляцію активності антиоксидантних ферментів у результаті впливу на генетичний апарат клітини, тобто він виступає як прямий, так і як вторинний

антиоксидант [3]. Але питання впливу МТ на ПАС легень залишається маловивченим.

**Мета дослідження.** З'ясувати роль вільнорадикальних та антиоксидантних процесів у легенях щурів у патогенезі карагінінового плевритом в умовах 10-добової гіперфункції епіфізу.

**Матеріал і методи.** У дослідженні використовували щурів лінії Wistar масою 240-260 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Для дослідження відбирали саме самців, оскільки рівень мелатоніну в плазмі крові у самиць залежить від фази менструального циклу [12]. Тварини були рандомізовані на чотири групи по сім особин: інтактна група, 10-добова гіперфункція епіфіза, карагініновий плеврит, 10-добова гіперфункція епіфіза на тлі карагінінового плевриту.

Гіперфункцію пінеальної залози моделювали шляхом утримання тварин в умовах постійної темряви та уведенням внутрішньошлунково розчину мелатоніну (Sigma, США) у дозі 1,0 мг/кг маси тіла [18].

Для створення моделі неіммунного гострого запалення використовували 1% розчин карагініну (Sigma, США) [13, 19]. Експериментальний плеврит був індукований у анестезованих тварин шляхом внутрішньоплевральної ін'єкції 0,1 мл карагініну. Розчин вводили на 8-му добу експерименту, а через 48 годин проводили евтаназію тварин.

Евтаназію щурів проводили згідно з нормами біоетики відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для наукових експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), а також «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Продукцію АФО оцінювали за вмістом супероксиду. Продукцію супероксиду в гомогенатах тканин визначали за реакцією з нітросинім тетразолієм під впливом НАДН, НАДФН, пірогеналу [17].

Для оцінки інтенсивності процесів пероксидації в гомогенатах органів визначали вміст первинних і вторинних її продуктів: дієнових кон'югатів (ДК), оксидієнів, триєнів та ТБК-активних продуктів. Ефективність антиоксидантного захи-

сту легень оцінювалася за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ), глутатіонпероксидази (ГПО) та концентрацій вітамінів А,  $\alpha$ -токоферолу та  $\beta$ -каротину.

Концентрацію дієвих кон'югатів визначали за методом І.Д. Стальної (1977) [14]. Концентрацію ТБК-активних продуктів визначали за методом І.Д. Стальної, Т.Г. Гарішвілі (1977) за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою [14]. Каталазну активність визначали за методом М.О. Королюк із співавторами (1988 [6]. Супероксиддисмутазну активність визначали кінетично за реакцією автоокиснення адреналіну в лужному середовищі з генерацією супероксиданіонрадикала [8]. Глутатіонпероксидазну активність визначали за методом В.О. Пахомової із співавторами з використанням як субстрату гідроперекису третбутилу [11].

Загальну протеолітичну активність визначали за гідролізом казеїну [7]. Концентрацію триєнів, оксидієнів,  $\alpha$ -токоферолу, вітаміну А та  $\beta$ -каротину визначали за модифікованою методикою з урахуванням молярного коефіцієнта екстинкції [10].

Статистичну обробку проводили за допомогою програми Microsoft Office Excel 2003.

Перевірку на нормальний розподіл проводили з використанням критерію W Шапіро-Уїлка. Оцінку достовірності різниці між групами з нормальним розподілом ознак проводили з використанням t-критерію Стьюдента. При порівнянні двох груп із вільним розподілом ознак використовували непараметричний U-критерій Уїлкоксона (Манна-Уїтні). Розходження вважали статистично значущими при  $p < 0,05$  [1, 2].

#### Результати дослідження та їх обговорення.

При оцінці джерел генерації супероксиду виявлено, що короткотривала світлова депривація та екзогенний МТ сприяли активації генерації су-

пероксиданіонрадикала від мітохондріального ЕТЛ на 16 % ( $p < 0,01$ ) (табл. 1).

У щурів із плевритом спостерігалось суттєве збільшення вмісту супероксиду в легенях від усіх джерел його генерації. Так, його вміст зріс на 63 % ( $p < 0,001$ ) від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга, на 50 % ( $p < 0,001$ ) – від мікросомального електронно-транспортного ланцюга та NO-синтази й на 26 % ( $p < 0,001$ ) – від фагоцитів.

У щурів із плевритом, які знаходились в умовах світлової депривації та отримували МТ при порівнянні з нормою активними джерелами супероксидного радикала були і мітохондріальний ланцюг (73 %,  $p < 0,001$ ), і мікросомальний (66 %,  $p < 0,001$ ), і фагоцити (26 %,  $p < 0,001$ ). При порівнянні зі щурами з гіперфункцією епіфіза зростання генерації супероксиду виявилось від двох джерел – мітохондріального (49 %,  $p < 0,001$ ) та мікросомального (48 %, а в легенях дослідної групи щурів залишилася на рівні значень, характерних для контролю на плеврит.

Дослідження впливу МТ на ПАС у легенях щурів (табл. 2) показало деяке зниження процесів пероксидації у тварин із гіперфункцією пінеальної залози порівняно з нормою, що ілюструвалося зменшенням вмісту триєнів та оксидієнів у гомогенатах досліджуваних органів у три рази ( $p < 0,05$  та  $p < 0,01$ ). Зміни показників прооксидантної ланки відбувалися на тлі різноспрямованих змін антиоксидантної системи, а саме зниженням каталазної активності на 16 % ( $p < 0,01$ ) й зростанням у два рази ( $p < 0,05$ ) активності СОД та зниженням концентрації  $\alpha$ -токоферолу майже у два рази ( $p < 0,05$ ).

При гіперфункції епіфіза у щурів із плевритом виявлено деякі зміни в процесах пероксидації та антиоксидантного захисту. З боку проокси-

Таблиця 1

#### Вміст та джерела генерації супероксиданіонрадикала в гомогенаті тканин легень щурів (M $\pm$ m, n=7)

Показник	Група			
	Інтакт	10-добова гіперфункція епіфіза	Карагініновий плеврит	10-добова гіперфункція епіфіза на тлі карагінінового плевриту
•O <sub>2</sub> <sup>-</sup> від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга (нмоль •O <sub>2</sub> <sup>-</sup> /г·с), індукованого НАДН	19,900 $\pm$ 0,224	23,110 $\pm$ 0,102 $p_1 < 0,01$	32,382 $\pm$ 0,752 $p_1 < 0,001$	34,525 $\pm$ 1,086 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
•O <sub>2</sub> <sup>-</sup> від мікросомального електронно-транспортного ланцюга та NO-синтази (нмоль •O <sub>2</sub> <sup>-</sup> /г·с), індукованого НАДФН	21,000 $\pm$ 0,845	23,530 $\pm$ 0,967	31,525 $\pm$ 1,846 $p_1 < 0,001$	34,906 $\pm$ 0,777 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
•O <sub>2</sub> <sup>-</sup> від фагоцитів тканин (нмоль •O <sub>2</sub> <sup>-</sup> /г·с), індукованого пірогеналом	4,018 $\pm$ 0,090	4,743 $\pm$ 0,260	5,044 $\pm$ 0,360 $p_1 < 0,001$	5,047 $\pm$ 0,209 $p_1 < 0,001$

Примітка. Статистично вірогідно порівняно з  $p_1$  – інтактною групою;  $p_2$  – з гіперфункцією епіфіза

Таблиця 2

Біохімічні параметри прооксидантно-антиоксидантної системи легень щурів ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Група / Показник	Інтакт	10-добова гіперфункція епіфіза	Карагініновий плеврит	10-добова гіперфункція епіфіза на тлі карагінінового плевриту
Дієнові кон'югати (ммоль/кг)	10,140±0,810	9,816±0,308	13,370±1,160 $p_1 < 0,05$	11,350±0,699
Трисни (мкмоль/кг)	216,757±43,374	78,517±28,016 $p_1 < 0,05$	238,787±23,902	99,894±24,881 $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,001$
Оксидієни (мкмоль/кг)	531,231±71,307	175,714±42,295 $p_1 < 0,01$	628,453±51,621	343,766±59,224 $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,01$
ТБК-активні продукти (мкмоль/г)	8,423±0,354	10,700±1,345	10,220±0,170 $p_1 < 0,001$	10,070±0,155 $p_1 < 0,01$
Активність каталази (мкат/кг)	4,691±0,017	3,931±0,142 $p_1 < 0,01$	6,374±0,333 $p_1 < 0,001$	6,407±0,431 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$
Активність СОД (ум.од./г)	0,091±0,021	0,182±0,023 $p_1 < 0,05$	0,255±0,019 $p_1 < 0,001$	0,291±0,043 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$
Активність ГПО (мкат/кг)	5,500±0,431	5,756±0,396	4,307±0,453	5,924±0,167 $p_3 < 0,01$
Загальна протеолітична активність (мкат/кг)	57,320±10,160	59,390±11,640	68,210±6,180	85,330±4,512 $p_1 < 0,05$
Вітамін А (мкмоль/кг)	337,578±22,139	257,735±42,906	364,437±55,042	373,598±79,363
$\beta$ -каротин (мкмоль/кг)	73,439±13,187	90,058±15,963	84,384±17,532	134,696±35,382
$\alpha$ -токоферол (мкмоль/кг)	525,685±40,563	305,592±67,051 $p_1 < 0,05$	600,154±56,119	367,125±62,779 $p_3 < 0,05$

Примітка. Статистично вірогідно порівняно з  $p_1$  – інтактною групою;  $p_2$  – гіперфункцією епіфіза;  $p_3$  – карагініновим плевритом

дантної ланки МТ сприяв достовірному зниженню вмісту триснів ( $p < 0,001$ ) та оксидієнів ( $p < 0,01$ ) майже у два рази й збільшенню активності ГПО на 38 % ( $p < 0,01$ ) у карагінінових щурів, але при цьому значно зменшувався вміст  $\alpha$ -токоферолу (на 61 %,  $p < 0,05$ ).

Отримані дані свідчать про те, що МТ при короткотривалій гіперфункції епіфіза тільки в умовах карагінінового плевриту гальмує генерацію супероксидного радикала, а також сприяє зменшенню інтенсивності процесів пероксидації як у тварин із плевритом, так і без нього. При карагініновому запаленні з боку активності антиоксидантних ферментів зміни були менш значні, оскільки МТ, можливо, виступав як прямий антиоксидант. Цим можна пояснити той факт, що достовірного зменшення вмісту антиоксидантних вітамінів у легнях тварин не відбулося.

#### Висновки

1. Мелатонін знижує вільнорадикальні процеси за умов оксидативного стресу.
2. При карагініновому запаленні мелатонін виступає в першу чергу як прямий антиоксидант.

**Перспективи подальших досліджень.** Планається вивчення вільнорадикальних та антиоксидантних процесів у легнях щурів із карагініновим плевритом за умов 10-добового зниження активності епіфіза.

#### Література

1. Атраментова Л.О. Біометрія. Ч.І. Характеристики розподілів: Підручник / Л.О. Атраментова, О.М. Утевська. – Х.: Ранок, 2007. – 176 с.
2. Атраментова Л.О. Біометрія. Ч. II. Порівняння груп та аналіз зв'язку: Підручник / Л.О. Атраментова, О.М. Утевська. – Х.: Ранок, 2007. – 176 с.
3. Барабой В.А. Биоантиоксиданты / В.А. Барабой. – К.: Книга плюс, 2006. – 462 с.
4. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
5. Воскресенский О.Н. Перекиси липидов в живом организме / О.Н. Воскресенский, А.П. Левицкий // Вопр. мед. химии. – 1970. – Т. 16, № 6. – С. 563-583.
6. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, Н.Т. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
7. Левицкий А.П. Пищеварительные ферменты слюнных желез : автореферат дис. на соискание уч. ст. канд. биолог. наук: специальность 03.00.04 «Биохимия» / А.П. Левицкий. – Одесса, 1974. – 53 с.

8. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л.В. Беркало, О.В. Бобович, Н.О. Боброва та ін.]; за ред. Кайдашева І.П. – Полтава: Полімет, 2003. – 320 с.
9. Мищенко В.П. Перекисное окисление липидов, антиоксиданты и гемостаз / Мищенко В.П., Мищенко И.В., Цебржинский О.И. – Полтава: АСМИ, 2005. – 160 с.
10. Параніч А.В. Захисний ефект вітаміну Е при тотальній ішемії ізолюваних органів шурів / А.В. Параніч, Ю.С. Юхнин // Физиол. ж. – 1993. – Т. 39, № 1. – С. 97-101.
11. Пахомова В.А. Способ определения активности глутатионпероксидазы в биологических тканях / В.А. Пахомова, Г.Н. Крюкова, Н.П. Козлянина [и др.] // А.С. 922637 СССР, МКИ в G 01. Опубл. 23.04.1982. Биол. ИиО № 15. – 2 с.
12. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації / В.П. Пішак. – Чернівці: Медакадемія, 2003. – 152 с.
13. Руководство по иммунофармакологии: Пер. с англ. / Под ред. М.М. Дейла, Дж.К. Формена. – М.: Медицина, 1998. – 332 с.
14. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
15. Сыромятникова Н.В. Метаболическая активность легких / Сыромятникова Н.В., Гончарова В.А., Котенко Т.В. – Л.: Медицина, 1987. – 168 с.
16. Цебржинский О.И. Некоторые новые аспекты антиоксидантного статуса / О.И. Цебржинский // Физиол. и патол. перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. – Полтава, 1993. – С. 183-197.
17. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / О.И. Цебржинский // Актуал. пробл. сучас. мед. – Вып. 1. – 2002. – Т. 2. – С. 96-97.
18. Чеботар Л.Д. Кардіогенні ефекти мелатоніну: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин» / Л.Д. Чеботар. – Симферополь, 2010. – 21 с.
19. Anti-inflammatory effects of purine nucleosides, adenosine and inosine, in a mouse model of pleurisy: evidence for the role of adenosine A<sub>2</sub> receptors [Електронний ресурс] / [F. da Rocha Lapa, M.D. da Silva, D. de Almeida Cabrini [et al.]] // Purinergic Signalling. – 2012. – № 8. – P. 693-704.
20. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants / H. Sies // Experimental Physiology. – 1997. – Vol. 82 (2). – P. 291-295.

### ПРОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ КАРРАГИНИНОВОГО ПЛЕВРИТА И КРАТКОВРЕМЕННОЙ ГИПЕРФУНКЦИИ ЭПИФИЗА

*Е.Н. Ларичева, О.И. Цебржинский, В.С. Черно*

**Резюме.** Изучены свободнорадикальные и антиоксидантные процессы в легких крыс с каррагининовым плевритом в условиях 10-суточной гиперфункции эпифиза. Установлено, что мелатонин не вызывал существенных изменений со стороны образования супероксида у животных с каррагининовым плевритом, но способствовал снижению процессов пероксидации в исследуемых органах. При этом значительных изменений активности антиоксидантных ферментов не наблюдалось.

**Ключевые слова:** мелатонин, эпифиз, каррагининовый плеврит, прооксидантно-антиоксидантная система.

### PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN LUNGS UNDER CONDITIONS OF CARRAGEENAN PLEURISY AND SHORT-TERM HYPERFUNCTION OF EPIPHYSIS

*O.M. Larycheva, O.I. Tseberzhynskiy, V.C. Chernov*

**Abstract.** We have studied free radical and antioxidant processes in the lungs of rats with carrageenan pleurisy under 10-day epiphysis hyperfunction. It was established that melatonin did not cause significant changes in the formation of superoxide in animals with carrageenan pleurisy but it promoted a reduction of peroxidation processes in the experimental organs. In this case there were no significant changes in the activity of antioxidant enzymes.

**Key words:** melatonin, epiphysis, carrageenan pleurisy, prooxidant-antioxidant system.

V.O. Sukhomlynskyi National University (Mykolaiv)

Рецензент – проф. Ю.Є. Роговий

Buk. Med. Herald. – 2016. – Vol. 20, № 3 (79). – P. 92-95

Надійшла до редакції 27.04.2016 року