

УДК 616.61-092.9-001.17

*Л.Г. Нетюхайло, Я.О. Басараб**ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава***ДІЯ ЛІПІНУ НА ФЕРМЕНТАТИВНУ ЛАНКУ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ НИРОК ЩУРІВ ПРИ ОПІКОВІЙ ХВОРОБИ**

В експерименті на щурах встановлено, що змодельована опікова хвороба призводить до патологічних змін в тканинах нирок, а саме до зниження активності ферментних антиоксидантних систем. Найнижчі показники активності каталази та СОД відмічалися на 7-му та 14-ту добу опікової хвороби, що відповідає стадіям ранньої та пізньої токсемії. Застосування ліпіну має позитивний коригуючий вплив на пригнічення антиоксидантних систем, підвищується активність ферментів антиоксидантної системи порівняно з тваринами, яким моделювали опікову хворобу без корекції.

Ключові слова: нирки, експериментальна опікова хвороба, ліпін.

Проблема опіків в Україні, особливо в теперішній час, набула актуального значення. Більшість опіків супроводжуються розвитком опікової хвороби [1–6]. При опіковій травмі спостерігається розвиток синдрому поліорганної недостатності, який супроводжується порушенням функціонування усіх органів [7–19]. Проте вплив даної патології на видільну систему, зокрема нирки, досліджений недостатньо. Пошкодження ниркової тканини при даній патології значно погіршує прогноз [20–22], тому важливо знайти шляхи корекції таких змін.

Мета дослідження – вивчити дію ліпіну на ферментативну ланку антиоксидантної системи нирок щурів при опіковій хворобі.

Матеріал і методи. На 112 статевозрілих білих щурах-самцях масою 170–220 г змодельована опікова хвороба за методом Довганського [23]. Для цього занурювали задні кінцівки експериментальних тварин у гарячу воду ($t=70-75\text{ }^{\circ}\text{C}$) під легким ефірним наркозом на 7 с. Розмір ділянки пошкодження визначали в залежності від площі шкіряного покриву, яка в середньому становила 12–15 % поверхні тіла тварини. Площу ураження розраховували за допомогою спеціальної таблиці Н.І. Кочетигова [11]. В таких умовах утворюється опік IIIА-Б ступеня [8, 24–30], що, відповідно до сучасних уявлень, є стандартною моделлю розвитку експериментальної опікової хвороби [8, 24]. Евтаназію щурів проводили під ефірним наркозом на 1-шу,

7-му, 14-ту, 21-шу, 28-му добу, що відповідає стадіям розвитку опікового шоку, ранньої та пізньої токсемії та септикотоксемії. Одночасно забирали матеріал від інтактних щурів.

В тканинах нирок щурів в умовах експериментальної опікової хвороби визначали активність супероксиддисмутази (СОД) [31] і каталази [10] в докладній динаміці. Для корекції патологічних змін в тканинах нирок за умов опікової хвороби було використано препарат Ліпін – ліофілізований яєчний фосфатидилхолін, що випускається підприємством «Біолек», м. Харків. У воді й кристалоїдних розчинах ліпін добре переходить у суспензію з утворенням ліпосом. Клінічне застосування ліпіну при захворюваннях, які супроводжуються гіпоксією і активацією перекисного окиснення ліпідів, дозволено Державним фармакологічним центром МОЗ України. Експериментальним і контрольним тваринам вводили ліпін (50 мг/кг) внутрішньоочеревинно відразу після моделювання опікової хвороби.

Результати та їх обговорення. При введенні ліпіну в дозі 50 мг/кг внутрішньоочеревинно протягом 28 днів інтактним щурам не спостерігалось суттєвих змін вмісту СОД і каталази в нирках щурів (табл. 1).

Активність каталази в тканинах нирок щурів знижувалася порівняно з контролем у 1,77 раза ($p<0,05$) на 1-шу добу експериментальної опікової хвороби, на 7-му добу вона

© Л.Г. Нетюхайло, Я.О. Басараб, 2016

Таблиця 1. Активність каталази і СОД в тканинах нирок інтактних щурів при введенні ліпіну, ($M \pm m$) кмоль/(хв·мг) протеїну ($n=7$)

Група тварин, яким вводили ліпін на добу	Активність каталази	Активність СОД
Контрольна	6,57±0,11	2,74±0,16
1-шу добу	6,69±0,13	2,76±0,13
7-му	6,71±0,09	2,81±0,11
14-ту	6,74±0,12	2,84±0,12
21-шу	6,78±0,11	2,83±0,08
28-му	6,85±0,08	2,87±0,17

перевищувала контрольні показники в 1,99 раз (р<0,05), на 14-ту добу – в 2,35 раз (р<0,05), на 21-шу добу – в 1,91 раз (р<0,05), на 28-му добу – в 1,68 раз (р<0,05), табл. 2.

Активність СОД у тканинах нирок щурів падала у порівнянні з контролем у 1,45 раз (р<0,05) на 1-шу добу експериментальної опікової хвороби, на 7-му добу вона перевищувала контрольні показники у 2,15 раз (р<0,05), на 14-ту добу – в 2,32 раз (р<0,05), на 21-шу добу – в 1,98 раз (р<0,05), на 28-му добу – в 1,69 раз (р<0,05), що свідчить про виснаження ферментативної ланки антиоксидантної системи. Найнижчі показники активності каталази та СОД відмічалися на 7-му та 14-ту добу опікової хвороби, що відповідає стадіям ранньої та пізньої токсемії (табл. 2).

Отже, опікова хвороба призводить до патологічних змін в тканинах нирок, а саме до зниження активності ферментативних антиоксидантних систем.

Активність каталази в тканинах нирок щурів при експериментальній опіковій хворобі та її корекції ліпіном знизилась у порівнянні

з контролем у 1,49 раз (р<0,05) на 1-шу добу, на 7-му добу вона була вище за контрольні показники в 1,35 раз (р<0,05), на 14-ту добу в 1,23 раз (р<0,05), на 21-шу добу в 1,13 раз, на 28-му добу в 1,06 раз (табл. 2).

Активність СОД у тканинах нирок щурів при експериментальній опіковій хворобі та її корекції ліпіном знизилась у порівнянні з контролем у 1,28 раз (р<0,05) на 1-шу добу, на 7-му добу вона була вище за контрольні показники в 1,45 раз (р<0,05), на 14-ту добу в 1,33 раз (р<0,05), на 21-шу добу в 1,25 раз (р<0,05), на 28-му добу в 1,1 раз (табл. 2).

Таким чином, введення ліпіну призводить до активації ферментативної ланки антиоксидантної системи.

Важливим показником ефективності ферментативної ланки антиоксидантної системи є збалансованість активності СОД і каталази [25, 32–35]. Відомо, що ці ферменти визначають стійкість клітин до дії вільних радикалів [25, 32–35]. Пригнічення активності одного з ферментів антиоксидантної системи може призвести до надлишкового накопичення вільних радикалів і загибелі клітини.

Таблиця 2. Активність каталази і СОД в тканинах нирок щурів при експериментальній опіковій хворобі за умов корекції ліпіном, ($M \pm m$) кмоль/(хв·мг) протеїну ($n=7$)

Група тварин з опіковою хворобою	Активність каталази	Активність СОД
Контрольна	6,57±0,11	2,74±0,16
ЕОХ		
1-ша доба	3,71±0,08*	1,89±0,13*
7-ма	3,29±0,09*	1,27±0,17*
14-та	2,79±0,11*	1,18±0,19*
21-ша	3,44±0,06*	1,38±0,15*
28-ма	3,91±0,05*	1,62±0,18*
ЕОХ+ліпін		
1-ша доба	4,39±0,12*#	2,13±0,13*#
7-ма	4,86±0,14*#	1,89±0,14*#
14-та	5,31±0,11*#	2,05±0,17*#
21-ша	5,79±0,15*#	2,18±0,12*#
28-ма	6,17±0,12#	2,49±0,18#

Примітка. р<0,05 *порівняно з контролем; # порівняно з відповідною групою ЕОХ без лікування.

Ці ферменти відіграють важливу роль у знешкодженні вільних радикалів: СОД відповідає за детоксикацію супероксидного радикала, а каталаза забезпечує руйнацію перекису водню, що при цьому утворюється. Наявність у клітині перекису водню в присутності перехідних металів, таких як мідь і залізо, призводить до утворення гідроксильних радикалів, що є набагато сильнішими окисниками, ніж власне перекис водню.

Крім того, перекис водню, на відміну від супероксиду, вільно проходить крізь клітинну мембрану, збільшуючи цим ушкоджуючий вплив вільнорадикального окиснення [33–36]. Перекис водню є вторинним месенджером в клітині, тому каталаза є не тільки ферментом антиоксидантного захисту, але й фактором впливу на передачу сигналу в клітині [33–36].

Фосфатидилхолінові ліпосоми проявляють антигіпоксичну, антиоксидантну та мембранопротекторну дію при патологічних процесах, у яких провідними ушкоджувальними механізмами є тканинна гіпоксія й активація процесів вільнорадикального окиснення, що

Література

1. Агаева Р.К. Свободнорадикальное окисление в тканях тонкой кишки, лёгких и печени при ожоговом шоке / Р.К. Агаева, И.А. Фастова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2009. – № 2. – С. 113–115.
2. Особенности реагирования структурно-метаболических параметров лимфоцитов детей на тяжелый ожоговый шок / С.А. Артемьев, В.В. Ломиворотов, Н.И. Камзалакова, Г.В. Булыгин // Иммунология. – 2009. – Т. 30, № 1. – С. 62–63.
3. Вплив термічного ушкодження на реактивність нейроендокринної системи / Е.Ф. Баринов, Е.Я. Фісталь, О.Е. Баринов та ін. // Фізіологічний журнал. – 2002. – Т. 48, № 4. – С. 43–46.
4. Вазина И.Р. Летальность и причины смерти обожженных / И.Р. Вазина, С.Н. Бугров // Российский медицинский журнал. – 2009. – № 3. – С. 14–17.
5. Дужий І.Д. Опіки: навчальний посібник / І.Д. Дужий, В.В. Мадяр, В.П. Шевченко. – Суми, 2007. – 102 с.
6. Повстяной Н.Е. Состояние помощи больным с ожогами и их последствиями в Украине / Н.Е. Повстяной // Международный мед. журнал. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 97–101.
7. Ермолов А.С. Синдром полиорганной недостаточности у обожженных: проблемы диагностики, профилактики и лечения / А.С. Ермолов, С.В. Смирнов, Л.И. Герасимова // Комбустиология. – 2000. – № 3. – С. 1–8.
8. Клименко М.О. Опікова септикотоксемія / М.О. Клименко, Л.Г. Нетюхайло, А.Г. Костенко // Експериментальна і клінічна медицина. – 2008. – № 2. – С. 4–7.
9. Коган Б.Й. Макрометричні параметри деяких внутрішніх органів шурів при опіковій травмі шкіри / Б.Й. Коган, І.В. Гунас, І.Д. Кухар // Вісник морфології. – 1997. – Т. 3, № 2. – С. 79–80.
10. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
11. Кочетыгов Н.И. Ожоговая болезнь : Монография / Н.И. Кочетыгов. – Л.: Медицина, 1973. – 244 с.
12. Кузин М.И. Ожоговая болезнь: Монография / М.И. Кузин, В.К. Сологуб, В.В. Юденич. – М.: Медицина, 1982. – 160 с.

викликають порушення структури і функції клітинних мембран.

Ліпін має антигіпоксичну, антиоксидантну, дезінтоксикаційну, протизапальну, гепатопротективну дію [14, 37, 38]. Застосування фосфоліпідів у вигляді ліпосом дозволяє покращити кисневе постачання тканин, знизити ступінь тканинної гіпоксії та супутнього метаболічного ацидозу, зменшити гіпоксичне пошкодження нирок і інших органів.

Результати доклінічного вивчення ліпіну показали, що введення його тваринам з експериментальною опіковою хворобою супроводжується зростанням у тканинах нирок активності ферментів антиоксидантного захисту організму.

Таким чином, у шурів, які отримували ліпін, відбувалась активація ферментативної ланки антиоксидантного захисту, і показники швидше нормалізувались.

Перспективами досліджень у даному напрямку є подальше вивчення неферментативної ланки антиоксидантної системи нирок в різні стадії опікової хвороби на тлі застосування ліпіну.

13. Попов Д.О. Патолофізіологічні механізми зрушення стрес-реалізуючих процесів за умов термічних уражень : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.04 / Д.О. Попов. – Одеса, 2002. – 17 с.
14. Сухомлин Т.А. Біохімічні зміни в тканинах легень за умов експериментальної опікової хвороби та їх корекція ліпідом: автореф. дис.. канд. мед. наук: 14.03.04. – Вінниця, 2015. – 19 с.
15. Сухомлин Т.А. Стан антиоксидантної системи в легенях щурів при опіковій хворобі та його корекція препаратом «Ліпін» / Т.А. Сухомлин, Л.Г. Нетюхайло // Матеріали XI Українського біохімічного конгресу / Ukrainian biochemical J. – 2014. – Vol. 86, № 5. – С. 140–141.
16. Фісталь Е.Я. Профілактика синдрому поліорганної недостатності при тяжких опіках у дітей / Е.Я. Фісталь, Г.С. Самойленко, В.М. Носенко // Українській журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаяєва. – 2004. – № 1. – С. 51–54.
17. Комбустіологія / Е.Я. Фісталь, Г.П. Козинець, Г.С. Самойленко та ін. – К.: Інтерлінк, 2004. – 184 с.
18. Boehm J. Putative role of TNF-alpha, interleukin-8 and ICAM-1 as indicators of an early inflammatory reaction after burn: a morphological and immunohistochemical study of lung tissue of fire victims / J. Boehm, K. Fischer, M. Bohnert // J. Clin. Pathol. – 2010. – Vol. 63, № 11. – P. 967–971.
19. Demling R. The lung inflammatory response to thermal injury: relationship between physiologic and histologic changes / R. Demling, C. LaLonde, Y.P. Liu // Surgery. – 1989. – Vol. 106. – P. 52–59.
20. Матвеевко А.В. Прогнозирование исхода термических ожогов / А.В. Матвеевко // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2009. – Т. 168, № 6. – С. 101–104.
21. Активность антиоксидантных ферментов в ране при глубоких ожогах / Е.В. Михальчик, Ю.А. Питерская, В.А. Липатова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147, № 6. – С. 696–699.
22. Парамонов Б.А. Ожоги: Руководство для врачей / Б.А. Парамонов, Я.О. Порембский, В.Г. Яблонский. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 480 с.
23. Довганский А.П. Материалы к патогенезу ожоговой болезни : автореф. дис. на соискание уч. ст. докт. мед. наук: спец. 14765 «Патологическая физиология» / А.П. Довганский. – Кишинев, 1971. – 32 с.
24. Нетюхайло Л.Г. Механізми опікової хвороби та обґрунтування застосування препарату «Кріохор» для її лікування : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / Л.Г. Нетюхайло. – Харків, 2007. – 34 с.
25. Нетюхайло Л.Г. Патогенез опікової хвороби; В 2 ч. / Л.Г. Нетюхайло, С.В. Харченко, А.Г. Костенко // Світ медицини та біології. – 2011. – № 1. – С. 127–131, 131–135.
26. Нетюхайло Л.Г. Патогенетичні механізми ушкодження легень при опіковій хворобі / Нетюхайло Л.Г., Сухомлин Т.А. // Світ медицини та біології. – 2011. – № 2. – С. 184–189.
27. Нетюхайло Л.Г. Стан вільнорадикальних 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. 7, № 1. – С. 80–83.
28. Состояние антиоксидантной системы внутренних органов крыс при ожоговой болезни / Л.Г. Нетюхайло, Т.А. Сухомлин, Я.А. Басараб и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 51–55.
29. Нетюхайло Л.Г. Стан антиоксидантної системи в тканинах легень щурів при опіковій хворобі та їх корекція препаратом «Ліпін» / Л.Г. Нетюхайло, Т.А. Сухомлин // Матер. наук.-практ. конф. «Сучасні проблеми біологічної хімії» / Український біофармацевтичний журнал. – 2013. – № 4 (27). – С. 29.
30. Ославська Т.М. Стан прооксидантно-антиоксидантних процесів головного мозку і еритроцитів та їх значення у патогенезі опікової травми : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.04 / Т.М. Ославська. – Одеса, 2002. – 16 с.
31. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Л.В. Беркало, О.В. Бобович, Н.О. Боброва та ін.; під ред. І.П. Кайдашева. – Полтава: Полімет, 2003. – 320 с.
32. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. – М.: Фирма «Слово», 2006. – 556 с.
33. Armstrong D. Oxidative stress biomarkers and antioxidant protocols / D. Armstrong. – Totowa, New Jersey: Humana Press Inc., 2002. – 186 p.

34. Demling R. Relationship of burn-induced lung lipid peroxidation on the degree of injury after smoke inhalation and a body burn / R. Demling, L. Picard, C. Campbell // Crit Care Med. – 1993. – Vol. 21. – P. 1935–1943.

35. Indices of antioxidant status in rats subjected to wood smoke inhalation and/or thermal injury / M.A. Dubick, S.C. Carden, B.S. Jordan, et al. // Toxicology. – 2002. – Vol. 176, № 1–2. – P. 145–157.

36. Клименко М.О. Неферментативна ланка антиоксидантної системи в різні стадії експериментальної опікової хвороби при використанні препарату «Кріохор» / М.О. Клименко, Н.П. Субота, Л.Г. Нетюхайло // Експериментальна і клінічна медицина. – 2006. – № 1. – С. 13–17.

37. Лимарев В.А. Влияние фосфатидилхолиновых липосом (Липина) на липополисахарид-индуцированную лимфоидную (лейкоцитарную) регуляцию синтеза цитокинов клетками эпителия бронхов у больных с сочетанным течением ХОЗЛ и анемического синдрома у лиц, перенесших туберкулез легких / В.А. Лимарев, М.Н. Гришин // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 14, № 1 (53). – С. 92–96.

38. Netyukhaylo L.G. Experimental treatment of oxidative stress in the lung tissues by «lipin» at burn disease / L.G. Netyukhaylo, T.A. Sukhomlyn // 7th Lviv-Lublin conference of experimental and clinical biochemistry. – Lviv, 2013. – P. 121.

Л.Г.Нетюхайло, Я.О.Басараб

ДЕЙСТВИЕ ЛИПИНА НА ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ЗВЕНО АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПОЧЕК КРЫС ПРИ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ

В эксперименте на крысах установлено, что смоделированная ожоговая болезнь приводит к патологическим изменениям в тканях почек, а именно к снижению активности ферментных антиоксидантных систем. Самые низкие показатели активности каталазы и СОД отмечались на 7-е и 14-е сутки ожоговой болезни, которая отвечает стадиям ранней и поздней токсемии. Применение липина имеет положительное корректирующее влияние на угнетение антиоксидантных систем, повышается активность ферментов антиоксидантной системы в сравнении с животными, которым моделировали ожоговую болезнь без коррекции.

Ключевые слова: почки, экспериментальная ожоговая болезнь, липин.

L.G. Netyukhaylo, Ya.O. Basarab

EFFECT OF LIPIN ON ENZYMATIC LINK OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN KIDNEY OF RATS AT BURN DISEASE

This study has demonstrated that modelled burn disease results in pathological changes in kidney tissues, and in particularly to the decrease in activity of antioxidant enzyme systems. The lowest rates of catalase and SOD were recorded on the 7th and 14th days of burn disease that corresponds to the early and late stages of toxemia. Application of lipin provides positive correcting effect towards the inhibition of antioxidant systems, the increase of enzyme activity of antioxidant system compared with the animals subjected to simulation of burn disease without following correction.

Key words: kidney, modelled burn disease, lipin.

Поступила 12.04.16