

Фізіологічна характеристика антиоксидантних властивостей ліпіну при бронхіальній астмі у дітей

У дітей 4—7-летнего возраста, больных бронхиальной астмой (БА), изучали состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ), антиоксидантного статуса (АОС) и некоторых других показателей в плазме крови и в мембранах эритроцитов во время обострения заболевания, без лечения и при применении нового антигипоксического препарата липина. Отмечено, что у детей с БА наблюдается повышение концентрации малонового диальдегида (МДА) в мембранах эритроцитов по сравнению со здоровыми детьми и снижение активности супероксиддисмутазы (СОД), что приводит к резкому уменьшению коэффициента СОД/МДА. Одновременно у больных детей происходит избыточное накопление никотинамидадениннуклеотида (НАД) в плазме крови. Полученные результаты указывают на значительное угнетение АОС у детей, больных БА, на фоне активации ПОЛ. Применение липина приводило к уменьшению интенсивности ПОЛ, заметному увеличению активности СОД, снижению концентрации НАД до уровня здоровых детей и значительному возрастанию коэффициента СОД/АОС. Результаты свидетельствуют о выраженных антиоксидантных свойствах липина у детей, больных БА.

Вступ

Необхідність вивчення патогенезу та корекції порушень у системі перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) — антиоксидантний стан організму (АОС) продиктована тими змінами системи дихання, які виникають при інтенсифікації ПОЛ: порушенням мембранних структур, руйнуванням сурфактантів легень, збільшенням секреції біологічно активних речовин, порушенням дифузії кисню через аерогематичний бар'єр легень, що, зокрема, призводить до розвитку артеріальної гіпоксемії, зменшення бронхіальної прохідності через зниження бета-адренергічної активності [23, 25]. Поряд із цим показано, що концентрація кисню у тканинах є, нарівні з іншими важливими чинниками, істотним фактором регуляції інтенсивності ПОЛ [15].

Вважають, що важливим є значення посилення ПОЛ у взаємозв'язку та взаємозумовленості синдрому бронхообструкції і розвитку гіпоксичного стану, що нерідко ускладнює перебіг хронічних захворювань легень [17]. Ступінь вираженості бронхообструктивного синдрому корелює зі зниженням рівня системи антиоксидантного захисту організму [1, 24]. У зв'язку з цим при бронхіальній астмі (БА) патогенетично є прийнятним призначення препаратів, які мають виражену антигіпоксичну та антиоксидантну дію [7, 14, 18]. Одним з таких препаратів є ліпін, діючим чинником якого є фосфатиділхолінові ліпосоми, і який має антигіпоксичні й антиоксидантні властивості [7, 13, 14, 18].

Принадгідно відзначити, що, поряд з відміченими особливостями ліпіну, показано, що ліпосоми мають властивість переходу у кров навіть за умов їх інгаляційного введення [13], а також їм властива взаємодія з

клітинними мембранами, що показано, зокрема, на мембранах еритроцитів (Е) [4].

Виявлення на поверхні Е у достатній кількості бета-адренергічних рецепторів дозволяє розглядати можливі порушення таких рецепторів на прикладі саме цих клітин [10]. Відсутність ядра, а також інших органел, які мають мембрани і яким властиві біохімічні відмінності від цитоплазматичної мембрани, дають можливість розглядати цю модель відносно універсальною [20].

Слід підкреслити, що Е, як вважають, є унікальною кисеньтранспортною системою і займають важливе місце у системі міжклітинних взаємодій, зокрема, беручи участь у різних ланках патогенезу БА, у тому числі у «гашенні» агресивних продуктів ПОЛ, а також у стабілізації лізосомальних мембран та у забезпеченні порівняно стабільного рівня кислотно-основного стану організму [6]. Є дані про те, що інтенсифікація ПОЛ у мембранах Е призводить до підвищеного утворення метгемоглобіну, що спричинює погіршення гіпоксичного стану організму та й певною мірою лімітується АОС [21].

Метою нашої роботи було вивчення змін показників ПОЛ, АОС та деяких інших показників у плазмі крові та мембранах Е у дітей, хворих на БА, під час загострення захворювання та під впливом застосування нового антигіпоксичного препарату «Ліпін» (Наказ № 26 МОЗ України від 26 лютого 1992 р.).

Методика

Обстежено 16 дітей у віці від 4 до 7 років, хворих на atopічну БА середньої тяжкості у періоді загострення (І група). Групу порівняння (ІІ група) склали 16 дітей з таким же діагнозом, котрих у ці дні не лікували. Групу контролю (ІІІ група) склали 16 практично здорових дітей. Хворі І групи одержували тільки інгаляції ліпіну. Всі групи можна було порівняти за віком, статтю, а групи І і ІІ — за формою і тяжкістю захворювання. Інгаляцію ліпіну здійснювали за допомогою ультразвукового інгалятора типу «TUR-USI-50» (Німеччина) один раз на добу у дозі 10 мг/кг протягом 3 діб. Біохімічні дослідження проводили перед першою інгаляцією та на наступну добу після третьої. Визначали показники ПОЛ — за концентрацією малонового діальдегіду (МДА) у плазмі крові та у мембранах Е за реакцією кінцевих продуктів ПОЛ з тіобарбітуровою кислотою [19], стану АОС — за вивченням концентрації супероксиддисмутази (СОД) [22] і рівня нікотинамідаденінуклєотиду (НАД) у плазмі крові [2]. Екстракцію та очищення ліпідів проводили з сумішшю хлороформ-метанол у співвідношенні 2:1. Загальні фосфоліпіди (ФЛ) та холестерин (ХС) визначали за методом Бондаренко з співавт. [3]. В екстракті ліпідів визначали колориметричним методом концентрацію загальних ФЛ за кількістю мінералізованого фосфору [11] і концентрацію ХС за кольоровою реакцією Лібермана-Бурхарда у модифікації Колба та Камишнікова [9]. Увесь цифровий матеріал оброблено методами математичної статистики з використанням критерію t Стюдента.

Результати та їх обговорення

Перш за все слід відмітити, що у дітей, хворих на БА, значення МДА у плазмі крові не відрізнялися від аналогічних величин здорових дітей, проте

Динаміка показників пер
і загальних фосфоліпідів
(M±m, n=16)

Показник	Значення (M±m)
Вміст малонового діальдегіду у плазмі крові, нмоль/мл	
Вміст малонового діальдегіду у еритроцитах, нмоль/мл	
Активність супероксиддисмутази, тис.од/л/10 ^{хв}	
Вміст нікотинамідаденінуклєотиду, мкмоль/л	
Вміст холестерину, мг/мл	
Вміст загальних фосфоліпідів, мкг/мл	
Відношення активності супероксиддисмутази до вмісту малонового діальдегіду, %	

Р — порівняно з групою лікування.

при цьому відбувалося з контролем (таблиця показує найменше у фосфоліпідах прикладі Е.

Стан АОС оцінюють [22], відіграє важливу роль у дітей, хворих на БА, порівняно з групою контролю.

Вважають [16], що найбільш важливою є тільки оцінка абсолютного співвідношення, яке одержані результати порівняно з контролем.

Відомо [24], що велику роль в АОС грають катіони, котрі використовують для лікування (зокрема, з одержаних результатів видно, що в дітей з надлишковим накопиченням фосфоліпідів у еритроцитах), що свідчить про

Динаміка показників перекисного окислення ліпідів, антиоксидантної системи, холестерину і загальних фосфоліпідів у дітей, хворих на бронхіальну астму, після лікування ліпіном (М±ш, n=16)

Показник	Здорові діти (контроль)	Хворі діти			
		Основна група		Група порівняння	
		до лікування	після лікування	1-ша доба	3-тя доба
Вміст малонового діальдегіду у плазмі крові, нмоль/мл	527±19	503±64 P>0,5	476±59 P<0,5	501±71 P>0,5	198±58 P<0,5
Вміст малонового діальдегіду у еритроцитах, нмоль/мл	549±30	796±49 P<0,01	632±58 P<0,01	786±43 P<0,01	776±24 P<0,01
Активність супероксиддисмутази, тис.од./л/10 ⁶ хв	130,0±1,7	91,7±4,1 P<0,05	119±12,4 P<0,01	93,1±4,2 P<0,05	91,2±5,8 P<0,01
Вміст нікотинаміладеніндинуклеотиду, мкмоль/л	31,6±1,7	59,3±7,3 P<0,01	36,2±6,2 P<0,01	60,0±3,2 P<0,01	58,1±1,9 P>0,1
Вміст холестерину, мг/мл	1,00±0,03	1,12±0,04 P<0,05	1,06±0,06 P<0,1	1,14±0,08 P<0,1	1,13±0,11 P<0,1
Вміст загальних фосфоліпідів, мкг/мл	103,0±3,1	90,9±2,8 P<0,05	95,3±1,9 P<0,05	91,3±1,8 P<0,05	91,9±1,8 P<0,1
Відношення активності супероксиддисмутази до вмісту малонового діальдегіду, %	22,1	11,5 P<0,05	18,9 P<0,01	11,9 P<0,01	11,9 P<0,1

P — порівняно з групою здорових дітей, P₁ — порівняно з групою хворих дітей без лікування.

при цьому відбувалося вірогідне збільшення МДА у мембранах E порівняно з контролем (таблиця). Це може свідчити про активізацію процесів ПОЛ якнайменше у фосфоліпідному прошарку клітинних мембран хоча б на прикладі E.

Стан АОС оцінювали за активністю СОД, яка, як прийнято вважати [22], відіграє важливу роль у підтриманні антиоксидантного захисту клітин. У дітей, хворих на БА, відмічено помітне пригнічення СОД порівняно з групою здорових дітей (на 29 %, див. таблицю).

Вважають [16], що при вивченні стану ПОЛ—АОС важливою є не тільки оцінка абсолютних величин вмісту МДА і активності СОД, як їх співвідношення, яке відбиває коефіцієнт $K = \text{СОД}/\text{МДА} \cdot 100 \%$. Згідно з одержаними результатами, його значення у хворих дітей майже вдвічі менше ніж у контрольній групі.

Відомо [24], що окислювально-відновна реакція НАД—НАД·Н₂ відіграє велику роль в АОС, оскільки НАД·Н₂ є постачальником атомів водню, котрі використовуються для зв'язування вільних радикалів кисню. Як видно з одержаних результатів, при БА у періоді загострення відбувається надлишкове накопичення у плазмі НАД (майже вдвічі більше за рівень у здорових дітей), що свідчить про зниження його відновлення до НАД·Н₂.

Усі ці результати свідчать про значне пригнічення АОС у дітей, хворих на БА, у період загострення, та зниження компенсаторної реакції АОС у відповідь на підвищену активацію ПОЛ.

Після курсу інгаляції ліпіну у хворих дітей на БА відмічено зменшення активності ПОЛ, особливо й вірогідно виражене у мембранах Е (див. таблицю). Цей факт дозволяє констатувати наявність антиоксидантного ефекту ліпіну, а також певний його мембраностабілізуючий ефект, оскільки, завдяки цим результатам, є можливість припустити зменшення при застосуванні ліпіну негативної дії надлишку продуктів ПОЛ на клітинні мембрани.

Після трьох інгаляцій ліпіну відмічено також істотне покращання стану АОС, про що свідчить вірогідне збільшення активності СОД, яка значно наблизилася до значення цього показника у здорових дітей, вірогідне зниження концентрації НАД майже до рівня контрольної групи та значне збільшення коефіцієнта К (див. таблицю). У поодиноких випадках пролонгування застосування ліпіну до 7 інгаляцій відмічено повну нормалізацію рівня ПОЛ та стану АОС.

Згідно з одержаними результатами, у дітей хворих на БА у період загострення сумарний рівень ФЛ у мембранах Е був зниженим порівняно з групою здорових дітей на 12 % (див. таблицю). У той же час рівень ХС мав тенденцію до підвищення. Відношення ФЛ/ХС було зниженим. Ці результати дають можливість оцінити ймовірну пошкоджуючу дію активації ПОЛ на фосфоліпідний склад мембран Е, про що, зокрема, свідчить виявлений у дітей, хворих на БА, негативний кореляційний зв'язок між концентрацією МДА у мембранах Е, з одного боку, і рівнем у них ФЛ, з іншого (коефіцієнт рангової кореляції — $-0,789$, $P < 0,001$ порівняно зі здоровими дітьми).

У хворих дітей, які одержували ліпін, вміст загальних ФЛ у мембранах Е вірогідно збільшився, а рівень ХС наблизився до його значення у здорових дітей (див. таблицю). Подібні зміни призводять до зменшення мікрів'язкості клітинних мембран [6], зменшення жорсткості мембран Е та більш швидкого насичення киснем Е [6]. Збільшення співвідношення ФЛ/ХС у клітинних мембранах призводить також до підвищення функціональної активності бета-адренергічних рецепторів та аденілатциклази, що дозволяє в цілому збалансувати функцію аденілатциклазної системи [8].

Той факт, що застосування ліпіну викликає зміни у цитоплазматичних мембранах без'ядерних клітин, дає можливість припустити безпосередню дію фосфатиділхолінових ліпосом, які становлять основу ліпіну, на фосфоліпідний прошарок клітинних мембран. Проведені раніше дослідження [12] показали, що інкубація з ліпосомами лімфоцитів і моноцитів у осіб, хворих на БА в період загострення, підвищує чутливість аденілатциклазної системи цих клітин до симпатоміметиків. Можливо, що зміни функціонування мембрано-рецепторних комплексів під час взаємодії ліпіну з цитоплазматичними мембранами мають певне значення у зниженні гіперреактивності бронхів при БА.

Таким чином, з наведених результатів видно, що застосування ліпіну у дітей 4—7-річного віку, хворих на БА у період загострення, у вигляді інгаляцій протягом навіть трьох днів призводить до значного зменшення підвищеного при БА рівня ПОЛ у мембранах Е, збільшення стабільності цих мембран, а також до підвищення зниженого при БА рівня антиоксидантної системи. Поодинокі дані про практично повну нормалізацію показ-

ників системи ПОЛ, що дає можливість розраховувати на найменше за в найменше у дітей

A.G.Timchenko, M.M. PHYSIOLOGICAL CHANGES OF NEW DRUG LIPIN

In children of 4—7 years of age, during the period of acute exacerbation, the use of new drug lipin led to a significant decrease in the level of peroxyl radicals (POL) in membranes E, increase in the stability of these membranes, and also to an increase in the level of antioxidant system. In the case of individual children, a practically complete normalization of indicators of the

A.A.Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Александров О.В., на хемилуминесцентивним бронхитом // Ферментативный м. клиника. К.: Б.и.,
2. Бондаренко Б.Н., плазмы крови при
3. Гордиенко А.Д. Фенпидов // Фармако
4. Даниляк И.Г., Когми крови, перекисной астмой // Тер
5. Жихарев С.С., Мипатология мембран С. 9—14.
6. Зубаренко А.В. Гипкоррекция с приме наук. — К., 1992.
7. Исаев Э.М. Функцигормонов. — Автор
8. Колб В.Г., Камышин
9. Лопухин Ю.М., Ар1984. — 130 с.
10. Маркова М.Н. Метметоды исследовани
11. Масуев К.А. Возмоствы и ионной пржирных кислот. — 1992 г.): Тез. докл
12. Пожаров В.П., Миханизмы антигипок76, № 7. — С. 897
13. Поплавская Л.Л., Сступном периоде брорганов дыхания: С
14. Рогинский В.А. К кибиология. — 1990.

ників системи ПОЛ—АОС при семидобовому вживанні ліпіну вказують на можливість розробки оптимальних строків його інгаляторного застосування якнайменше за вираженими його антиоксидантними властивостями та щонайменше у дітей 4—7-річного віку, хворих на БА.

A.G.Timchenko, M.M.Seredenko, V.I.Portnichenko, S.A.Babko, N.I.Velichko, E.V.Tsvetkova

PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTIC OF ANTIOXYDANT PROPERTIES OF NEW DRUG LIPIN IN CHILDREN'S BRONCHIAL ASTHMA

In children of 4—7 years old with bronchial asthma (BA) has been studied the values of lipid peroxidation, antioxidant status and some others in blood plasma and erythrocytes without and with the use of new drug lipin. It was shown that in children with BA the malondialdehyde concentration increased, the superoxydedismutase activity decreased, the NAD concentration increased, and the ratio of superoxydedismutase/malondialdehyde greatly decreased in comparison with normal children. The use of lipin led to diminution of lipid peroxidation, to marked increase of superoxydedismutase activity, to decrease of NAD concentration, and to significant increase of superoxydedismutase/malondialdehyde ratio. These results were indicated on the expressed antioxidant properties of lipin in children's with BA.

A.A.Bogomolets Institute of Physiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Александров О.В., Лурье Б.П., Гноевых В.В. и др. Влияние длительной кислородотерапии на хемилуминесценцию и антирадикальную активность у больных хроническим обструктивным бронхитом // Пульмонология. — 1992. — № 3. — С. 13—16.
2. Алехина С.М. Определение содержания никотинамидных коферментов в тканях и крови. Ферментативный метод. — В кн.: Биохимические методы в токсикологии, эксперименте и клинике. К.: Б.и., 1985. — С. 20—23.
3. Бондаренко Б.Н., Синяк К.Н., Шокол А.С., Оргель М.Я. Состав нейтральных липидов плазмы крови при вирусном гепатите // Врачеб. дело. — 1976. — № 9. — С. 148—151.
4. Гордиенко А.Д. Фармакологические и биохимические эффекты ненасыщенных фосфолипидов // Фармакология и токсикология. — 1990. — 53, № 1. — С. 78—81.
5. Даниляк И.Г., Коган А.Х., Болевич С.И. Генерация активных форм кислорода лейкоцитами крови, перекисное окисление липидов и антиперекисная защита у больных бронхиальной астмой // Терап. архив. — 1992. — 64, № 3. — С. 54—57.
6. Жихарев С.С., Минеев В.Н., Яблонская В.Н. и др. Атопическая бронхиальная астма как патология мембранно-рецепторного комплекса // Вестн. АМН СССР. — 1989. — № 2. — С. 9—14.
7. Зубаренко А.В. Гипоксический синдром при бронхолегочных заболеваниях у детей и его коррекция с применением фосфатидилхолиновых липосом. — Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — К., 1992. — 39 с.
8. Исаев Э.М. Функциональная роль липидов мембран в механизмах реализации эффекта гормонов. — Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Ташкент, 1985. — 44 с.
9. Калб В.Г., Камышиников В.С. Клиническая биохимия. — Минск: Беларусь, 1976. — 303 с.
10. Лопухин Ю.М., Арчаков А.И., Владимиров Ю.А., Коган Э.М. Холестериноз. — М.: Б.и., 1984. — 130 с.
11. Маркова М.Н. Методы изучения состояния липидного обмена. — В кн.: Биохимические методы исследования в клинике. — М.: Медицина, 1969. — С. 283—341.
12. Масуев К.А. Возможность коррекции функциональной активности аденилатциклазной системы и ионной проницаемости цитоплазматической мембраны с помощью липосом и жирных кислот. — В кн.: I съезд иммунологов России (Новосибирск, 23—25 июня 1992 г.): Тез. докл. Новосибирск: Б.и., 1992. — С. 292—293.
13. Пожаров В.П., Миняйленко Т.Д., Стефанов А.В. и др. Некоторые физиологические механизмы антигипоксического действия липосом // Физиол. журн. СССР. — 1990. — 76, № 7. — С. 897—902.
14. Поплавская Л.Л., Середенко М.М., Миняйленко Т.Д. и др. Применение липосом в приступном периоде бронхиальной астмы у детей. — В кн.: I всесоюз. конгр. по болезням органов дыхания: Сб. резюме. — К.: Б.и., 1990. — С. 544.
15. Рогинский В.А. К кинетической модели перекисного окисления в липидном бислое // Мол. биология. — 1990. — 24, вып. 6. — С. 1582—1589.

16. Сафарян М.Д., Карагезян К.Г., Карапетян Э.Т. Применение антиоксидантов и нуклеината натрия при туберкулезе легких // Журн. эксперим. и клинич. медицины. — 1990. — № 2. — С. 121—126.
17. Середенко М.М., Резник Б.Я., Зубаренко А.В. и др. Особенности развития гипоксического состояния при бронхиальной астме у детей // Физиол. журн. — 1987. — 33, № 3. — С. 62—66.
18. Середенко М.М., Стефанов А.В., Пожаров В.П. и др. Механизмы повышения резистентности организма к гипоксии при введении липосом. — В кн.: Реактивность и резистентность: фундаментальные и прикладные вопросы: Тез. докл. всесоюз. конф. посвящ. 90-летию со дня рождения акад. АМН СССР Н.Н.Сиротинина, Киев, 15—18 июня 1987 г. — К.: Б.и., 1987. — С. 233—234.
19. Стальная И.Д., Гаршвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. — В кн.: Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 66—68.
20. Уайт А., Хендлер Р., Смит Э. и др. Основы биохимии: Пер. с англ. — М.: Медицина, 1981. — Т. 2. — С. 541—546.
21. Филев Л.В., Игнатьев В.А., Франгулян Р.Р. и др. Функциональные особенности эритроцитов у больных с острой и хронической дыхательной недостаточностью // Журн. эксперим. и клин. медицины. — 1990. 30, — № 2. — С. 156—160.
22. Чевари С., Чазо И., Секай И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. — 1985. — № 11. — С. 678—681.
23. Godard P., Danun M., Gluzel M. et al. Oxygen free radicals and bronchial asthma // Allerg. Immunol. — 1981. — 19, suppl. 8. — P. 15—18.
24. Jado G., Toumi M., Courtiere A. et al. Antioxidant enzymes in asthmatic patients // Bull. Acad. Nat. Med. (Paris). — 1988. — 172, № 5. — P. 693—700.
25. Kunazava H., Kurihara N., Hirata K., Takeda T. The role of free radicals in airway obstruction in asthmatic patients // Chest. — 1991. — 100, № 5. — P. 1319—1322.

Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця
НАН України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 01.03.96

Вивчення впливу ДНК, РНК і 6П

Изучали влияние с...
ских предшественн...
уменьшение массы...
в особенности чере...
ного введения эст...
исключения [³H]-т...
белок соответств...
лось у животных, е...
При введении эстр...
специфических пре...
Полученные резуль...
анаболическое дейст...
чечников овариэкто...

Вступ

Добре відомо, що в...
надниркові залози...
залоз, кастрація са...
андрогенами компе...
Атрофія надниркови...
на зі зменшенням...
проявляються здебі...
те довготривале вв...
фізіологічні, може...
вжх залоз у цих зор...

Функція наднирк...
Оварієктомія призв...
а введення естроге...
щурів [10, 12]. Пр...
кору надниркових з...
рогенів на кору надн...
вність рецепторів е...
збільшення синтезу...
шого боку, мо...
гісталамус і гіпо...
гіофізмом і зменшує...
введення естрадіолу...
контрольних значен...

Проте біохімічні...
досліджені. Тому мет...
оварієктомії і вплив...
щурів на основні а...
впливними поперед...