

## ВПЛИВ ЛІНОЛЕЇЛ-ГІДРОКСАМОВОЇ КИСЛОТИ НА СТАН ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ ПРИ ГІПОКСІЇ

*В опытах на белых крысах изучали влияние блокатора липоксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты - линолеил-гидроксамовой кислоты на состоянии процессов перекисного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной системы организма в крови и гомогенатах тканей сердца, печени, легких и мозга при острой гипоксической гипоксии. Показано, что предварительное введение препарата вызывает повышение активности антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазы и церулоплазмينا, существенно снижает активацию процессов свободнорадикального окисления, вызванного гипоксией, в крови и тканях сердца, печени и легких.*

### Вступ

Гіпоксія, незалежно від причини її виникнення, зумовлює інтенсифікацію процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), накопичення в організмі токсичних продуктів цих реакцій, а також знижує активність ферментів антиоксидантної системи (АОС) [1, 4, 11, 15]. Збільшення вмісту продуктів ПОЛ призводить до руйнування клітинних структур органів і тканин, збільшуючи кількість вільних поліненасичених жирних кислот. Значне місце серед таких кислот займає арахідонова кислота (АК), 95-98% якої входить до складу фосфоліпідів клітинних мембран. У відповідь на нестачу кисню відбувається опосередкована активація фосфоліпази А<sub>2</sub>, посилення процесу ліполізу та запуск каскаду АК, що призводить до утворення продуктів, які несприятливо впливають на стійкість організму до гіпоксії та ще більше посилюють процеси ПОЛ у клітинах [1, 13, 16, 19, 20]. Активація ліпоксигеназного шляху метаболізму АК спричинює утворення продуктів з прооксидантною дією [18, 21-23], які можуть поряд з іншими шкідливими продуктами ліпоксигеназної реакції призвести до істотного погіршення патологічного процесу. В зв'язку з цим є доцільною фармакологічна корекція гіпоксичного пошкодження організму, яка здійснюється за допомогою препаратів, що впливають на основні ланки його розвитку, зокрема, на ліпоксигеназний та циклооксигеназний шляхи метаболізму АК. Препарати, що діють на даному рівні, відрізняються за здатністю вибірково впливати на різні типи оксигеназ. Ключовим ферментом у біосинтезі такого класу біологічно активних речовин, як лейкотриєни є 5-ліпоксигеназа (5-ЛО). Фармакологічний вплив саме на 5-ЛО може бу-

ти найбільш доцільним за умов використання у медицині при лікуванні цілого ряду патологічних станів, які супроводжуються поси- леним біосинтезом лейкотриєнів (бронхіальна астма, алергія, інфаркт міокарда тощо) [7, 10, 12, 20]. Похідні гідроксамових кислот відомі саме як інгібітори ферменту 5-ЛО. Новий препарат, синтезований в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України - лінолеїл-гідроксамова кислота (ЛГК), є суїцидним блокатором цього ферменту [3]. У дослідях на кролях на моделі експериментального атеросклерозу показано, що застосування водорозчинної форми ЛГК призводить до значного зниження вмісту продуктів ПОЛ, стабілізації АОС плазми крові, що вказує на зниження активності процесів ПОЛ *in vivo* [12]. Метою нашого дослідження було вивчення впливу попереднього вве- дення ЛГК на стан процесів ПОЛ і функціональну активність фер- ментів АОС організму у різних органах щурів за умов дії гострої гіпоксичної гіпоксії тяжкого ступеня.

#### Методика

Досліди проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою 200-250 г. Го- стру гіпоксичну гіпоксію моделювали за допомогою 30-хвилинної інгаляції тваринам газової суміші, яка містила 7 % кисню в азоті. ЛГК вводили внутрішньосудинно у дозі 0,3 мг на 100 г маси тварини за 30 хв до початку дії гіпоксії. Час дії препарату становив 1 год. Потім тварин декапітували, брали кров і тканини серця, печінки, ле- гень і мозку. Контролем були інтактні тварини. Стан процесів ПОЛ оцінювали за динамікою накопичення первинних - дієнові кон'югати (ДК), і вторинних продуктів ПОЛ. До складу вторинних продуктів ПОЛ відносили такі, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК- залежні продукти), а саме - малоновий діальдегід (МДА) та його по- передники. Активність АОС організму визначали за показниками таких ключових антиоксидантних ферментів, як супероксиддисмутаза (СОД) та церулоплазмін (ЦП). Вміст продуктів ПОЛ та активність ферментів АОС визначали у плазмі, крові та 10 %-них гомогенатах тканин сер- ця, печінки, легень та мозку за загальновідомими методами: ДК у плазмі крові - [5], у гомогенатах - [9], МДА - [14], СОД - [2], ЦП - [8]. Результати досліджень обробляли за методом варіаційної статистики з урахуванням критерію t Стьюдента.

#### Результати та їх обговорення

Дія на організм щурів гострої гіпоксичної гіпоксії протягом 30 хв спричинювала значну активацію процесів ПОЛ, підвищення вмісту її первинних і вторинних продуктів у всіх досліджуваних тканинах (табл. 1, 2). Так, вміст ДК збільшувався у 1,4 - 1,8 разів, а МДА - у 1,4 - 3,1 рази. Максимальне підвищення значень цих показників фіксувалось у тканині печінки. Таке зростання концентрації продуктів ПОЛ пов'язується зі ступенем тяжкості гіпоксичного впливу (7 % кисню в азоті), тоді як АОС захисту організму за даних умов по-

Таблиця 1. Вміст дієнових кон'ю- гіпоксичній гіпоксії та введенні

| Умова досліді                    | у крові, мкмоль/мг         |
|----------------------------------|----------------------------|
| Контроль (n = 16)                | 0,636±0,061<br>0,956±0,082 |
| Гіпоксія (n = 16)                | P<0,01<br>0,652±0,116      |
| Гіпоксія та введення ЛГК (n = 8) | P<0,05                     |

Примітка: тут і в табл. 2 Р - д гіпоксії.

Таблиця 2. Вміст малонового д гострій гіпоксичній гіпоксії та

| Умова досліді                    | у крові, мкмоль/г      |
|----------------------------------|------------------------|
| Контроль (n = 16)                | 1,43±0,04<br>2,33±0,10 |
| Гіпоксія (n = 16)                | P<0,01<br>1,77±0,07    |
| Гіпоксія та введення ЛГК (n = 8) | P<0,05                 |

слаблюється, про що сві- ферменту АОС - СОД плазми крові (рис. 1, 2 гіпоксії та спупенем а кціональним станом Аі тяжкість і тривалість і резерву захисних систе функціями. Так, макси строї гіпоксичної гіпок що узгоджується з дан

Таблиця 1. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) у крові та гомогенатах тканин щурів при гострій гіпоксичній гіпоксії та введенні лінолеїл-гідроксамової кислоти (ЛГК)

| Умова досліджу                   | Концентрація ДК      |                     |                      |                      |                     |
|----------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
|                                  | у крові, мкмоль/мл   | у серці, мкмоль/мл  | у печінці, мкмоль/мл | у легенях, мкмоль/мл | у мозку, мкмоль/мл  |
| Контроль (n = 16)                | 0,636±0,061          | 5,16±0,61           | 7,38±0,79            | 6,03±0,70            | 4,59±0,53           |
|                                  | 0,956±0,082          | 8,41±1,60           | 13,11±1,96           | 8,59±1,03            | 6,74±1,62           |
| Гіпоксія (n = 16)                | P<0,01               | P>0,05              | P<0,01               | P>0,05               | P>0,2               |
|                                  | 0,652±0,116          | 6,45±0,63           | 8,50±0,19            | 8,23±0,60            | 9,17±1,13           |
| Гіпоксія та введення ЛГК (n = 8) | P <sub>1</sub> <0,05 | P <sub>1</sub> >0,2 | P <sub>1</sub> <0,05 | P <sub>1</sub> >0,5  | P <sub>1</sub> >0,2 |

Примітка: тут і в табл. 2 Р - достовірність порівняно з контролем; Р<sub>1</sub> - порівняно з гіпоксією.

Таблиця 2. Вміст малонового діальдегіду (МДА) у крові та гомогенатах тканин щурів при гострій гіпоксичній гіпоксії та введенні лінолеїл-гідроксамової кислоти (ЛГК)

| Умова досліджу                   | Концентрація ДК      |                     |                      |                     |                     |
|----------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
|                                  | у крові, мкмоль/г    | у серці, мкмоль/л   | у печінці, мкмоль/л  | у легенях, мкмоль/л | у мозку, мкмоль/л   |
| Контроль (n = 16)                | 1,43±0,04            | 17,30±1,10          | 15,20±1,30           | 19,40±0,60          | 13,70±2,20          |
|                                  | 2,33±0,10            | 32,58±0,16          | 48,31±3,69           | 27,40±0,89          | 21,17±1,02          |
| Гіпоксія (n = 16)                | P<0,01               | P>0,05              | P<0,02               | P>0,05              | P>0,2               |
|                                  | 1,77±0,07            | 23,80±0,30          | 23,70±0,70           | 23,60±0,61          | 22,04±0,76          |
| Гіпоксія та введення ЛГК (n = 8) | P <sub>1</sub> <0,05 | P <sub>1</sub> >0,2 | P <sub>1</sub> <0,05 | P <sub>1</sub> >0,5 | P <sub>1</sub> >0,2 |

слаблюється, про що свідчить істотне зниження активності ключового ферменту АОС - СОД, та ЦП - одного з основних антиоксидантів плазми крові (рис. 1, 2). Існує прямий зв'язок між жорсткістю впливу гіпоксії та спупенем активації вільнорадикального окислення і функціональним станом АОС захисту. Гіпоксія мобілізує АОС, але її тяжкість і тривалість впливу на організм призводять до виснаження резерву захисних систем. ПОЛ у органах також тісно пов'язане з їх функціями. Так, максимальний вміст продуктів ПОЛ за умов дії гострої гіпоксичної гіпоксії у наших дослідках спостерігався в печінці, що узгоджується з даними літератури про різний ступінь чутливості

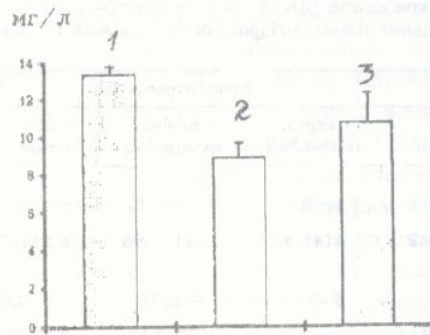


Рис. 1. Активність церулоплазміну плазми крові щурів за умов нормоксії (1), при дії гострої гіпоксичної гіпоксії (2) та введенні лінолеїл-гідроксамової кислоти (3).

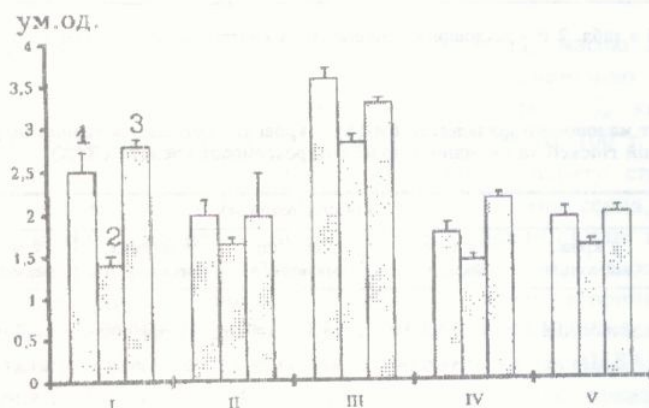


Рис. 2. Активність супероксиддисмутази крові (I) та тканин серця (II), печінки (III), легень (IV), мозку (V) за умов нормоксії (1), при дії гострої гіпоксичної гіпоксії (2) та введенні лінолеїл-гідроксамової кислоти (3).

органів до гіпоксичного впливу, який знижується в ряду: печінка, серце, легені [1]. Крім того, печінка - основний орган, де відбувається детоксикація продуктів обміну (у тому числі й екзогенно введених препаратів), і при її ураженні ця функція значно знижується. Одержані нами результати підтверджують дані про те, що гостра гіпоксична гіпоксія спричинює зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі у бік неконтрольованого посилення процесів вільнорадикального окислення, що пояснюється надлишковим утворенням за умов гіпоксії вільних радикалів та активних форм кисню, токсичною дією на тканини нагромаджених у них продуктів ПОЛ і виснаженням резерву АОС захисту організму [1, 11, 16, 19].

Попереднє введення тваринам ЛГК призводило до нормалізації процесів ПОЛ на тлі дії на організм тварин гострої гіпоксичної гіпоксії, про що свідчило достовірне зниження концентрації ДК у крові та

гомогенатах тканин серця зміни реєструвалися і у дуктів (МДА) (див. табл. й легень при попереднього введення концентрації МД реєстроване підвищення показників СОД у крові легень (див. рис. 1, 2). З оксидантів (вітамін Е, а при активації метаболізм [17, 21, 22]. Результати про захисний, антигіпоксичної гіпоксії в і Так, при дії гіпоксії т відбувалося подальше (вторинних продуктів ПО виражене пригнічення а що такі зміни можуть б мозку є найбільш чутли й тривала гіпоксія спри виснаження захисних р торів [6, 15].

Таким чином, аналіз новок, що блокада ліпо могою ЛГК зумовлює за в цілому при дії гостро введення ЛГК не може впливом, у структурах більш детального вивче

T.V. Kukoba, M.M. Seredenko, I.

THE EFFECT OF LINOLEYL-H ACID ON THE STATUS OF LIP AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN RATS UNDER HYPOXIA

It was studied the eff arachidonic acid metabo of lipid peroxidation and and brain in rats und preliminary introduction enzymes activity - sup decrease of lipid peroxyc and lung (without brain

O.O.Bogomoletz Institute of Phys Institute of Bioorganic Chemie an Ukrainian National Academi of Si

гомогенатах тканин серця, печінки та легень (див. табл. 1). Аналогічні зміни реєструвалися і у відношенні вторинних, ТБК-залежних продуктів (МДА) (див. табл. 2). Так, у крові та тканинах серця, печінки й легень при попередньому введенні ЛГК спостерігалось вірогідне зниження концентрації МДА в 1,3 - 2,0 рази. При цьому було зареєстроване підвищення активності ЦП плазми крові, а також значень показників СОД у крові й гомогенатах тканин серця, печінки та легень (див. рис. 1, 2). За даними деяких авторів використання антиоксидантів (вітамін Е, аскорбінова кислота) викликає захисний ефект при активації метаболізму АК особливо по ліпоксигеназному шляху [17, 21, 22]. Результати наших дослідів давали б підставу говорити про захисний, антигіпоксичний ефект ЛГК на організм за умов гострої гіпоксичної гіпоксії в цілому, але виняток складає тканина мозку. Так, при дії гіпоксії та введенні ЛГК у гомогенатах цієї тканини відбувалося подальше (недостовірне) підвищення вмісту первинних та вторинних продуктів ПОЛ (див. табл. 1, 2), відмічалось ще більш виражене пригнічення активності СОД (див. рис. 2). Ми припускаємо, що такі зміни можуть бути зумовленими тим, що структури головного мозку є найбільш чутливими до кисневого голодування [1], а важка й тривала гіпоксія спричинює істотне пошкодження тканини мозку та виснаження захисних резервів, про що свідчать також дані інших авторів [6, 15].

Таким чином, аналіз отриманих результатів дозволяє зробити висновки, що блокада ліпоксигеназного шляху перетворення АК за допомогою ЛГК зумовлює захисний вплив на більшість органів та організм в цілому при дії гострої гіпоксичної гіпоксії важкого ступеня. Однак введення ЛГК не може попередити порушень, зумовлених гіпоксичним впливом, у структурах головного мозку. Це свідчить про необхідність більш детального вивчення дії цього препарату.

*T.V. Kukoba, M.M. Seredenko, I.A. Butovich, O.O. Moibenko*

THE EFFECT OF LINOLEYL-HYDROXAMIC  
ACID ON THE STATUS OF LIPID PEROXIDATION  
AND ANTIOXIDANT SYSTEM  
IN RATS UNDER HYPOXIA

It was studied the effect of new blokator of lipoxxygenase way of arachidonic acid metabolism - linoleyl-hydroxamic acid - on the status of lipid peroxidation and antioxydant system in blood, heart, liver, lung and brain in rats under acute hypoxic hypoxia. It was shows that preliminary introduction of this substanse lead to increase of antioxydant enzymes activity - superoxide dismutase and ceruloplasmine, and to decrease of lipid peroxydation level during hypoxia in blood, heart, liver and lung (without brain).

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, Ukrainian National Academi of Sciences;  
Institute of Bioorganic Chemie and Oil Chemie,  
Ukrainian National Academi of Sciences.

1. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. - М.: Медицина, 1989. - 368 с.
2. Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1976. - 81, № 1. - С. 33-35.
3. Буткович И.А., Бридня В.П., Кухарь В.П. Линолеат-гидроксамовая кислота - суицидный ингибитор липоксигеназы // Биохимия. - 1990. - 55, № 7. - С. 1216-1221.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 252 с.
5. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. - 1983. - № 3. - С. 33-35.
6. Джафаров А.И., Магометов Н.М., Бабаев Х.Ф., Ахметова Г.Ш. Перекисное окисление липидов в синапсомембранной и митохондриальной фракциях отдельных структур мозга при гипоксии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1989. - 94, № 3. - С. 305-307.
7. Коцюрба В.Н., Мойбенко А.А. Коррекция уровня пептидолейкотриенов - медиаторов ишемии и шока // Физиол. журн. - 1989. - 35, № 1. - С. 94-103.
8. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. - Минск.: Беларусь, 1982. - С. 290-291.
9. Костюк В.А., Потапович А.И., Лунец Е.Ф. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов // Вопр. мед. химии. - 1984. - № 4. - С. 125-127.
10. Луїк А.А., Липкан Г.Н. Фармакологические аспекты проблемы лейкотриенов // Фармакология и токсикология. - 1988. - 51, № 4. - С. 104-109.
11. Маньковска І.М., Середенко М.М., Нагнибіда Н.М. та ін. Особливості механізмів інтенсифікації перекисного окислення ліпідів у тканинах шурів при гіпоксії різного типу // Физиол. журн. - 1993. - 34, № 4. - С. 25-33.
12. Мойбенко А.А., Чаяло П.П., Бровкович В.М. и др. Влияние ингибирования липоксигеназы на развитие атеросклероза у кроликов // Доп. НАН України. - 1996. - № 1. - С. 97-101.
13. Савченкова Л.В., Дзубан Е.М., Лукьянчук В.Д. Возможные механизмы антиоксидантного действия блокаторов кальциевых каналов при гипоксическом синдроме // Эксперим. и клинич. фармакология. - 1996. - 59, № 2. - С. 53-55.
14. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Методы определения МДА с помощью тиобарбитуровой кислоты. - В кн.: Современные методы в биохимии. - М.: Медицина. - 1977. - С. 64-66.
15. Хачатурьян М.Л., Гукасов В.М., Комаров П.Г. и др. Показатели перекисного окисления липидов органов крыс с различной устойчивостью к гипоксии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1996. - 101, № 1. - С. 26-29.
16. Чернов Ю.Н., Батищева Г.А., Васин М.В. Физиологическая роль и фармакологическая коррекция эффектов простаноидов и лейкотриенов // Фармакология и токсикология. - 1990. - 53, № 6. - С. 64-71.
17. Basu D.K., Karmazyn M. Injury of rat hearts produced by an exogenous free radical generating system // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1987. - 242, № 2. - P. 673-685.
18. Beckman J.K., Gay J. C., Brash A.R., Lukens J. N., Gates J.A. Stimulation by lipoxygenase products of superoxide anion production in FMLP-treated neutrophils // Lipids. - 1985. - 20, № 5. - P. 318-321.
19. Byung P.Y. Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species // Physiol. Reviews. - 1994. - 74, № 1. - P. 139-162.
20. Cashman J.R. Leukotriene biosynthesis inhibitors // Pharmacol. Res. - 1985. - № 1. - P. 253-261.
21. Karmazyn M., Moffat M.P. Toxic properties of arachidonic acid on normal, ischemic and reperfused hearts. Indirect evidence for free radical involvement // Prostagl. Leukotr. Med. - 1985. - 17. - P. 251-264.
22. Oe H., Kuzuya T., Hoshida S. et al. Cell damage and Ca overload induced by arachidonate lipoxygenase reaction in single ventricular myocyte // J. Molec. Cell. Cardiol. - 1992. - 32, Suppl. I. - P. -206.
23. Roy P., Sajan M., Kulkarni A. Lipoxygenase - mediated glutathione oxidation and superoxide generation // J. Biochem. Toxicol. - 1995. - 10, № 2. - P. 111-120.

Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України,  
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України

Матеріал надійшов  
до редакції 04.08.97

## Вивчення механізмів лі

В опытах на собаках и действия липосом (Л) ра лецитиновые). Показано, связь изменений скорости кровообращения. Более т и белков из сосудистого При этом напряжение к на практически нормальн внутривенного, введения лимфатического протока 40 %), так и по продол с ограниченным и перекр (региональный) характер лагаемые механизмы так ствием последних на с сосудов, так и с возмо введения Л за счет огра ления в этой области. лярной форме не приво

## Вступ

Вивчення механізмів ут лімфообіг має велике те ваному регулюванні про ляється можливість усун в ній речовин і, як нас сичних метаболітів, нак витку багатьох патоло підшкірної ін'єкції сусп кардіогемодинаміки та т ми було показано, і елімінується переважно ліпосоми, які не істотис чинять виразну лімфост за основу для проведен ню механізмів лімфост було метою цієї роботи