

UDC: 616. 24-06: 616.248+616.33-002.44)-092: 612.015.11.-08

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.4681645>

PECULARITIES OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION PROCESSES DISTURBANCES IN THE LUNGS OF GUINEA PIGS UNDER THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL BRONCHIAL ASTHMA AND STOMACH ULCER FORMATION

Kolishetska M.A., Baida M.L., Sementsiv N.G., Sadlyak O.V., Kovalska M.E.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

ОСОБЛИВОСТІ ЗРУШЕНЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЛЕГЕНЯХ МОРСЬКИХ СВИНОК ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ ТА ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ ШЛУНКА

Колішецька М.А., Байда М.Л., Семенців Н.Г., Садляк О.В., Ковальська М.Є.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

ОСОБЕННОСТИ СДВИГОВ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЛЕГКИХ МОРСКИХ СВИНОК В УСЛОВИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ЖЕЛУДКА

Колишецкая М.А., Байда М.Л., Семенцев Н.Г., Садляк О.В., Ковальская М.Е.

Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого.

Summary/Резюме

Bronchial asthma (BA) and stomach ulcer are among the most common human diseases which remain important medical and social problems in the XXI century. There are combinations of pathologies that burden each other in the practical work of the doctor.

The aim of this study was to establish the peculiarities of changes in the processes of lipoperoxidation and antioxidant protection in the lungs with the development of experimental bronchial asthma (EBA) and experimental stomach ulcer (ESU).

Material and research methods. Experimental studies were performed on 55 guinea pigs (males) weighing 180 — 220 g, divided into 5 groups of 9 animals each, except the first (10 animals). Group I (control) included intact guinea pigs, II — animals with experimental asthma and ESU (5th day), III — guinea pigs on the 19th day of the combined model process, IV — animals with EBA and ESU (26th day), V — guinea-pigs on the 33rd day of EBA and ESU. For the purpose of detailed analysis and interpretation of indicators of prooxidant and antioxidant systems (AOS) in different days of experiment two periods of development of EBA and ESU were conditionally distin-

guished: early (5th and 19th days of experiment) and late (26th and 33rd days).

The experimental asthma model was reproduced in guinea pigs by the method of VI Babich, gastric ulcer was simulated according to the method of VI Komarov. Condition of free radical oxidation in the lungs was determined by the content of diene conjugates by the method of VG Gavrylov, MI Myshkorudna, and malonic dialdehyde by the method of EG Korobeynikov. The degree of antioxidant system activity was estimated by the content of enzymes — superoxide dismutase by the method of R. Fried, catalase by the method of R. Holmes, C. Masters, glutathione peroxidase — by the method of OG Arkhipova. Statistical processing of the obtained data was carried out according to the Student's method.

Conclusions. So, the research of the functional state of the prooxidant system in stomach and lungs of animals in different periods of combined experimental asthma and ulcer showed their gradual increasing with the greatest severity in the 33rd day. It might indicate the intensive accumulation of free radical oxidation products and initial compensatory growth of antioxidant system enzymes. In the later period of EBA and ESU modeling (26th, 33rd days) there is an elevation in the lipoperoxidation on the background of AOS depression, which can be seen as the result of depletion of compensatory reactions aimed at decontamination of LPO products. This leads to a violation of cellular homeostasis and the development of oxidative stress.

Key words: *bronchial asthma, stomach ulcer, lipid peroxidation, antioxidant system.*

Бронхіальна астма та виразкова хвороба — одні з найпоширеніших захворювань людини, які в XXI ст. залишаються важливими медико-соціальними проблемами. У практичній роботі лікаря дуже часто зустрічаються поєднання патологій, що взаємообтяжують одна одну.

Метою даного дослідження стало з'ясування особливостей змін процесів ліпопероксидації (ПОЛ) і антиоксидантного захисту в легенях за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми (ЕБА) та експериментальної виразкової хвороби шлунка (ЕВХШ).

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводились на 55 морських свинках (самцях) масою 180 — 220 г, поділених на 5 груп по 9 тварин у кожній, крім першої (10 тварин). До I групи (контроль) відносили інтактні морські свинки, до II- тварини з ЕБА та ЕВХШ (5-а доба), до III — морські свинки на 19-у добу поєданого модельного процесу, до IV — тварини з ЕБА та ЕВХШ (26-а доба), до V — мурчаки на 33-ю добу ЕБА та ЕВХШ. З метою детального аналізу та інтерпретації показників прооксидантної та антиоксидантної систем у різні доби експерименту виділяли умовно два періоди розвитку ЕБА та ЕВХШ: ранній (5-а та 19-а доби експерименту) і пізній (26-а та 33-я доби).

Експериментальна модель БА відтворювалась на морських свинках за методом В.І. Бабича (1979), виразкову хворобу шлунка моделювали за методом В. І. Комарова. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Стан вільнорадикального окиснення ліпідів у легенях визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) за методом В.Г. Гаврилова, М.І. Мишкорудної (1989), малонового діальдегіду (МДА) за методом Е.Н. Коробейникова (1989). Ступінь активності антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за вмістом ферментів — супероксиддисмутази (СОД) за методом Р.

Fried (1975), каталази (КТ) за методом R. Holmes, C. Masters (1970), глутатионпероксидази (ГПО) за методом Архиповой О.Г. (1988). Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. У експериментальних дослідженнях було встановлено, що поєднаний модельний процес у легенях супроводжувався змінами показників прооксидантної системи, а саме відмічався їх поступовий та вагомий підйом, особливо на 33-ю добу, зростання ДК на 115,7 % (pd"0,001) та МДА на 69,7 % (pd"0,05) проти контрольних величин. Пошкоджуючій дії вільних радикалів і пероксидних сполук запобігає система антиоксидантного захисту. Так, на 33-ю добу нашої коморбідної патології спостерігаємо зниження СОД, КТ та ГПО, відповідно, на 33,8 %, 43,4 % та 67,1 % (pd"0,05) відносно першої групи тварин.

Висновки. Оцінюючи результати досліджень, можна зробити висновок про те, що за умов розвитку цієї комбінованої експериментальної моделі відбувається порушення функціонального стану прооксидантної системи, яке проявляється інтенсивним нагромадженням продуктів вільнорадикального окиснення і початковим компенсаторним зростанням активності ферментів АОС. На пізніх стадіях моделювання ЕБА та ЕВХШ (26-а, 33-я доби) відбувається посилення ліпопероксидації на тлі депресії АОС, що можна розцінити як результат виснаження компенсаторних реакцій, спрямованих на дезактивацію продуктів ПОЛ. Це призводить до порушення клітинного гомеостазу і розвитку оксидантного стресу.

Ключові слова: бронхіальна астма, виразкова хвороба, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

Бронхиальная астма и язвенная болезнь — одни из самых распространенных заболеваний человека, которые в XXI в. остаются важными медико-социальными проблемами. В практической работе врача очень часто встречаются сочетания патологий, взаимно отягощающих друг друга.

Целью данного исследования стало выяснение особенностей изменений процессов липопероксидации (ПОЛ) и антиоксидантной защиты в легких в условиях развития экспериментальной бронхиальной астмы (ЭБА) и экспериментальной язвенной болезни желудка (ЭЯБЖ).

Материал и методы исследования. Экспериментальные исследования проводились на 55 морских свинках (самцах) массой 180 — 220 г, разделенных на 5 групп по 9 животных в каждой, кроме первой (10 животных). К I группе (контроль) относили интактные морские свинки, к II-животные с ЭБА и ЭЯБЖ (5-е сутки), в III — морские свинки на 19-е сутки нашего модельного процесса, в IV — животные с ЭБА и ЭЯБЖ (26-е сутки), в V — морских свинок на 33-е сутки ЭБА и ЭЯБЖ (до лечения). С целью детального анализа условно выделяли два периода развития ЭБА и ЭЯБЖ: ранний (5 и 19-е дни эксперимента) и поздний (26 и 33-е).

Экспериментальная модель БА воспроизводилась на морских свинках по методу В.И. Бабича (1979), язвенную болезнь желудка моделировали по методу В. И. Комарова. Состояние свободнорадикального окисления липидов в легких определяли по содержанию диеновых конъюгатов методом В.Г. Гаврилова, М.И. Мышкорудной (1989), и малонового диальдегида методом Е.Н.Коробейникова

(1989). Степень активности антиоксидантной системы (АОС) оценивали по содержанию ферментов супероксиддисмутазы (СОД) методом R. Fried (1975), каталазы (КТ) методом R. Holmes, C. Masters (1970) и глутатионпероксидазы (ГПО) методом Архиповой О.Г. (1988).

Результаты и их обсуждение. В экспериментальных исследованиях было установлено, что совмещенный модельный процесс в легких сопровождался изменениями показателей прооксидантной системы, а именно отмечался их постепенный и весомый подъем, особенно на 33-е сутки, рост ДК на 115,7 % ($p < 0,001$) и МДА на 69,7 % ($p < 0,05$) в сравнение группе контроля. Повреждающее действие свободных радикалов и пероксидных соединений предотвращает система антиоксидантной защиты. Так, на 33-е сутки нашей коморбидной патологии наблюдаем снижение СОД, КТ и ГПО, соответственно, на 33,8 %, 43,4 % и 67,1 % ($p < 0,05$) относительно первой группы животных.

Выводы. Оценивая результаты исследований, можно сделать вывод о том, что в условиях развития этой комбинированной экспериментальной модели происходит нарушение функционального состояния прооксидантной системы, которое проявляется интенсивным накоплением продуктов свободнорадикального окисления и начальным компенсаторным ростом активности ферментов АОС. На поздних стадиях моделирования ЭБА и ЭЯБЖ (26,33-е сутки) происходит усиление липопероксидации на фоне депрессии АОС, что можно расценить как результат истощения компенсаторных реакций, направленных на дезактивацию продуктов ПОЛ. Это приводит к нарушению клеточного гомеостаза и развития оксидантного стресса.

Ключевые слова: бронхиальная астма, язва желудка, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита.

Introduction

Bronchial asthma (BA) and stomach ulcer are among the most common human diseases which remain important medical and social problems in the XXI century. There are combinations of pathologies that burden each other in the practical work of the doctor [1]. In our experimental study we described diseases that are common in clinical medicine. Despite great achievements in the diagnosis and treatment of respiratory diseases, asthma continues to grow. About 300 million people on the planet suffer from asthma [2]. One of the most widespread diseases of the gastrointestinal tract is gastric ulcer [1]. Despite the huge number of publications, today there

is no single approach to the basic positions of the etiology, the pathogenesis, the treatment and the prevention of this disease.

Lipid peroxidation (LPO) is one of the most important oxidative process in the body. Any sufficiently powerful effect in the organism can initiate the processes of free radical oxidation (FRO) [3]. Toxic products of lipid peroxidation accumulate as a result of oxidative stress in the body, what is one of the causes of imbalance in the homeostasis regulation, which leads to serious metabolic disorders, changes in the immune status, the dysfunction of various body systems [4,6]. Thus, the relevance of studies of the LPO reaction is due to the important pathogenetic role of FRO as a powerful factor in membrane destruction, and hence most pathological processes [4, 5].

The aim of this study was to establish the peculiarities of changes in the

processes of lipoperoxidation and antioxidant protection in the lungs with the development of experimental bronchial asthma (EBA) and experimental stomach ulcer (ESU).

Material and research methods

Experimental studies were performed on 55 guinea pigs (males) weighing 180 — 220 g, divided into 5 groups of 9 animals each, except the first (10 animals). Group I (control) included intact guinea pigs, II — animals with experimental asthma and ESU (5th day), III — guinea pigs on the 19th day of the combined model process, IV — animals with EBA and ESU (26th day), V — guinea-pigs on the 33rd day of EBA and ESU. For the purpose of detailed analysis and interpretation of indicators of prooxidant and antioxidant systems (AOS) in different days of experiment two periods of development of EBA and ESU were conditionally distinguished: early (5th and 19th days of experiment) and late (26th and 33rd days).

The experimental asthma model was reproduced in guinea pigs by the method of V.I. Babich (1979), gastric ulcer was simulated according to the method of V.I. Komarov [7]. All experimental animals were kept in standard conditions vivarium of Danylo Halytsky Lviv National Medical University. Euthanasia of animals was performed by decapitation under ether anesthesia in compliance with the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (Strasbourg, 1986), Council Directive 2010/63 / EU, the Law of Ukraine 3447-IV "protection animals from the cruelty" the general ethics of animal experimentation adopted by the first national Congress on bioethics in Ukraine (2001).

Condition of free radical oxidation in the lungs was determined by the content of diene conjugates (DC) by the method of V.G. Gavrylov, M.I. Myshkorudna

(1989) [8], and malonic dialdehyde (MDA) by the method of E.G. Korobeynikov (1989) [9]. The degree of antioxidant system activity was estimated by the content of enzymes — superoxide dismutase (SOD) by the method of R. Fried (1975) [10], catalase (CT) by the method of R. Holmes, C. Masters (1970) [11], glutathione peroxidase (GPO) — by the method of OG Arkhipova (1988) [12]. Statistical processing of the obtained data was carried out according to the Student's method.

Research results and their discussion

Combined model process in the lungs was accompanied by changes in the indicators of the prooxidant system, namely, was a gradual and significant rise. In particular, the content of diene conjugates in the lungs on the 5th and 19th days increased by 26.3 % (pd"0.05) and 39.7 % (pd"0.05), respectively, compared with the control group. The growth of this marker is recorded in the late period: an increase in DC by 67.9 % (pd"0.05) and 115.7 % (pd"0.001), respectively, on the 26th day and 33rd day of the experiment in comparison with intact guinea-pigs, what indicate the stimulation of lipid peroxidation (fig. 1).

The results of studying of POL final products' content — malonic dialdehyde in the lungs made a possibility to identify unidirectional changes similar to the previous indicator. We observed an elevation in the content of MDA in the lungs from an early period of development and throughout the experiment, namely on the 5th, 19th, 26th and 33rd days, respectively, by 30.9 % (pd"0.05), 45.1 % (pd"0.05), 54.7 % (pd"0.05) and 69.7 % (pd"0.05) against control values. Thus, the study of primary and secondary products of lipoperoxidation (DC and MDA) showed their gradual growth, which reached a peak in the latest period (33rd day) of the development of EBA and ESU (fig. 1).

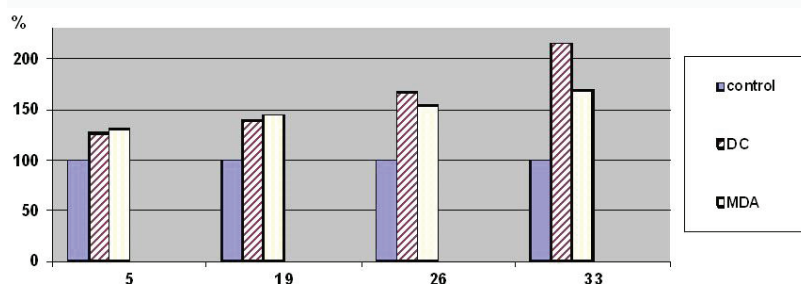


Fig. 1. The content of lipid peroxidation products in guinea pig lungs in the dynamics of EBA and ESU formation (% of control).

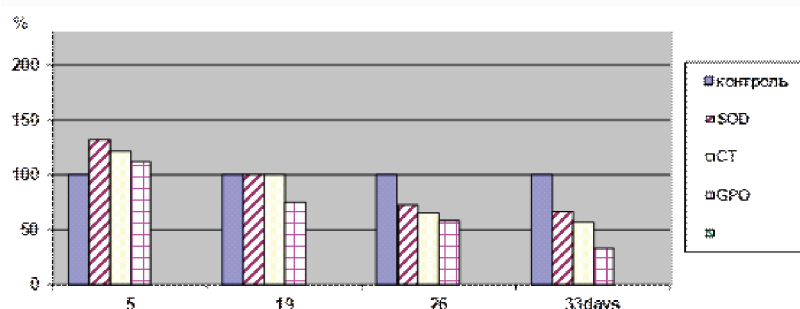


Fig. 2. Activity of antioxidant system enzymes in guinea pig lungs in the dynamics of EBA and ESU formation (% of control).

The damaging effect of free radicals and peroxide compounds is prevented by the antioxidant defense system. The study of the content of AOS enzymes in the lungs of guinea pigs showed an increase in SOD by 32.0 % (pd"0.05) on the 5th day, but on the 19th day of the combined model process, this indicator is at the level of control values (pd"0.05). The study of this enzyme in the later stages of the experiment showed a decline in the lungs by 28.0 % (pd"0.05) on the 26th day and by 33.8 % (pd"0.05) on the 33rd day of EBA and ESU in comparison with I group of animals (fig. 2).

A similar vector of shifts was established with respect to catalase activity in the lungs on the studied days of EBA and ESU. It increased by 20.5 % ($p < 0.05$) on the 5th day and decreased to an ascending level on the 19th day of the experiment compared with the group of intact guinea pigs (pd"0.05). The determination of catalase in the lungs in the late period of the combined model process

made it possible to detect a depression in its activity on the 26th by 35.1 % (pd"0.05) and on the 33rd day by 43.4 %, 05) against the control group, which characterizes the further suppression of the antioxidant system in the lungs (fig. 2).

Continuing the study of the next important enzyme AOS, glutathione peroxidase, we observe an elevation in its level by 11.8 % (pd"0.05) on the 5th day of this combined pathology and its reversible changes

on the 19th day — a significant decrease by 24.7 % (pd"0.05) compared with I group of animals. The obtained data give grounds to assert the inhibition of the enzymatic activity of antiradical protection in the lungs in the early period of combined pathology- EBA and ESU. Subsequently, we found out a significant regression of GPO in the late period (26th and 33rd days): a decrease of 42.5 % (pd"0.05) and 67.1 % (pd"0.05) relative to the first group, which indicated the inadequacy of the antiradical system to neutralize the excessive formation of lipoperoxidation metabolites (fig. 2).

Conclusions

So, the research of the functional state of the prooxidant system in stomach and lungs of animals in different periods of combined experimental asthma and ulcer showed their gradual increasing with the greatest severity in the 33rd day. It might indicate the intensive accumulation of free radical oxidation products and initial compensatory growth of antioxidant system enzymes. In the lat-

er period of EBA and ESU modeling (26th, 33rd days) there is an elevation in the lipoperoxidation on the background of AOS depression, which can be seen as the result of depletion of compensatory reactions aimed at decontamination of LPO products. This leads to a violation of cellular homeostasis and the development of oxidative stress.

References

1. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C.A et al. Management of Helicobacter pylori infection — the Maastricht V. Florence Consensus Report. Gut. 2017; 66 (1): 6–30.
2. Buhl R, Humbert M, Bjermer L, et al. Severe eosinophilic asthma: a roadmap to consensus. Eur. Respir J. 2017; (49): 97–102.
3. Pisoschi A. M., Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review // European journal of medicinal chemistry. — 2015. — T. 97. — p. 55–74.
4. Nimse S. B., Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms // Rsc Advances. — 2015. — T. 5. — No. 35. — p. 27986-28006.
5. Regeda-Furdychko M.M. Dynamics of changes in the processes of lipoperoxidation and antioxidant system in lungs in the pathogenesis of experimental contact dermatitis. Zdobutky clinichnoi and experimentalnoi medycyny. 2019. 4. 106 -110.
6. Yin G. et al. Lipid peroxidation-mediated inflammation promotes cell apoptosis through activation of NFκB pathway in rheumatoid arthritis synovial cells. Mediators of inflammation. 2015. T. 2015.
7. Hozhenko A.I., Kovalska L.A., Kucher O.V. Clinical and pathogenic grounds for complex therapy of ChOLD and concomitant gas-tro-pathology. Aktualni problemy transportnoi medytsyny 2013; 3 (33): 88-94.
8. Gavrillo V.B., Mishkorudnaya M.I. Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxides in blood plasma. Laboratornaya diagnostika ishemicheskoy bolezni serdtsa. Kiev, Zdorovye, 1989. 170-171.
9. Korobeynikova E.N. Modifikation of determination of LP products in reaction with thiobarbituric acid. Laboratornoe delo 1989; 7: 8-10.
10. Fried R. Enzymatic and nonenzymatic assay of superoxide ifilli. Biochemie 1975; 57 (5): 657-660.
11. Holmes R., Masters With. Epigenetic inter-conversions of the multiple forms of mouse liver catalase. FEBS Lett 1970; 11 (1): 45-48.
12. Arkhipova O.H. Opredelenie aktivnosti peroksidazy v krovi. Metody issledovaniya v profpatologii. Moscow, Meditsina, 1988. p. 153.

*Впервые поступила в редакцию 30.11.2020 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*