

Експериментальні дослідження

The Experimental Researches

УДК 616-092: 612.013.1: 612.015.11: 577.17.049]-076

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7617735>

**РОЛЬ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА
АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ТКАНИНАХ НАДНИРНИКІВ
В ПАТОГЕНЕЗІ РОЗВИТКУ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ**

Регада М.С., Олекшій П.В.

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
Львівський медичний інститут*

**РОЛЬ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И
АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ТКАНЯХ НАДПОЧЕЧНИКОВ
В ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО
СТРЕССА**

Регада М.С., Олекший П.В.

*Львовский национальный медицинский университет им. Даниила Галицкого
Львовский медицинский институт*

**THE ROLE OF LIPOPEROXIDATION PROCESSES AND
ANTIOXIDANT PROTECTION IN ADRENAL TISSUES IN THE
PATHOGENESIS OF THE IMMOBILIZATION STRESS
DEVELOPMENT**

Regeda M.S., Olekshij P.V.

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University
Lviv Medical institute*

Summary/Резюме

The aim of this research is to study the functional state of lipid peroxidation and the antioxidant system in the adrenal tissues of guinea pigs under the conditions of the immobilization stress (IS) formation.

Material and methods of research. Experimental studies were performed on 40 guinea pigs (males), guinea pigs were divided into four groups (10 in each): the first — intact animals — control; the second (experimental) group — animals with immobilization stress (3rd day), the third group included guinea pigs with IS on the 5th day of the model process, to IV — animals with IS 15th day.

Immobilization stress was reproduced by the method of PD Horizontov (1996). We selected fixed days (3rd, 5th and 15th) for studies that corresponded to the classic stages of acute inflammation.

Condition of free radical lipid oxidization in the adrenal tissues was determined on maintenance content of malonic dialdehyde (MDA) by method of Corobeynikov EG. (1989) and diene conjugates (DC) by method of Gavrylov VG, Myshkorudna MI (1989). The degree of activity of antioxidant defence was estimated on maintenance enzymes

— superoxidedismutase (SOD) by method of R. Fried (1975), catalase (CT) by the method of B. Holmes, C. Masters (1970), glutathionperoxidase (GPx) method of Arkhipova O. G. (1988).

Results and discussion. Summarizing the results of the study, it can be stated that all periods of the development of immobilization stress are characterized by the development of an imbalance of the proximate and antioxidant systems, which is manifested by excessive activation of free radical oxidation products (increased levels of DC and MDA) and multidirectional changes in the antioxidant protection system: first, there was a compensatory increase in the activity of SOD enzymes, CT, GPx, which affected the level of lipoperoxidation, and then decreased the activity of enzymes, which indicated a violation of cellular homeostasis and the development of oxidative stress, especially on the 15th day of the experiment.

Key words: stress, malonic dialdehyde, diene conjugate, superoxidedismutase, catalase, glutathionperoxidase.

Цель данного исследования - изучить функциональное состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в тканях надпочечников морских свинок при формировании иммобилизационного стресса (ИС).

Материалы и методы исследований. Экспериментальные исследования проводились на 40 морских свинках (самцах), которые содержались на стандартном рационе вивария Львовского национального медицинского университета им. Данила Галицкого. Морские свинки распределяли на четыре группы (по 10 в каждой): первая – интактные животные – контроль; вторая (родопытная) группа — животные с иммобилизационным стрессом (3-е сутки), к III группе относили морские свинки с ИС на 5-е сутки модельного процесса, к IV — животные с ИС (15-е сутки). Нами были выбраны фиксированные сутки (3, 5 и 15-е) для исследований, которые соответствовали классическим стадиям острого воспалительного процесса.

Иммобилизационный стресс воспроизводили по методу П.Д. Горизонтова (1996). Состояние свободнорадикального окисления липидов в тканях надпочечников определяли по содержанию диеновых конъюгатов (ДК) методом В.Г. Гаврилова, М.И. Мишкорудной (1989) и малонового диальдегида (МДА) по методу Е.Н. Коробейникова (1989). Степень активности антиоксидантной системы оценивали по содержанию ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) по методу R. Fried (1975), каталазы (КТ) по методу R. Holmes, C. Masters (1970), глутатионпероксидазы (ГПО) – по методу Архиповой О.Г. . (1988).

Результаты исследования и их обсуждение. Суммируя полученные результаты исследования, можно утверждать, что все периоды развития иммобилизационного стресса характеризуются развитием дисбаланса проксидантной и антиоксидантной систем, которое проявляется чрезмерной активацией продуктов свободнорадикального окисления (растет уровень ДК и МДА) и разнонаправленными изменениями системы антиоксидантной защиты: первоначально компенсаторный рост , КТ, ГПО, которое повлияло на уровень липопероксидации, а затем привело к снижению активности энзимов, что свидетельствовало о нарушении клеточного гомеостаза и развитии оксидативного стресса, особенно на 15-е сутки эксперимента.

Ключевые слова: стресс, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза.

Метою даного дослідження вивчити функціональний стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах наднирників морських свинок за умов формування іммобілізаційного стресу (ІС).

Матеріал та методи досліджень. Експериментальні дослідження проводились на 40 морських свинках (самцях), що утримувалися на стандартному раціоні виварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Морські свинки розподіляли на чотири групи (по 10 у кожній): перша — інтактні тварини — контроль; друга (дослідна) група — тварини з іммобілізаційним стресом (3-я доба), до III групи відносили морські свинки з ІС на 5-у добу модельного процесу, до IV — тварини з ІС (15-а доба). Нами були вибрані фіксовані доби (3-я, 5-а та 15-а) для досліджень, які відповідали класичним стадіям гострого запального процесу.

Іммобілізаційний стрес відтворювали за методом П.Д. Горизонтова (1996). Стан вільнорадикального окиснення ліпідів у тканинах наднирників визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) за методом В.Г. Гаврилова, М.І. Мишкорудної (1989), і малонового діальдегіду (МДА) за методом Е.Н. Коробейникова (1989). Ступінь активності антиоксидантної системи оцінювали за вмістом ферментів — супероксиддисмутази (СОД) за методом R. Fried (1975), каталази (КТ) за методом R. Holmes, C. Masters (1970), глутатіонпероксидази (ГПО) І за методом Архиповой О.Г. (1988).

Результати дослідження та їх обговорення. Підсумовуючи отримані результати дослідження, можна стверджувати, що усі періоди розвитку іммобілізаційного стресу характеризуються розвитком дисбалансу прооксидантної і антиоксидантної систем, яке проявляється надмірною активацією продуктів вільнорадикального окиснення (зростає рівень ДК і МДА) та різноспрямованими змінами системи антиоксидантного захисту: спочатку відбулося компенсаторне зростання активності ферментів СОД, КТ, ГПО, яке вплинуло на рівень ліпопероксидації, а потім зниження активності ензимів, що свідчило про порушення клітинного гомеостазу та розвиток оксидативного стресу, особливо на 15-у добу експерименту.

Ключові слова: стрес, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза.

Вступ

Стрес — це складна стереотипна відповідь на дію патогенних чинників, яка, поряд зі специфічними, характеризується неспецифічними реакціями організму [4]. Основою стресу є активація стресореалізуючих систем організму: адренергічної і гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової [7]. Ступінь стресорного ушкодження тканин залежить від особливостей нейрогуморальних механізмів регуляції метаболізму тканин [9,10].

Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) є однією з форм тканинного дихання і повсякчас відбувається у клітинних мембранах усіх тканин організму. Надмірна активація ПОЛ змінює структуру і функцію біомембран, зумовлює порушення метаболізму і перетворюється на чинник патогенезу різноманітних захворювань [1,10]. Вираженість стресорної реакції та її наслідки визначають такі фактори як характер стресора і тривалість його дії, психологічні, особистісні, генетичні особливості людини

та мікросоціальне середовище. Патогенним наслідком стресу протидіє багатокomпонентна антиоксидантна система (АОС), обмежуючи ушкодження тканин, що складає основу адаптивних реакцій організму [10,11]. Таким чином, широка планова проблема емоційного стресу потребує подальших досліджень ролі імунологічних, генетичних і соціальних факторів для глибокого розуміння природи емоційного стресу, його ролі в етіології та патогенезі інших захворювань і обґрунтування ефективних лікувально-профілактичних заходів їх корекції [4,5].

Наднирникова залоза відіграє важливу роль в регуляції обміну речовин і адаптації організму до несприятливих, а саме стресових умов. Важливу роль в адаптаційних реакціях організму до стресових впливів різного роду обумовлена тим, що вона є органом -мішенню для "адаптаційних" гормонів [4]. На цей орган припадає велика частина клірингових процесів, отже наднирники також впливають на імунну систему [11]. Тому наднирники є оптимальним органом для вивчення різних ефектів, що реалізуються в зв'язку зі станом стресу і запальними процесами за типом гіперчутливості [14].

Мета дослідження — вивчити функціональний стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в тканинах наднирників морських свинок за умов формування іммобілізаційного стресу (ІС).

Матеріал та методи досліджень

Експериментальні дослідження проводились на 40 морських свинках (самцях), що утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Морські свинки розподілялися на чотири групи (по 10 у кожній): перша — інтактні тварини — контроль; друга (дослідна) група — тва-

рини з іммобілізаційним стресом (3-я доба), до III групи відносили морські свинки з ІС на 5-у добу модельного процесу, до IV — тварини з ІС (15-а доба експерименту).

Іммобілізаційний стрес відтворювали за методом П.Д. Горизонтова (1996) [3]. Нами були вибрані фіксовані доби (3-я, 5-а та 15-а) для досліджень, які відповідали класичним стадіям гострого запального процесу. Усіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Стан вільнорадикального окиснення ліпідів у тканинах наднирників визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) за методом В.Г. Гаврилова, М.І. Мишкорудної (1989) [2], і малонового діальдегіду (МДА) за методом Е.Н. Коробейникова (1989) [6]. Ступінь активності антиоксидантної системи в тканинах наднирників оцінювали за вмістом ферментів — супероксиддисмутази (СОД) за методом R. Fried (1975) [12], каталази (КТ) за методом R. Holmes, C. Masters (1970) [13], глутатіонпероксидази (ГПО) за методом Архиповой О.Г. (1988) [8]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Проведений комплекс біохімічних досліджень показників вільнорадикального окиснення і антиоксидантного захисту показав виражені зміни впродовж формування іммобілізаційного стресу, яке проявлялось послідовним нагромадженням продуктів ліпопероксидації в тканинах наднирників в усі періоди (3-я, 5-а та 15-а доби) експерименту. Виз-

начення вмісту ДК дало можливість встановити їх суттєве зростання на 63,5 % ($p < 0,05$) на 3-ю добу в порівнянні з контрольними величинами. У подальшому досліджуваний показник також збільшувався, але не так значуще: на 36,4 % ($p < 0,05$) на 5-у добу експерименту і на 52,7 % ($p < 0,05$) на 15-у добу в порівнянні з інтактними тваринами, що свідчить про надмірне утворення продуктів вільнорадикального окиснення (рис. 1).

Аналогічну тенденцію змін спостерігаємо і при визначенні наступного показника прооксидантної системи. Так, істотне збільшення МДА зафіксовано на 3-ю добу експерименту, а саме виявлено підвищення його вмісту на 65,2 % ($p < 0,05$) проти групи контролю. Пізніше, на 5-у та 15-у доби ІС спостерігалось також зростання рівня МДА в тканинах наднирників на 44,9 % ($p < 0,05$) і 38,9 % ($p < 0,05$) проти І групи мурчаків, що свідчить про стимуляцію перекисного окиснення ліпідів (рис. 1).

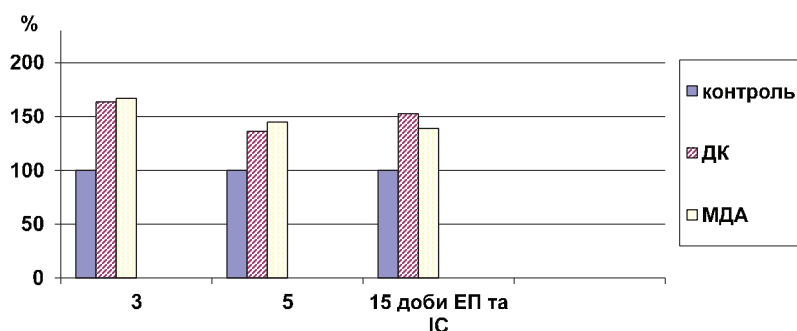


Рис. 1. Вміст продуктів ПОЛ у тканинах наднирників морських свинок в динаміці формування іммобілізаційного стресу (% від контролю).

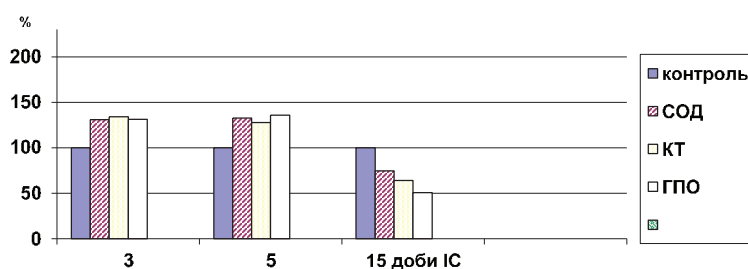


Рис. 2. Активність ферментів АОС у тканинах наднирників морських свинок в динаміці формування ІС (% від контролю).

Щодо активності ферментів антиоксидантної системи в тканинах наднирників тварин за умов формування іммобілізаційного стресу виявлено їх неоднаправлені зміни протягом усіх періодів розвитку експерименту. При визначенні активності СОД в тканинах наднирників відмічаємо поступове підвищення її на 30,9 % ($p < 0,05$) на 3-ю і на 32,5 % ($p < 0,05$) на 5-у доби ІС в порівнянні з першою групою морських свинок (рис. 2). Пізніше, на 15-у добу експерименту, виявлено достовірне її зниження відповідно на 25,2 % ($p < 0,05$) проти показників інтактної групи, що вказує спочатку на стимуляцію, а згодом на супресію досліджуваного ензиму.

Аналогічний напрям змін встановлено під час дослідження активності каталази в тканинах наднирників. Так, на 3-ю і 5-у доби ІС виявлено підвищення її активності відповідно на 33,9 % ($p < 0,05$) та на 27,8 % ($p < 0,05$), а вже в пізній період цієї експериментальної моделі хвороби спостерігається зниження активності КТ на 35,9 % ($p < 0,05$) на 15-у добу при порівнянні з контролем, що дає підставу стверджувати про пригнічення антиоксидантного захисту (рис. 2).

Важливим маркером, який доповнює характеристику попередніх, є глутатіонпероксидаза. З початку формування ІС супроводжувався зростанням активності ГПО в тканинах наднирників на 31,3 % ($p < 0,05$) та 35,8 % ($p < 0,05$) проти інтактної групи відповідно на 3-ю і на 5-у доби експерименту.

Протилежні зміни досліджуваного показника в тканинах наднирників морських свинок фіксуємо на 15-у добу іммобілізаційного стресу. Активність ГПО знижується на 49,2 % ($p < 0,05$) на 15-у добу порівняно з I групою тварин (рис. 2).

Висновки

Підсумовуючи отримані результати дослідження, можна стверджувати, що усі періоди розвитку іммобілізаційного стресу характеризуються розвитком дисбалансу прооксидантної і антиоксидантної систем, яке проявляється надмірною активацією продуктів вільнорадикального окиснення (зростає рівень ДК і МДА) та різноспрямованими змінами системи антиоксидантного захисту: спочатку відбулося компенсаторне зростання активності ферментів СОД, КТ, ГПО, яке вплинуло на рівень ліпопероксидації, а потім зниження активності ензимів, що свідчило про порушення клітинного гомеостазу та розвиток оксидативного стресу, особливо на 15-у добу експерименту.

Література

1. Беденюк О.С. Роль оксидативного і нітро-оксидативного стресу в патогенезі генералізованого пародонти ту на фоні хронічного гастриту/ О. С. Беденюк, М. М. Корда// Медична та клінічна хімія. 2016. Т. 18. № 4 ст 11- 15 DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7248
2. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. — К.: Здоровье, 1989. — С. 170–171.
3. Горизонтов П.Д. Стресс и система крови/ П.Д.Горизонтов, О.И.Белоусов, М.И.Федотов/, М.: Медицина, 1983.-с.338
4. Кононова О. В. Ефективність лікування загостреного перебігу генералізованого пародонтиту у хворих з проявами психо-емоційного стресу / О. В. Кононова // Сучасна стоматологія. — 2020. — № 2. — С. 24-28.
5. Кононова О.В. Патогістологічне дослідження впливу комплексу адреноблока-торів на регенерацію кістки щелепи. Сове-ременная стоматология. 2018; 3: 36-38.
6. Коробейникова Э. Н. Модификация опре-деления продуктов ПОЛ в реакции с тио-барбитуровой кислотой / Э. Н. Коробей-никова // Лабораторное дело. — 1989. — № 7. — С. 8–10.
7. Лис О.Б. Вплив препарату L-аргініну на зміни процесів пер оксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в крові за умов комор бідної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового ушкодження міокарда / О. Б. Лис, М. С. Регеда// Медична та клінічна хімія. 2018. Т. 20. № 3. С. 119-124.
8. Определение активности пероксидазы в крови // Методы исследования в проф-патологии / под ред. О. Г. Архиповой. — М.: Медицина, 1988. — С. 153.
9. Регеда М.С., Значення окремих показників прооксидантної системи в надниркових залозах тварин на етапах розвитку експе-риментального алергічного альвеоліту в умовах стресу та їх корекція. / М.С.Реге-да, М.Є.Ковальська// Здобутки клінічної і експериментальної медицини.-2018. -№ 2.- С. 86-89
10. Тарасенко Л.М. Механізми стресорних ушкоджень тканин порожнини рота / Л.М. Тарасенко, М.В. Білець//Український сто-матологічний альманах. 2016. № 1 (Том 2) 23 ст.23-26
11. Balci N, Kurgan E, Zekici A, Zakar T, Serdar MA Free amino acid composition of saliva in patients with healthy periodontium and periodontitis. Clin Oral Investig. 2021 Jun; 25 (6): 4175-4183. doi: 10.1007/s00784-021-03977-7
12. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilii / R. Fried // Biochemie. — 1975. — Vol. 57, № 5. — P. 657–660.
13. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes // FEBS Lett. — 1970. — Vol. 11, № 1. — P. 45–48.
14. Newman M., Takei H., Klokkevold P., Carranza F. Newman and Carranza's Clinical Periodontology, 13th Edition. — St. Louis: Saunders, 2018. — 944 p.

References

1. Bedeniuk OS, Korda MM (2016) The role of oxidative and nitro-oxidative stress in the pathogenesis of generalized periodontitis on the background of chronic gastritis.

- Medychna ta klinichna khimiya. Vol. 18. No. 4 art. 11-15 DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7248
2. Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I. (1989) Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxides in blood plasma. Laboratornaya diagnostika ishemicheskoy bolezni serdtsa Kiev, Zdorovye, p. 170-171.
 3. Gorizontov PD, Belousov OI, Fedotov MI (1983). Stress i systema krovi. M.: Medicine, p.338.
 4. Kononova OV (2020) Efektyvnist likuvannja zagostrenogo perebigu generalizovanogo parodontytu v chvorych z projavamy psychoemocijnogo stresu. Suchasna stomatologia № 2. P. 24-28. (in Ukrainian).
 5. Kononova, O. V. (2018). Eksperymentalne obhruntuvannia zastosuvannia adrenoblokatoriv. Sovremennaia stomatohyia, 2: 86-89 (in Ukrainian).
 6. Korobeynikova E.N. (1989) Modifikation of determination of LP products in reaction with thiobarbituric acid. Laboratornoe delo; 7: 8-10.
 7. Arkhipova O.H. (1988) Opredelenie aktivnosti peroksidazy v krovi. Metody issledovaniya v profpatologii. Moscow, Meditsina. p. 153.
 8. Lys O.B., Regeda MS (2018) Vplyv preparatu L-arhininu na zminy protsesiv per oksydnogo okysnennya lipidiv ta antyoksydantnoyi systemy v krovi za umov komor bidnoyi patolohiyi — immobilizatsiynoho stresu ta adrenalinovoho ushkodzhennya miokarda. Medychna ta klinichna khimiya T. 20. No3 P.119-124
 9. Reheda MS, Kovalska ME (2018) Znachennya okremykh pokaznykiv prooksydantnoyi systemy v nadnyrkovykh zalozakh tvaryn na etapakh rozvytku eksperymentalnoho alerhichnoho alveolitu v umovakh stresu ta yikh korektsiya. Zdobutky klinichnoyi i eksperymentalnoyi medytsyny. № 2. P. 86-89 (in Ukrainian).
 10. Tarasenko LM, Belets MV (2016) Mechanisms of stressor damage to tissues of the oral cavity. Ukrayins'kyi stomatolohichnyi al'manakh. № 1 (Vol. 2) 23, p. 23-26
 11. Balci N, Kurgan IO, Zekici A, Zakar T, Serdar MA (2021) Free amino acid composition of saliva in patients with healthy periodontium and periodontitis. Clin Oral Investig. Jun; 25 (6): 4175-4183. doi: 10.1007/s00784-021-03977-7
 12. Fried R. (1975) Enzymatic and nonenzymatic assay of superoxide ifilli. Biochemie; 57 (5): 657-660 (in English).
 13. Holmes R., Masters With. (1970) Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase. FEBS Lett 1970; 11 (1): 45-48. (in English).
 14. Newman, M., Takei, H., Klokkevold, P., & Carranza, F. (2018). Newman and Carranza's Clinical Periodontology, 13th Edition. St. Louis: Saunders, 944 (in English).

*Вперше надійшла до редакції 24.12.2022 р.
Рекомендована до друку на засіданні
редакційної колегії після рецензування*