

УДК 619.2

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ УЛЬТРАЗВУКУ ТЕРАПЕВТИЧНИХ ІНТЕНСИВНОСТЕЙ НА ВМІСТ МАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ ТА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ПЛАЗМІ ТА ЕРИТРОЦИТАХ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЗАПАЛЕННІ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

Літюга В.В., Андрейченко К.С.

ННЦ Інститут біології Київського національного університету ім. Тараса Шевченка, Київ

Проведено дослідження вмісту маркерних показників запалення та оксигенового стресу на моделі експериментального запалення верхніх дихальних шляхів щурів за дії терапевтичного ультразвуку (УЗ). Було виявлено ознаки вірогідного впливу терапевтичного УЗ на якість запального процесу. Розглянуто біологічні ефекти терапевтичного УЗ, які реалізуються на різних рівнях системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Представлено відомості про основні складові антиоксидантної системи (АОС), розглянуто біохімічні ефекти маркерів запалення та оксидантної системи (ОС), розкрито механізми антиоксидантного захисту (АОЗ) при запаленні. Розкрито механізми вільно радикального пошкодження клітин в умовах неконтрольованого ПОЛ.

Ключові слова: низькоінтенсивний ультразвук, запалення, антиоксидантна система (АОС), антиоксидантний захист (АОЗ), маркери запалення, супероксиддисмутаза (СОД), глутатіон, вільні радикали, перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), антиперекисні ферменти, глутатіонпероксидаза (GSH), глутатіонредуктаза (GSSG), каталаза, тиолдисульфідне відношення –ТДВ (GSH/GSSG).

Вступ

Критичні стани різної етіології супроводжуються активацією вільнорадикальних процесів в тканинах та органах. Реакційна агресивність основних активних форм кисню (АФК) за фізіологічних умов стримується потужною антиоксидантною системою (АОС). При патологічному вільнорадикальному обміні цей баланс порушується в напрямку неконтрольованої генерації різних форм АФК. Індуковані процеси вільно радикального перекисного окиснення здатні викликати необоротні ушкодження мембранних ліпідів, молекул ДНК, вуглеводів та білків. Розвитку оксигенового стресу перешкоджає складний багатокомпонентний механізм антиоксидантного захисту (АОЗ), який здатен елімінувати вільні радикали до рівня нетоксичних продуктів, перервати ланцюгові реакції ПОЛ [1] інактивувати перекисні сполуки.

Клітинні стратегії антиоксидантного

захисту реалізуються за участю :

1. акцепторів радикалів (вітамінів А, С, Е, К, біофлавоноїдів, теолів - глутатіону, ерготоніну);
2. біологічно активних речовин – БАР-антиперекисних ферментів (СОД, GSH, GSSG, каталази).

Антиперекисні ферменти в сукупності із показником тиолдисульфідного відношення –ТДВ в субстраті (Вгупе, 1995) слугують маркерними показниками запалення та оксигенового стресу. За вмістом маркерних показників та ТДВ оцінюють стан ПОЛ, стан АОЗ, ступінь вираженості і стадію запального процесу, якість стадії завершення запалення [1, 2, 5, 6].

Експериментально доведені факти модулюючого впливу терапевтичного ультразвуку [11] на перебіг процесів запалення потребують :

- вивчення механізмів терапевтичних ефектів УЗ;

- з'ясування найбільш ефективних режимів озвучення при запаленні.

Дані напрямки можливо дослідити оцінюючи вміст маркерів запалення та оксигенного стресу на моделі експериментального запалення в нормі, патології, після озвучення ультразвуком.

Матеріали та методи дослідження

Складові біологічних ефектів терапевтичного ультразвуку

УЗ-біологічні ефекти є залежними від параметрів УЗ-поля, властивостей середовища, фізіологічного та біохімічного стану самої біосистеми. В процесі вивчення механізмів біологічної дії УЗ (у відповідності до рівня структурної організації біосистеми) сформувався два взаємодоповнюючі методичні підходи - перший досліджує масив реакцій біосистеми на цілісному рівні, другий - оцінює реакційний профіль на рівні структурних елементів системи. Така комбінована дослідницька стратегія спрямована на виявлення певних морфофункціональних якостей структурних елементів біосистеми або середовища-посередника, котрі створюють умови для превалювання одного, або декількох факторів із переліку складових фізико-хімічних та біологічних ефектів ультразвуку [14].

Вплив низькоінтенсивного терапевтичного УЗ (з діапазоном значень від 0,1 до 2,0 Вт/см²) пов'язують із нетермальними акустичними ефектами (кавітація, акустичні мікропотоки, мікромасаж). Доведено, що вказані ефекти стимулюють та прискорюють регенерацію, сприяють вивільненню прооксидантних ферментів, зменшують проліферацію. Натомість, реакції патологічно змінених клітин та біологічних систем у відповідь на озвучення залежать від біологічних властивостей, локалізацій, функціонального стану структурних елементів.

Складові моделюючого впливу терапевтичного уз на вміст маркерів запалення та оксигенного стресу

Поєднання та інтерференція термальних (кавітаційного або термального

походження) та нетермальних ефектів дії УЗ на біологічні об'єкти ускладнює їхню диференціацію. Інтерференція нетермальних ефектів проявляється через комбінований вплив на швидкість процесів синтезу протеїнів, синтез фібробластів, прискорення регенерації клітин. В такий спосіб - через стимуляцію, або з метою прискорення біохімічних подій - реалізується неінвазивний моделюючий ефект низькоінтенсивного ультразвуку (відсутність виражених проявів термічних ефектів та ушкоджень при інтенсивностях до 0,3 Вт/см² — підтверджена). Слід зазначити, що за відсутності кавітації терапевтичний УЗ практично не змінює активність ферментів, але низькоінтенсивний УЗ (0,2 Вт/см²; 0,88 МГц) помітно прискорює ферментативні реакції за рахунок збурення мікротечій які змішують шари рідини біля поверхні носія, та полегшують дифузію субстрату [14, 15]. Доведена здатність низькочастотного УЗ частково деполаризувати молекулу колагену призводить до дестабілізації зв'язку між колагеном та оточуючим матриксом. Ймовірно-такі структурні зміщення здатні полегшувати діapedез-це, прогнозовано, підвищує варіативність хемокінезу [16]. В збуреному акустичними потоками середовищі макромолекули та фрагменти ферментів «змиваються» з клітинної поверхні. Такий комплексний вплив здатен викликати блокування деякої кількості факторів хемотаксису та ферментної адгезії (комплементу - C5, фрагментів комплементу - C3a, C5a, трьохкомпонентного C567, c36-для клітин-мішеней) [16]. Зниження поверхневого натягу призведе до електростатичної нестійкості мембран лейкоцитів. При означених умовах задля забезпечення процесів хемотаксису, хемокінезу, фагоцитозу, секреції ферментів, продукції АФК нейтрофіли потребують додаткового часу на зміну періодів руху та амплітуди поворотів [14, 15, 17]. Внаслідок означених змін для певної кількості фагоцитуючих клітин стан респіраторного «вибуху» — відтермінується, знижується кількість накопиченого надлишку продуктів ПОЛ, не висна-

жується система глутатіонового захисту і, найголовніше, зменшується час досягнення бажаної рівноваги між процесами утворення та нейтралізації продуктів ПОЛ. Можливо припустити що УЗ вплив на початку ексудативної стадії запалення (найбільш продуктивної для утворення АФК) здатен ініціювати додаткові ланцюги вільнорадикального окиснення у запальному вогнищі, котрі, відпові-

дно до ступеня виснаженості АОС, призводять або до клітинного апоптозу (коли клітинний вміст деградує до нетоксичних продуктів), або до некрозу клітини через пошкодження клітинної мембрани.

Продукти вільнорадикального окиснення та їхнє значення для процесів клітинного метаболізму

Виникнення та накопичення окисних ушкоджень, котрі супроводжують ряд патологічних станів – запалення, реперфузійне ушкодження тканин, захворювання верхніх дихальних шляхів, тощо, є наслідком розладу в системі безперервної генерації прооксидантів, яке врівноважується їхньою дезактивацією антиоксидантами. Таким чином, для підтримання гомеостазу необхідна безперервна генерація антиоксидантної здатності. Супероксидний радикал є проміжним продуктом багатьох біохімічних реакцій і за умов активації фагоцитів у вогнищі запалення генерація супероксидного аніон-радикалу ініціює каскад реакцій, що спричиняють утворення інших форм АФК [3, 4].

Основні різновиди активних форм кисню (АФК) являють собою побічний продукт нормального клітинного метаболізму, який утворюється внаслідок невеликого витоку електронів інших реакцій в цитоплазмі. Їхня реакційна агресивність стримується потужною антиоксидантною системою. За патологічних умов баланс по-

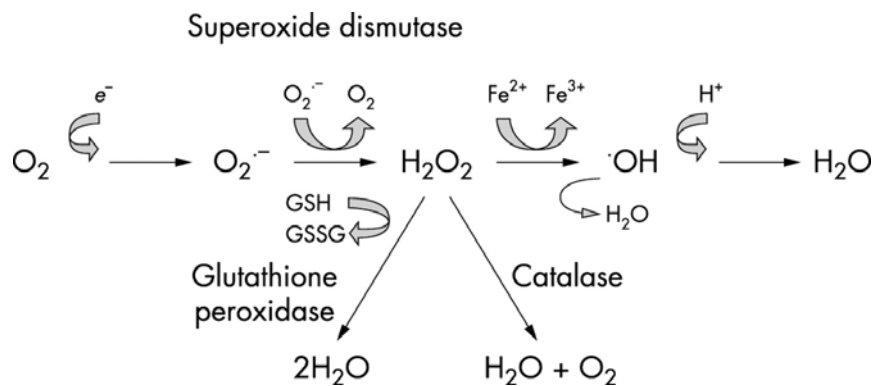


Схема 1. Генерація активних форм кисню. Молекулярний кисень (O_2) реагує з електроном (e^-); супероксид-аніон (O_2^-) перетворюється на перекис водню (H_2O_2) за допомогою ферменту супероксиддисмутази. Відбувається спонтанний перехід до більш високореакційноздатної форми гідроксильних радикалів (OH^\cdot). (By Professor G.F.Watts, School of Medicine and Pharmacology, University of Western Australia, Royal Perth Hospital Unit, Perth, Australia, 2002).

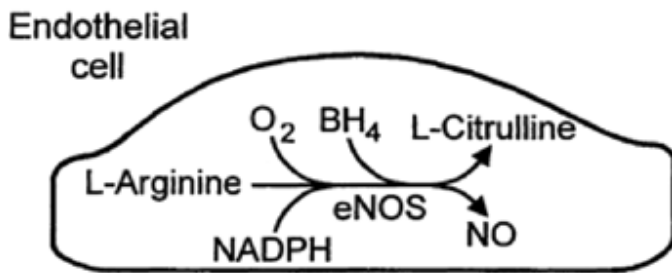
рушується в напрямі неконтрольованого генерування АФК, що призводить до формування окисного стресу, визначає ступінь ушкодження клітин, впливає на проліферацію та інтенсивність репаративних процесів при запаленні. Індуковані процеси вільно-радикального перекисного окиснення зумовлюють взаємодію радикалів із молекулами полінасичених кислот, що входять до складу ліпідів, та модифікують амінокислотні залишки [4].

Складові антиоксидантної системи та механізми антиоксидантного захисту

Розвиткові окисного стресу перешкоджає комплексний багатокомпонентний механізм антиоксидантної системи (АОС). Основні складові ферментативної АОС – супероксиддисмутаза (SOD), глутатіонпероксидаза (GPO), глутатіон-S-трансфераза (GST), глутатіонредуктаза (GR), глутатіонзалежні ферменти – перетворюють радикали в низькорекційноздатні продукти, переривають ланцюгові реакції перекисного окиснення ліпідів, інактивують перекисні сполуки. Виснаження та розлад АОС призводить до інтенсифікації процесів вільно радикального окиснення та розвитку окисного стресу.

Слід зазначити, що регулюючі функції активного кисню здатні трансформуватись в їхній ушкоджуючий вплив. Умовний поділ радикалів на групи корелює із трьома фазами процесу ПОЛ: первинні

a) "COUPLED" eNOS



b) "UNCOUPLED" eNOS

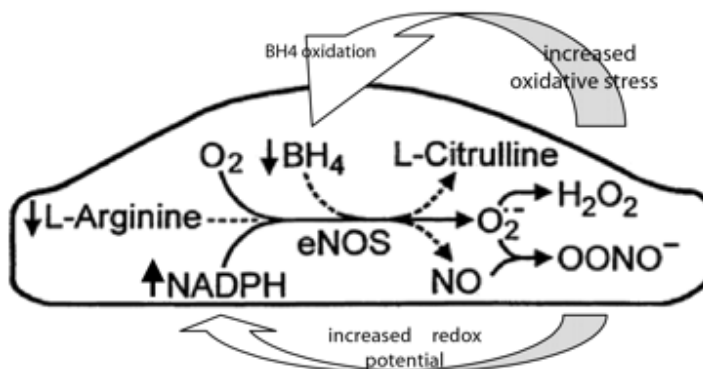


Схема 2. Дослідження складових потенціалу антиоксидантного захисту ендотеліальних клітин, які формуються в умовах атерогенних або запальних процесів.

А) досліджується роль ендотеліального оксиду азоту механізмах контролю вмісту АФК, судинної дисфункції при реперфузії, гіпертонії, цукровому діабеті ІЗС.

Б) представлені реакційні форми кисню, які названо проміжними — супероксид-аніон, гідроксильні радикали, перекис водню; їхнє продукування вже не контролюється ендотелій-залежним оксидом азоту, який знаходиться в біологічно знеціненому стані.

*EDNO — ендотелій-залежний оксид азоту

*eNOS — ендотеліальна синтаза оксиду азоту

(Д-р Джозеф Лоскальзо, Школа медицини Університету Бостона, Массачусетс, США, 2003).

радикали — супероксидний аніон-радикал, оксид нітрогену — утворюються в лаг-фазі (тривалість 0,5-2 год) в процесі захвату радикалів антиоксидантами; вторинні радикали — пероксинітрит, гідроксильний радикал, синглетний кисень, пероксид гідрогену, пероксинітрит — утворені в фазі розповсюдження (тривалість 1-2 год) в результаті процесів ПОЛ; третинні радикали - утворюються при сполученні вторинних радикалів із молекулами антиоксиданті в фазі розпаду (тривалість до 15 год).

Категорії вторинних радикалів властива здатність потужної токсичної дії через необоротне пошкодження мембранних ліпідів, молекул ДНК, вуглеводів та білків. Спрощений механізм антиоксидантного

захисту клітинних біомолекул полягає в здатності вітамінів С, Е, А, К вловлювати та утримувати гідроксильні радикали. В комплексних механізмах захисту беруть участь ферменти супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіопероксидаза, глутатіонтрансфераза, які знижують рівень АФК, а також гемоксинази, відомі як білки теплового шоку. Визначити ступінь продукування АФК прямими методами в клінічних умовах досить складно. Це зумовлено малою тривалістю життя основних форм АФК та їхньою високою реакційною здатністю.

Для оцінки стану АОС визначають загальну антиоксидантну активність, що дозволяє здійснювати моніторинг перебігу запального процесу та оцінювати ефективність терапевтичних методів. До ен-

зиматичних (внутріклітинних) антиоксидантів належать супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза, які містяться у клітинних структурах. Супероксиддисмутаза (SOD) – фермент, включений в метаболізм кисню в клітинах, має декілька ізоферментних форм, які різняться будовою активного центру. SOD прискорює реакції дисмутацій кисню, перериваючи ланцюг вільнорадикальних перетворень.

Схема ілюструє процеси електронного транспортування за допомогою мітохондріальних комплексів дихального ланцюга та коензимів (G10).

А) електронний транспорт пов'язують є залежним від градієнту концентрації протону (H⁺), через спряжені процеси про-

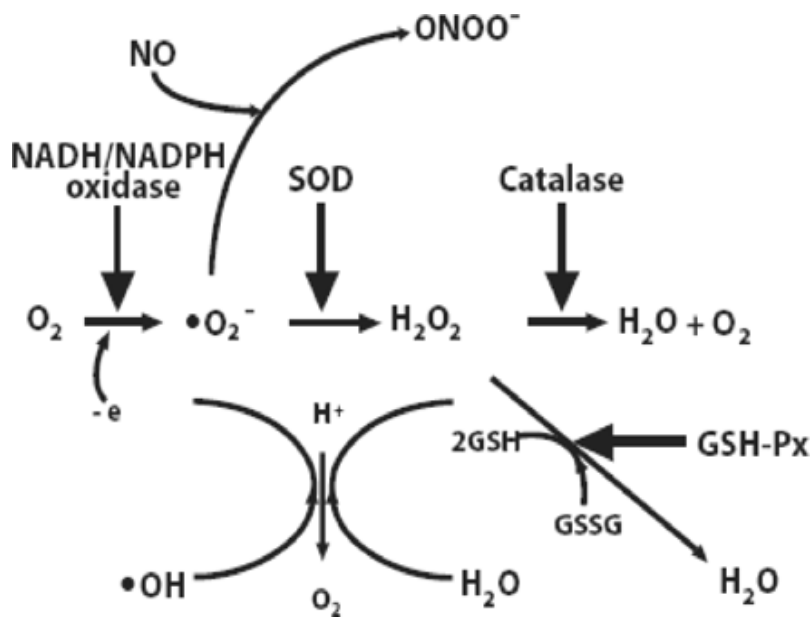


Схема 3.1. Метаболічні перетворення активних форм кисню (АФК) в судинній стінці. Оксидази (NADH / NADPH-оксидази) призводять до окисного стресу через продукування супероксиду, котрий перетворює окис азоту (NO) на пероксинітрит. Супероксиддисмутаза (СОД) спричиняє виразний антиоксидантний вплив шляхом перетворень: O_2 –на перекис водню (H_2O_2), з подальшою елімінацією на воду (H_2O), каталазу та глутатионпероксидазу (GSH-Px).
From Miller K.J. Methabolic Pathways of Biochemistry, George Washington University, 1998.

дукування АТФ. Коензим G10 є ко-факторним ферментом, який сприяє полегшенню транспорту електронів від комплексів I, II до складного- III.

В) В умовах запалення судиної стінки мембрани ендотеліальних клітин (при цукровому діабеті) високореактивні радикали пошкоджують їх першими внаслідок спричиненої гіперглікемією інтенсифікації процесів транспорту донорів електронів (NADF); після генерації підвищеного мембранного потенціалу мітохондріальних клітин відбувається блокування електронного транспорту в комплексі III. Розірваність процесів електронного транспорту та процесів фосфорелювання внаслідок дисбалансу "оксид азоту - вільні радикали". Схема відтворює механізм взаємодії клітинних ферментів, перекису водню, тромбоцитарного фактору росту, супероксиданіону, гідроксильних радикалів задля досягнення ефекту нейтралізації продуктів окисного стресу оксидом азоту.

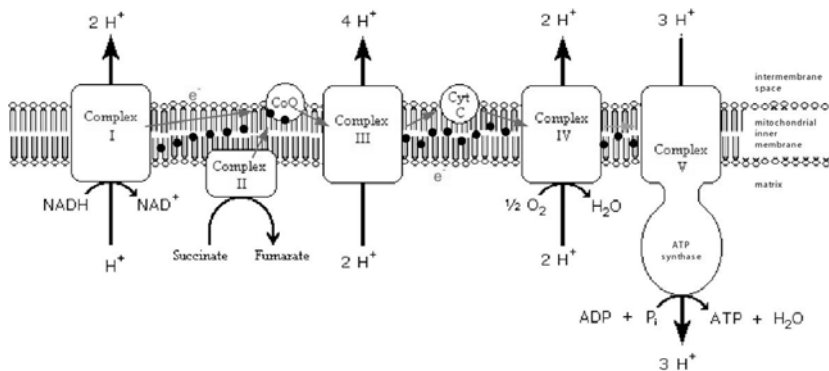
Маркери запалення: глутатіон, глутатионоксидаза, глутатіонредуктаза; показ-

ник тіолдисульфідного відношення (GSH/GSSG) - складові глутатионової антипероксодної системи.

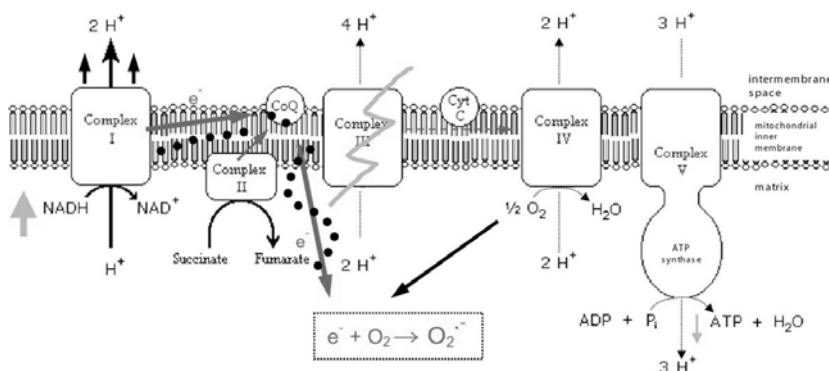
Статус глутатіону (GSH) визначається на рівні загальної концентрації та кількісного співвідношення різних форм його існування в клітині. Оскільки він залежить від ступеню динамічної рівноваги між реакціями синтезу, деградації, транспорту, окислення-відновлення — то і змінюється у відповідності до перебігу біохімічних подій на пряму. Зміни статусу глутатіону спостерігаються як за нормальних

фізіологічних процесів, так і за патологічних умов. Редокс-активність глутатіону, стійкість до окисного ушкодження, висока концентрація, здатність існувати у відновленому стані — дозволяють вважати глутатіон маркером запалення. Глутатионова антипероксидна система спрямована на відновлення окисненого глутатіону (GSSG) задля рециркування GSH. Зниження рівня GSH свідчить про напруження компенсаторних механізмів АОС і прогнозує ймовірність зниження ефективності репараційних процесів. Відновлюючий цикл GSH відіграє важливу роль в метаболізмі фізіологічних процесів – синтезі/розпаді білків; активації/інактивації ферментів; стабілізації клітинних мембран. Захисна функція глутатіону реалізується на рівні високих значень співвідношень GSH/GSSG і спрямована на збереження функціональної цілісності клітин. Рівновага окисно-відновної системи глутатіону є модулюючим фактором антипероксидантного захисту, який реалізується через взаємозв'язок із ланками механізму біохімічної детоксикації. Зниження співвідношення GSH/GSSG є провідною ознакою

a) COUPLED ELECTRON TRANSPORT AND OXIDATIVE PHOSPHORYLATION
in the physiological state



b) UNCOUPLED ELECTRON TRANSPORT AND OXIDATIVE PHOSPHORYLATION
in diabetes



(From Miller K.J. Metabolic Pathways of Biochemistry, George Washington University, 1998.)

Схема ілюструє процеси електронного транспортування за допомогою мітохондріальних комплексів дихального ланцюга та коензимів (G10).

А) електронний транспорт пов'язують є залежним від градієнту концентрації протону (H+), через спряжені процеси продукування АТФ. Коензим G10 є кофакторним ферментом, який сприяє полегшенню транспорту електронів від комплексів I, II до складного - III.

В) В умовах запалення судинної стінки мембрани ендотеліальних клітин (при цукровому діабеті) високореактивні радикали пошкоджують їх першими внаслідок спричиненої гіперглікемією інтенсифікації процесів транспорту донорів електронів (NADH); після генерації підвищеного мембранного потенціалу мітохондріальних клітин відбувається блокування електронного транспорту в комплексі III. Розірваність процесів електронного транспорту та процесів фосфорелювання внаслідок дисбалансу «оксид азоту - вільний радикал». Схема відтворює механізм взаємодії клітинних ферментів, перекису водню, тромбоцитарного фактору росту, супероксиданіону, гідроксильних радикалів задля досягнення ефекту нейтралізації продуктів окисного стресу оксидом азоту.

ву окиснювачів за рахунок здатності GSH відновлювати дисульфідні зв'язки, пошкоджені при окисному стресі. В такий спосіб реалізується механізм захисту мембранної структури еритроцитів від необоротного ушкодження.

Катаलाза – фермент, який бере участь в детоксикації та сприяє виведенню із клітинного простору надлишків нерадикальної активної форми кисню-перекису водню (H₂O₂). Натомість, велика молекулярна маса ферменту перешкоджає його проникненню крізь клітинну мембрану. За певних умов каталаза здатна слугувати джерелом утворення АФК. Слід зазначити, що 0,5% кисню утвореного в результаті розкладу перекису водню, існує у збудженому синглетному стані. Помірне підвищення, або відсутність коливань вмісту каталази на стадії проліферації та репарації свідчить про те, що запальний процес не має тенденції до пере-

ходу в хронічне запалення.

Малоний діальдегід (МДА) — сполука, що утворюється внаслідок розриву вільними радикалами поліненасичених жирних кислот. Через утворення «шифових мостів» МДА спричиняє синтез нерозчинних ліпідно-білкових комплексів-пігментів зношення. Концентрація МДА в сироватці крові є показником стану ПОЛ та слугує маркером ендогенної інтоксикації. Таким чином підвищений вміст МДА

окисного стресу в клітинах.

Гемоглобін, через механізми регуляції вмісту NO, здатен забезпечувати захист від пероксинітриту завдяки здатності зв'язувати NO з утворенням комплексів з гемовим залізом, або тиоловими групами, що перешкоджає підвищенню концентрацій пероксинітритів та формує певний рівень прооксидантного-антиоксидантного стану. Система GSH/GSSG захищає еритроцити від деструктивного впли-

свідчить про ступінь вираженості запального процесу різної етіології (гостру дихальну недостатність, гостру печінкову недостатність, гострий панкреатит, сепсис, тощо), та є маркерним показником госро-го запалення. тььь

Матеріали та методи досліджень

При дослідженнях дії ультразвуку на моделі експериментального запалення, контрольну групу склали тварини, яким замість каррагінану вводили фізіологічний розчин.

Окисний стрес при експериментальному запаленні верхніх дихальних шляхів вивчали за маркерними показниками. В якості останніх розглядали вміст малонового діальдегіду, активність супероксиддисмутази та каталази, вміст відновлено-

го та окисненого глутатіону, їхнє співвідношення (тіолдисульфідне співвідношення). Вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали за методом (Porter, 1976), активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом (Дубініна, 1983), каталази – за методом (Королук, 1988).

Обговорення результатів досліджень

На піку розвитку каррагінаніндукованого запалення верхніх дихальних шляхів (через 3 години після введення флогогену) спостерігалось підвищення вмісту МДА в плазмі крові щурів на 75,5% ($p < 0,05$), а в еритроцитах – на 32,6% ($p < 0,05$). Моночастотний ультразвук з інтенсивністю 0,2 Вт/см² призводив до нормалізації рівня малонового діальдегіду в плазмі і еритроцитах крові. Натомість, під впливом моно-

частотного ультразвуку з інтенсивністю 0,3 Вт/см² рівень МДА залишався підвищеним на 32,4% ($p < 0,05$) відносно норми.

Активність каталази не зазнавала статистично достовірних змін при моделюванні запалення та за умов впливу ультразвуку.

Активність СОД в плазмі крові щурів в фазі розвитку запалення збільшувалась на 10% ($p < 0,05$) відносно контрольних значень. Активність цього ферменту при застосуванні моночастотного ультразвуку з інтенсивністю 0,3 Вт/см² залишалась підви-

Результати експериментальних досліджень впливу низько інтенсивного ультразвуку на показники вмісту маркерів запалення та окислативного стресу в плазмі та еритроцитах крові щурів за умов флогогеніндукованого запалення верхніх дихальних шляхів

Таблиця 1

| Досліджувані показники | Досліджувані групи | | | |
|--|---------------------------|--|---|---|
| | Контрольна група n = 9 | Флогогеніндуковане запалення n = 10 | Флогогеніндуковане запалення + УЗ 0,2 Вт/см ² n = 6 | Флогогеніндуковане запалення + УЗ 0,3 Вт/см ² n = 6 |
| Вміст МДА в плазмі крові (мкМоль/л) | 0,37 ± 0,4 | 0,65 ± 0,06* | 0,40 ± 0,04** | 0,49 ± 0,8* |
| Вміст показника активності СОД в плазмі крові (Од/г Нб) | 836,9 ± 39,6 | 916 ± 21,5* | 870,5 ± 21,3 | 906,6 ± 30,4* |
| Вміст показника активності каталази в плазмі крові (Од/г Нб) | 98,0 ± 23,3 | 86,7 ± 21,5* | 87,9 ± 10,4 | 90,5 ± 15,6 |
| Вміст МДА в еритроцитах крові (нМоль/г Нб) | 37,36 ± 30,4 | 49,55 ± 4,48* | 40,15 ± 2,15** | 45,6 ± 3,18* |
| Вміст показника активності СОД в еритроцитах крові (Од/г Нб) | 1056 ± 49,6 | 1374,6 ± 84,6* | 1298,9 ± 70,4* | 1210,6 ± 50,3* |
| Вміст показника активності каталази в еритроцитах крові (Од/г Нб) | 172,4 ± 12,3 | 164,8 ± 15,6 | 156,4 ± 19,8 | 168,9 ± 18,7 |
| GSH вміст відновленого глутатіону в еритроцитах плазми крові (мкМоль/г Нб) | 7,42 ± 1,09 | 3,23 ± 0,68 | 5,31 ± 0,36 | 5,09 ± 0,47 |
| GSSG-вміст окисненого глутатіону в еритроцитах крові (нМоль/г Нб) | 20,0 ± 1,25 | 28,11 ± 4,22 | 24,9 ± 2,2 | 21,9 ± 0,7 |
| ТДС – показник тіолдисульфідного співвідношення в субстраті GSH/GSSG. | 368,2 ± 13,4 | 112,4 ± 11,6 | 223,8 ± 14,3 | 249 ± 2 2,3 |

Примітка: *достовірна різниця в порівнянні з контрольною групою ($p > 0,95$)
**достовірна різниця в порівнянні з групою «флогогеніндуковане запалення» ($p > 0,95$)

щеною, порівняно із контролем, на 8,3% ($p < 0,05$) за умов використання ультразвуку $0,2 \text{ Вт/см}^2$ значення активності супероксиддисмутази не відрізнялись від контрольних. В еритроцитах крові активність СОД збільшувалась при запаленні на 30,2% ($p < 0,05$). При використанні моночастотного ультразвуку обох досліджених інтенсивностей активність цього ферменту залишалась підвищеною на 23% ($p < 0,05$) – для інтенсивності $0,2 \text{ Вт/см}^2$, і на 14,6% ($p < 0,05$) для інтенсивності $0,3 \text{ Вт/см}^2$ відносно контрольних показників.

Таким чином, стан підвищення перекисного окиснення ліпідів, яке визначали за вмістом малонового діальдегіду є складовою механізму експериментального запалення верхніх дихальних шляхів. Збільшення активності СОД, яке відбувалося при цьому, є недостатнім для нейтралізації підвищеної пер оксидації ліпідів. Активність другого ферменту АОЗ – каталази, не зазнала змін ані при експериментальному запаленні, ані за умов дії ультразвуку. За таких умов зменшення перекисного окиснення ліпідів під дією ультразвуку досліджених режимів неможливо пояснити впливом лише на основні ферменти антиоксидантного захисту.

Вплив моночастотного ультразвуку на глутатіонову систему при експериментальному запаленні верхніх дихальних шляхів

В еритроцитах крові найбільш важливим антиоксидантом є відновлений глутатіон (GSH), концентрація якого в цих клітинах досить висока. Вміст окисненого глутатіону (GSSG) в цих клітинах значно менший. При експериментальному запаленні верхніх дихальних шляхів, на піку його розвитку спостерігалось зниження вмісту GSH на 56,8% ($p < 0,05$) відносно контролю. Під впливом ультразвуку за інтенсивності $0,2 \text{ Вт/см}^2$ вміст GSH відносно показників на рівні запалення підвищувався на 68,8% ($p < 0,05$), за інтенсивності $0,3 \text{ Вт/см}^2$ становив 59,4% ($p < 0,05$). Таким чином, величини норми в обох випадках показник не досягав.

При дослідженні вмісту окисненого

глутатіону було встановлено, що при каррагінан-індукованому запаленні верхніх дихальних шляхів його рівень збільшувався на 39,9 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. За дії ультразвуку : запалення на 12 % ($p < 0,05$), при використанні інтенсивності $0,3 \text{ Вт/см}^2$ – на 25,3% ($p < 0,05$). Оскільки співвідношення GSH/GSSG є найбільш чутливим показником окисного стресу, то навіть невеликі зрушення вмісту як відновленого, так і окисненого глутатіону суттєво позначаються на такому показникові. За умов експериментального запалення співвідношення GSH/GSSG зменшувалось в 3,3 рази ($p < 0,05$) відносно контролю. При застосуванні ультразвуку інтенсивністю $0,2 \text{ Вт/см}^2$ значення показника знижені в 1,7 раза ($p < 0,05$). Для інтенсивності $0,3 \text{ Вт/см}^2$ показник знижується в 1,5 рази ($p < 0,05$) відносно норми. Відносно запалення співвідношення GSH/GSSG підвищувалось в 2 рази ($p < 0,05$) і в 2,2 рази ($p < 0,05$) відповідно для інтенсивностей $0,2 \text{ Вт/см}^2$ і $0,3 \text{ Вт/см}^2$.

Таким чином, при експериментальному каррагінан-індукованому запаленні верхніх дихальних шляхів спостерігалось зменшення вмісту відновлених і збільшення окислених форм глутатіону, через що відбувалось зниження співвідношення GSH/GSSG. Такі зміни в глутатіоновій системі еритроцитів крові характерні для окисного стресу. Застосування моночастотного ультразвуку з інтенсивністю $0,2 \text{ Вт/см}^2$ та $0,3 \text{ Вт/см}^2$ виразно гальмувало розвиток останнього.

Результати проведених досліджень

Результати експериментальних досліджень впливу низької інтенсивного ультразвуку на показники вмісту маркерів запалення та оксидативного стресу (МДА, СОД, каталазу) та показники глутатіонові системи антиоксидантного захисту (GSH, GSSH, ТДС – показник тіолдисульфідного співвідношення окисненого та відновленого глутатіону в субстраті) в плазмі та еритроцитах крові щурів за умов флогогеніндукованого запалення верхніх дихальних шляхів.

Висновки

1. При вивченні маркерів окисного стресу було встановлено, що моно частотний ультразвук з інтенсивностями 0,2 Вт/см² та 0,3 Вт/см² зменшує прояви окисного стресу, спрямований на відновлення різних ланок розбалансованого антиоксидантного захисту в умовах карраганан-індукованого запалення верхніх дихальних шляхів щурів.
2. Ультразвук зазначених режимів знижує рівень МДА; це свідчить про здатність низькоінтенсивного УЗ впливати на ступінь ендогенної інтоксикації та інтенсивність процесів ПОЛ; натомість зниження вмісту ферменту супероксиддисмутази інформує про зниження вмісту супероксид-аніонного радикалу (-O) та опосередковано вказує на зниження вмісту глутатіону та ферментів глутатіонового обміну.
3. Ультразвук обох режимів збільшує вміст відновленого і зменшує вміст окисненого глутатіону, що призводить до підвищення співвідношення GSH/GSSG; збільшення значення величини даного співвідношення свідчить про зникнення ознак окисного стресу за рахунок зниження кількості вільних радикалів та де токсикантів.

Література

1. Воейков В.Л. Благотворная роль активных форм кислорода // МИС-РТ. - Сборник №24. - 2001.
2. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты в живых системах // Вестник РАМН. - 1998(7). - С. 43-50.
3. Дубинина Е.Е. Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма // Успехи современной биологии. - 2001. - Т. 108. - № 1. - С. 3-17.
4. Менщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и оксиданты. - М.: Фирма «Слова», 2006. - 556с.
5. Гончарова Л.Л. Тиолдисульфидная система в клинической практике // TERRA MEDICA nova. - 2003. - № 2. - С.3-6.
6. Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система в биохимическом механизме реакции организма на экстремальное воздействие // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им.И.И.Мечникова. - 2004. - № 4. - С.97-100.
7. Соколовский В.В. Тиолдисульфидное соотношение соотношение крови как показатель неспецифической резистентности организма :Учебное пособие. - СПб., 1996. - 30с.
8. Denisov E. Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology / E.Denisov, I.Afnas'ev; New-York: CRC Press, 2005. - 992 p.
9. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю. Стресс-лимитирующая система оксида азота // Российский физиологический журнал им .И.М.Сеченова. - 2000. - Т.86. - № 10. - С. 1283-1292.
10. Рябов Г.А., Азизов Ю.М. Роль оксида азота как регулятора клеточных процессов при формировании полиорганной недостаточности // Анестезиология и реаниматология. - 2001. - №1. - С.8-13.
11. Применение ультразвука в медицине. Физические основы / Пер.с англ.; под ред.К.Хилла. - М.:Мир, 1989.
12. Николаев Г.А., Лоцилов В.И. Ультразвуковая технология в хирургии. - М.: Медицина, 1980.
13. Гладилин О.В., Догадов А.А. Фокусирующие излучатели ультразвука с электрически управляемой пространственно-временной структурой создаваемых полей // Акустический журнал. - 2000. - №4.
14. Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами. М.; Издательство МГТУ им. Н.Э.Баумана, 2005. - С. 90-91, 97-101, 148-150.
15. Акопян В.Б. Лечит ультразвук. - М.;

Колос, 1983.

16. Галкин А.А. Локомоторные свойства нейтрофилов и механизмы регуляции их движения. Успехи современной биологии, 1997.
17. Галкин А.А. Действия активаторов на подвижность нейтрофилов. - М.: БЭБ, 1997.

Резюме

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ
УЛЬТРАЗВУКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ
ИНТЕНСИВНОСТИ НА СОДЕРЖАНИЕ
МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И
ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ПЛАЗМЕ
И ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ КРЫС ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПАЛЕНИИ
ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Литюга В.В., Андрейченко К.С.

Проведено исследование содержания маркерных показателей воспаления и оксигенного стресса на модели экспериментального воспаления верхних дыхательных путей крыс при действии терапевтического ультразвука (УЗ). Были выявлены признаки вероятного воздействия терапевтического УЗ на качество воспалительного процесса. Рассмотрены биологические эффекты терапевтического УЗ, которые реализуются на различных уровнях системы антиоксидантной защиты (АОЗ). Представлены сведения об основных составляющих антиоксидантной системы (АОС), рассмотрены биохимические эффекты маркеров воспаления и оксидантной системы (ОС), раскрыты механизмы антиоксидантной защиты (АОЗ) при воспалении. Раскрыты механизмы свободного радикального повреждения клеток в условиях неконтролируемого ПОЛ.

Ключевые слова: низкоинтенсивный ультразвук, воспаление, антиоксидантная система, антиоксидантная защита, маркеры воспаления, супероксиддисмутаза, глутатион, свободные радикалы, пере-

кисное окисление липидов, антиперекисные ферменты, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, каталаза, тиолдисульфидное отношение - ТДВ (GSH / GSSG).

Summary

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF
ULTRASOUND THERAPEUTIC INTENSITY
ON CONTENTS MARKERS OF
INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS
IN PLASMA AND ERYTHROCYTES RAT
BLOOD IN EXPERIMENTAL
INFLAMMATION UPPER RESPIRATORY
TRACT

Lityuga V.V, Andreichenko K.S.

The investigation of the content of the marker parameters of inflammation and oxygenic stress model of experimental inflammation of the upper respiratory tract of rats under the influence of therapeutic ultrasound (UT). Were revealed signs of a possible therapeutic effects of ultrasound on the quality of the inflammatory process. Examined the biological effects of therapeutic ultrasound, which are implemented at different levels of the antioxidant defense system (AOS). Provides information about basic components of the AOS, examined the effects of biochemical markers of inflammation and oxidant system (OS), revealed the mechanisms of antioxidant protection (AOP) in inflammation. The mechanisms of free radical damage to cells in an uncontrolled LPO.

Key words: low-intensity ultrasound, inflammation, antioxidant system, antioxidant defense, markers of inflammation, superoxide dismutase, glutathione, free radicals, lipid peroxidation, antiperoxide enzymes, glutathione, glutathione reductase, catalase, tioldisulfidnoe attitude (GSH/ GSSG).

*Впервые поступила в редакцию 16.09.2011 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*