Л. Д. Тодоріко

ОСОБЛИВОСТІ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СТАН ПРОТИРАДИКАЛЬНИХ СИСТЕМ ЗАХИСТУ ПРИ БРОНХІАЛЬНІЙ АСТМІ У ХВОРИХ РІЗНОГО ВІКУ

Кафедра госпітальної терапії і клінічної фармакології
(зав. - проф. М. Ю. Коломоець) Буковинської державної медичної академії

Ключові слова: окиснення, малоновий диальдегід, глутатіон відновлений, глутатіонзалежні ферменти.

Abstract. Lately, there appearedmore facts of the pathogenesy role of strengthening processes of free radical lipides oxidation ru rhe beginning and recidivation of bronchial asthma (BA). The increasing intensity of lipid peroxid oxidation (PLO) of the membranes has a special meaning for the functioning of respiratori organs rhe surface of which is, bassicali, the largest membrane of the organism whcih oxigen of atmospheric air and oxidantis that pollute atr.

Вступ. Бронхіальна астма (БА) — одна з найбільш розповсюджених захворювань органів дихання.

Сучасні уявлення про розвиток і сутність запальних реакцій в організмі базуються на визнанні провідної ролі мембрано-деструктивних процесів [1, 2, 3, 13, 14].

В останні роки доведено, що ушкодження клітинних мембран при БА зумовлено безконтрольним підсиленням процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та послабленням протирадикальних захисних систем [5, 12]. В силу вступає закон відносної доцільності захисно-пристосувальних механізмів [4, 10].

Вивчення співвідношення між процесами вільнорадикального окиснення ліпідів і захисних протирадикальних систем організму відкриває реальну перспективу створення нових підходів при розробці питань патогенезу і патогенетично обгрунтованого лікування БА. При цьому, безумовно, необхідно враховувати вік хворих.

Однак, незважаючи на велику кількість публікацій, присвячених цій проблемі, механізм компенсації і декомпенсації функціонування системи протирадикального захисту в залежності від віку хворих майже не вивчені.

Нами було поставлено за мету визначити вміст у крові малонового диальдегіду (МДА), відновленого глутатіону (ВГ) та активність глутатіонзалежних ферментів: глутатіонредуктази (ГР), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіон-S-трансферази (Г-S-Т), а також глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), супероксиддисмутази (СОД) при БА у хворих різного віку.

Дослідження були проведені у 42 хворих на БА (27 чоловіків і 15 жінок), 24 хворих на хронічний бронхіт (17 чоловік, 7 жінок) та у 32 практично здорових осіб. Вік хворих коливався від 18 до 76 років і в середньому становив — 38 років. У більшості хворих захворювання тривало від 4 до 10 років. Переважав інфекційно-залежний варіант БА (73,3%) з середньою важкістю перебігу захворювання.

Обстежені були розподілені на групи: основна (група 2) — хворі на БА (30 чол.); контрольна (група 3) — хворі на хронічний бронхіт (ХБ) — 24 чоловіки, донори (група 1), яку склали практично здорові особи (32 чол.). У кожній групі виділено три вікових підгрупи: «а» — особи юнацького віку: «б» — особи зрілого віку: «в» — особи похилого віку.

Матеріал і методи. Використаний комплекс сучасних методів дослідження. Гепаринізовану кров у хворих брали з ліктьової вени вранці, натще, в об'ємі 3 мл., до початку лікування.

Вміст малонового диальдегіду (МДА) без ініціації, а також з ініціацією НАДФН2, аскорбіновою кислотою визначали за Ю. А. Владимировим, О. І. Арчаковим [1,3]. Вміст ГВ в крові визначали титраційним методом за О. В. Травіною (1955) в модифікації І. Ф. Мещишена, І. П. Петрової (1983). Активність ферментів вивчали: ГР і ГП — за І. Ф. Мещишеним (1982), ГТ — за І. Ф. Мещишеним (1987), Г-6-ФДГ — за A. Kornberg, B. L. Horeker (1955) в модифікації Ю. Л. Захар'їна (1967).

Активність ферментів сироватки крові розраховували на 1 г гемоглобіну (Hb). Статистичний аналіз отриманих даних проводився методом варіаційної статистики. Імовірність можливої помилки визначали за критерієм Ст'юдента. При цьому використовувалися спеціальні програми, комп'ютер IBM 486.

Результати досліджень та їх обговорення. Вміст МДА в крові хворих юнацького віку в період загострення становив 7,53±0,19 мкмоль/л, що на 70,36% перевищило вміст МДА у здорових осіб цієї ж вікової групи (4,42±0,16 мкмоль/на, $p<0,05$). При хронічному бронхіті (ХБ) у хворих вікової підгрупи «а», концентрація в крові МДА становила — 6,43±0,07 мкмоль/л, що у 1,2 рази менше цього показника у крові хворих на бронхіальну астму ($p < 0,05$).

Показники вмісту неініційованого МДА, а також ініційованого НАДФН2, аскорбатом в залежності від групи обстежених осіб зрілого віку наведені в таблиці 1.

Вміст у крові МДА без ініціації у хворих 2-б групи (7,68±0,32 мкмоль/л) у 1,2 рази (на 18,5%) перевищував цей показник у хворих 3-б групи (6,48±0,13 мкмоль / л, $p < 0,05$) і у 1,7 рази (на 42,4%) був більше вікової норми (4,42±0,16 мкмоль на л, $p < 0,05$).

При ініціації МДА НАДФН2 у хворих 2-б групи концентрація МДА у крові становила 9,59±0,20 мкмоль / л, що у 1,5 рази перевищує вміст МДА у крові осіб 1-б групи (6,29±0,21 мкмоль / л, $p < 0,05$) і у 1,2 рази у хворих 3-б групи (8,97±0,10 мкмоль на л. $p. < 0,05$).

Показники ініційованого аскорбатом МДА у пацієнтів 2-б групи (8,88±0,2 мкмоль / л,) у 1,7 рази перевищували аналогічні показники у здорових осіб (5,32±0,2 мкмоль / л, $p < 0,05$) і практично не відрізнялись від результатів у пацієнтів 3-б групи (8,21±0,2 мкмоль / л).

Отже, у хворих зрілого віку має місце неконтрольоване підсилення процесів пероксидації при загострені захворювання. При БА інтенсивність цих процесів значно вища, ніж при хронічному бронхіті.

Концентрація МДА без ініціації у хворих 2-в групи (7,13±0,2 мкмоль / л,) є більш високою у порівнянні з результатами групи здорових (4,86±0,22 мкмоль / л, $p< 0,05$) на 46,7% і у 1,2 рази перевищує аналогічний показник 3-в групи (6,44±0,23 мкмоль / л, $p < 0,05$).

Вміст ініційованого НАДФН2 МДА у хворих 2-в групи становить 9,31±0,12 мкмоль / л, що у 1,4 рази перевищує вікову норму (6,89±0,32 мкмоль / л, $p < 0,05$) і майже не відрізняється від величин вмісту ініційованого НАДФН2 МДА у пацієнтів 3-в групи (8,94±0,23 мкмоль / л, $p > 0,05$).

При ініціації МДА аскорбатом у хворих 2-в групи встановлено більш високий його рівень (8,80±0,04 мкмоль / л) порівняно з результатами у донорів (6,02±0,11 мкмоль / л, $p <0,05$) у 1,5 рази та у 1,1 рази, у порівнянні з даними 3-в групи (8,11±0,19 мкмоль / л, $p < 0,05$).

Таким чином, при бронхіальній астмі у хворих похилого віку в період загострення спостерігається зростання концентрації МДА, що свідчить про інтенсифікацію пероксидного окиснення ліпідів, більш інтенсивну, ніж у хворих на хронічний бронхіт у цій же віковій підгрупі.

Активність СОД у 2-а групи (3,72±0,07 од. ак. в хв. на 1 г Hb) на 23,1% вища, ніж у здорових (3,02±0,18 од. ак. в хв. на 1 г Hb, $p < 0,05$), і на 11,7% перевищує показники у пацієнтів 3-а групи (3,33±0,02 од. ак. в хв. на 1 г Hb, $p < 0,05$).

При БА у хворих зрілого віку активність СОД (3,90±0,22 од. ак. в хв. на 1 г Hb) підвищена на 28,7%, порівняно з віковою нормою (3,03±0,14 од. ак. в хв. на 1 г Hb, $p < 0,05$) і на 15,7% відносно до показників у пацієнтів 3-б групи (3,39±0,14 од. ак. в хв. на 1 г Hb, $p < 0,05$).

При БА активність СОД у хворих похилого віку зростає незначно (3,02±0,02 од. ак. в хв. на 1 г Hb) на 14,3% порівняно з 1-в групою (2,97±0,05, $p > 0,05$), що дає підстави припустися думки про те, що у хворих похилого віку резерви цього компенсаторного механізму протирадикального захисту майже вичерпані. Отже, при БА максимальною є активність СОД у хворих зрілого віку.

Концентрація ВГ у крові хворих 2-а групи становила 0,62±0,07 мкмоль / л, що на 25,3% менше від рівня ВГ в крові хворих 3-а групи (0,83±0,01 мкмоль / л; $p < 0,05$) і на 28,7% нижче від показників у донорів (0,87±0,03 мкмоль / л; $p < 0,05$).

Вміст ВГ у крові хворих 2-б групи становив 0,69±0,05 мкмоль / л і несуттєво відрізнявся від показників вмісту ВГ в крові хворих 3-б групи (0,74±0,21 мкмоль / л; $p > 0,05$), але був на 20,9% нижчим від вікової норми (0,87±0,01 мкмоль / л; $p < 0,05$).

Рівень ВГ у хворих 2-в групи (0,74±0,01 мкмоль / л) лише на 10% нижчий, ніж у хворих 3-в групи (0,82±0,02 мкмоль / л; $p > 0,05$) і не відрізняється від показників у здорових (0,79±0,04 мкмоль / л; $p > 0,05$).

Активність ГП в хворих 2-а групи на 20,3 % підвищена (226,71±5,01 нмоль ГВ / хв. на 1 г Нв) порівняно з результатами у пацієнтів 3-а групи (188,34±7,22 нмоль ГВ / хв. на 1 г Нв; $p < 0,05$) і на 31,1% перевищує цей показник у здорових (172,9±6,41 нмоль ГВ / хв. на 1 г Нв; $p < 0,05$).

Активність ГП в крові хворих групи 2-б (235,22±19,7 нмоль ГВ / хв. на 1 г Нв) майже не відрізняється від аналогічного показника у хворих 3-б групи (222,33±7,51 нмоль ГВ / хв. на 1 г Нв; $p > 0,05$), але порівняно з віковою нормою (181,13±6,73 нмоль ГВ / хв. на 1 г Нв) вона значно вища (на 31,6%; $p < 0,05$).

У хворих 2-в групи активність ГП (222,55±16,04 нмоль ГВ / хв. на 1 г Нв) невірогідно (лише на 7,67%) перевищувала аналогічний показник у хворих 3-в групи (212,61±11,22 нмоль ГВ / хв. на 1 г НВ), але була збільшена порівняно з віковим контролем (174,45±10,22 нмоль ГВ / хв. на 1 г Нв) на 24,4% ($p < 0,01$).

Таким чином, активність ГП як при БА, так і при ХБ є підвищеною. Суттєвої ж різниці між показниками активності ГП у хворих на БА і на ХБ немає.

Максимальна активність ГП при БА спостерігалась у хворих зрілого віку, що обумовлено значним підсиленням процесів вільнорадикального окиснення ліпідів біомембран у цієї групи хворих і вказує на компенсаторні можливості системи протирадикального захисту за рахунок ГП. Цей факт є важливим, оскільки ГП каталізує реакції між ВГ і гідропероксидами жирних кислот, руйнує за допомогою ВГ пероксид водню [7]. Швидкість цієї реакції і спорідненість ГП до гідропероксидів настільки велика, що вона може ефективно конкурувати за гідропероксиди НЖК і тим самим зменшувати інтенсивність ВРОЛ. У пацієнтів похилого віку активність ГП дещо зменшена, мабуть, у зв'язку з порушенням її синтезу внаслідок дефіциту цистеїну та селену у цих хворих і зменшенням всмоктування у кишечнику мікроелементів [11, 12].

Результати дослідження активності ГТ у хворих 2-а групи (187,14±7,30 нмоль ГВ / хв. на 1 г. Нв) несуттєво відрізняються від таких у пацієнтів 3-а групи (170,74±4,26, лише на 9,6% більше, $p > 0,05$). Разом з тим, вони значно перевищували (на 41,8%) вікову норму (131,94±5,05, $p < 0,05$).

У хворих 2-б групи активність ГТ (196,02±8,9) лише на 10,7% перевищувала аналогічний показник у хворих 3-б групи (176,95±3,6; $p > 0,05$) і була значно збільшена (на 61,6%), порівняно з 1-б групою (121,6±2,15; $p < 0,05$).

Показники активності ГТ хворих 2-в групи (166,19±9,79) на 41,8% перевищували відповідні величини у здорових осіб (117,19±2,158; $p < 0,05$) і майже не відрізнялися від активності ферменту у 3-в групи хворих (166,69±7,59; $p > 0,05$).

Таким чином, при БА та ХБ спостерігається збільшення активності ГТ у хворих всіх вікових груп, найбільш виражене у пацієнтів зрілого віку.

Вірогідно підвищені показники активності ГТ свідчать про різку активацію процесів ВРОЛ, накопичення ендогенних токсичних речовин, насамперед білкової природи [6, 7, 8].

Результати дослідження активності ГР у 2-а групи хворих (3,72±0,07 мкмоль НАДФН2 / хвилину на 1 г Нв) свідчать про те, що активність цього ферменту на 80% вища у порівнянні з 3-групою хворих (2,07±0,01; $p < 0,05$) і на 47% відносно показників 1-а групи обстежених (2,52±0,06; $p < 0,05$).

Активність ГР у хворих 2-б групи (2,64±0,16) перевищує на 20,5% аналогічний показник у здорових (2,19±0,07; $p < 0,05$), але не відрізняється від показників у хворих 3-б групи (2,63±0,11; $p > 0,05$).

У пацієнтів 2-в групи активність цього ферменту становила 2,42±0,03 мкмоль НАДФН2 / хв. на 1 г Нв, несуттєво відрізняється від аналогічного показника у 3-в групи (2,56±0,03; $p > 0,05$) і від вікової норми (2,45±0,08; $p > 0,05$).

Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що при БА у хворих юнацького та зрілого віку спостерігається вірогідне підвищення активності ГР, адекватне ступеню зниження рівня ВГ. Разом з тим, у хворих похилого та старечого віку, незважаючи на стабільно низькі показники вмісту у крові ВГ, суттєвого підвищення активності ГР не встановлено. Таким чином, не забезпечується в необхідній кількості відновлення глутатіону із окисненої його форми.

Однією з причин декомпенсації механізмів протирадикального захисту, як показали наші дослідження, є недостатньо ефективне функціонування пентозофосфатного циклу окиснення вуглеводів, який забезпечує синтез НАДФН2. Пусковим ферментом цього циклу є Г-6-ФДГ.

Результати дослідження активності Г-6-ФДГ у хворих 2-а групи (3,55±0,02 мкмоль НАДФН2 / хв. на 1 г Нb) свідчать про підвищення її на 36,2% порівняно з 3-а групою (2,61±0,06; $p < 0,05$) і на 31,7%, порівняно з віковою нормою (2,68±0,08; $p < 0,05$).

Активність Г-6-ФДГ у пацієнтів 2-б групи (3,18±0,05) несуттєво (на 7,4%) перевищує цей же показник у осіб 1-б групи (2,98±0,07; $p > 0,05$) і майже не відрізняється від аналогічного показника у хворих 3-б групи.

У хворих же 2-в групи активність Г-6-ФДГ (2,78+0,25) була на 17,2% нижчою від аналогічного показника у хворих 3-в групи (3,36±0,05; $p < 0,05$) і на 27% перевищувала рівень активності Г-6-ФДГ у донорів (2,23±0,08; $p < 0,05$).

Отже, при БА у хворих юнацького віку у відповідь на інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів спостерігається підвищення активності Г-6-ФДГ майже у 1,4 рази. При БА у хворих зрілого віку ми отримали зниження показника активності Г-6-ФДГ, порівняно з групою хворих на хронічний бронхіт, але він був вищий, ніж у контрольній групі здорових осіб. Таке ж співвідношення активності Г-6-ФДГ залишається у хворих похилого та старечого віку: активність Г-6-ФДГ порівняно з групою хворих на хронічний бронхіт знижена на 17,2%. Отже, при ХБ компенсаторні механізми протирадикальної системи захисту спрацьовують краще. Зниження активності Г-6-ФДГ у хворих похилого віку спричиняє дефіцит НАДФН2.

Таким чином, у здорових людей в похилому та старечому віці спостерігається фізіологічне збільшення інтенсивності вільнорадикального окиснення ліпідів. Компенсація цих процесів забезпечується більшими витратами відновленого глутатіону, НАДФН2, зростанням активності глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази. З віком також знижується активність мідь-цинк-супероксиддисмутази.

При бронхіальній астмі одним з найбільш значних патогенетичних факторів рецидиву є ВРОЛ, що супроводжується підвищеним вмістом у крові малонового диальдегіду (як неінційованого, так і з ініціацією НАДФН2 та аскорбатом) у

хворих всіх вікових груп. При бронхіальній астмі найбільш інтенсивно процеси пероксидації ліпідів зростають у хворих зрілого віку на фоні декомпенсації механізмів антирадикального захисту.

В період загострення захворювання при БА у хворих різного віку спостерігається зменшення вмісту ВГ у крові на фоні активації процесів ВРОЛ, що обумовлено, напевне, порушенням його синтезу і відновлення з окисненої форми (за участю глутатіоредуктази) через нестачу необхідного для реакції НАДФН2. Різке зниження рівня в крові ВТ при БА можна вважати суттєвим фактором порушення цілістності клітинних мембран.

Декомпенсація механізмів адаптації при бронхіальній астмі у хворих похилого віку обумовлена зменшенням активності мідь-цинк-супероксиддисмутази, пригніченням функціонування пентозофосфатного циклу окиснення вуглеводів і обумовленого цим зменшення НАДФН2. Зниження рівня відновленого глутатіону при бронхіальній астмі найбільш виражено у хворих похилого та зрілого віку.

Компенсація активації процесів вільнорадикального окиснення при бронхіальній астмі досягається за рахунок вираженої активації глутатіонредуктази. У хворих зрілого та похилого віку зростання активності глутатіонредуктази є малоефективним через недостатню кількість відновлених еквівалентів (НАДФН2). У пацієнтів похилого віку підвищується активність глутатіотрасферази і тому безповоротньо втрачається більша кількість глутатіону.

Література. 1. Амагуни В. Г., Захарян А. К. Тиоловые группы в механизме антиоксидантной защиты клеточных мембран в норме и патогенезе различных заболеваний // Зб. науч. труд.: Ереван, 1988. - С. 14-18. 2. Амбросимов В. И., Василевич Г. Т. Бронхиальная астма, повышенная реактивность бронхов и физические нагрузки // Тер. арх. - 1988. - №3. - С. 84. 3. Болевич С. Свободнорадикальные и липидние процесы и возможность их корекции у больных бронхиальной астмой. // Автореф. дис... кан. мед. наук. - М., 1991. -24 с. 4. Жихарев С. С. Минеев В. Н. и др. Атопическая бронхиальная астма как патология мембрано-рецепторного комплекса // Вест. АМН СССР, 1989, - №2. - С. 9-11. 5. Кубышкин А. В. Богадельников И. В., Русаков С. В. Возможности использования антиоксидантов в терапии заболеваний легких. // Пульмонология. — 1993. - №1. - С. - 83-88. 6. Мещишен М. Ф., Петрова И. В. Окисление и востановление глутатиона в органах крыс при введении этония // Укр. биохим. журнал - 1983. - 55. - №4. - С. 571-573. 7. Мещишен И. Ф. Метод определения активности глутатионтрансферазы в крови // Применения ферментов в медицине. — Симферополь, 1987. - С. 135. 8. Мещишен И. Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, додецония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Автореф. дис.... д-ра биол. наук. - К., 1991. - 38 с. 9. Минеев В. Н. Патогенетические и клинические аспекты нарушений мембрано- рецепторного комплекса эритроцитов при бронхиальной астме: Автореф. дис.... д-ра мед .наук. - СПб. 1993. - 32 с. 10. Травина О. В. Руководство по биохимическим исследованиям. - М.: Медгиз 1955. - 256 с. 11. Федосеев Г. Б. Механизмы обструкции бронхов. - Санкт-Петербург. Медицинское информационное агенство. 1995. - 336 с. 12. Aydilek R., Ekinci E., Sadi Yenen O. et al/ Celluar distribution of bronchoalveolar lavage and peripheral blood in bronchial asthma // XIV World Congress of Asthmology. Abstracts. - 1993. - P. 1. 13. Djukakanovic R., Wilson J. W., Roche W. R. et al. Mucocal inflammation in asthma // am. Rev. resp. Dis. - 1990. - V. 142, №2. - P. 434-457. 14. Kornberg A., Horecker B. Z. Glucoso-6-P-dehidrogenase // Methods. in Ensymol/ - 1955. - 1. - P. 329-350.