

В. І. Савицький, О. О. Якименко, В. В. Клочко, І. В. Савицький, Т. А. Александріна

АНАЛІЗ ДИНАМІКИ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ ТА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ НА ТЛІ ЗМОДЕЛЬОВАНОГО АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМУ ТА ПРИ РІЗНИХ СПОСОБАХ ЙОГО КОРЕКЦІЇ

Одеський національний медичний університет

Савицький Володимир Іванович - <https://orcid.org/0000-0002-4261-3759>

Якименко Олена Олександрівна - <https://orcid.org/0000-0001-9844-6905>

Клочко Віктор Вікторович - <https://orcid.org/0000-0001-6025-5433>

Савицький Іван Володимирович - <https://orcid.org/0000-0002-5841-9993>

Александріна Тетяна Андріївна – <https://orcid.org/0000-0003-3798-0391>

Summary. Savytskyi V. I., Yakymenko O. O., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Aleksandrina T.A. **ANALYSIS OF THE DYNAMICS OF CATALASE AND SUPEROXIDE DISMUTAS ACTIVITY ON THE BACKGROUND OF THE MODELED ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME AND DURING DIFFERENT TYPES OF ITS CORRECTION.** – *The Odessa National medical University; e-mail: miastkivska@ukr.net.* It is established the antioxidant protection against simulation of antiphospholipid syndrome. The use of the correction of the 3rd group has a positive effect on the state of antioxidant protection and leads to increased activity of catalase and superoxide dismutase. The use of immunoglobulin and warfarin in the treatment of rats, in a simulated antiphospholipid syndrome, affects the restoration of antioxidant protection, but less pronounced. The greatest effect on the restoration of antioxidant protection in rats with simulated antiphospholipid syndrome was observed in group 5.

Key words: antiphospholipid syndrome, experiment, antioxidant protection, catalase, superoxide dismutase.

Реферат. Савицький В. І., Якименко Е. А., Клочко В. В., Савицький І. В., Александріна Т. А. **АНАЛІЗ ДИНАМІКИ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ І СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ НА ТЛІ СМОДЕЛЕВАННОГО АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМА І ПРИ РІЗНИХ СПОСОБАХ ЙОГО КОРЕКЦІЇ.** Установлено ослаблення антиоксидантної захисти на фоні моделювання антифосфоліпідного синдрому. Застосування корекції 3-ї групи оказує позитивне вплив на стан антиоксидантної захисти і призводить до підвищення активності каталази і супероксиддисмутази. Застосування імуноглобуліну і варфарину в лікуванні крыс при смодельованому антифосфоліпідному синдромі впливає на відновлення антиоксидантної захисти, але менш виражено. Найбільше вплив на відновлення антиоксидантної захисти у крыс з смодельованим антифосфоліпідним синдромом спостерігалося в 5-й групі.

Ключевые слова: антифосфоліпідний синдром, експеримент, антиоксидантна захиста, каталаза, супероксиддисмутаза.

Реферат. Савицький В. І., Якименко О. О., Клочко В. В., Савицький І. В., Александріна Т. А. **АНАЛІЗ ДИНАМІКИ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ ТА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ НА ТЛІ ЗМОДЕЛЬОВАНОГО АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМУ ТА ПРИ РІЗНИХ СПОСОБАХ ЙОГО КОРЕКЦІЇ.** Встановлене ослаблення антиоксидантного захисту на тлі моделювання антифосфоліпідного синдрому. Застосування корекції 3-ї групи здійснює позитивний вплив

на стан антиоксидантного захисту та призводить до підвищення активності каталази та супероксиддисмутази. Застосування імуноглобуліну та варфарину в лікуванні щурів, при змодельованому антифосфоліпідному синдромі, впливає на відновлення антиоксидантного захисту, але менш виражено. Найбільший вплив на відновлення антиоксидантного захисту у щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом спостерігався в 5-й групі.

Ключові слова: антифосфоліпідний синдром, експеримент, антиоксидантний захист, каталаза, супероксиддисмутаза.

Вступ. Антифосфоліпідний синдром (АФС) на сьогоднішній день є загрозливою патологією, частота виникнення якої значно збільшується при наявності супутніх захворювань [1].

АФС характеризується різноманітністю клінічних проявів, мозаїчністю ускладнень, лабораторних зрушень та порушенням балансу багатьох систем організму [2, 3]. Окислювальний стрес може бути визначений як дисбаланс між антиоксидантним захистом та рівнем активних форм кисню в біологічній системі. Окислювальний стрес, який призводить до пошкодження тканин є ознакою хронічного захворювання та загибелі клітин [4].

Мета: дослідити зміни активності антиоксидантного захисту при експериментальному антифосфоліпідному синдромі та проаналізувати ефективність його корекції шляхом введення варфарину, імуноглобуліну та L-аргініну

Матеріали та методи дослідження: Дослідження проведено на 100 безпородних щурах-самцях масою 180-220 гр. Тварини були розподілені на наступні групи:

1-а група - контрольна – інтактні тварини, які знаходились на стандартному раціоні віварію (n=20).

2-а група – щурі, яким було змодельовано антифосфоліпідний синдром (n=20).

3-я група (n=20) – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували корекцію введенням внутрішньочеревинно імуноглобулін людини (ЗАТ «Біофарма») у дозі 0,5 г/кг ваги (Мельник В.О., Лісяний М.І., Бельська Л.М., Шнякін С.А., 2005) та внутрішньошлунковим введенням розчину L-аргініну на 0,9% розчині натрія хлориду в дозі 500 мг/кг.

4-а група (n=20) – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували корекцію варфарином в дозах, вирахованих по коефіцієнту відповідності та введенням внутрішньочеревинно імуноглобулін людини (ЗАТ «Біофарма») у дозі 0,5 г/кг ваги (Мельник В.О., Лісяний М.І., Бельська Л.М., Шнякін С.А., 2005).

5-а група (n=26) – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували корекцію варфарином, введенням внутрішньочеревинно імуноглобулін людини (ЗАТ «Біофарма») у дозі 0,5 г/кг ваги (Мельник В.О., Лісяний М.І., Бельська Л.М., Шнякін С.А., 2005) та внутрішньошлунковим введенням розчину L-аргініну на 0,9% розчині натрія хлориду в дозі 500 мг/кг.

Антифосфоліпідний синдром моделювали шляхом підшкірного введення кардіоліпінового антигену в суммарній дозі 0,2-0,4 мг на одного щура через день. протягом трьох тижнів [5, 6]

Добова доза препарату Варфарину для щура масою 200г – 0,2 мг.

Введення донатора оксиду азоту – розчину L-аргініну (СІМЕСТА, виробництво КНР, стандарт якості USP32) здійснювалось шляхом внутрішньо шлункового введення розчину L-аргініну на 0,9% розчині натрія хлориду в дозі 500 мг/кг [7] через шприц з внутрішньошлунковим зондом. Об'єм розчину залежав від маси тварини і не перевищував 1 мл. Препарат вводили 1 раз на добу до вранішнього годування, щоденно протягом 10 днів [7].

Дослідження тривало 8 тижнів, протягом яких тварини були під наглядом та/або лікуванням.

Щурі виводились із експерименту під легким ефірним наркозом згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених Наказом МОЗ України № 249 від 01.03.2012 та Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від

жорстокого поводження» (зі змінами від 15.12.2009р та від 16.10.2012р).

Після евтаназії проводився забір крові у щурів для дослідження показників окислювального стресу. Визначення вмісту каталази проводили спектрофотометричним методом по методиці Чеварі С., Андела Т., та Штренера Я. Визначення активності супероксиддисмутази проводилося спектрофотометричним методом (реакція окислення кверцетину).

Результати дослідження та їх обговорення:

Усі етапи реакцій утворення вільних радикалів контролює і гальмує антиоксидантна система захисту організму, одними із основних функціональних складових якої є каталаза та супероксиддисмутаза Каталаза - фермента антиоксидантного захисту, що є каталізатором розпаду утворюючогося пероксиду водню на воду та молекулярний кисень [8, 9].

Результати аналізу її активності в умовах нашого експерименту представлені в Таблиці 1.

Таблиця 1

Динаміка активності каталази в крові щурів при експериментальному антифосфоліпідному синдромі та при його корекції

	1-а група	2-а група		3-я група	4-а група	5-а група	
Cat	24,16±0,51	14,24±0,52		20,07±0,65	17,24±0,74	24,3±0,71	
		p1-2	<0,001	p1-3<0,001 p2-3<0,001	p1-4<0,001 p2-4<0,01 p3-4<0,001	p1-5 p2-5 p3-5 p4-5	>0,05 <0,001 <0,001 <0,001

В результаті нашого дослідження встановлено, що у групі №2, в якій не коригували змодельований патологічний процес, виявлено зниження активності каталази на 41 % порівняно з даними інтактних тварин. У третій групі, в якій проводилася корекція L-аргініном, варфарином та імуноглобуліном, виявлені кращі результати – активність досліджуваного фермента підвищилася на 40,94 % порівняно з групою без корекції, але відносно інтактною групи активність є нижчою на 16,92 %.

У четвертій групі, в якій проводилася корекція імуноглобуліном та варфарином, позитивний вплив присутній (активність фермента є вищою на 21 % порівняно з групою без корекції), але він виражений в меншій мірі – у порівнянні з групою інтактних щурів значення показника є нижчим на 28,64 %, а порівняно з даними групи №3 – меншим на 14,1%. Прослідковується значний позитивний ефект при комплексному залученні імуноглобуліну, варфарину та L-аргінін: відсутні статистично значущі відмінності між даними цієї групи та інтактних тварин, активність каталази є вищою на 70,6 % порівняно з групою №2, також спостерігається перевага при аналізі груп №3 та №4 – на 21,07 % і 40,95 % відповідно.

Також було проведено аналіз другого фермента антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази (Таблиця 2). Супероксиддисмутаза - фермент антиоксидантного захисту, що каталізує дисмутацію радикалів O₂ та перешкоджає перетворенню супероксидного аніон-радикала в гідроксильний високотоксичний радикал, а також служить акцептором вільних кисневих радикалів, уповільнюючи перексне окислення ліпідів та білків [8, 9].

У групі № 2, в якій моделювали антифосфоліпідний синдром без подальшої корекції, встановлено виражене пригнічення активності досліджуваного фермента антиоксидантного захисту - на 42,8 % порівняно з інтактною групою. У третій групі, в якій змодельовану патологію коригували за допомогою введення імуноглобуліну та L-аргініну виявлено часткове відновлення активності антиоксидантної системи - на 41,2 % порівняно з групою без корекції, але вона є нижньою на 19,2 % відносно групи №1. У четвертій групі також виявлено підвищення активності фермента – вона є на 16,5 % вища порівняно з 2-ю групою. Але тенденція є менш вираженою порівняно з попередньою групою, у якій коригуваги

експериментальний АФС (групою № 3) – на 17,5 %, відносно інтактної групи активність нижча на 33,4 %. Результативність корекції 5-ї групи є найбільш вираженою: активність супероксиддисмутази максимально наблизилася до значень інтактної групи (статистично значущі відмінності між ними відсутні). Порівняно з групою № 2 активність є вищою на 76 %. Також вона є більшою порівняно з іншими групами, в яких коригували патологію – на 24,7 % порівняно з групою № 3, і на 51,1 % порівняно з групою № 4. Отримані дані свідчать про те, що змодельований антифосфоліпідний синдром призводить до розвитку окислювального стресу. При порівнянні одержаних даних доведено, що максимально виражений коригуючий ефект спостерігається при комплексному використанні варфарину, імуноглобуліну та L-аргініну.

Таблиця 2

Динаміка активності супероксиддисмутази в крові щурів при експериментальному антифосфоліпідному синдромі та при його корекції

SOD	1-а група	2-а група		3-я група		4-а група		5-а група	
			6,43±0,29		9,08±0,44		7,49±0,35		11,32±0,37
	11,24±0,35	p1-2	<0,001	p1-3 p2-3	<0,001 <0,001	p1-4 p2-4 p3-4	<0,001 <0,05 <0,01	p1-5 p2-5 p3-5 p4-5	>0,05 <0,001 <0,001 <0,001

Виявлена однаправленість змін активності обох маркерів антиоксидантного захисту під впливом задіяних способів корекції. Можемо зробити припущення про ключовий вплив L-аргініну на відновлення активності каталази та супероксиддисмутази. Дане припущення можемо обґрунтувати наступними властивостями цього донатора оксиду азоту. Одним із захисних ефектів оксиду азоту на організм є його здатність збільшувати активність антиоксидантних ферментів, шляхом експресії кодуючих їх генів. Крім того, сама молекула NO має антиоксидантні властивості. Взаємодія оксиду азоту з ліпідними радикалами сприяє перериванню процесу вільнорадикального окислення ліпідів [8, 10].

Висновки:

1. Встановлене ослаблення антиоксидантного захисту на тлі моделювання антифосфоліпідного синдрому у лабораторних тварин.
2. Виявлено, що розвиток експериментального антифосфоліпідного синдрому призводить до зниження активності супероксиддисмутази у крові щурів умовах експерименту ($p < 0,001$).
3. Доведено виражене зниження активності каталази ($p < 0,001$) у крові щурів з експериментальним АФС.
4. Застосування імуноглобуліну та розчину L-аргініну в лікуванні щурів при змодельованому антифосфоліпідному синдромі здійснює позитивний вплив на стан антиоксидантного захисту та призводить до підвищення активності каталази та супероксиддисмутази.
5. Застосування імуноглобуліну та варфарину в лікуванні щурів, при змодельованому антифосфоліпідному синдромі, впливає на відновлення антиоксидантного захисту, але менш виражено.
6. Найбільш суттєвий вплив на відновлення антиоксидантного захисту у щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом спостерігався при комплексному застосуванні варфарину, імуноглобуліну та розчину L-аргініну.

Література:

1. Игнатенко Г.А., Мухин И.В., Житкова Р.Ш., Фаерман А.А., Пола М.К., Туманова С.В.. Кардиологические аспекты антифосфолипидного синдрома. Практична ангіологія. 2011; 2 (41):43-48
2. Brenner B., Grabowski E.F., Hellgren M. Thrombophilia and pregnancy complications.

Thromb. Haemost. 2004;92:678-681.

3. Макаренко Е.В. Антифосфолипидный синдром. Проблемы здоровья и экологии. 2017;4(54): 4-11

4. Tarr JM, Kaul K, Chopra M, Kohner EM, Chibber R. Pathophysiology of Diabetic Retinopathy. Hindawi Publishing Corporation. ISRN Ophthalmology Volume 2013, Article ID 343560, 13 pages.

5. Уракова, М.А. и Брындына, И.Г. (2013) Метаболическая активность и водный баланс легких при моделировании аутоиммунной патологии у крыс. Вестник ТвГУ. Серия: Биология и экология (29). С. 272-276.

6. Nomura H., Hirashima Y., Endo S., Nakaku A. Anticardiolipin antibody aggravates vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rabbits // Stroke. 1998. Vol. 29. P. 1014–1019.

7. Покровский М.В., Покровская Т.Г., Корчаков В.И. и др. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота. Эксперим. и клин. фармакол. 2008; 71 (2): 29–31.

8. Семенко ВВ, Сердюк ВМ, Савицкий ИВ. Дослідження стану перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи щурів при експериментальній діабетичній ретинопатії. Journal of Education, Health and Sport.2017;7(6):870-887.

9. Ермоленко Т. І. Активність в крові ферментів антиоксидантного захисту як маркер нефропротекторної дії натрієвої солі полі-(2,5-дигідроксифенілен)-4-тіосульфокислоти / Т. І. Ермоленко, О. М. Шаповал, О. В. Кривошاپка / Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2020;20(1):18–22.

10. Срубилін ДВ, Енікеєв ДА, Мышкин ВА. Роль нитроксидаергической системы в регуляции окислительного стресса в печени у крыс с экспериментальным перитонитом. Фундаментальные исследования. 2014;10(4):724-731.

References:

1. Ignatenko G.A., Mukhin I.V., Zhitkova R.Sh., Faerman A.A., Paula M.K., Tumanova S.V. Cardiological aspects of antiphospholipid syndrome. Practical angiology. 2011; 2 (41): 43-48

2. Brenner B., Grabowski E.F., Hellgren M. Thrombophilia and pregnancy complications. Thromb. Haemost. 2004;92:678-681.

3. E.V. Makarenko Antiphospholipid syndrome. Health and ecology problems. 2017; 4 (54): 4-11

4. Tarr JM, Kaul K, Chopra M, Kohner EM, Chibber R. Pathophysiology of Diabetic Retinopathy. Hindawi Publishing Corporation. ISRN Ophthalmology Volume 2013, Article ID 343560, 13 pages

5. Urakova, M.A. and Bryndin, I.G. (2013) Metabolic activity and fluid balance of the lungs in the modeling of autoimmune pathology in rats. TvSU Bulletin. Series: Biology and Ecology (29). S. 272-276.

6. Nomura H., Hirashima Y., Endo S., Nakaku A. Anticardiolipin antibody aggravates vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rabbits // Stroke. 1998. Vol. 29. P. 1014–1019.

7. Pokrovsky M.V., Pokrovskaya T.G., Korchakov V.I. et al. Endothelioprotective effects of L-arginine in modeling nitric oxide deficiency. Let's experiment. and wedge. pharmacol. 2008; 71 (2): 29–31.

8. Semenkov VV, Serdyuk VM, Savitsky IV. Study of the state of lipid peroxidation and the antioxidant system of rats in experimental diabetic retinopathy. Journal of Education, Health and Sports.2017; 7 (6): 870-887.

9. Ermolenko TI Activity in the blood of enzymes of antioxidant protection as a marker of nephroprotective action of sodium salt of poly- (2,5-dihydroxyphenylene) -4-thiosulfonic acid / TI Ermolenko, OM Shapoval, OV Krivoschapka / Current issues of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Dental Academy. 2020; 20 (1): 18–22

10. Srubilin DV, Yenikeev DA, Myshkin VA. The role of the nitroxydergic system in the regulation of oxidative stress in the liver in rats with experimental peritonitis. Basic research. 2014; 10 (4): 724-731

Робота надійшла в редакцію 12.11.2021 року.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування