

ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ НА ТЛІ ТЯЖКОЇ ТА КОМБІНОВАНОЇ ТРАВМИ

С. Р. Підручна

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського, Україна

PECULARITIES OF ANTIOXYDANT ENZYMES ACTIVITY IN CASE OF SEVER COMBINE TRAUMA

S. R. Pidruchna

The article deals with role of antioxidant enzyme activity in the pathogenesis of systemic deviations in severe combined trauma. It is shown that severe injury has caused the increased activity of catalase and ceruloplasmin in serum of all studied animals groups. The most significant increase of activity of the studied enzymes was found on the 7th day of experiment in injured burned rats of the third group.

Key words: trauma, burn, "scalping" type wound, catalase, ceruloplasmin.

ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ НА ФОНЕ ТЯЖЕЛОЙ И КОМБИНИРОВАННОЙ ТРАВМЫ

С. Р. Підручна

В статье рассмотрены вопросы о роли активности антиоксидантных ферментов в патогенезе системных отклонений при тяжелой и комбинированной травме. Показано, что тяжелая травма обусловила повышение активности каталазы и церулоплазмينا в сыворотке крови всех исследуемых групп, наиболее выраженное повышение активности зафиксировано у травмированных обожженных крыс III группы на 7 сутки эксперимента.

Ключевые слова: травма, ожог, скальпированная рана, каталаза, церулоплазмин.

Вступ

Проблема політравми вже давно є не тільки медичною, а й соціальною проблемою [1, 3, 4, 6, 8, 10, 11–15, 17]. За даними ВООЗ, серед причин смертності травми займають третє, а серед населення до 40 років — перше місце. У структурі таких травм серйозною проблемою є ушкодження шкіри з виникненням скальпованих ран та опіків. Метаболічні реакції організму у постраждалих на політравму характеризуються розвитком гіперферментемії, збільшенням рівня гліколітичних процесів, активацією процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [1].

Одним із основних положень усіх сучасних концепцій патогенезу різних захворювань, у тому числі і тяжкої травми, ускладненої опіковою чи механічною раною, є порушення структури клітинної мембрани, універсальним фактором пошкодження якої є ПОЛ. Процеси вільнорадикального окиснення, частиною яких є ПОЛ крові, безперервно перебігають в усіх органах і тканинах і являють собою один із типів нормальних метаболічних процесів (А.И. Арчаков).

Стаціонарний рівень вільно радикального окиснення (ВРО) і ПОЛ в організмі підтримується завдяки активності ферментних і не ферментних антиоксидантних систем. Початкові стадії процесу ВРО контролюються супероксиддисмутазою, яка дезактивує супероксидний радикал і відповідно зменшує загальний токсичний ефект

активних форм кисню. Пероксид водню, що утворюється при дисмутації супероксидного аніона, розкладається каталазою.

Одним з основних білків сироватки крові з антиоксидною властивістю є церулоплазмін. Церулоплазмін утилізує токсичні супероксидні аніонрадикали на клітинних мембранах. Особливо важливу роль церулоплазмін відіграє для захисту мембран еритроцитів, нейтралізуючи активні форми кисню на її поверхні, він запобігає руйнуванню еритроцита.

Церулоплазмін здійснює передачу іонів міді в клітини не печінкових органів, а також забезпечує виведення міді з кровотоку через жовч. За рахунок міді церулоплазмін здійснює антиоксидантну активність.

Мідь належить до групи життєво необхідних мікроелементів, тому що входить в активні центри декількох десятків ферментів, які беруть участь у клітинному диханні, формуванні сполучної тканини, процесінгу нейропептидів, у підтримці гомеостазу заліза.

Проте донині залишається до кінця нез'ясованим питання ролі активності антиоксидантних ферментів у патогенезі системних відхилень при тяжкій і комбінованій травмі.

Мета дослідження — вивчити активність каталази та церулоплазміну при тяжкій і комбінованій травмі та дослідити вміст міді в плазмі крові тяжко травмованих тварин з додатковим механічним дефектом та опіком шкіри.

Матеріали і методи

В експерименті використано 64 нелінійних білих щурів масою 180–200 г, яких розподілили на чотири групи: I–III — дослідні, IV — контрольна.

- У I групі тварин в асептичних умовах під легким ефірним наркозом моделювали тяжку травму [9];
- у II групі тварин додатково на депільованій поверхні спини викраювали шкірний клапоть площею близько 10% поверхні шкіри. На рану накладали стерильну пов'язку. З 3-ї доби рану вели відкритим способом;
- у III групі тварин моделювали опік III ступеня на аналогічній ділянці депільованої спини за методикою [16] у нашій модифікації, відповідно до якої в умовах ефірного наркозу до депільованої поверхні спини приклали мідну пластинку площею 28 см² на 10 хв, попередньо занурену в киплячу воду. Тварин утримували ізолювано одна від одної;
- у IV групу ввійшли інтактні тварини, які утримувалися у стандартних умовах виварію.

На 1, 3 та 7 добу після травмування в умовах тіопенталонартієвого знеболювання у щурів забирали кров для біохімічних та імунологічних досліджень, дотримуючись принципів Європейської конвенції із захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986). У сироватці крові визначали активність каталази [7] на спектрофотометрі СФ-46 при 410 нм, церулоплазміну [5] — на спектрофотометрі СФ-46 при 530 нм та вміст міді [2] — на атомно-адсорбційному спектрофотометрі С-115 у крові та печінці травмованих тварин.

Результати та їх обговорення

Як показали результати наших експериментів, травматичне ураження тварин супроводжується змінами з боку ферментної антиоксидантної системи (табл. 1).

Так, на 1 добу після моделювання множинної травми активність каталази (ферменту, що знешкоджує перекис водню, який утворюється в супероксиддисмутазній реакції) у плазмі крові щурів I групи зросла на 22,2% ($p < 0,01$). У подальшому активність цього ензиму дещо падала і на 7 добу практично досягала рівня інтактних тварин ($p > 0,05$).

Подібні результати отримані і при дослідженні каталази у II і III групах. Максимальне підвищення активності

цього ферменту ми спостерігали на 3 добу у II групі. Активність досліджуваного ензиму у цей термін зросла на 38,8% ($p < 0,001$), тоді як у III групі активність його збільшилася на 33,3% ($p < 0,001$). На 7 добу активність каталази залишалася статистично не достовірно вищою, але рівня здорових тварин не досягала.

Отже, як за умов множинної, так і за комбінованої травми активність каталази в плазмі крові зростає. Відомо, що велика кількість цього ферменту міститься в пероксисомах гепатоцитів. Можливо, що зафіксовані нами зміни є наслідком посиленого виходу каталази в кров, причиною якого є цитоліз гепатоцитів, зумовлений впливом ендотоксинів.

До числа потужних антиоксидантів крові належить білок церулоплазмін. У результаті, ймовірно, посиленого виходу цього ферменту з гепатоцитів, унаслідок деструктивної дії ендотоксинів на мембрани, його вміст у плазмі крові за умов множинної травми збільшується. Через добу з моменту моделювання множинної травми вміст церулоплазміну зріс на 30,4% ($p < 0,01$). У щурів з комбінованою травмою (II та III групи) цей показник збільшився на 57,1 та 69,5% ($p < 0,001$) відповідно. Протягом тижня концентрація ферменту падала і на 7 день практично наближалася до норми.

Відомо, що мідь є необхідним складовим компонентом ферменту церулоплазміну. Тому становило інтерес дослідити зміни концентрації цього мікроелементу у тканині печінки і плазмі крові тварин з множинною та комбінованою травмою (табл. 2).

З табл. 2 видно, що травматичне ураження призвело до статистично достовірного зменшення кількості міді у печінці тварин усіх дослідних груп в усі терміни.

Так, концентрація цього мікроелементу в печінці тварин I групи через 1 добу після моделювання політравми знизилась на 22,8%, у II та III групі — на 26,4 та 27,3% відповідно. При цьому рівень міді був зниженим відносно відповідних показників інтактних тварин упродовж 7 днів. У плазмі крові, навпаки, зафіксовано підвищення вмісту міді через 1 добу у I групі на 57,5%. У II та III групі достовірне зростання цього показника в крові становило 64,5 та 67,3%. Як показали наші дослідження, найістотніше підвищення вмісту міді в крові ми спостерігали у тварин, яким на тлі множинної травми моделювали опік. Отже, зміни з боку антиоксидантного ферменту

Таблиця 1

Динаміка активності антиоксидантних ферментів у плазмі крові тварин на тлі тяжкої травми, обтяженої механічним дефектом та опіком шкіри ($M \pm m$, $n=8$)

Модель досліджу	Показник	Групи тварин						
		Інтактні	Травмовані					
			1 доба		3 доба		7 доба	
Політравма	Каталаза, <i>мкат/л</i>	0,18±0,01	0,22±0,01	$p < 0,01$	0,21±0,01	$p < 0,05$	0,19±0,01	$p > 0,05$
	Церулоплазмін, <i>г/л</i>	0,23±0,01	0,3±0,02	$p < 0,01$	0,28±0,01	$p < 0,002$	0,26±0,01	$p < 0,05$
Політравма + рана	Каталаза, <i>мкат/л</i>	0,18±0,01	0,22±0,01	$p < 0,01$	0,25±0,01	$p < 0,001$	0,23±0,01	$p < 0,002$
	Церулоплазмін, <i>г/л</i>	0,23±0,01	0,35±0,01	$p < 0,001$	0,32±0,01	$p < 0,001$	0,25±0,01	$p > 0,05$
Політравма + опік	Каталаза, <i>мкат/л</i>	0,18±0,01	0,23±0,01	$p < 0,002$	0,24±0,01	$p < 0,001$	0,2±0,01	$p > 0,05$
	Церулоплазмін, <i>г/л</i>	0,23±0,01	0,39±0,01	$p < 0,001$	0,3±0,01	$p < 0,001$	0,27±0,01	$p < 0,01$

Таблиця 2

Показники концентрації міді у плазмі крові (мкМ/л) та печінці (мкМ/кг) шурів на тлі тяжкої травми, обтяженої механічним дефектом та опіком шкіри (M±m, n=8)

Модель досліджуваного	Об'єкт дослідження	Групи тварин						
		Інтактні	Травмовані					
			1 доба		3 доба		7 доба	
Політравма	Плазма	28,58±1,06	45,01±2,54	p<0,001	42,71±1,17	p<0,001	39,91±1,38	p<0,001
	Печінка	51,68±1,32	39,91±1,59	p<0,001	42,05±1,11	p<0,001	42,88±1,01	p<0,001
Політравма + рана	Плазма	28,58±1,06	47,01±2,48	p<0,001	44,25±1,24	p<0,001	41,38±0,91	p<0,001
	Печінка	51,68±1,32	38,05±0,61	p<0,001	40,38±0,69	p<0,001	39,6±0,8	p<0,001
Політравма + опік	Плазма	28,58±1,06	47,81±1,91	p<0,001	45,5±0,87	p<0,001	41,91±0,79	p<0,001
	Печінка	51,68±1,32	37,56±0,4	p<0,001	39,71±0,45	p<0,001	43,36±0,98	p<0,001

церулоплазміну за умов травматичного ураження можуть бути наслідком порушення мікроелементного складу тканини печінки і плазми крові.

Висновки

1. Тяжке травмування тварин зумовило підвищення активності каталази та церулоплазміну у сироватці крові усіх досліджуваних груп, причому найістотніше зростання активності досліджуваних ферментів ми зафіксували у травмованих опечених тварин III групи на 7 добу експерименту.

2. Концентрація міді у плазмі крові максимально достовірно зростала на 64,5 та 67,3% у тварин з комбінованою травмою II та III групи на 1 добу експерименту, тоді як у печінці істотно знижувалася також у цей термін

Перспективним напрямком подальших досліджень є можливість застосування експериментальної моделі для скринінгового вивчення різноманітних засобів корекції механічних та термічних дефектів шкіри.

Література

- Агаджанян В. В. Политравма : проблема и практические вопросы / В. В. Агаджанян // Политравма. — 2006. — № 1. — С. 5–8.
- Бабенко Г. О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях. — К. : Здоров'я, 1965. — 183 с.
- Ельський В. Н. Патофизиология, диагностика и интенсивная терапия тяжелых черепно-мозговой травмы / Ельський В. Н., Кардаш А. М., Городник Г. А.; под ред. В. И. Черния. — Донецк : Новый мир, 2004. — 200 с.
- Клиническая эпидемиология черпно-мозговой травмы / Педаченко Е. Г., Семисалов С. Я., Ельський В. Н., Кардаш А. М. — Донецьк : Апекс, 2002. — 156 с.
- Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камыниников. — Минск : Беларусь, 1982. — 311 с.
- Матійко А. С. Організаційні питання екстремальної медицини та строки оперативних втручань при поєднаній травмі / А. С. Матійко. — Донецьк : Апекс, 2002. — С. 181–188.
- Метод определения активности каталазы / Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова Н. Г., Токарев В. Е. // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
- Оценка тяжести и прогноз травматического шока у пострадавших с сочетанной травмой / Денисенко В. Н., Бурлика В. В., Король С. А., Бондаренко В. В. // Проблемы військової охорони здоров'я. — К. : Янтар, 2002. — С. 8–15.
- Пат. на корисну модель 30 028 Україна МПК 2006 G 09 B 23/00. Спосіб моделювання політравми / Т. Я. Секела, А. А. Гудима (Україна); Тернопіль. мед. ун-т. — № U 2007 10 471; Заявл. 21.09.2007; Опубл. 11.2.08; Бюл. № 3. — 4 с.
- Плеханов А. Н. Эпидемиологические, диагностические и лечебные аспекты сочетанной травмы в современных условиях (хирургия сочетанной травмы). Сообщение 1 / Плеханов А. Н., Номоконов И. А., Шагдуров В. А. // Политравма. — 2007. — № 4. — С. 69–74.
- Усенко Л. В. Опыт организации и тактики оказания экстренной специализированной помощи пострадавшим с тяжелой политравмой / Усенко Л. В., Панченко Г. В., Куликов С. Б. // Проблемы військової охорони здоров'я. — К. : Янтар, 2002. — С. 207–211.
- Чернов А. П. Вопросы клинико-нозологической структуры сочетанных повреждений / Чернов А. П., Рынденко С. В., Феськов А. Э. // Проблемы військової охорони здоров'я. — К. : Янтар, 2002. — С. 105–111.
- Agbafabian N. Emergency Medicine : the cove curriculum / N. Agbafabian, A. Zsppincoff // Raven Publishers. — 1998. — № 6. — P. 1490.
- Maier Effectiveness of State Trauma Systems : a National tvolution / Avery O., Nathens F., Gregoty P. [et al.] // American association for the surgery of trauma. — 1999. — № 3. — P. 150.
- Multiple organ failure still a major cause of morbidity but not mortality in blunt multiple trauma / Nast-Kolb D., Aufmkolk M., Rucholtz S. [et al.] // J. Trauma. — 2001. — Vol. 51, № 5. — P. 835–841.
- Regas F. C. Elucidating che vascular response to burns with a new rat model / Regas F. C., Ehrlich H. P. // J. Trauma. — 1992. — Vol. 32, № 5. — P. 557–563.
- Wick M. The epidemiology of multiple trauma / Wick M., Ekkirkamp A., Mubr G. // Chirurg. — 1997. — № 11 — P. 8–10.