УДК 616.24-001.116-036.11]-092.9

ПАТОГЕНЕТИЧНА РОЛЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В УМОВАХ КОМБІНОВАНОЇ ТРАВМИ

©О.Я. Зятковська

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

РЕЗЮМЕ. У патогенезі травми, пов'язаної з екстремальним механічним чи термічним впливом та їх поєднанням, важливу роль відіграє ініціація перекисного окиснення ліпідів, про що свідчить накопичення первинних і вторинних продуктів у посттравматичному періоді. Комбінована травма супроводжується вищим рівнем перекисного окиснення ліпідів починаючи із третьої доби посттравматичного періоду. На першу добу експерименту головний внесок у накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів вносить модельована механічна травма, на третю і сьому доби – опік.

Різке зниження вмісту у крові церулоплазміну на тлі високих рівнів первинних і вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів та виснаження компонентів антиоксидантної системи є несприятливою ознакою, яка вказує на розвиток поліорганної недостатності й супроводжується загибеллю 50 % тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: комбінована травма, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантний захист, опік.

Вступ. Вагомою ланкою патогенезу травми будь-якого походження є посилення процесів вільнорадикального окиснення [12, 15, 17, 18]. Активація гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової-залозної системи, гіперпродукція катехоламінів зумовлюють інтенсифікацію обміну речовин, яка на тлі порушень гемодинамічного забезпечення супроводжується розвитком гіпоксії, накопиченням активних форм кисню із наступним каскадом патологічних реакцій, які об'єднує поняття "травматична хвороба" [5, 6].

В динаміці посттравматичного періоду комбінованої механічної і термічної травми стан вільнорадикального окиснення вивчений недостатньо. В літературі зустрічаються розбіжні дані щодо величин основних маркерів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та компонентів антиоксидантного захисту на тлі тяжкої механічної травми та опіку [9, 13].

Мета дослідження – з'ясувати динаміку показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в умовах комбінованої механічної і термічної травми.

Матеріал і методи дослідження. Експерименти виконані на 72 нелінійних білих щурах-самцях масою 160-180 г. Тварин розділили на 4 групи. У першій групі моделювали механічну травму [10], яка передбачала перелом стегнової кістки, кровотечу зі стегнової вени і введення автокрові у паранефральну клітковину з розрахунку 1 мл на 100 г маси тварини. У другій моделювали опік шкіри III А-Б ступеня 9-10 % поверхні тіла [19] – до депільованої поверхні шкіри спини прикладали мідну пластину площею 28 см^2, попередньо занурену в кип'ячу воду протягом 3-5 хв. У третій групі ці два пошкодження поєднували. Усі експерименти, пов'язані із нанесенням тваринам травми, виконувалися під ефірним наркозом. Котрольних тварин тільки вводили в ефірний наркоз.

Тварин забивали в умовах тіопентало-натрієвого знеболення через 1, 3 і 7 діб після нанесення травми. У зв'язку з гибеллю тварин у ході експериментів їх кількість у дослідних групах збільшували так, щоб число тварин, що вижило у кожній підгрупі, становило не менше шести.

Стан ПОЛ оцінювали за вмістом у гомогенаті печінки дієнових кон'югатів (ДК) [7] і ТБК-активних продуктів ПОЛ [1]. Рівень антиоксидантної системи визначали за вмістом SH-груп у гомогенаті печінки [2], церулоплазміну (ЦП) у сироватці крові [8] та за загальною пероксидазною активністю крові (ЗПА) [11]. Отримані цифрові дані аналізували методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

Результати й обговорення. Як видно з рис. 1-2, в усі терміни посттравматичного періоду кожної з дослідних груп вміст у гомогенаті печінки первинних і вторинних продуктів ПОЛ виявився статистично достовірно вищим від контролю. Після опіку чи механічної травми рівень ДК в гомогенаті печінки збільшувався до 3 доби з наступним зниженням, яке виявилися статистично достовірним лише на тлі механічної травми в порівнянні із попереднім терміном спостереження (рис. 1). В умовах комбінованої травми величина ДК гомогенату печінки поступово зростала, досягаючи максимуму на 3-7 доби спостереження. В ці терміни його

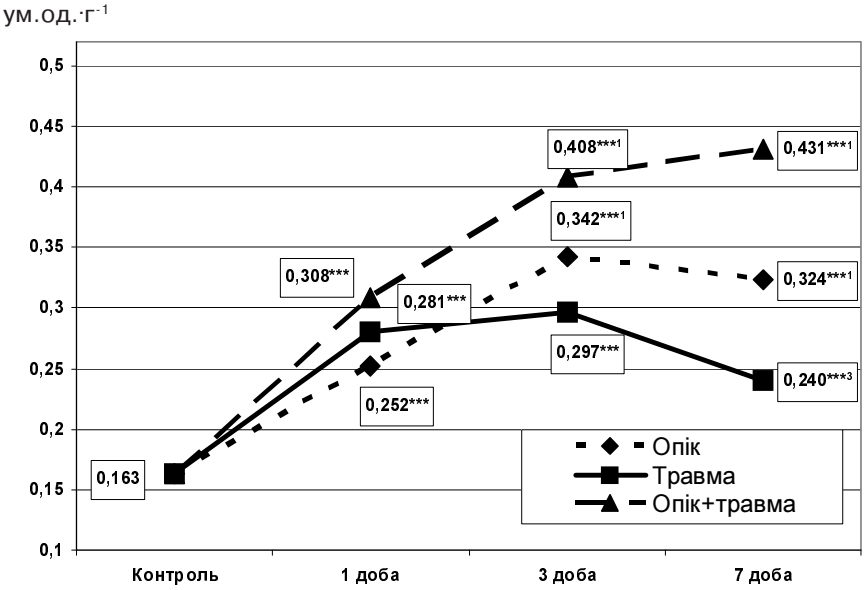

Рис. 1. Вплив комбінованої травми на вміст ДК гомогенату печінки в ранньому посттравматичному періоді. (Тут і на інших рисунках * – достовірність відмінностей порівняно з контролем (* – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$); [1] – відмінності порівняно з першою добою спостереження достовірні ($p\leq0,05$); [3] – відмінності порівняно із третьою добою спостереження достовірні ($p\leq0,05$)).

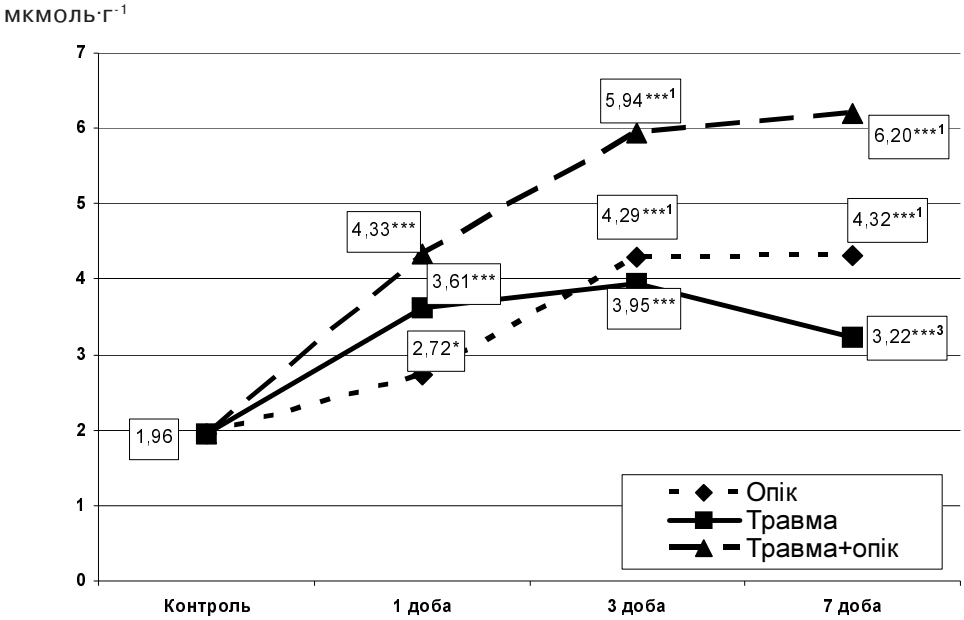

Рис. 2. Вплив комбінованої травми на вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ гомогенату печінки в ранньому посттравматичному періоді.

величина була статистично достовірно більшою, ніж на тлі самого опіку чи механічної травми.

На тлі опіку вміст у гомогенаті печінки ТБК-активних продуктів ПОЛ поступово збільшувався, досягаючи найбільшої величини на 3-7 доби після нанесення травми. Після механічної травми його величина досягала максимуму на 3 добу і в подальшому суттєво знижувалася, порівняно із попереднім терміном спостереження. У той же час комбінована травма зумовлювала більш виражене зростання порівняно з іншими групами вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки через 1 добу після нанесення травми з досягненням максимуму на 3-7 доби. В усі терміни спостереження на тлі комбінованої травми вміст цей показник був статистично достовірно більший, ніж після самого опіку чи механічної травми (табл. 1).

Вміст SH-груп гомогенату печінки під впливом опіку поступово знижувався (рис. 3), досягаючи статистично достовірного мінімуму на 7 добу спостереження. В умовах механічної травми виснаження SH-груп у печінці відбувалося більш стрімко, досягаючи мінімуму на 3 добу з наступним достовірним зростанням показника порівняно із попереднім терміном спостереження, який, однак, не досягав рівня контрольних тварин. В умовах комбінованої травми відмічалося статистично достовірно більше зниження вмісту SH-груп у печінці, порівняно із групами з монотравмою, яке досягало мінімуму на 7 добу спостереження і виявилося істотно меншим, ніж на тлі самого опіку чи механічної травми (табл. 1).

Вміст ЦП у сироватці крові в динаміці післяопікового періоду поступово зростав й істотно відрізнявся від контролю та від попереднього терміну спостереження (рис. 4, табл. 1). Після механічної травми досліджуваний показник теж був статистично достовірно вищим від контролю, проте досягав максимуму на 3 добу й істотно знижувався порівняно із попереднім терміном спостереження на сьому, не досягаючи рівня контролю. На тлі комбінованої травми відмічалося значне зростання досліджуваного показника на 1 і 3 доби, що виявилося статистично достовірно більшим, ніж в умовах монотравми. Проте на сьому добу вміст у сироватці крові ЦП різко знижувався і досягав рівня, який відмічався на тлі опіку (табл. 1).

ЗПА крові після опіку зростала з першої до сьомої доби й статистично достовірно відрізнялася від контролю та кожного попереднього терміну спостереження (рис. 5). На тлі механічної травми досліджуваний показник теж зростав, досягаючи максимуму на третю добу з наступним зниженням на сьому добу. В цей термін спостереження ЗПА крові виявилася статистично достовірно меншою,

Таблиця 1. Достовірність відмінностей показників ПОЛ та антиоксидантного захисту на 1, 3 і 7 доби посттравматичного періоду

Вірогідність	Посттравматичний період		
	1 доба	3 доба	7 доба
ДК			
p_1	>0,05	<0,10	<0,001
p_2	<0,05	<0,05	<0,01
p_3	>0,05	<0,001	<0,001
ТБК-активні продукти ПОЛ			
p_1	<0,01	>0,05	<0,001
p_2	<0,001	<0,001	<0,001
p_3	<0,01	<0,001	<0,001
SH-групи			
p_1	<0,05	<0,10	<0,001
p_2	<0,001	<0,001	<0,01
p_3	<0,01	<0,10	<0,001
ЦП			
p_1	<0,05	>0,05	<0,001
p_2	<0,001	<0,001	>0,05
p_3	<0,001	<0,001	<0,001
ЗПА			
p_1	<0,05	<0,01	<0,01
p_2	<0,01	<0,001	>0,05
p_3	>0,05	<0,001	<0,001

Примітка. p_1 – вірогідність відмінностей між показниками тварин із опіком та ізольованою травмою; p_2 – між показниками тварин з опіком і комбінованою травмою; p_3 – між показниками тварин із ізольованою та комбінованою травмою.

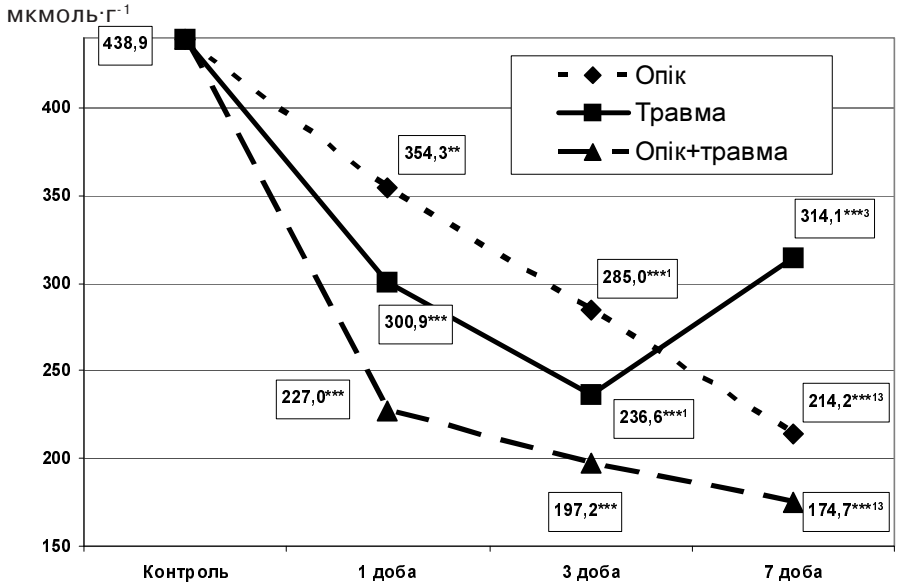

Рис. 3. Вплив комбінованої травми на вміст SH-груп гомогенату печінки в ранньому посттравматичному періоді.

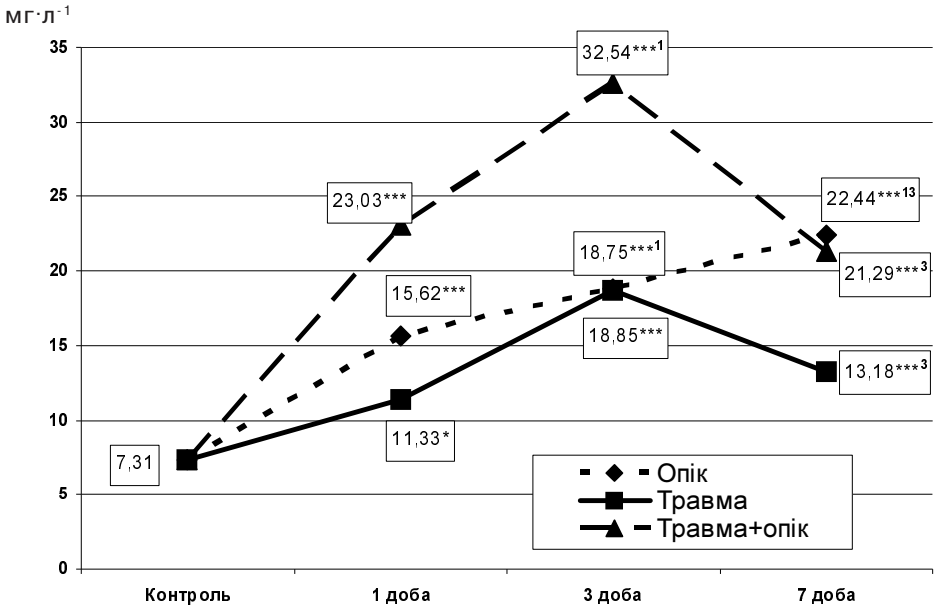

Рис. 4. Вплив комбінованої травми на вміст ЦП сироватки крові в ранньому посттравматичному періоді.

ніж на 1 і 3 доби спостереження, проте не досягала рівня контрольної величини. На тлі комбінованої травми досліджуваний показник ставав максимальним на третю добу й був істотно більшим, порівняно із групами з монотравмою. В подальшому він знижувався, досягаючи рівня тварин із опіком, проте виявився суттєво вищим, ніж у тварин з механічною травмою.

Одержані результати свідчать про те, що в патогенезі травми, пов'язаної з екстремальним механічним чи термічним впливом та їх поєднанням, важливу роль відіграє ініціація ПОЛ, про що свідчить накопичення первинних і вторинних продуктів у посттравматичному періоді. Комбінована травма супроводжується вищим рівнем ПОЛ починаючи із третьої доби посттравматичного періоду. На першу добу експерименту головний внесок у накопичення продуктів ПОЛ вносить модельована механічна травма, на третю і сьому доби – опік, що в цілому відповідає перебігу посттравматичного періоду при цих видах ураження. Механічна травма з кровотечею (20-22 % ОЦК) супроводжується вираженою гіпоксією, що зумовлює стрімкий стрибок у накопиченні продуктів ПОЛ, у той час, як на тлі опіку 3-7 доба – період інтенсивної резорбції із шкіри ендотоксинів, у тому числі й продуктів ПОЛ [12].

Підтвердженням цьому є наростаюче зниження у печінці на тлі опіку вільних SH-груп, в

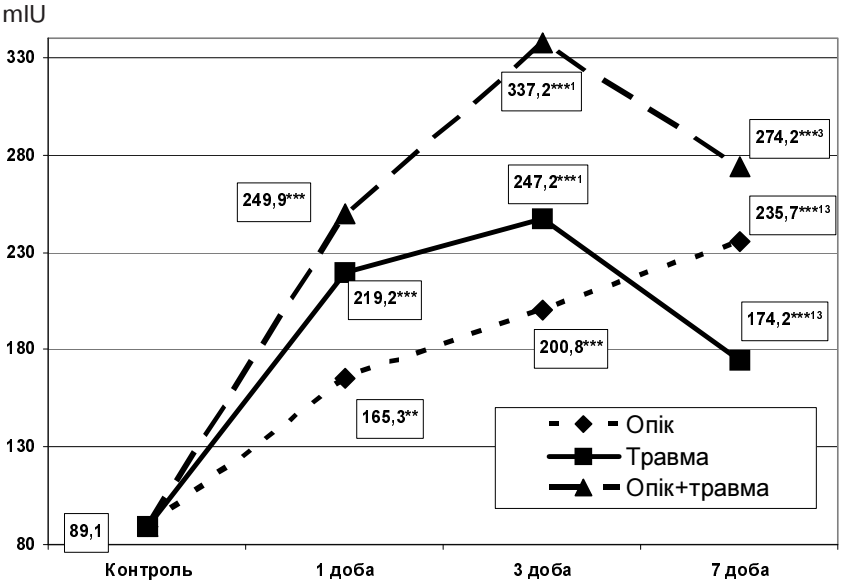

Рис. 5. Вплив комбінованої травми на ЗПА крові в ранньому посттравматичному періоді.

той час, як на тлі самої травми цей показник на 7 добу суттєво зростає. Вільні SH-групи в цих умовах, очевидно, беруть участь не тільки у знешкодженні вільних радикалів, але й у нейтралізації ендотоксинів шляхом утворення парних сполук [3]. На тлі комбінованої травми виснаження даного компонента антиоксидантної системи є більш вираженим.

В ґенезі вільнорадикального окиснення відіграє певну роль накопичення активних форм кисню, зокрема супероксиданіонрадикалу і продукту його нейтралізації – перекису водню, про що свідчить зростання ЗПА крові. Звертає на себе увагу той факт, що активація пероксидаз крові, а отже й накопичення перекису водню на 1-3 доби є більшим після механічної травми, а на 7 добу – на тлі опіку. Активація пероксидаз крові на тлі комбінованої травми є ще більшою і спостерігається на 1-3 доби. На 7 добу показник значно знижується, що, очевидно, є ознакою виснаження цього компонента антиоксидантної системи крові. На факт декомпенсації функціональної здатності організму уражених тварин з комбінованою травмою вказує й динаміка ЦП. Дана речовина належить до гострофазових білків, які відіграють ключову роль у захисті тканин при опіках, травмах, інфекційних процесах та ін. [14, 16]. ЦП – поліваленттний окиснювач, який інактивує супероксидні аніонні радикали, що утворюються при запаленні, захищаючи тим самим біологічні мембрани. Стимуляторами їх утворення є інтерлейкіни, глюкокортикоїди, фактори росту, які належать до найпотужніших ендогенних біологічно активних субстанцій, здатних залучити наявні функціональні резерви. У наших експериментах найбільший вміст ЦП у крові відмічався на 1-3 доби на тлі комбінованої травми, проте на 7 добу його вміст у крові різко зменшувався, що, очевидно, вказує на виснаження функціональних резервів печінки щодо синтезу біологічно активних білків. Підтвердженням цьому є результати наших попередніх досліджень щодо найбільшого зниження на 7 добу при комбінованій травмі функціональної активності печінки за показниками жовчоутворювальної та жовчовидільної функції [4]. У цей термін після комбінованої травми відмічається й найбільша гибель тварин – 50 %. В сумі всі ці факти стверджують розвиток поліорганної недостатності, важливим діагностичним критерієм якої є динаміка ЦП у порівнянні з іншими показниками життєдіяльності організму, зокрема активністю вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту.

Висновки. 1. В патогенезі комбінованої травми значну роль посідає активація перекисного окиснення ліпідів та виснаження компонентів антиоксидантної системи, які настають на 3-7 доби експериментів.

2. Різке зниження вмісту у крові церулоплазміну на тлі високих рівнів первинних і вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів та виснаження компонентів антиоксидантної системи є несприятливою ознакою, яка вказує на розвиток поліорганної недостатності й супроводжується загибеллю тварин.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати ж теоретичним підґрунтям для розробки ефективних засобів корекції досліджуваної патології, що є предметом для подальших досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.

2. Веревкина И.В., Тосилкин А.И., Попова Н.А. Колориметрический метод определения SH-групп и – S-S связей в белках при помощи 5,5 – дитиобис (2-нитробензойной) кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 223–231.

3. Гріднєв О.Є. Перекисне окиснення ліпідів і печінка // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 5 (25). – С. 80–83.

4. Гудима А.А., Зятковська О.Я. Патогенетичні особливості перебігу механічної травми на тлі термічного опіку шкіри // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 43–47.

5. Ельский В.Н., Зяблицев С.В. Моделирование черепно-мозговой травмы. – Донецк: Изд-во "Новый мир", 2008. – 140 с.

6. Избранные аспекты патогенеза травматической болезни / В.Н. Ельский, В.Г. Климовицкий, С.Е. Золотухин и др. – Донецк: ООО "Лебедь", 2002. – 360 с.

7. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. — Минск: Беларусь, 2000. — 280 с.

8. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.

9. Липидная пероксидация при термальных и экстремальных состояниях / А.Я. Евтушенко, А.С. Разумов, П.С. Разумов и др. // Анестезиология и реаниматология. – 2003. – № 6. – С. 52–55.

10. Пат. на корисну модель 30028 Україна МПК 2006 G 09 B 23/00. Спосіб моделювання політравми / Т.Я. Секела, А.А. Гудима (Україна); Тернопільський мед. університет. – № U 2007 10471; Заявл. 21.09.2007; Опубл. 11.2.08; Бюл. № 3. – 4 с.

11. Попов Т., Нейковска Л. Метод определения пероксидазной активности крови // Гигиена и санитария. – 1971. – № 10. – С. 89–91.

12. Протизапальний вплив n-стеароїлетаноламіну на експериментальну опікову травму в щурів / Н.М. Гула, А.А. Чумак, А.Г. Бердишев та ін. // Укр. біохім. журн. – 2009. – Т. 81, № 2. – С. 107-116.

13. Поликарпова А.В., Перский Е.Э. Сравнительное изучение динамики перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при ожогах различной природы // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: Біологія. – 2009. – Вип. 10, № 878. – С. 40-47.

14. Al-Delaimy W.K., Jansen E.H. Reliability of biomarkers of iron status, blood lipids, oxidative stress, vitamin D, C-reactive protein and fructosamine in two Dutch cohorts // Biomarkers. – 2006. – Vol. 11(4). – P. 370–382.

15. The time course of serum malondialdehyde levels in burned humans / B. Atik, O. Tan, H. Dulger et al. // Eur. J. Gen. Med. – 2004. – Vol. 1 (1). – P. 26-27.

16. Gruys E., Toussaint M. Acute phase reaction and acute phase proteins // J. Zhejiang. Univers. Sci. B. – 2005. – Vol. 6(11). – P. 1045–1056.

17. Influence of thymus extract (TFX) on lipid peroxidation in the plasma of rats following thermal injury / A. Marciniak, E. Szpringer, K. Lutnicki, J. Beltovski // Bull. Vet. Inst. Pulawy. – 2003. – Vol. 47. – P. 231–238.

18. Nagane N.S., Bhagwat V.R., Subramanium M. Increased free radical activity in burns // Indian J. Med. Science. – 2003. – Vol. 57. – P. 7-11.

19. Regas F.C., Ehrlich H.P. Elucidating the vascular response to burns with a new rat model // J.Trauma. – 1992. – Vol. 32, № 5. – P. 557–563.

PATHOGENETIC ROLE OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN COMBINED TRAUMA

O.Ya. Ziatkovska

Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky

SUMMARY. Initiating of lipid peroxidation plays the important role in the pathogenesis of injury associated with extreme mechanical or thermal effects and their combination, as evidenced by the accumulation of primary and secondary products in post-traumatic period. Combined injury is accompanied by higher levels of lipid peroxidation starting from the third day of post-traumatic period. On the first day of the experiment modelled mechanical trauma makes the main contribution to the accumulation of lipid peroxidation products, on the third and seventh day – the burn. A sharp decrease in blood ceruloplasmin against high levels of primary and secondary products of lipid peroxidation and depletion of antioxidant components of the system is unfavorable sign indicating the development of multiple organ failure and is accompanied by loss of 50% of animals.

KEY WORDS: combined injury, lipid peroxidation, antioxidant protection, burn.