

УДК: 612.176+616.381-002+616.94

Герасимчук М.Р.

**Оксидативний стрес як пусковий чинник ушкодження органів-мішеней на ранніх етапах розвитку критичних станів**

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», м. Івано-Франківськ, Україна

e-mail: [marta\\_solomea@yahoo.com](mailto:marta_solomea@yahoo.com)

**Резюме.** Критичні стани (КС) в хірургії, незважаючи на успіх у розвитку сучасної медичної технічної та фармацевтичної бази, залишаються актуальними за рахунок високого рівня летальності. Смертність при гострому розлитому перитоніті (ГРП) становить 20–92,8%, і прямопропорційно корелює з кількістю уражених органів, залучених у патологічний процес. За умов розвитку гострої кишкової непрохідності (ГКН) різної етіології летальність досягає 15–50%, тоді як при поєднанні з сепсисом становить більше 75% і не має помітної тенденції до зниження.

Метою дослідження було визначення основних маркерів оксидативного стресу в органах-мішенях на ранніх етапах розвитку критичних станів в експерименті.

Дослідження проведено на 78 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230 г, яким було змодельовано КС: ГРП та ГКН. У тварин на 12 та 24 год визначали концентрацію показників перекисного окислення ліпідів (ПОЛ): вміст дієнових кон'югат (ДК) й активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП) у крові та гомогенатах легень і печінки; також активність сироваткової каталази (КТ) для оцінки антиоксидантного захисту (АОЗ) і лактату (ЛТ) для характеристики розвитку ендотоксемії та гіпоксичних явищ.

Встановлено, що розвиток КС супроводжується зростанням маркерів ПОЛ як в крові, так і в органах-мішенях: легень та печінці. Так, ДК у крові на 12 год і 24 год при ГРП зросли у 2,4 та 2,7 рази ( $p < 0,05$ ), а в органах мішенях відповідно у 3,2 і 4,1 рази ( $p < 0,05$ ). Тоді, як при ГКН продукція первинних продуктів ПОЛ – ДК була менш активною і зростала до 24 год експерименту у 2,6 рази ( $p < 0,05$ ) у крові, а в легнях і печінці у 1,6 і 2,3 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно. Подібною була тенденція ТБК-АП.

За умов ГРП та ГКН відзначено паралельне короткочасне збільшення активності КТ протягом перших 12-ти годин дослідження у 4,4 та 1,5 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно. Тоді як на 24-ту год каталазна активність знизилась на 39,92% ( $p < 0,05$ ), порівняно з даними на 12-ту год при ГРП та у 2,7 разів за умов відтворення ГКН. Концентрації ЛТ підвищувались більш як у тричі на 12 годину дослідження при ГРП, і на 1,2 рази при ГКН, продовжуючи наростати до 24 год: у 7,8 рази та 4,9 ( $p < 0,05$ ) рази відповідно.

Отже, в умовах ГРП та ГКН в експерименті відзначено значне порушення співвідношення у системі ПОЛ/АОЗ, яке відображалось у активації процесів ліпідної пероксидації та зниженням активності системи антиоксидантного захисту, внаслідок ушкодження основних органів дезінтоксикації: легень та печінки, що демонструє неспроможність ендогенних метаболічних та клітинних захисних механізмів.

**Ключові слова:** оксидативний стрес, критичні стани, гострий розлитий перитоніт, гостра кишкова непрохідність.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.**

Незважаючи на значний прогрес у хірургічній практиці щодо вивчення критичних станів (КС), таких як гострий розлитий перитоніт (ГРП) та гостра кишкова непрохідність (ГКН), вони все ще залишаються пріоритетними, оскільки протягом багатьох років супроводжуються високим рівнем летальності. Так, смертність при ГРП становить 20–92,8% і прямопропорційно корелює з кількістю уражених органів, залучених у патологічний процес [4, 6, 12]. Подібна залежність відзначається й за умов розвитку ГКН різної етіології, а летальність досягає 15–50%, тоді як при поєднанні з сепсисом становить більше 75% і не має помітної тенденції до зниження [7, 8, 11].

В основі патогенезу цих КС варто виділити розвиток оксидативного стресу як одного з пускових механізмів ушкодження основних органів дезінтоксикації, таких як легень, нирки та печінка. Порушення їхньої функції в подальшому можуть бути як причиною, так і наслідком ендотоксикозу. При цьому активуються імунокомпетентні клітини, які продукують величезну кількість медіаторів запалення [7]. Все

це сприяє підвищенню проникності стінки мікроциркуляторного русла вищезгаданих дезінтоксикаційних органів. Одночасно активація протеолітичної системи, накопичення біологічноактивних речовин та токсичних субстанцій призводить до подальшого підвищення рівня секреції аналогічних субстратів та прискорення розвитку декомпенсації КС. Як наслідок, порушуються респіраторні та нереспіраторні функції з прогресуючою дисфункцією легеневої та серцевої гемодинаміки, розвивається гепато-ренальна недостатність [2, 8].

Наведені факти свідчать про недостатні знання та розуміння патогенетичних механізмів ушкодження органів-мішеней за умов розвитку критичних станів, зокрема ГРП та ГКН, що є визначальним у більш детальному їх вивченні.

**Метою роботи** було визначення основних маркерів оксидативного стресу в органах-мішенях на ранніх етапах розвитку критичних станів в експерименті.

**Матеріал і методи дослідження**

Дослідження проводилось на 78 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230 г, які були розділені на 5 груп: I – інтактна група тварин; II – контрольна (внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин, з розрахунку 1 мл на 100 г маси щура) для порівняння з показниками IV групи; III – контрольна (проводили лапаротомію, виводили кишечник, потім вправляли і зашивали черевну стінку) для порівняння з показниками V групи; IV – дослідна, з відтворенням ГРП (вводили 10% калову суспензію з розрахунку 1 мл на 100 г маси щура внутрішньоочеревинно); V – дослідна, з відтворенням ГКН (перев'язували сигмоподібну кишку лігатурою). Усі дослідження проводили під кетаміновим наркозом (40 мг/кг).

Забір крові для дослідження у тварин здійснювали через 12 та 24 години від початку моделювання КС. Визначали показники перекисного окислення ліпідів (ПОЛ): концентрацію дієнових кон'югат (ДК) й активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП) у крові та гомогенатах легень і печінки; також активність сироваткової каталази (КТ) для оцінки антиоксидантного захисту (АОЗ) і лактату (ЛТ) для характеристики розвитку ендогенної інтоксикації (ЕІ) та гіпоксичних явищ.

Статистичну обробку матеріалу проводили за допомогою критеріїв непараметричної статистики (Вілкоксона та Sign-тесту) з використанням програми “StatSoft/ Statistica 7.0”. Результати вважалися вірогідними, якщо коефіцієнт вірогідності був меншим, або дорівнював  $p < 0,05$ , що є загальноприйнятим у медико-біологічних дослідженнях.

**Результати дослідження та їх обговорення**

У результаті проведеного дослідження було встановлено, що у IV групі на 12 год експерименту концентрація первинних продуктів ПОЛ – ДК (рис. 1) зросла більш як у 2,4 рази, порівняно з контрольними тваринами, і становила  $1,04 \pm 0,03$  ум.од. ( $p < 0,05$ ), продовжуючи наростати до 24-ої год, сягнувши  $1,18 \pm 0,01$  ум.од. ( $p < 0,05$ ), що у 2,7 разів перевищувало контрольні значення. В органах-мішенях була подібна тенденція, так у гомогенатах легень і печінки концентрація ДК до 24 год дослідження зросла відповідно у 3,2 і 4,1 рази ( $p < 0,05$ ). Тоді, як у V групі продукція первинних продуктів ПОЛ – ДК, була менш активною і зростала до 24 год експерименту у 2,6 разів ( $p < 0,05$ ) у крові, а в легнях і печінці у 1,6 і 2,3 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно.

При цьому, ТБК-АП, як і ДК, у IV дослідній групі наростали, з максимальними значеннями на 24-ту год, достовірно перевищували показники контролю у 2,2 рази (рис. 2). У гомогенатах печінки та легень ТБК-АП зросли у 3,2 та 2,4 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно. Такі зміни активності ТБК-АП

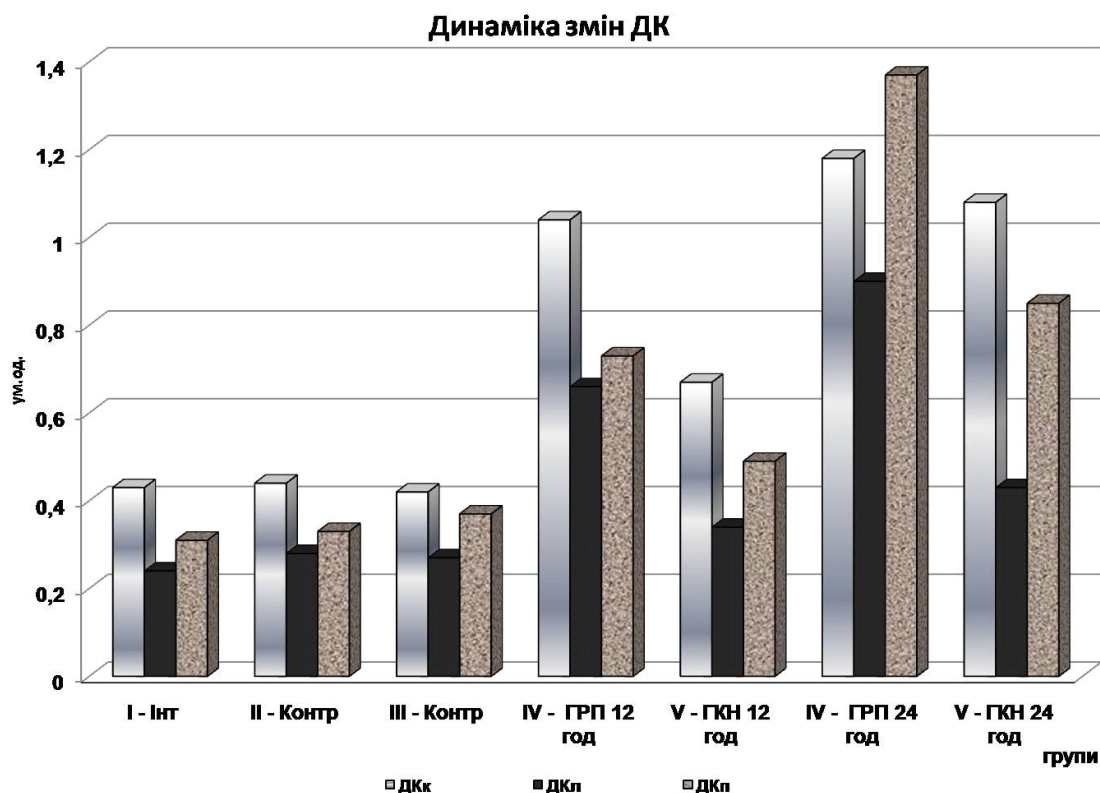


Рис. 1. Динаміка показників дієнових коньюгат

відносно їх попередників, ДК, свідчать про їхнє часткове використання організмом як енергетичних субстратів в умовах дефіциту енергії [5].

У тварин V групи з відтвореною ГКН протягом усього дослідження концентрація ТБК-АП у крові перевищувала контрольні значення, а на 24 год експерименту – у тричі ( $p < 0,05$ ). В основних органах-мішенях ТБК-АП зросли у 1,8 та 2,2 ( $p < 0,05$ ) рази, що майже удвічі перевищувало дані на 12 годину дослідження. Такі результати можуть вказувати на прорив токсинами детоксуючих бар'єрів [6, 10].

З літературних джерел відомо, що концентрація продуктів ПОЛ є результуючою від активності їхнього утворення та блокування системою АОЗ [2], значні відхилення якої зафіксовано серед показників активності ферментної ланки у щурів із експериментальними ГРП та ГКН. У IV і V групах тварин відзначено паралельне реактивне недовготривале збільшення активності КТ протягом перших 12-ти годин дослідження у 4,4 та 1,5 разів ( $p < 0,05$ ) відповідно, що говорить про розвиток компенсаторної реакції на різке зростання вільнорадикальних субстратів. Проте, уже на 24-ту год експерименту каталазна активність знизилась на 39,92% ( $p < 0,05$ ), порівняно з даними на 12-ту год при ГРП та у 2,7 рази за умов відтворення ГКН. Це вказує на виснаження синтетичних резервів даного антиоксиданту, гіпоксичних проявів, що є прогностично несприятливою ознакою [8]. Отримані дані також свідчать про накопичення в організмі гідропериксидів, перекисів зі зниженням активності системи АОЗ, у результаті пригнічення активного центру і uszkodження структури ферменту, внаслідок дії активних форм кисню, продуктів ПОЛ і системи протеїназ, яка активується при гострому запаленні [1].

Подібні до наших результатів, отримали і Н.Ю. Келіна із співавторів [3] у дослідженнях взаємозв'язку показників прота антиоксидантного статусу крові в розвитку ЕІ при розлитому перитоніті. У токсичній стадії автори відзначали до-

стовірне зниження каталази на 40,5%. К.А. Посохова з І.В.Черняшовою [4] на 24-ту год дослідження експериментального перитоніту фіксували у токсичній стадії зниження КТ на 23%, а на 48-му год у термінальній – на 41%. Такі відмінності між показниками АОЗ зазначених авторів і отриманими власними результатами можна пояснити різними методиками моделювання перитоніту, що й могло спричинити різницю в інтенсивності рівня ПОЛ та ступенем пригнічення ресурсів антиоксидантів.

Добре відомим є той факт, що при КС знижується клітинна перфузія за рахунок розладів мікроциркуляції, чутливим маркером якої є лактат плазми [10]. Варто відзначити більш як трикратне підвищення концентрації ЛТ на 12 годину дослідження у IV групі, а у V – в 1,2 рази, з подальшим наростанням до 24 год експерименту. Це підтверджує порушення клітинної перфузії і, як наслідок, вказує на гіпоксичний стан у результаті неадекватного постачання тканин киснем. Необхідно зауважити, що за даними Daniel De Backer та колег ЛТ продукується багатьма органами, такими як шкіра, м'язи, еритроцити та лейкоцити, а також легенями, хоча і в значно меншій мірі. Проте при гіпоксії, КС (сепсис, ГРП, ГКН) за рахунок стимуляції ендотоксином, внаслідок інгібування піруват дегідрогенази, його продукція значно зростає [6, 9].

З продовженням тривалості експерименту рівень ЛТ наростав, перевищуючи результати контролю на 24 год у тварин з ГРП у 7,8 рази, а з ГКН – у 4,9 рази ( $p < 0,05$ ). Така реакція може також вказувати на залучення і посилене використання лейкоцитів, як відповідь неспецифічної клітинної ланки імунного захисту. Також їхню затримку у тканинах основних органів дезінтоксикації, внаслідок надмірної активації та секвестрації й подальшого руйнування їхніх структурних компонентів з прогресуванням загальних деструктивних явищ, що було описано в попередніх дослідженнях [10].

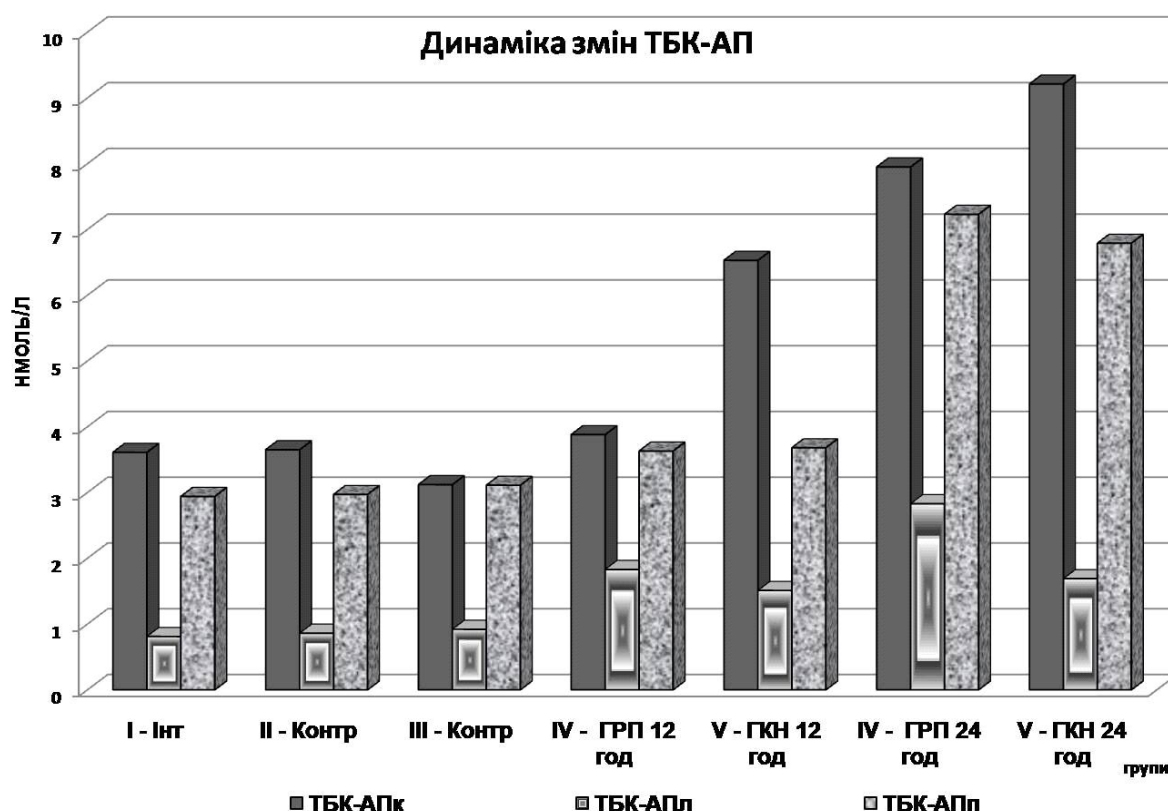


Рис. 2. Динаміка показників активних продуктів тіобарбітурової кислоти

**Висновки**

У результаті дослідження встановлено, що розвиток критичних станів організму, зумовлених різною етіологією, супроводжується прогресуючим потенціюванням оксидативного стресу. Так, в умовах гострого розлитого перитоніту та гострої кишкової непрохідності в експерименті відзначено значне порушення співвідношення у системі ПОЛ/АОЗ, яке відображалось у наростанні процесів ліпідної пероксидації та змінюю активності системи антиоксидантного захисту, для якої характерною була початкова активація та подальше пригнічення активності. Одним з базових компонентів у потенціюванні оксидативного стресу за умов експериментальних КС є ушкодження основних органів детоксикації, що демонструє неспроможність ендogenous метаболічних і клітинних захисних механізмів та вимагає пошуку ефективних шляхів підвищення функціонування протективних систем.

**Перспективи подальших досліджень**

Отримані експериментальні дані біохімічних досліджень оксидативного стресу як пускового чинника ураження органів-мішеней щурів мають не тільки теоретичне, але і практичне значення. Зокрема, ці результати можуть стати базисом тактики інтенсивної терапії пацієнтів із гострим розлитим перитонітом чи гострою кишковою непрохідністю. Також необхідно продовжувати дослідження в напрямку профілактики розвитку ушкодження основних детоксикаційних органів-мішеней, таких як печінка і легені. У подальшому отримані результати будуть використані для патогенетичного застосування препаратів з антиоксидантно-антигіпоксичною дією у комплексному лікуванні та профілактиці розвитку синдрому поліорганної дисфункції, гепаторенального синдрому, гострого легеневого ушкод-

ження.

**Література**

1. Біловол А. М. Стан процесів перекисного окислення ліпідів та окисної модифікації білків у хворих на псоріатичну хворобу / А. М. Біловол // Ліки України плюс. – 2010. – № 1. – С. 27–29.
2. Жукова А. А. Динаміка измененний протеиназ-ингибиторной и окислительно-антиоксидантной систем при реперфузионном синдроме, осложненном кровопотерей / А. А. Жукова, А. В. Кубышкин, В. З. Харченко // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 3, ч. 1 (59). – С. 127–130.
3. Келина Н. Ю. Взаимосвязи параметров антиоксидантного и оксидантного статуса крови в развитии эндотоксикоза при разлитом перитоните в токсической стадии // Н. Ю. Келина, Л. Г. Шикунова, В. Г. Васильков, Н. В. Безручко // Вестник интенсивной терапии. – 2003. – № 5. – С. 90–92.
4. Посохова К. А. Вплив глутаргіну на стан печінки при гострому перитоніті / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 1. – С. 102–107.
5. Семкович Я. В. Маркери диференційної діагностики та принцип лікування ускладненої пневмонії у дітей раннього віку / Я. В. Семкович // Перинатология и педиатрия. – 2011. – № 4 (48). – С. 83–86.
6. Colon Ascendens Stent Peritonitis Model Of Sepsis Adopted To The Rat: Physiological, Microcirculatory And Laboratory Changes / Martina Katja Lustig, Vo Hoai Bac, Dragan Pavlovic [et al.] // SHOCK. – 2007. – Vol. 28, No. 1. – P. 59–64.
7. Differential effects of antibiotics in combination with G-CSF on survival and polymorphonuclear granulocyte cell functions in septic rats / Artur Bauhofer, Markus Huttel, Wilfried Lorenz [et al.] // BMC Infectious Diseases. – 2008. – № 8. – P. 55–65.
8. Gerasymchuk M.R. Place of endogenous intoxication at an early stage of development of the critical states of various etiologies / M.R. Gerasymchuk, I.P. Klishch, N.Ya. Varnava // МНО "Inter-Medical". – 2015. – № 3 (9). – P. 21–24.
9. Gerasymchuk M.R. Role of endogenous intoxication in the lung

injury development during experimental diabetes mellitus / Gerasymchuk M.R., Kishchuk B.M., Zayats L.M., Cherkasova V.V. // *Clinical Pharmacy*. – 2013. – Vol.17, No.4. – P. 48–51.

10. Gerasymchuk M.R. The role of endogenous intoxication and neutrophils in mechanisms of acute lung injury in case of experimental peritonitis / M.R. Gerasymchuk, L.M. Zayats, V.V. Cherkasova // *Вестник КазНМУ*. – 2013. – № 5. – С. 76–80.

11. Luiz F. Poli-de-Figueiredo. Experimental models of sepsis and their clinical relevance / Luiz F. Poli-de-Figueiredo, Alejandra G. Garrido, Naomi Nakagawa, Paulina Sannomiya // *SHOCK*. – 2008. – Vol. 30, Suppl. 1. – P. 53–59.

12. Peritoneal Resorption Capacity for Lipopolysaccharide and Interleukin-6 in Acute Zymosan-Induced Chemical Peritonitis / F. C. Torab, F. M. Abu-Zidan, S. Al-Salam [et al.] // *Eur. Surg. Res.* – 2011. – № 46. – P. 127–132.

*Герасимчук М.Р.*

**Оксидативный стресс как пусковой фактор повреждения органов-мишеней на ранних этапах развития критического состояния**

ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет»,

г. Ивано-Франковск, Украина

e-mail: [marta\\_solomea@yahoo.com](mailto:marta_solomea@yahoo.com)

**Резюме.** Критические состояния (КС) в хирургии, несмотря на успех в развитии современной медицинской технической и фармацевтической базы, остаются актуальными за счет высокого уровня летальности. Смертность при остром разлитом перитоните (ОРП) составляет 20-92,8%, и прямо пропорционально коррелирует с количеством пораженных органов, вовлеченных в патологический процесс. В условиях развития острой кишечной непроходимости (ОКН) различной этиологии летальность достигает 15-50%, тогда как при сочетании с сепсисом составляет более 75% и не имеет заметной тенденции к снижению.

Целью исследования было определение основных маркеров оксидативного стресса в органах-мишенях на ранних этапах развития критических состояний в эксперименте.

Исследование проведено на 78 белых крысах линии Вистар массой 180-230 г, которым была смоделирована КС: ОРП и ОКН. У животных на 12 и 24 ч определяли концентрацию показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ): содержание диеновых конъюгат (ДК) и активных продуктов тиобарбитуровой кислоты (ТБК-АП) в крови, гомогенатах легких и печени; также активность сывороточной каталазы (КТ) для оценки антиоксидантной защиты (АОЗ) и лактата (ЛТ) для характеристики развития эндотоксемии и гипоксических явлений.

Установлено, что развитие КС сопровождается ростом маркеров ПОЛ как в крови, так и в органах-мишенях: легких и печени. Так, ДК в крови через 12 ч и 24 ч при ОРП выросли в 2,4 и 2,7 раза ( $p < 0,05$ ), а в органах мишенях соответственно в 3,2 и 4,1 раза ( $p < 0,05$ ). Тогда, как при ОКН продукция первичных продуктов ПОЛ – ДК, была менее активной и росла к 24 ч эксперимента в 2,6 раза ( $p < 0,05$ ) в крови, а в легких и печени в 1,6 и 2,3 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно. Подобной была тенденция ТБК-АП.

В условиях ОРП и ОКН отмечено параллельное кратковременное увеличение активности КТ в течение первых 12 часов исследования в 4,4 и 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно. Тогда как через 24 ч каталазная активность снизилась на 39,92% ( $p < 0,05$ ), по сравнению с данными через 12 ч при ОРП и в 2,7 раза в условиях воспроизведения ОКН. Концентрации ЛТ повышалась более чем в три раза к 12 ч исследования при ОРП, и на 1,2 раза при ОКН, продолжая нарастать к 24 ч: в 7,8 раза и 4,9 ( $p < 0,05$ ) раза соответственно.

Итак, в условиях ОРП и ОКН в эксперименте отмечено значительное нарушение соотношения в системе ПОЛ/АОЗ, которое отражалось в активации процессов липидной пероксидации и снижении активности системы антиоксидантной защиты, в результате повреждения основных органов детоксикации: легких и печени, и демонстрирует неспособность эндогенных метаболических и клеточных защитных механизмов.

**Ключевые слова:** оксидативный стресс, критические состояния, острый разлитой перитонит, острая кишечная непроходимость.

*M.R. Gerasymchuk*

**Oxidative Stress as a Major Factor for Target Organ Damage at Early Stages of the Development of Critical States**

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

**Abstract.** Despite the success of modern medical technology and pharmaceutical base, critical states (CS) in surgery are still relevant due to high rate of mortality. The mortality rate in patients with acute diffuse peritonitis (ADP) is 20-92.8 % and is directly correlated with the number of affected organs involved into the pathological process. In case of acute intestinal obstruction (AIO) of different etiologies mortality rate reaches 15-50 %, while in combination with sepsis it constitutes 75 % having no significant tendency to decrease.

**The objective** of the research was to determine the main markers of oxidative stress in target organs at early stages of the development of critical states experimentally.

78 male Wistar rats weighing 180-230 g were used for our study. CS: ADP and AIO were induced. Indices of lipid peroxidation (LPO) were determined in 12 and 24 hours after the injections. They included the content of conjugated dienes (DC) and TBA (thiobarbituric acid) - active products in the blood, lung and liver homogenates, blood serum catalase activity (CT) to assess antioxidant protection (AOP) and lactate (LT) activity to characterize the development of endotoxemia and hypoxic events.

The development of CS was accompanied by elevated markers of lipid peroxidation in the blood as well as in target organs. In case of ADP in 12 and 24 hours the content of DC increased by 2.4 and 2.7 times ( $p < 0.05$ ) in the blood, and by 3.2 and 4.1 times ( $p < 0.05$ ) in target organs, respectively. While in case of AIO the DC - primary products of lipid peroxidation - production was less active increasing up to 24 hours of the experiment by 2.6 times ( $p < 0.05$ ) in the blood and by 1.6 and 2.3 times ( $p < 0.05$ ) in the lungs and liver, respectively. TBA- active products showed similar tendency.

In ADP and AIO there was detected parallel transient increase in CT activity during the first 12<sup>th</sup> hours of the experiment by 4.4 and 1.5 times ( $p < 0.05$ ), respectively. While in 24 hours CT activity decreased by 39.92 % ( $p < 0.05$ ) compared with the data for the 12<sup>th</sup> hour in ADP and by 2.7 times when modelling AIO. LT concentration increased more than three times in 12 hours in case of ADP, and by 1.2 times in case of AIO elevating within 24 hours by 7.8 and 4.9 times ( $p < 0.05$ ), respectively.

Thus, in ADP and AIO there was experimentally detected a significant violation of the ratio in the system LPO/AOP manifested in the activation of lipid peroxidation and decrease in the activity of antioxidant defense system as a result of the damage to major detoxification organs, such as the lungs and liver reflecting failure in endogenous metabolic and cellular defense mechanisms.

**Keywords:** oxidative stress, critical states, acute diffuse peritonitis, acute intestinal obstruction.

Надійшла 18.05.2015 року.