

МЕДИЧНІ НАУКИ

УДК 612.015.11:616.35/46-091.8-02:616.748-089.811

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ПЕРШІ ГОДИНИ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НАКЛАДАННЯ ДЖГУТА

Волотовська Н.В.

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України

Стаття присвячена особливостям змін, що виникають на тлі накладання джгута уже в перші години після його зняття з експериментальної ділянки. Досліджували стан антиоксидантної системи, а саме: супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та відновленого глутатіону в печінці, нирках, серці та легенях. Встановлено активну відповідь усіх ланок антиоксидантного захисту, що, здебільшого, проявлялось зростанням концентрації супероксиддисмутази та протилежними змінами щодо каталази. Реакція глутатіонової антиоксидантної системи була мінливою і в кожному органі спостерігались свої особливості.

Ключові слова: Джгут, кровотеча, ішемія, механічна травма, антиоксидантний захист.

Вступ. Природні, техногенні катастрофи віддавна є причиною краш-синдрому, одним із патогенетичних проявів якого є ішемічний, зокрема – т.з. «турнікетний синдром». Саме по собі накладання джгута з лікувальною метою застосовується ще з XVII століття [1], проте існує чимало питань без відповідей щодо тривалості та умов накладання джгута в межах першої медичної допомоги в очікуванні доправлення до лікарні, перш ніж ускладнення типу пошкоджень, пов'язаних з ішемією-реперфузією (I-P), почнуть створювати проблеми [2]. Зокрема, причиною ще сильнішої кровотечі може стати неправильне застосування джгутів [3], що призводить до знекровлення зруйнованих дистальних вен або збільшення гематом, якщо вени перетиснуті під джгутом, але рух артеріальної крові не заблокований [4]. Крім цього, активне поступлення продуктів метаболізму та перекисного окиснення в загальний кровотік із ушкодженої ділянки після звільнення її від джгута саме по собі може активно впливати на знекровлений знесилений організм пораненого. Ймовірно, що процеси постішемічної реперфузії на тлі вже існуючих поранень чи травм можуть запускати додатковий ланцюг пошкоджень значно раніше за встановлені нешкідливими 2 години безпечного накладання джгута. Тим не менше, використання джгутів для припинення знекровлення кінцівок може бути першим заходом, вжитим на полі бою під обстрілом, в умовах темряви, або у випадку масових людських жертв [5, 6, 7]. Дане дослідження покликане встановити зв'язок між патологічними механізмами, що запускаються не лише на тлі кровотечі як такої, а і накладанням кровоспинного джгута, який теж може нанести шкоду або підсилити виниклі порушення в організмі.

Мета роботи – накладання джгута на проміжок часу, що регламентується як такий, що не наносить шкоди організму (2 год.) для виявлення патогенних чи саногенних реакцій, що запускаються на цьому тлі в організмі; з'ясування стану антиоксидантної системи в найближчому (через 1 годину після зняття джгута) післятурнікетному періоді.

Матеріали і методи дослідження. Експерименти виконано на нелінійних білих щурах-самцях масою 250-270 г. Тварин було поділено на наступні групи: контрольна, яких тільки вводили в тіопентало-натрієвий наркоз (40 мг/кг), 1 дослідна група (на стегно накладено джгут на 1 год., реперфузія тривала 1 год., після чого проведено забій – Д1год), 2 дослідна група (на стегно накладено джгут на 2 год., реперфузія 1 год., після чого проведено забій – Д2год), 3 дослідна група (після механічної травми стегнової кістки на протилежну нижню кінцівку накладено джгут на 2 год, реперфузія 1 год, після чого – забій – Д2годП), 4 група (змодельовано кровотечу біля 40% ОЦК, на нижню кінцівку накладено джгут на 2 год, реперфузія 1 год, далі – забій – Д2годК). Тварини виведені з експерименту шляхом тотального кровопускання з серця. Про стан системи антиоксидантного захисту внутрішніх органів дізнавались за рівнем супероксиддисмутази (СОД), каталази (Кат), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР) та відновленого глутатіону (ВГ).

Таблиця 1

Стан системи антиоксидантного захисту у 10% гомогенаті печінки

Показник	Контрольна група	Д1год	Д2год	Д2годП	Д2годК
СОД	0,150	0,658	0,547	1,026	0,714
Кат	4,44	4,84	2,95	0,84	0,81
ГР	0,580	0,580	0,554	0,153	0,275
ГП	0,089	0,055	0,087	0,044	0,076
ВГ	4,35	4,73	5,47	3,36	3,97

Примітка: Д – джгут, П – перелом стегнової кістки, К – кровотеча

Як видно з таблиці 1, рівень СОД у 10% гомогенаті печінки у всіх експериментальних групах, порівняно з контролем, виявився суттєво більшим. Так, у групах Д1год і Д2год він перевищив вихідний рівень в понад 3 р. та в понад 2,5 р. відповідно. При приєднанні перелому (Д2годП) –

майже в 6 р., а накладання джгута на тлі кровотечі призвело до зростання СОД майже в 4 р.

Що стосується Кат, то динаміка змінювалась в сторону виснаження концентрації ферменту: незначне зростання на тлі Д1год на 9%, переходило у зменшення на тлі Д2год на 33,6%, і різке падіння на тлі Д2годП і Д2годК – на понад 80% від вихідного рівня.

Таблиця 2

Стан системи антиоксидантного захисту у 10% гомогенаті нирки

Показник	Контрольна група	Д1год	Д2год	Д2годП	Д2 годК
СОД	0,464	1,659	1,265	1,487	0,737
Кат	3,10	1,29	1,87	3,15	0,8
ГР	0,151	0,171	0,176	0,161	0,162
ГП	0,168	1,147	0,300	0,089	0,055
ВГ	5,08	3,88	6,74	3,12	4,21

Динаміка активності СОД у 10% гомогенаті нирки (дані таблиці 2) була менш вираженою: зростання на тлі Д1год і Д2год приблизно в 2 р. Приєднання перелому теж стимулювало зростання СОД в 2 р. і виявилось дещо вищим, ніж на тлі кровотечі (зростання на 59%).

Щодо Кат, то її динаміка була мінливою: різке падіння вже через 1 та 2 год накладання джгута (зменшення на 58,4% та на 39,7% відповідно, і на 74,25% на тлі Д2годК. Правда, на тлі Д2годП рівень Кат в нирках залишився практично незмінним (різниця в сторону зростання на 1,6% ймовірно через найбільш виражену реакцію антиоксидантної системи в цьому періоді, за рахунок компенсаторної суттєвої активації СОД в печінці).

Таблиця 3

Стан системи антиоксидантного захисту у 10% гомогенаті серця

Показник	Контрольна група	Д1год	Д2год	Д2годП	Д2годК
СОД	0,367	1,695	1,006	0,910	0,555
Кат	2,13	1,16	2,36	2,55	1,68
ГР	0,267	0,233	0,259	0,164	0,216
ГП	0,170	0,306	0,112	0,147	0,457
ВГ	3,77	3,10	5,27	2,13	2,37

Подібною ситуація виявилась і в серці. Як видно з результатів у таблиці 3, на тлі Д1год відмічається, порівняно з контролем, зростання активності СОД в понад 3,5 рази та майже в 2 рази на тлі Д2год. Зростання активності СОД на тлі Дж2годП і Дж2годК було дещо слабшим – майже в 1,5 рази та на 51,22% відповідно.

Щодо каталази, то динаміка змін була мінливою: зниження активності на тлі Д1год на 45,53% та незначне підвищення (на 10,80%) на тлі Д2год. Підвищеною активність ферменту залишалась і на тлі Д2годП – на 19,72% порівняно з контролем, тоді як на тлі Д2годК – активність ферменту знизилась на 21,13%.

Як видно з таблиці 4, активність СОД в легенях теж виявилась підвищеною на тлі всіх видів травми: у 4,5 рази (Д1год), у 1,5 рази (Д2год), у 2 рази (Д2годП) і порівняно слабо – на 68,81% – на тлі Д2годК.

Таблиця 4

Стан системи антиоксидантного захисту у 10% гомогенаті легень

Показник	Контрольна група	Д1год	Д2год	Д2годП	Д2годК
СОД	0,311	1,762	0,812	0,982	0,525
Кат	2,69	4,64	3,83	3,43	3,63
ГР	0,276	0,259	0,302	0,166	0,179
ГП	0,187	0,224	0,162	0,070	0,069
ВГ	2,93	3,79	4,67	2,00	2,52

Рівень активності каталази у легенях, порівняно з контролем, зростав на 72,49% та на 42,38% на тлі Д1год і Д2год відповідно. На тлі Д2годП та Д2годК зростання активності було менш вираженим – на 27,51% та на 34,94%.

Щодо глутатіонової антиоксидантної системи, то, як видно з таблиць 1-4, зміни були наступними: у печінці ГР на тлі Д1год і Д2год практично не змінилась (лише на тлі другої серії було зниження на 4,48%), тоді як на тлі Д2годП – активність впала на 73,62% порівняно з контролем, а на тлі Д2годК – на 52,59%. Менш активне падіння активності ГР спостерігалось в нирках на тлі Д2годП і Д2годК – на 6,6% та на 7,3% відповідно, тоді як на тлі Д1год і Д2год зафіксовано деяке зростання – на 13% і 16,56% відповідно. Що стосується активності ГР в серці, то її рівень дещо знижувався порівняно з контролем на тлі Д1год і Д2год (зниження на 12,7% і на 3% відповідно) і більш виражено – на тлі Д2годП і Д2годК (на 38,6% та на 19,1% відповідно). У легенях активність була мінливою (зниження на 6,2% на тлі Д1год та підвищення порівняно з контролем на 9,4% на тлі Д2год), тоді як на тлі Д2годП і Д2годК суттєве зниження активності фермента – на 39,9 та на 35,1% відповідно.

Активність ГП знизилась вже в першу годину накладання джгута (Д1год) (на 38,2% порівняно з контролем) і повернулася практично до вихідного рівня на тлі Д2год (різниця з контролем в 2,24% в сторону зменшення). Більш виражені зміни зафіксовано на тлі Д2годП і Д2годК, коли активність ферменту впала на 50,56% і 14,6% відповідно. Подібна картина спостерігалась і в гомогенаті нирки – зниження активності ГП на тлі Д1год, Д2годП і Д2годК на 12,5%, 47,02% і 67,26% відповідно, за виключенням серії Д2год, коли активність зросла на 78,57% відповідно. Що стосується активності ферменту в серці, то спочатку вона зросла на тлі Д1год на 80%, після чого знизилась на 13,11% порівняно з контролем на тлі Д2год. Активність ГП залишалась зниженою відносно контрольного рівня і на тлі Д2годП (на 13,5%). Проте на тлі Д2годК відмічено зростання практично в 1,5 рази. У легенях, за винятком Д1год (коли активність ферменту підвищилась на 20% порівняно з контролем), активність ГР знижувалась на 13,37%, на 62,57% і на 63,10% на тлі Д2год, Дж2годП і Дж2годК відповідно.

У печінці на тлі Д1год і Д2год виявлено збільшення, порівняно з контролем, концентрації ВГ на 8,77% та на 25,75% відповідно, тоді як на тлі Дж2годП і Дж2годК активність ферменту падала на 22,76% та на 8,74%. Ідентичні, але більше виражені, зміни виявлено і в легенях – збільшення, порівняно з контролем, концентрації ВГ

на 29,35% та на 59,39% відповідно, тоді як на тлі Дж2годП і Дж2годК активність ферменту падала на 31,74% та на 14,00%. Активно, хоч і мінливо, реагувала і нирка – зниження концентрації ВГ на 23,62% на тлі Д1год та підвищення, порівняно з контролем, на 32,68% на тлі Д2год. Що стосується серій Дж2годП і Дж2годК, то вміст ВГ вже традиційно знижувався – на 38,58% та 17,13% відносно контролю. Аналогічною ситуація була і в серці – зниження концентрації ВГ на 17,78% на тлі Д1год та підвищення, порівняно з контролем, на 39,79% на тлі Д2год. Що стосується серій Дж2годП і Дж2годК, то вміст ВГ також знижувався – на 43,50% та 37,14% відносно контролю.

Висновки. Отримані результати достовірно засвідчили наявність суттєвих змін вже на тлі самого лише накладання джгута; ці зміни, порівняно з контрольною групою, наростали на тлі приєднання перелому чи кровотечі і не повертались до норми через 1 годину після зняття джгута.

Аналізуючи дані, наведені в поданих таблицях, видно, що концентрація ферментів у всіх внутрішніх органах активно змінювалась і зазнавала коливань, ґрунтовно пояснити які можна буде після отримання більш віддалених результатів експериментального накладання джгута. Зважаючи на джерела літератури, зрозуміло, що такі зміни відбувались у відповідності до наростання концентрації продуктів перекисного окиснення ліпідів, рівень якого все ж, на даному етапі досліджень, ще не призвів до критичного зниження ферментів антиоксидантної ланки.

Таким чином, дослідження показали, що вже в перші години після самого лише накладання джгута виявляється активна відповідь ферментів антиоксидантної ланки, що проявляється наростанням концентрації супероксиддисмутази та зниженням каталази на тлі мінливої реакції глутатіонової антиоксидантної системи. Накла-

дання джгута, що поєднувалось із травмою 1 ст. тяжкості (перелом стегнової кістки) чи кровотечею викликало ще більш активну відповідь ферментативної ланки антиоксидантного захисту. Найбільше активне зростання СОД зафіксоване в печінці та нирках, і децю слабше в серці та легенях. Що стосується каталази, то так само в печінці та нирках, було виявлено найбільш активне зниження її концентрації (порівняно з серцем), тоді як в легенях динаміка була мінливою.

Зміни активності ферменту глутатіонредуктази були найбільш виражені в серці і децю слабше – у легенях, але у всіх групах активність ГР знижувалась.

Практично у всіх серіях по проходженню 2 годин зафіксовано явне зниження активності глутатіонпероксидази.

Практично у всіх досліджуваних внутрішніх органах в перші години ізолюваного накладання джгута зафіксовано збільшення концентрації відновленого глутатіону, що вказує на адекватні компенсаторні властивості антиоксидантної системи, тоді як на тлі перелому та кровотечі, що супроводжувались інсталяцією джгута, рівень ВГ явно знижувався порівняно з вихідним рівнем. Найбільш активно в даному контексті реагували серце та легені.

Перспективи подальших досліджень. Отже, справді не можна вважати таким вже й безпечним накладання джгута на безперервних 2 год, особливо, якщо наявні численні поранення та переломи. Таким чином, є доцільно продовжувати дослідження із вивченням стану антиоксидантної системи у віддаленому реперфузійному періоді, а також реакцію системи перекисного окиснення ліпідів тощо. І хоча зміни активності ферментів на тлі Д2годП і Д2годК були здебільшого більш виражені, проте і ізолюване накладання джгута теж викликало зрушення антиоксидантної системи.

Список літератури:

1. Mabry RL. Tourniquet use on the battlefield. *Mil Med.* 2006;171: 352–356.
2. Джон Ф. Крех, Девід Дж. Бае, Томас Джей Уолтерс Тривале (упродовж 16 годин) застосування джгута в умовах бойового поранення: Клінічний випадок та огляд актуальної літератури Інтернет-ресурс «Проект Віктора та Олени Пінчук» 8.11.2014 <http://www.medsanbat.info/16-godinne-vikoristannya-dzhguta/>
3. Bunker TD, Ratliff AH. Uncontrollable bleeding under tourniquet. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1984;288:1905
4. Klenerman L. *The Tourniquet Manual: Principles and Practice.* New York: Springer; 2003.
5. Borden Institute (US). *Emergency War Surgery.* 3rd ed. Washington DC: Office of the Surgeon General, US Army, Borden Institute, Walter Reed Army Medical Center; 2004.
6. Butler FK Jr, Hagmann J, Butler EG. Tactical combat casualty care in special operations. *Mil Med.* 1996;161 (Suppl):3–16.
7. PHTLS: *Basic and Advanced Prehospital Trauma Life Support; Military Edition.* 5th ed. St. Louis: Elsevier Mosby; 2005.

Волотовская Н.В.

Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского
Министерства здравоохранения Украины

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ПЕРВЫЕ ЧАСЫ ПОСЛЕ НАЛОЖЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖГУТА

Аннотация

Статья посвящена особенностям изменений, возникающих на фоне наложения жгута уже в первые часы после его снятия с экспериментального участка. Исследовали состояние антиоксидантной системы, а именно: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы и восстановленного глутатиона в печени, почках, сердце и легких. В результате зафиксирован активный ответ всех звеньев антиоксидантной защиты, что, в основном, проявлялось увеличением концентрации супероксиддисмутазы и противоположными изменениями в отношении каталазы. Реакция глутатионовой антиоксидантной системы была изменчивой, и в каждом органе наблюдались свои особенности.

Ключевые слова: Жгут, кровотечение, ишемия, механическая травма, антиоксидантная защита.

Volotovska N.V.

Ternopil State Medical University named after I.Ya. Gorbachevskogo
Ministry of Health of Ukraine

CHANGES IN THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT SYSTEM AT THE FIRST HOURS AFTER THE IMPOSITION OF AN EXPERIMENTAL TOURNIQUET

Summary

The article is devoted to peculiarities of the changes arising on the background of the tourniquet in the first hours after its removal from the experimental area. We explored the status of antioxidant systems, namely superoxidedismutase, catalase, glutathionereductase, glutathioneperoxidase and reduced glutathione in the liver, kidney, heart and lungs. As result an active response of all the links of antioxidant protection, which mainly manifested by the increase in the concentration of superoxidedismutase and the decrease of the catalase concentration were found. The reaction of glutathion antioxidant system was unstable and in each organ its peculiarities were observed.

Keywords: tourniquet, bleeding, ischemia, mechanical trauma, antioxidant protection.