

СТАН ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ЗМІНИ МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ У ПОТЕРПІЛИХ З ХОЛОДОВОЮ ТРАВМОЮ

Г.П.Хитрий

Українська військово-медична академія
Київ, Україна

При вивченні стану оксидантно-антиоксидантної системи та метаболітів оксиду азоту у хворих з холодовою травмою було встановлено підвищення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів, S-нітрозотіолів, суми нітритів/нітратів і зниження активності супероксиддисмутази. При використанні корвітину відмічалось зниження продуктів перекисного окиснення ліпідів і метаболітів NO, а також збільшення супероксиддисмутази, що свідчить про наявність антиоксидантних і ангіопротекторних властивостей даного біофлавоноїду.

Ключові слова: *холодова травма, корвітин, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, оксид азоту.*

Вступ

Як відомо, внаслідок переохолодження відбувається надмірна ініціація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що надалі на тлі зниження функціональної активності антиоксидантної системи (АОС) захисту організму створює умови для розвитку окисного стресу [1-3]. В умовах розвитку будь-якого екстремального стану, включаючи холодову травму, в патогенезі якої має місце стрес, порушується співвідношення оксид азоту — ендотелін у напрямі збільшення долі останнього, що призводить вже до вторинної ішемії тканин та поглибленого гіпоксичного стану [4-6]. Внаслідок цього розвивається ендотеліальна дисфункція, яка проявляється відсутністю адекватної реакції судинної стінки у відповідь на подразники та регуляторні впливи [7, 8].

На сьогоднішній день відомо про позитивний вплив на функціональний стан ендотелію препаратів різних фармакологічних груп [9]. За даними літератури, для корекції порушень функціонального стану ендотелію використовують препарат кверцетин, який гальмує надмірне утворення оксиду азоту (NO) при гострих запальних захворюваннях і підвищує активність ендогенної NO-синтази в ендотеліоцитах, пригнічує апоптоз ендотеліоцитів [10, 11, 12, 13].

Метою дослідження було вивчити стан оксидантно-антиоксидантної системи та особливостей метаболізму оксиду азоту у потерпілих у гострому періоді холодової хвороби при використанні ін'єкційної форми кверцетину — корвітину.

Матеріали та методи дослідження

Нами обстежено 55 хворих з холодовою травмою (ХТ) різного ступеня тяжкості. Усі хворі були розподілені на дві групи. 1 групу (контрольну) склали 35 хворих з ХТ, яким проводилось комплексне консервативне лікування за загальними принципами. У 2 (основній) групі 20 хворих додатково отримували препарат «Корвітин» (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна; №UA/0119/01/01 від 27.11.2008 до 27.11.2013). Схема введення корвітину була наступна: препарат в дозі 0,5 г вводили відразу після госпіталізації, потім через 2 і через 12 год. Протягом другої та третьої доби корвітин вводили в дозі 0,5 г 2 рази на добу з інтервалом 12 год. При необхідності препарат призначали на 4-5-у добу в дозі 0,25 г 1 раз на добу. У потерпілих з нестабільною гемодинамікою та при внутрішній температурі тіла менше 30°C корвітин починали застосовувати при АТсист. 85 мм рт.ст. і більше та t° більше 32°C. Серед потерпілих основної групи було 17 (85,0%) чоловіків і 3 (15,0%) жінки, в контрольній — 29 (82,9%) чоловіків і 6 (17,1%) жінок. Середній вік хворих у групах склав: основна група — 48,4±13,2 року, контрольна — 47,6±14,1 роки. За ступенем гіпотермії потерпілі розподілились наступним чином: помірний ступінь — 5 (25,0%) пацієнтів основної групи і 9 (25,7%) пацієнтів контрольної групи, середній ступінь — 9 (45,0%) хворих основної групи та 16 (45,7%) хворих контрольної групи; тяжкий ступінь — 6 (30,0%) хворих основної групи та 10 (28,6%) хворих контрольної групи.

Для порівняльної оцінки було обстежено 10 практично здорових донорів у віці від 19 до 60 років, з них 7 чоловіків і 3 жінки.

Для оцінки стану оксидантно-антиоксидантної системи (ОАС) в сироватці крові вивчали вміст первинних продуктів ПОЛ — діе-

нові кон'югати (ДК, E_{220}) за методикою И.А.Волчегорского и соавт. [14], вміст кінцевих продуктів ПОЛ (основи Шиффа — E_{400}) — за методикою Е.И.Львовской и соавт. [15], рівень вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-активні продукти) — за методикою В.Б.Гаврилова и соавт. [16]. Стан системи антиоксидантного захисту оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД) [17].

Продукцію NO визначали за сумарним вмістом нітритів/нітратів у сироватці крові за допомогою реактиву Грисса (у модифікації) [18]. Концентрацію активних метаболітів NO оцінювали за вмістом S-нітрозотіолів [19].

Результати дослідження та їх обговорення

Як показали проведені дослідження, розвиток ХТ у потерпілих супроводжувався змінами показників, що характеризують стан ПОЛ і АОС. Так, у хворих основної групи на 1 добу дослідження встановлено підвищення вмісту первинних і кінцевих продуктів ПОЛ — E_{220} та E_{400} — відносно значень здорових осіб в 5,83 разу ($p < 0,05$) та 6,0 разу ($p < 0,05$) і дорівнював відповідно $4,67 \pm 0,67$ ум.од. і $0,06 \pm 0,03$ ум.од. У потерпілих контрольної групи показники E_{220} і E_{400} становили $4,050 \pm 0,470$ ум.од. і $0,06 \pm 0,07$ ум.од., що було достовірно більшим ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками здорових осіб.

Вміст вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-активні продукти) також був достовірно підвищеним в 1,45 разу ($p < 0,05$) як в основній, так і контрольній групі по відношенню до значень здорових осіб і складав, відповідно, $1,467 \pm 0,011$ мкмоль/мл і $1,469 \pm 0,012$ мкмоль/мл.

На противагу цим показникам відмічалось зниження активності СОД в сироватці периферичної крові у хворих основної та контрольної груп в 1,36 разу по відношенню до значень здорових осіб ($p < 0,05$).

При аналізі показників метаболітів NO встановлено достовірне підвищення вмісту S-нітрозотіолів і суми нітритів і нітратів в обох досліджуваних групах відносно значень здорових осіб ($p < 0,05$). При цьому дані показники статистично значимо не відрізнялися між собою в основній і контрольній групах.

На 2 добу дослідження відмічалась тенденція до підвищення показників вмісту E_{220} і ТБК-активних продуктів як в основній, так і контрольній групі по відношенню до вихідних значень при незмінних значеннях вмісту E_{400} в основній групі хворих. У контрольній групі потерпілих мало місце збільшення вмісту E_{400} у порівнянні з

попереднім етапом в 1,3 разу. При цьому дані показники значно перевищували показники здорових осіб ($p < 0,05$).

При аналізі активності СОД, показника ферментативної ланки АОС, на даному етапі дослідження відмічається недостовірне збільшення даного показника в основній групі і зменшення його в контрольній групі хворих по відношенню до попереднього етапу і складо відповідно $0,187 \pm 0,012$ од/мг білка і $0,167 \pm 0,012$ од/мг білка. При цьому визначалось достовірне збільшення показника активності СОД в основній групі в 1,12 разу ($p < 0,05$) відносно значень групи порівняння.

Аналіз показників метаболітів NO показав недостовірне зменшення вмісту S-нітрозотіолів у хворих основної групи та збільшення даного показника у хворих контрольної групи по відношенню до попереднього етапу дослідження. При порівнянні даного показника в досліджуваних групах статистичної різниці не виявлено. Однак відмічається статистично значимо меншим ($p < 0,05$) рівень суми нітритів і нітратів у потерпілих основної групи ($9,78 \pm 0,44$ нмоль/мл) по відношенню до показників контрольної групи ($11,22 \pm 0,56$). Показники метаболітів NO в обох групах хворих залишались підвищеними відносно значень здорових осіб ($p < 0,05$).

При аналізі досліджуваних показників на 3 добу дослідження відмічалось подальше зниження відносно вихідних значень первинних, вторинних і кінцевих продуктів ПОЛ у хворих основної групи. У контрольній групі хворих показники ПОЛ залишались без суттєвих змін. Разом з тим було відмічено статистично значимо менший ($p < 0,05$) рівень первинних продуктів ПОЛ (E_{220}) в основній групі ($4,233 \pm 0,382$ ум.од.) по відношенню до показників контрольної групи ($5,641 \pm 0,517$ ум.од.). Аналогічна тенденція була відмічена при аналізі ТБК-активних продуктів (вторинні продукти ПОЛ): в основній групі даний показник дорівнював $1,431 \pm 0,017$ мкмоль/мл, що було достовірно меншим ($p < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою хворих ($1,619 \pm 0,015$ мкмоль/мл).

Активність СОД на даному етапі досліджень мала тенденцію до збільшення в основній групі хворих, і відмічалось зменшення даного показника в контрольній групі. При порівнянні між досліджуваними групами показник СОД статистично значимо не відрізнявся і коливався в межах $0,198 \pm 0,011$ од/мг білка в основній групі хворих і $0,165 \pm 0,012$ од/мг білка в контрольній групі. По відношенню до показників здорових осіб ($0,253 \pm 0,021$ од/мг білка) активність СОД в обох групах залишалась меншою ($p < 0,05$).

При аналізі показників метаболітів NO відмічається зменшення вмісту S-нітрозотіолів в обох досліджуваних групах по відношенню до попереднього етапу дослідження. При цьому встановлено, що в основній групі хворих даний показник ($1,722 \pm 0,137$ нмоль/мл) статистично значимо був меншим ($p < 0,05$) по відношенню до значення в контрольній групі ($1,992 \pm 0,111$ нмоль/мл). Відмічено також подальше зниження рівня суми нітритів і нітратів в основній групі, який становив $8,66 \pm 0,53$ нмоль/мл, що є достовірно меншим в 1,3 разу ($p < 0,05$) по відношенню до значень контрольної групи ($11,28 \pm 0,67$ нмоль/мл). На даному етапі дослідження показники як вмісту S-нітрозотіолів, так і суми нітритів і нітратів в обох групах хворих залишались підвищеними відносно значень здорових осіб ($p < 0,05$).

Таким чином, у результаті проведених досліджень нами встановлено, що в обстежених хворих даних клінічних груп визначається значна активація окисних процесів, пов'язаних з утворенням продуктів ПОЛ, накопиченням продуктів метаболітів NO, які розвиваються на тлі значного дефіциту АОС. Це може служити додатковим фактором, який посилює розвиток вазоконстрикторних реакцій з ішемізацією тканин і зниженням кровотоку при ХТ, що може бути однією з основних причин розвитку ускладнень перебігу гіпотермічних ушкоджень. На думку авторів (О.М.Моисеева, Л.А.Александрова, И.В.Емельянов, 2003), в умовах вільнорадикального пошкодження і порушення синтезу СОД надмірне утворення S-нітрозотіолів і асоційованих з ними пероксинітритів, ймовірно, пов'язане з активацією NO-синтази в лейкоцитах периферичної крові, а дефіцит NO, що виникає при цьому, посилює вазоконстрикторні реакції внаслідок пошкодження ендотелію судин.

Використання корвітину в основній групі показало, що даний препарат ослаблює процеси ліпопероксидації (зниження відносно вихідних значень первинних, вторинних і кінцевих продуктів ПОЛ) та призводить до активації СОД, ферменту АОЗ. Окрім того, як показало проведене дослідження, використання корвітину в основній групі хворих супроводжується зменшенням метаболітів NO. На думку G.E.Levine et al. (1996), для усунення ендотеліальної дисфункції доцільне використання антиоксидантів.

Таким чином, застосування препарату корвітину є цілком обґрунтованим у потерпілих з ХТ, враховуючи його виражений антиоксидантний ефект, а також протизапальну, антигістамінну, мембраностабілізуючу та ангіопротекторну дію. Це сприяє попередженню

ендотеліальної дисфункції, усуненню вазоконстрикції та відновленню кровотоку в ішемізованих тканинах при ХТ.

Висновки

1. При вивченні стану оксидантно-антиоксидантного стану та метаболітів оксиду азоту у хворих з холодовою травмою було встановлено статистично значиме підвищення вмісту первинних, вторинних і кінцевих продуктів ПОЛ, S-нітрозотіолів, суми нітритів/нітратів і зниження активності СОД в обох досліджуваних групах відносно значень здорових осіб.

2. При використанні корвігину в основній групі на 2 і особли-во на 3 добу лікування відмічається достовірне зниження продуктів ПОЛ і метаболітів NO, а також збільшення СОД на відміну від групи порівняння, що свідчить про наявність антиоксидантних і ангіопротекторних властивостей цього біофлавоноїду.

Література

1. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) / І.Ф.Беленічев, Е.Л.Левицький, Ю.І.Губський [та ін.] // *Соврем. пробл. токсикологии.* — 2002. — №3. — С. 24-31.
2. Прогноз и профилактика тяжелых поражений при холодовой травме в условиях ЧС: метод. рек. — Кемерово, 2001. — 24 с.
3. Трифонов С.В. Холодовая травма: патогенез, неотложная медицинская помощь, профилактические меры / С.В.Трифонов, М.М.Авхименко, С.С.Трифорова // *Медицинская помощь.* — 2007. — №1. — С. 28-32.
4. Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях / П.П.Голиков, Н.Ю.Николаева, И.А.Гавриленко [и др.] // *Бюлл. exper. биол. и мед.* — 2000. — №7. — С. 6-9.
5. Рябов Г.А. Роль оксида азота как регулятора клеточных процессов при формировании полиорганной недостаточности / Г.А.Рябов, Ю.М.Азизов // *Анестезиол. и реаниматол.* — 2001. — №1. — С. 8-13.
6. Effects of endogenous and exogenous nitric oxide on endothelin-1 production in cultured vascular endothelial cells / N.Mitsutomi, C.Akashi, J.Odagiri, Y.Matsumura // *Eur J Pharmacol.* — 1999. — Vol. 364. — P. 65-73.
7. Корж А.Н. Современные представления о структуре, функции и биологической роли сосудистого эндотелия // *Междунар. мед. журнал.* — 2003. — №1. — С. 130-133.
8. Марков Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия // *Кардиология.* — 2005. — №12. — С. 62-72.
9. Anderson T.J. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans / T.J.Anderson // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 1999. — Vol. 34. — P. 631-638.

10. Флавоноїд кверцетин: фармакологічні властивості та клінічне використання / М.Т.Ватутін, Т.С.Гончаренко, О.В.Склянна, С.Закхама // Ліки. — 2005. — №3-4. — С. 19-27.
11. Ковалев В.Б. Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина / В.Б.Ковалев, В.В.Ковган, Е.Ю.Колчина // Укр. мед. альманах. — 1999. — Т. 2, №4. — С. 176-184.
12. Chiesi M. Inhibition of constitutive endothelial NO-synthase activity by tannin and quercetin / M.Chiesi, R.Schwaller // Biochem Pharmacol. — 1995. — Vol. 49 (4). — P. 495-501.
13. Nitric oxide (NO) scavenging and NO protecting effects of quercetin and their biological significance in vascular smooth muscle / López-López G., Moreno L., Cogolludo A. [et al.] // Mol Pharmacol. — 2004. — Vol. 65. — P. 851-859.
14. Сопоставление различных подходов к определению перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И.А.Волчегорский, А.Г.Налимов, Б.Г.Яровинский, Р.И.Лифшиц // Вопр. мед. химии. — 1989. — Т. 35, №1. — С. 127-131.
15. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов / Е.И.Львовская, И.А.Волчегорский, С.Е.Шемяков, Р.И.Лифшиц // Вопр. мед. химии. — 1991. — №4. — С. 92-94.
16. Гаврилов В.Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В.Б.Гаврилов, А.Р.Гаврилова, Л.М.Мажуль // Вопр. мед. химии. — 1987. — №1. — С. 118-122.
17. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А.Костюк, А.И.Потапович, Ж.В.Ковалева // Вопросы мед. химии — 1990. — Т. 36, №2. — С. 88-91.
18. Метельская В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В.А.Метельская, Н.Г. Гуманова // Клин. лаб. Диагностика4а. — 2005. — №6. — С. 15-18.
19. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа и S-нитрозотиолы — две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота в биосистемах / А.Ф.Ванин // Биохимия. — 1998. — Т. 63, №7. — С. 924-938.

Г.П.Хитрый. Состояние оксидантно-антиоксидантной системы и изменения метаболитов оксида азота у пострадавших с холодовой травмой. Киев, Украина.

Ключевые слова: *холодовая травма, корвитин, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, оксид азота.*

При изучении состояния оксидантно-антиоксидантной системы и метаболитов оксида азота у больных с холодовой травмой было установлено повышение содержания продуктов перекисного окисле-

ния липидов, S-нитрозотиолов, суммы нитритов/нитратов и снижение активности супероксиддисмутазы. При использовании корвитина отмечалось снижение продуктов перекисного окисления липидов и метаболитов NO, а также увеличение супероксиддисмутазы, что свидетельствует о наличии антиоксидантных и ангиопротекторных свойств данного биофлавоноида.

G.P.Khytryi. State oxidant-antioxidant system and changes of nitric oxide metabolites the victim with cold injury. Kyiv, Ukraine.

Key words: cold injury, corvitin, lipid peroxidation, antioxidant system, nitric oxide.

In the study of oxidant-antioxidant systems and nitric oxide metabolites in patients with cold injury was found elevated levels of lipid peroxidation products, S-nitrozotioliv, the amount of nitrite/nitrate and decreased activity of superoxide dismutase. Using corvitin was marked reduction in lipid peroxidation products and metabolites of NO, and increased superoxide dismutase, indicating the presence angioprotective and antioxidant properties of bioflavonoids.