

УДК 616.33–005.4/–005.1–06:612.015.11]–092.9

© А.А. Гудима, І.Я. Дзюбановський, Ю.І. Бондаренко, М.І. Антонюк
Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського**ДИНАМІКА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ НА ТЛІ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРFUZІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ШЛУНКА ТА ГОСТРО КРОВОТЕЧІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

ДИНАМІКА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ НА ТЛІ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРFUZІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ШЛУНКА ТА ГОСТРО КРОВОТЕЧІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ – У статті наведено динаміку показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у відповідь на ішемічно-реперфузійне пошкодження шлунка. Через 30 хв після реперфузії відмічається істотна активація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) із зниженням окремих компонентів антиоксидантної системи. Кровотеча в цих експериментальних умовах поглиблює інтенсивність вільнорадикального окиснення, проте супроводжується збільшенням активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту. Через 24 год після реперфузії інтенсивність ПОЛ стає більшою. Проте на тлі додатково кровотечі відмічається зниження вмісту первинних продуктів ПОЛ з одночасним значним збільшенням активності супероксиддисмутазу і каталази.

ДИНАМІКА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ І АНТИОКСИДАНТНОЇ ЗАЩИТИ НА ФОНЕ ІШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРFUZІЙНОГО ПОВРЕЖДЕННЯ ЖЕЛУДКА І ОСТРОГО КРОВОТЕЧЕННЯ В ЕКСПЕРИМЕНТЕ – В статті приведена динаміка показателів перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної захисту в ответ на ішемічески-реперфузійне пошкодження шлунка. Через 30 мин после реперфузії отмечается существенная активация перекисного окисления ліпідів со снижением отдельных компонентов антиоксидантної системи. Кровотечение в этих экспериментальных условиях углубляет интенсивность свободнорадикального окисления, однако сопровождается увеличением активности ферментативного звена антиоксидантної захисту. Через 24 часа после реперфузії интенсивность перекисного окисления ліпідів становится больше. Однако на фоне дополнительного кровотечения отмечается снижение содержания первичных продуктов перекисного окисления ліпідів с одновременным значительным увеличением активности супероксиддисмутазы и каталазы.

DYNAMICS OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION ON A BACKGROUND SCHEMIC-REPERFUSION DAMAGE OF STOMACH AND SHARP BLEEDING IN EXPERIMENT – The article shows the dynamics of indexes of lipid peroxidation and antioxidant protection is resulted in reply to the ischemic-reperfusion damage of stomach. In 30 min after reperfusion the substantial activating of lipid peroxidation is marked with the decline of separate components of the antioxidant system. Bleeding in these experimental terms deepens intensity freely radical oxidation, however accompanied the increase of activity of enzymatic link of antioxidant protection. In 24 hours after reperfusion intensity of lipid peroxidation becomes greater. However, against the background, additional bleeding declines the decreasing of primary products of lipid peroxidation is marked with the simultaneous considerable increase of activity of superoxidismutase and catalase.

Ключові слова: ішемічно-реперфузійне пошкодження шлунка, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист, гостра кровотеча.

Ключевые слова: ишемический-реперфузионный повреждение желудка, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, острое кровотечение.

Key words: ischemic-reperfusion damage of stomach, lipid peroxidation, antioxidant protection, sharp bleeding.

ВСТУП Однією з актуальних проблем сучасно хірургі є ішемічно-реперфузійне пошкодження (ІРП), які виникають у ході оперативних втручань на різних органах людського організму. Не є винятком й операції на шлунку. Хоча частота останнім часом різко зменшилася, що пов'язано із вдосконаленням консервативних методів лікування гостро пептично виразки [1], ускладнення цієї патології, зокрема кровотечі, вимагають хірургічного лікування.

В основі патогенезу ІРП шлунка лежить утворення активних форм кисню, які пошкоджують насамперед клітини слизової оболонки, що сповільнює одужання, сприяє розвитку післяопераційних ускладнень. У цих умовах накопичуються продукти перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активується антиоксидантний захист. У випадку вираженого ішемічно-реперфузійного синдрому може виникати виснаження ендогенних антиоксидантних систем.

Останніми роками запропоновано ряд експериментальних моделей ІРП шлунка, які дозволяють встановити окремі ланки патогенезу та випробувати різноманітні методи лікування та профілактики [2]. Однак характер ІРП шлунка в умовах супутньої кровотечі практично не досліджений, що може істотно модифікувати усталені підходи до його корекції.

Метою роботи стало з'ясування в експерименті динаміки ПОЛ і антиоксидантного захисту на тлі ішемічно-реперфузійного пошкодження шлунка та гострої кровотечі.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експерименти виконано на 36 нелінійних білих щурах-самцях масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. У тварин дослідних груп моделювали ІРП шлунка. Під кетаміновим наркозом (40 мг·кг⁻¹) викликали ішемію слизової оболонки шлунка шляхом накладання атравматичного затискача на а. сіїаса на 30 хв, з наступною реперфузією. У контрольній групі виконували лише лапаротомію і "фальшиве" накладання затискача [3]. Рани на черевній стінці поширено зашивали. В окремих групах тварин перед ІРП викликали кровотечу зі стегнової вени (в середньому 23,8 % від об'єму циркулюючої крові). Тварин дослідних і контрольних груп виводили з експерименту через 30 хв і 24 год після ІРП шлунка шляхом кровопускання з серця. Для дослідження забирали кров та тканину печінки. У гомогенатах печінки визначали вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів (ДК), трієнових кон'югатів (ТК) і речовин, які вступають у реакцію з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти ПОЛ) [4]. Серед показників антиоксидантного захисту в гомогенатах печінки визначали вміст SH-груп [5], активність супероксиддисмутазу (СОД) [6] та каталази (КТ) [7]. Крім цього, в сироватці крові встановлювали концентрацію церулоплазміну (ЦП) [8] та загальну пероксидазну активність (ЗПА) [9].

Одержаний цифровий матеріал обробляли методом варіаційно-статистики з використанням критерію Стьюдента [10]. Відмінності вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ Як видно з табл. 1, через 30 хв після реперфузії у дослідних тварин (група 2) істотно збільшувався вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ на 22,8 % ($p_{1,2} < 0,001$), ДК – на 70,9 % ($p_{1,2} < 0,001$), ТК – на 54,3 % ($p_{1,2} < 0,001$).

На тлі зростання вмісту продуктів ПОЛ відмічалася порушення показників антиоксидантного захисту. Так, активність СОД у гомогенаті печінки зменшувалася на 42,7 % ($p_{1,2} < 0,001$), вміст SH-груп – на 26,1 % ($p_{1,2} < 0,01$), натомість вміст ЦП у сироватці крові підвищувався на 68,7 % ($p_{1,2} < 0,001$), ЗПА крові – на 33,1 % ($p_{1,2} < 0,01$). Активність КТ у гомогенаті печінки істотно не змінювалася.

Таблиця 1. Показники перекисного окиснення та антиоксидантного захисту тварин через 30 хв після кровотечі та ішемічно-реперфузійного пошкодження шлунка ($M \pm m$)

Показник	Група 1, контроль (n=6)	Група 2, ішемія+реперфузія (n=6)	Група 3, кровотеча+ішемія+реперфузія (n=6)	$P_{1,2}$	$P_{1,3}$	$P_{2,3}$
ТБК-акт. прод. ПОЛ, мкмоль·кг ⁻¹	2,15±0,03	2,67±0,04	3,05±0,07	<0,001	<0,001	<0,001
ДК, ум.од.·г ⁻¹	0,172±0,008	0,294±0,005	0,321±0,004	<0,001	<0,001	<0,001
ТК, ум.од.·г ⁻¹	0,197±0,010	0,304±0,004	0,336±0,005	<0,001	<0,001	<0,001
СОД, ум.од.·мг ⁻¹	0,253±0,005	0,145±0,007	0,062±0,006	<0,001	<0,001	<0,001
КТ, мккат·кг ⁻¹	706,6±39,8	770,1±21,1	1069,4±84,1	>0,05	<0,01	<0,01
SH-групи, мкмоль·г ⁻¹	475,5±28,2	351,4±14,5	485,8±17,9	<0,01	>0,05	<0,001
ЦП, мг·л ⁻¹	18,2±2,1	30,7±1,6	32,0±1,1	<0,001	<0,001	>0,05
ЗПА, мкмоль·хв ⁻¹ ·л ⁻¹	167,5±13,6	223,0±5,6	346,1±14,4	<0,01	<0,001	<0,001

Примітки: тут і в інших таблицях: $p_{1,2}$ – достовірність відмінностей між показниками груп 1 і 2; $p_{1,3}$ – груп 1 і 3; $p_{2,3}$ – груп 2 і 3.

На тлі додатково кровотечі (група 3) досліджувані показники погіршувалися. Так, вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки зростав порівняно із групою 2 на 14,2 % ($p_{2,3} < 0,001$), ДК – на 9,2 % ($p_{2,3} < 0,001$), ТК – на 10,5 % ($p_{2,3} < 0,001$). Відповідно відмічалася зниження активності СОД у гомогенаті печінки (на 57,2 %, $p_{2,3} < 0,001$), підвищення активності КТ у гомогенаті печінки (на 38,9 %, $p_{2,3} < 0,01$) та ЗПА крові (на 55,2 %, $p_{2,3} < 0,001$). Вміст SH-груп у гомогенаті печінки не зазнавав відхилень і знаходився на рівні контрольних тварин, у той час, як вміст ЦП у сироватці крові був підвищеним (на 75,8 % порівняно із контрольною групою, $p_{1,2} < 0,001$) та статистично достовірно не відрізнявся від групи 2.

Дослідження ішемічно-реперфузійних змін через 24 год після ураження показало (табл. 2), що вміст у гомогенаті печінки ТБК-активних продуктів ПОЛ зростав на 45,2 % ($p_{1,2} < 0,001$), ДК – у 2,3 раза ($p_{1,2} < 0,01$), ТК – у 2,1 раза ($p_{1,2} < 0,01$). Активності СОД, КА у гомогенаті печінки і ЗПА крові підвищувалися (відповідно на 109,5, 65,4 і 95,6 %, $p_{1,2} < 0,001$). Вміст вільних SH-груп у гомогенаті печінки не змінювався, в той час як концентрація ЦП у сироватці крові знижувалася (на 17,6 %, $p_{1,2} < 0,001$).

На тлі додатково кровотечі відмічалася тенденція до більшого накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ порівняно із групою 2 (на 27,5 %, $p_{2,3} < 0,10$).

Таблиця 2. Показники перекисного окиснення та антиоксидантного захисту тварин через 24 год після кровотечі та ішемічно-реперфузійного пошкодження шлунка ($M \pm m$)

Показник	Група 1, контроль (n=6)	Група 2, ішемія+реперфузія (n=6)	Група 3, кровотеча+ішемія+реперфузія (n=6)	$P_{1,2}$	$P_{1,3}$	$P_{2,3}$
ТБК-акт. прод. ПОЛ, мкмоль·кг ⁻¹	2,28±0,07	3,31±0,13	4,22±0,39	<0,001	<0,001	<0,10
ДК, ум.од.·г ⁻¹	0,176±0,005	0,417±0,059	0,273±0,010	<0,01	<0,001	<0,05
ТК, ум.од.·г ⁻¹	0,201±0,007	0,415±0,053	0,271±0,010	<0,01	<0,001	<0,05
СОД, ум.од.·мг ⁻¹	0,263±0,004	0,551±0,017	0,897±0,067	<0,001	<0,001	<0,001
КТ, мккат·кг ⁻¹	720,8±56,9	1192,4±47,8	1697,5±61,4	<0,001	<0,001	<0,001
SH-групи, мкмоль·г ⁻¹	462,5±24,0	395,8±33,7	343,8±9,9	>0,05	<0,01	>0,05
ЦП, мг·л ⁻¹	16,5±0,5	13,6±0,2	16,6±0,6	<0,001	>0,05	<0,001
ЗПА, мкмоль·хв ⁻¹ ·л ⁻¹	176,6±19,6	345,4±10,4	174,7±13,3	<0,001	>0,05	<0,001

Вміст ДК і ТК підвищувався менш інтенсивно, проте істотно перевищував контрольну групу ($p_{1,3} < 0,001$) й виявився статистично достовірно меншим порівняно із групою 2 (відповідно на 34,5 і 34,7 %, $p_{2,3} < 0,05$). У гомогенаті печінки спостерігалася більше зростання актив-

ності СОД і КТ (відповідно на 62,7 і 42,4 %, $p_{2,3} < 0,001$). ЗПА крові знаходилася на рівні контрольних тварин, що виявилось на 49,4 % меншим, ніж у групі 2 ($p_{2,3} < 0,001$). Вміст SH-груп, навпаки, знижувався і порівняно з контрольною групою був на 25,6 % меншим ($p_{1,3} < 0,01$).

Таким чином, ІРП шлунка вже через 30 хв супроводжується накопиченням первинних і вторинних продуктів ПОЛ у печінці та зниженням активності СОД, вмісту вільних SH-груп у гомогенатах печінки із зростанням ЗПА крові та вмісту ЦП в сироватці крові. Ці результати підтверджують існуючі положення щодо пускової ролі активних форм кисню в ішемічно-реперфузійних відхиленнях. В цих умовах зниження активності СОД, очевидно, пов'язане із безпосередньою нейтралізацією, а SH-груп, крім цього, із утворенням парних сполук з токсичними метаболітами. Реакція з боку ЗПА та ЦП носить компенсаторний характер і спрямована на нейтралізацію вільних радикалів [11].

Додаткова кровотеча зумовлює аналогічні відхилення із ще більшим накопиченням продуктів ПОЛ у печінці, зниженням активності СОД у гомогенаті печінки та збільшенням активності КТ у печінці та ЗПА крові. Вміст вільних SH-груп за цих експериментальних умов не зазнавав істотних змін. Отже, кровотеча як чинник поглиблення ішемії, на тлі реперфузії супроводжується ще більшим утворенням активних форм кисню. Враховуючи кровотечу, як чинник, який зменшує кисневий вміст крові, можна припустити, що інтенсифікація утворення активних форм кисню зумовлена більшою активацією поліморфноядерних лейкоцитів на тлі ішемії та реперфузії.

Через 24 год у відповідь на ішемічно-реперфузійне ураження шлунка відмічається ще більше накопичення первинних і вторинних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки, зростання активності показників ферментативно ланки антиоксидантного захисту як у печінці, так і крові, а також зниження вмісту ЦП. Додаткова кровотеча супроводжується зменшенням вмісту первинних продуктів ПОЛ, тенденцією до накопичення вторинних продуктів ПОЛ, ще більшим зростанням активності в гомогенаті печінки СОД і КТ, зниженням вмісту вільних SH-груп. Наведені дані вказують на те, що в умовах моделі ІРП сукупність патогенних відхилень носить лавиноподібний характер і пролонгована у часі. Відмічаються фазові коливання активності компонентів антиоксидантної системи. Проте звертає на себе увагу той факт, що в цілому активація ПОЛ через 24 год на тлі кровотечі є меншою. З одного боку, це може бути пов'язане із адаптаційно-компенсаторним підвищенням активності СОД та КТ. Проте, можна припустити, що зменшення кисневої ємності крові на тлі кровотечі все ж обмежує утворення активних форм кисню.

ВИСНОВКИ 1. В умовах моделювання ішемічно-реперфузійного пошкодження шлунка вже через 30 хв відмічається істотна активація ПОЛ із виснажен-

ням СОД і SH-груп у гомогенаті печінки та збільшенням вмісту ЦП і ЗПА крові. Кровотеча в цих експериментальних умовах поглиблює інтенсивність ПОЛ, супроводжується більшим зниженням активності СОД, проте вираженою стимуляцією активності КТ у гомогенаті печінки та ЗПА крові.

2. Через 24 год після ішемічно-реперфузійних змін інтенсивність ПОЛ зростає і супроводжується активацією ферментативно ланки антиоксидантного захисту. На тлі додаткової кровотечі інтенсивність ПОЛ зменшується, проте суттєво підвищується активність СОД і КТ у гомогенаті печінки.

Отримані дані націлюють на дослідження в перспективі ефективності препаратів, які володіють антиоксидантними властивостями та модифікують активність поліморфноядерних лейкоцитів з метою профілактики ішемічно-реперфузійних змін у слизовій шлунка.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Маев И.В. Современные стандарты лечения кислотозависимых заболеваний, ассоциированных с *H. pylori* (материалы консенсуса Маастрихт-3) / И.В. Маев, А.А. Самсонов // Гастроэнтерология. – 2006. – Т. 8, № 1.
2. Влияние сурфалата на повреждение слизистой желудка при ишемии с последующей реперфузией / Я. Мойжис, А. Когут, Л. Мирошай [и др.] // Словакфарма ревю. – 1995. – Т. 2. – С. 52-55.
3. Andrews F.J. Sequence of gastric mucosal injury following ischemia and reperfusion. Role of reactive oxygen metabolites / F.J. Andrews, C. Malcontenti, P.E. O'Brien // Dig. Dis. Sci. – 1992. – Vol. 37. – P. 1356-1361.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.
5. Колб В.Г. Справочник по клинической химии / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
6. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.
7. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
8. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
9. Попов Т. Метод определения пероксидазной активности крови / Т. Попов, Л. Нейковска // Гигиена и санитария. – 1971. – № 10. – С. 89-91.
10. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М. : Высш. школа, 1990. ? 352 с.
11. Ельський В.Н. Патолофізіологія, діагностика і інтенсивна терапія тяжелій черепно-мозгової травми / В.Н. Ельський, А.М. Кардаш, Г.А. Городник / Под ред. В.И. Черниа. – Донецк : Новый мир, 2004. – 200 с.

Отримано 09.05.10