

©Н. В. Волотовська, А. Ю. Годована, А. А. Гудима

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУРНИКЕТА НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ВНУТРІШНІХ ОРГАНАХ ЩУРА

Резюме. Кровотеча (К), що додатково ускладнюється ішемізуючим впливом кровоспинного джгута (Дж), активує пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ). Останнє за звичайних умов, не маючи системного патологічного впливу, може набирати розмаху, створюючи передумови до запуску синдрому системної запальної відповіді та розвитку синдрому поліорганної недостатності.

Мета дослідження – вивчити стан ПОЛ у печінці, нирках, легенях та серці в патогенезі експериментальної ішемії-реперфузії (EIP) у періоді гострої реакції на кровотечу та періоді ранніх проявів травматичної хвороби і порівняти зі змінами, що виникають на тлі ізольованої ішемії-реперфузії (Дж).

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження стали 140 білих щурів-самців, яких поділили на 3 групи. Тварини контрольної групи були виведені з експерименту без оперативних втручань, тоді як у дослідних групах було змодельовано: накладання кровоспинного джгута на стегно (Дж) протягом двох годин; ізольовану кровотрату зі стегової вени (40 %) (К); двогодинну ішемію, поєднану з кровотратою (Дж+К). Забій проводили на 1; 3; 7 та 14 доби після травми.

Результати досліджень та їх обговорення. Усі види експериментального втручання – ізольована кровотеча, ізольований турнікет та кровотеча, поєднана із кровоспинним джгутом, викликали достовірну за показниками активацію ПОЛ в усіх досліджуваних внутрішніх органах за рахунок гіперпродукції малонового діальдегіду (МДА), дієнових та трієнових кон'югатів.

Висновки. Отримані результати експериментів засвідчили суттєву активацію пероксидного окиснення ліпідів – у печінці й дещо слабше виражену – в нирках, серці та легенях. При цьому ізольоване накладання кровоспинного джгута запустило активацію ПОЛ, найвираженішу, аналогічно, в печінці. Показники групи Дж залишалися достовірно підвищеними, порівняно з початковим рівнем навіть на 14 добу, хоча і не так маніфестовано, як на тлі К та Дж+К.

Ключові слова: ішемія; кровотеча; травма; пероксидне окиснення ліпідів.

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 застосовують ще з XVII ст. [1], проте існує чимало питань без відповідей щодо тривалості та умов його накладання в межах першої медичної допомоги в очікуванні транспортування до лікарні, перш ніж ускладнення, пов'язані з ішемією-реперфузією (I-P), почнуть розвиватися [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]. За даними літератури, кровотеча різного генезу здатна посилювати пероксидне окиснення ліпідів [5–7]. Крім цього, активне надходження продуктів метаболізму та пероксидного окиснення в загальний кровотік з uszkodженої ділянки після звільнення її від джгута може активно впливати на знекровлений та знесилений організм пораненого. Ймовірно, що процеси постішемічної реперфузії на тлі поранень чи травм, які вже існують, можуть запускати додатковий ланцюг uszkodжень значно швидше від встановлених нешкідливих 2 год 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 [8–10]. У літературі простежується інформація і про надмірно тривале застосування джгута в умовах кровотечі, що не призвело до тяжких наслідків [11]; але це є позитивний виняток за сприятливого збігу обставин, таких, як низька температура довкілля, локалізація ураження і незначна кровотрата на тлі вчасно наданого обсягу допомоги. У даному дослідженні показано зв'язок між патологічними механізмами, що запускаються не лише на тлі

кровотечі як такої, а й накладанням кровоспинного джгута, який теж може нанести шкоду або підсилити порушення, що виникли в організмі.

Метою дослідження було вивчити стан ПОЛ у печінці, нирках, легенях та серці в патогенезі експериментальної ішемії-реперфузії (EIP) у періоді гострої реакції на кровотечу та періоді ранніх проявів травматичної хвороби і порівняти зі змінами, що виникають на тлі ізольованої ішемії-реперфузії (Дж).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ В експерименті використано 140 нелінійних білих щурів-самців масою 220–240 г. Їх поділили на 3 групи по 10 тварин в кожній. Тварини контрольної групи були виведені з дослідження без оперативних втручань, тоді як у дослідних групах було змодельовано такі травми: накладання кровоспинного джгута на стегно на 2 год (Дж); ізольовану кровотрату зі стегової вени (40 %) (К); двогодинну ішемію за допомогою джгута, поєднану з кровотратою (Дж+К). Тварин виводили з експерименту на 1; 3; 7 та 14 доби після втручань шляхом тотального кровопускання з серця. Концентрацію малонового діальдегіду (МДА) визначали за методом, базованим на реакції з тіобарбітуровою кислотою, описаним в книзі Ю. А. Владимірова “Перекисное окисление липидов в биологических мембранах” [12]. Концентрацію дієнових та трієнових кон'югатів (ДК, ТК) визначали за методом, описаним у статті “Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах” [13], який ґрунтується на тому, що екстраговані гептан-ізопропіловою сумішшю гідроперекиси мають відповідний максимум поглинання: ДК і ТК при довжині хвилі 232 нм. Статистичну обробку здійснено за методом Стьюдента; статистично достовірними вважали результати, для яких $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Як видно з таблиці 1, в печінці на всіх етапах забору матеріалу – на 1; 3; 7 та 14 доби – рівень МДА був по-

Таблиця 1. Динаміка малонового діальдегіду в 10 % гомогенатах внутрішніх органів в умовах експериментальної ішемії-реперфузії (M±m)

Показник	Група	Контроль (n=20)	Доба посттравматичного періоду			
			1 (n=30)	3 (n=30)	7 (n=30)	14 (n=30)
Печінка	Ізольована ішемія-реперфузія	1,863±0,04	8,157±0,02	8,760±0,01	8,883±0,05	4,375±0,02
	Ізольована кровотеча		10,440±0,05	9,467±0,05	8,357±0,05	7,555±0,05
	Ішемія-реперфузія+кровотеча		5,310±0,05	10,220±0,05	6,633±0,05	9,133±0,04
p			≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05
Нирки	Ізольована ішемія-реперфузія	1,693±0,03	6,388±0,01	6,815±0,01	6,310±0,07	3,153±0,01
	Ізольована кровотеча		9,500±0,05	7,373±0,05	6,500±0,05	7,330±0,05
	Ішемія-реперфузія+кровотеча		3,440±0,05	9,390±0,05	5,973±0,04	7,107±0,02
p			≤0,05	≤0,05	≤0,05	<0,05
Серце	Ізольована ішемія-реперфузія	1,913±0,05	4,087±0,03	4,791±0,01	5,120±0,06	3,170±0,03
	Ізольована кровотеча		5,397±0,05	5,273±0,02	7,197±0,05	6,125±0,05
	Ішемія-реперфузія+кровотеча		2,935±0,05	6,360±0,05	4,587±0,03	5,420±0,05
p			≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05
Легені	Ізольована ішемія-реперфузія	1,590±0,02	4,603±0,08	5,253±0,002	4,220±0,01	3,117±0,02
	Ізольована кровотеча		8,667±0,05	4,960±0,05	8,147±0,05	7,670±0,05
	Ішемія-реперфузія+кровотеча		3,225±0,05	6,660±0,05	5,793±0,05	5,117±0,05
p			≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05

стійно суттєво і різною мірою підвищенням, порівняно з контрольною групою; середні показники – в 3–4 рази. І тільки на тлі Дж на 14 добу відзначено зниження концентрації цього показника, коли він перевищив початковий рівень лише в 2,3 рази. При цьому на тлі К та Дж+К показник залишався збільшеним у 4,1 та 4,9 рази відповідно.

У нирках, якщо порівнювати концентрацію між групами, найактивніше наростала концентрація МДА на тлі ізольованих Дж та К на 1 добу. Проте вже з 3 доби рівень МДА на тлі Дж+К перевищив початковий рівень у 7,6 рази, тоді як на тлі Д та К – в 4 та 4,4 рази відповідно. Отже, критичною щодо застосування джугта є 3 доба, згідно з даними, отриманими в експерименті. Далі поступово відбувалося зниження концентрації МДА на 7 та 14 доби, проте на тлі К та Дж+К показник знову зріс на 14 добу в 4,3 та 4,2 рази відповідно.

У серці на тлі К та Дж+К показник залишається підвищеним в 2,8 та 3 рази на 3, у 3,8 та 2,4 рази на 7 та в 3,2 і 2,8 рази на 14 доби, але з таким розподілом: критичний період, коли МДА досягає свого піку, для Дж+К – це 3 доба, тоді як для Дж+К – 7 доба. Критичною є 7 доба і для ізольованого Дж, коли показник перевищив початковий рівень у 2,7 рази, але на 14 добу суттєво знизився, перевищивши норму на 65,7 %. У легенях динаміка була аналогічною, пік наростання МДА на тлі ізольованого Дж виявлено на 3 добу, коли він перевищив початковий рівень у 3,3 рази, після чого поступово знижувався, збільшивши контроль на 14 добу на 8,8 %. Що стосується МДА на тлі К, то підвищення зафіксовано двічі – на 1 та 7 доби в 5,5 та 5,1 рази відповідно. На 14 добу показник залишався збільшеним у 4,8 рази. На тлі Дж+К на 3 добу рівень МДА перевищив контроль в 4,2 рази, після чого поступово знижувався, але й на 14 добу залишався вищим за початковий рівень у 3,2 рази.

На тлі ізольованого Дж рівень дієнових кон'югатів у печінці поступово зростав на тлі усього досліджуваного періоду, збільшуючи норму в 2,5; в 2,6; в 2,7 та 2,8

раза на 1; 3; 7 та 14 доби (табл. 2). Подібна динаміка була і в легенях, коли рівень перевищив початковий у 2,4; 2,6; 2,1 та 3,2 рази. У нирках суттєве збільшення відмічено на 14 добу в 2,3 рази, тоді коли на 1 та 3 доби – на 55,5 та 56,7 % відповідно. У серці на 1; 3; 7 та 14 доби рівень ДК був вищим початкового на 90 %, у 3; 2,7 та 2,5 рази відповідно. На тлі ізольованої К рівень ДК досягнув піку концентрації на 3 добу, збільшивши початковий у 5,3 рази. На 1; 7; 14 доби рівень був більшим за початковий у 3,9 та 2,6 рази. У нирках рівень ДК перевищив початковий на 76 %, у 4,6; 2,4 та 2 рази на 1; 3; 7 та 14 доби. У серці динаміка була більш вираженою, оскільки в усі досліджувані періоди рівень ДК суттєво перевищував початковий у 4,7; 4,6; 2,4 та 3,5 рази. У легенях рівень ДК перевищив початковий найбільше в 7,5; 6,6; 4,6 та 6,1 рази на 1; 3; 7 та 14 доби. На тлі кровотечі, поєднаної із джугтом, у печінці рівень ДК перевищив початковий у 2,5; 4,3; 2,6; 4,2 рази на 1; 3; 7 та 14 доби відповідно. У легенях – аналогічну динаміку, коли найвищий рівень ДК був найбільшим на 14 добу, було відзначено: підвищення ДК у 3,5; 3,3; 3; та 5,9 рази на 1; 3; 7 та 14 доби. У нирках – динаміка аналогічна, але менш виражена – у 2,3; 2,5; 2,1 та 3,5 рази. У серці – на 7 добу рівень знизився до 78 % вище похідного, тоді як на 1; 3 та 14 доби перевищив початковий у 2,4; 2,3 та 4 рази.

ВИСНОВКИ Ключовим фактором патогенезу ушкодження тканин та органів в умовах стресу, згідно з даними літератури, є активація пероксидного окиснення ліпідів. Стресом в умовах нашого експерименту виступили не лише кровотеча та кровотеча, поєднана з кровоспинним джугтом, а й ізольоване накладання джугта. Останнє, у свою чергу, привело до активації процесів ПОЛ у всіх внутрішніх органах. Максимальну концентрацію МДА та ТК виявлено в печінці на 3 добу, тоді як на тлі кровотечі, поєднаної із турнікетом, та ізольованої кровотечі – двічі, на 3 та 7 доби.

Перспективи подальших досліджень Зміни активності ПОЛ на тлі ізольованого накладання джугта необ-

Таблиця 2. Динаміка дієвних кон'югатів у 10 % гомогенатах внутрішніх органів в умовах експериментальної ішемії-реперфузії (M±m)

Показник	Група	Контроль (n=20)	Доба посттравматичного періоду			
			1 (n=30)	3 (n=30)	7 (n=30)	14 (n=30)
Печінка	Ізольована ішемія-реперфузія	1,110±0,04	2,725±0,07	2,877±0,02	2,974±0,01	3,120±0,01
	Ізольована кровотеча		4,350±0,05	5,930±0,02	2,927±0,05	2,915±0,05
	Ішемія-реперфузія+кровотеча		2,760±0,04	4,760±0,05	2,879±0,05	4,677±0,05
p			<0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05
Нирки	Ізольована ішемія-реперфузія	1,240±0,03	1,928±0,01	1,940±0,04	1,513±0,01	2,893±0,03
	Ізольована кровотеча		2,183±0,05	5,457±0,05	2,937±0,02	2,495±0,05
	Ішемія-реперфузія+кровотеча		2,900±0,05	3,143±0,05	2,559±0,05	4,287±0,02
p			<0,05	≤0,05	≤0,05	<0,05
Серце	Ізольована ішемія-реперфузія	0,910±0,03	1,731±0,01	2,726±0,005	2,471±0,01	2,240±0,03
	Ізольована кровотеча		4,253±0,03	4,230±0,04	2,203±0,03	3,210±0,04
	Ішемія-реперфузія+кровотеча		2,165±0,04	2,117±0,02	1,620±0,05	3,650±0,05
p			<0,05	<0,05	≤0,05	<0,05
Легені	Ізольована ішемія-реперфузія	0,700±0,01	1,812±0,01	1,811±0,001	1,481±0,01	2,220±0,05
	Ізольована кровотеча		5,237±0,03	4,640±0,04	3,207±0,05	4,265±0,02
	Ішемія-реперфузія+кровотеча		2,455±0,04	2,383±0,05	2,150±0,05	4,163±0,04
p			<0,05	<0,05	≤0,05	<0,05

хідно розглядати як новий фактор ймовірного впливу на стан організму після кровотечі. Подальші дослідження

мають бути спрямовані на вивчення стану організму на тлі кровотечі, поєднаної із механічними травмами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Mabry R. L. Tourniquet use on the battlefield / R. L. Mabry // *Military Medicine*. – 2006. Vol. 171 (5). – P. 352–356.
- Marx J. Rosen's emergency medicine: concepts and clinical practice e-book / John Marx, Ron Walls, Robert Hockberger. – 2014. – Vol. 1. – P. 500-511. Mode access: https://books.google.com.ua/books?id=uggC0i_jXAsC&pg=RA1-PA19&lpg=RA1-PA19&dq=Mabry+RL.+Tourniquet+use+on+the+battlefield.+Mil+Med.+2006;171&source=bl&ots=FdyPkH1Mp9&sig=Ofptgm7rGQq4ulcmHFAyv3Jj rOw&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwjekOvg_P7eAhXqAhAIHWFnDEkQ6AEwAXoE CAMQAQ#v=onepage&q=Mabry%20RL.%20Tourniquet%20use%20on%20the%20battlefield.%20Mil%20Med.%202006%3B171&f=false
- T. D. Bunker Uncontrollable bleeding under tourniquet / T. D. Bunker, A. H. Ratliff // *Br. Med. J. (Clin Res Ed)* – 1984. – Vol. 28. – P. 1905.
- Klenerman L. *The Tourniquet Manual: Principles and Practice* / L. Klenerman New York: Springer. – 2003. – 108 p.
- Дынник В. А. Особенности перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при аномальных маточных кровотечениях пубертатного периода / В. А. Дынник, Д. А. Кашкалда // [Электронный ресурс HEALTH OF WOMAN]. – 2015. – № 1(97). – С. 160–164.
- Ксейко Д. А. Процессы перекисного окисления липидов и защитная роль антиоксидантной системы в печени и эритроцитах в условиях острой кровопотери / Д. А. Ксейко, Т. П. Генинг // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 9–2. – С. 304–307; URL: <http://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=30218>.

- Хидирова Л. Д. Изменение баланса между активностью перекисного окисления липидов, антиоксидантной защитой и содержанием железа у крыс при экспериментальном инфаркте миокарда / Л. Д. Хидирова // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. – 2010. – Т. 2, № 25. – С. 216–219.
- 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.
- Butler F.K. Jr. Tactical combat casualty care in special operations / F.K. Jr Butler, J. Hagmann, Butler E.G. // *Mil Med*. – 1996. – Vol. 161(Suppl). P. 3–16.
- PHTLS: Basic and Advanced Prehospital Trauma Life Support // *Military Edition*. – 5th ed. – St. Louis: Elsevier Mosby. – 2005.
- Тривале (упродовж 16 годин) застосування джгута в умовах бойового поранення : клін. випадок та огляд актуальної літератури / Джон Ф. Крех, Девід Дж. Бае, Томас Джей Уолтерс. – Інтернет-ресурс "Проект Віктора та Олени Пінчук" 8.11.2014 <http://www.medsanbat.info/16-godinne-vikoristannya-dzhguta/>
- Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Медицина, 1972. – 252 с.
- Колесова О. Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т.Н. Федорова // *Лабораторное дело*. – 1984. – № 9. – С. 540–546.

Отримано 08.10.18

Електронна адреса для листування: 12volna@gmail.com

©N. V. Volotovska, A. Yu. Hodovana, A. A. Hudyma
I. Horbachevsky Ternopil State Medical University

INFLUENCE OF EXPERIMENTAL TOURNICET ON INTENSITY OF PEROXIDATION OF LIPIDS IN INTERNAL ORGANS OF RATS

Summary. Bleeding (B), which is further complicated by the ischemic effect of the hemostatic tourniquet (T), activates lipid peroxidation (LPO). The latter, under normal conditions without systemic pathological effects, may gain scope, creating preconditions for triggering the syndrome of the systemic inflammatory response and the development of multiple organ failure syndrome.

The aim of the study – to learn the state of LPO in internal organs such as the liver, kidneys, lungs and heart in the pathogenesis of experimental ischemia-reperfusion (EIR) in the period of acute response to bleeding and the period of early manifestations of traumatic illness and comparison with changes occurring on the background of isolated ischemia-reperfusion (T).

Materials and Methods. 140 male white rats, which were divided into 3 groups, were the object of the study. Animals of the control group were withdrawn from the experiment without surgical intervention, whereas in the experimental groups, it was simulated: the application of a hemostatic tourniquet on the thigh (T) for two hours; isolated blood loss from the femoral vein (40 %) – (B); two-hour ischemia associated with blood loss (T + B). The slaughter was have done at 1, 3, 7 and 14 days after the injury.

Results and Discussion. All types of experimental interventions – isolated hemorrhage, turnstile and bleeding, combined with a hemostatic tourniquet, caused reliable on the indices of activation of LP in all investigated internal organs due to hyperproduction of malonic dialdehyde (MDA) of diene and triene conjugates.

Conclusions. The results of the experiments revealed significant activation of lipid peroxidation – in the liver, and somewhat slower - in the kidneys, heart and lungs. At the same time, the isolated overlay of the hemostatic tourniquet triggered the activation of the LPO, most pronounced, similarly, in the liver. Indicators remained significantly higher compared to baseline levels even at 14 days, although not so pronounced as on the background of isolated bleeding and bleeding combined with a tourniquet.

Key words: ischemia; bleeding; trauma; lipid peroxidation.

©Н. В. Волотовская, А. Ю. Годована, А. А. Гудыма

ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского»

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУРНИКЕТА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ВО ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ КРЫСЫ

Резюме. Кровотечение (К), что дополнительно осложняется ишемизирующим влиянием кровоостанавливающего жгута (Ж), активирует перекисное окисление липидов (ПОЛ). Последнее в обычных условиях, не имея системного патологического воздействия, может набирать размаха, создавая предпосылки к запуску синдрома системного воспалительного ответа и развития синдрома полиорганной недостаточности.

Цель исследования – изучить состояние ПОЛ в печени, почках, легких и сердце в патогенезе экспериментальной ишемии-реперфузии (ЭИР) в периоде острой реакции на кровотечение и периоде ранних проявлений травматической болезни и сравнить с изменениями, возникающими на фоне изолированной ишемии-реперфузии (Ж).

Материалы и методы. Объектом исследования стали 140 белых крыс-самцов, которых разделили на 3 группы. Животные контрольной группы были выведены из эксперимента без оперативных вмешательств, тогда как в опытных группах было смоделировано: наложение кровоостанавливающего жгута на бедро (Ж) в течение двух часов; изолированную кровопотерю из бедренной вены (40 %) (К); двухчасовую ишемию, соединенную с кровопотерей (Ж+К). Животных выводили из эксперимента на 1; 3; 7 и 14 сутки после травмы.

Результаты исследований и их обсуждение. Все виды экспериментального вмешательства – изолированное кровотечение, турникет и кровотечение, соединенное с кровоостанавливающим жгутом, вызвали достоверную по показателям активацию ПОЛ во всех исследуемых внутренних органах за счет гиперпродукции малонового диальдегида (МДА) диеновых и триеновых конъюгатов.

Выводы. Полученные результаты экспериментов установили существенную активацию перекисного окисления липидов – в печени и несколько медленнее – в почках, сердце и легких. При этом изолированное наложение кровоостанавливающего жгута запустило активацию ПОЛ, наиболее выраженную, подобно тому, в печени. Показатели группы Ж оставались достоверно повышенными, по сравнению с исходным уровнем даже на 14 сутки, хотя и не так выражено, как на фоне К и Ж+К.

Ключевые слова: ишемия; кровотечение; травма; перекисное окисление липидов.