

РОЗВИТОК ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В СЕРЦІ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ СКЕЛЕТНОЇ ТРАВМИ

Вступ. Останнім часом значно зросла кількість людей з політравмами, але й скелетна травма залишається на часі. Для чоловіків із політравмами характерний більш високий ризик у всіх клініко-нозологічних групах порівняно з жінками. Провідною ланкою розвитку патології залишається оксидативний стрес, що впливає на розвиток серцево-судинної патології.

Мета дослідження – оцінити розвиток оксидативного стресу в гомогенаті серця щурів різної статі в різні періоди розвитку скелетної травми.

Методи дослідження. Досліди виконано на 80 безпородних щурах різної статі масою 180–220 г. Тварин поділили на 2 групи – контроль, скелетна травма. Травму щурам наносили під тіопентал-натрієвим наркозом шляхом однократного дозованого удару по правому стегну. Забій тварин проводили в контролі, через 1, 7, 14 і 28 діб після моделювання травми. Здійснювали забір серця, в гомогенаті якого визначали вміст дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів, супероксиддисмутазу і каталазу активність. Проводили морфологічне дослідження міокарда у препаратах, зафарбованих за Гейденгайном.

Результати й обговорення. У контролі в самців, порівняно із самицями, переважали продукти пероксидного окиснення ліпідів, але супероксиддисмутазна і каталазна активність була нижчою. Протягом експерименту відмічено зростання показників дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів більшою мірою у самців, при цьому супероксиддисмутазна і каталазна активність залишалася вищою в самиць.

Висновки. Розвиток оксидативного стресу в серці щурів при скелетній травмі залежить від вихідної активності антиоксидантної системи і статі. Більш виражені пошкоджувальні зміни відмічено у самців. Вища активність антиоксидантів запобігає значному пошкодженню міокарда.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пероксидне окиснення ліпідів; антиоксидантна система; серце; скелетна травма; щури різної статі.

ВСТУП. За останні місяці, у зв'язку з війною на території України, значно зросла кількість людей із поєднаними травмами. Правда, серед них вагому частку становлять пошкодження опорно-рухового апарату [1]. Відомо, що у 100 постраждалих кількість переломів різної локалізації в середньому може становити 120–130 [2]. Існує гендерна залежність у прогнозі розвитку політравми [3]. Для чоловіків із політравмами характерний більш високий ризик у всіх клініко-нозологічних групах порівняно з жінками. При зростанні кількості поєднаних пошкоджень ризик за гендерною ознакою у постраждалих із політравмою значно зменшується [3]. Здебільшого у хворих з політравмою лікують основне та супутні захворювання. При пошкодженні ж будь-якого генезу відмічають активацію процесів вільнорадикального окиснення не тільки в місці пошкодження, але й у всьому організмі.

© О. В. Денефіль, Т. Я. Ярошенко, 2022.

Мало дослідників при цьому звертає увагу на серцево-судинну систему. При травматичному пошкодженні, яке є стресовим для організму, виділяються великі дози катехоламінів, що спричинює збільшення частоти і сили серцевих скорочень, а у клітинах запускається каскад реакцій, пов'язаних із розвитком гіпоксії [4, 5]. При гіпоксії, вплив катехоламінів у організмі посилюються процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що залежить від рівня метаболізму, ступеня активації системи антиоксидантного захисту, які гальмують швидкість окисних процесів [6, 7].

Мета дослідження – оцінити розвиток оксидативного стресу в гомогенаті серця щурів різної статі в різні періоди розвитку скелетної травми.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 80 безпородних щурах різної статі масою 180–220 г. Тварин поділили на 2 групи – контроль,

скелетна травма. Щурів утримували на стандартному харчовому раціоні віварію протягом усього періоду та з вільним доступом до води для пиття. Тваринам 2-ї групи під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг·кг⁻¹) шляхом однократного дозованого удару по стегну з енергією 0,637 Дж [8] моделювали закритий перелом правої стегнової кістки.

Дослідження проводили через 1, 7, 14 і 28 діб після моделювання травми. Усім тваринам виконували гістологічне дослідження серця на рівні обох шлуночків, де було виявлено збільшення клітин у стані апоптозу порівняно з контрольною групою та незначну кількість некротизованих кардіоміоцитів у мікропрепаратах, зафарбованих за Гейденгайном. Апоптоз і некроз переважали у самців через 28 діб після нанесення травми.

Усі експерименти проводили в першій половині дня в спеціально відведеному приміщенні при температурі 18–22 °С, відносній вологості 40–60 % і освітленості 250 лк. Досліди виконано з дотриманням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України від 23.09.2009 р. № 690.

Евтаназію щурів проводили шляхом тотального кровопускання із серця після попереднього використання тіопентал-натрієвого наркозу (60 мг·кг⁻¹ маси тіла тварини внутрішньочеревно). За загальноприйнятими методиками в гомогенаті серця визначали стан пероксидного окиснення ліпідів за вмістом дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-активних продуктів (ТБК-ап) та активність антиоксидантної системи, зокрема супероксиддисмутазу (СОД) і каталазу активність [9–11].

Статистичну обробку цифрових даних виконано за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 8.0 ("Statsoft", США). Достовірність

різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали з використанням непараметричних методів. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$. Відмінності між величинами були достовірними за вірогідності альтернативної гіпотези не менше ніж 0,95 [12].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Усі тварини вижили до кінця експерименту. Відмічено активацію процесів ПОЛ у динаміці спостереження за щурами після нанесення травми (табл. 1).

Вміст продуктів ПОЛ інтенсивніше зріс у самців. Так, через 1 добу після нанесення травми рівень ДК у самців збільшився на 28,4 % ($p < 0,01$), а в самиць – на 21,4 % ($p < 0,01$). Показник був вищим у самців на 19,2 % ($p < 0,02$). Через 7 діб вміст зріс, порівняно з контролем, на 66,4 % ($p < 0,001$) у самців та на 55,3 % ($p < 0,001$) в самиць і був більшим у перших на 20,6 % ($p < 0,02$). Значення ДК у цей період було вищим порівняно з попереднім терміном дослідження: у самців – на 29,5 % ($p < 0,01$), в самиць – на 28,0 % ($p < 0,01$). Через 14 діб вміст ДК зріс, порівняно з контролем, у 2 рази ($p < 0,001$) у самців та на 91,3 % ($p < 0,001$) в самиць і був більшим у перших на 20,8 % ($p < 0,02$). Значення ДК у цей період було вищим порівняно з попереднім терміном дослідження: у самців – на 23,3 % ($p < 0,01$), в самиць – на 23,1 % ($p < 0,01$), а порівняно з 1-ю добою – відповідно, на 59,7 % ($p < 0,001$) і 57,6 % ($p < 0,001$). Через 28 діб показники ДК у самців і самиць не відрізнялися достовірно від контрольних, а також між собою. Вміст ДК був меншим, порівняно з 1-ю добою, на 22,1 % ($p < 0,01$) у самців, а в самиць не відрізнявся від контролю. Значення ДК у цей період було нижчим порівняно з попереднім терміном дослідження: у самців – на 95,1 % ($p < 0,001$), в самиць – на 82,4 % ($p < 0,001$), а порівняно із 7-ю добою – відповідно, на 58,2 % ($p < 0,001$) і 48,1 % ($p < 0,001$).

Таблиця 1 – Зміни вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті серця щурів при скелетній травмі (M±σ)

Показник	Група				
	контроль (n=8)	скелетна травма			
		1 доба (n=8)	7 діб (n=8)	14 діб (n=8)	28 діб (n=8)
Самці (n=40)					
ДК, ум. од./г	1,16±0,11	1,49±0,13*	1,93±0,17***	2,38±0,21****	1,22±0,11****
ТБК-ап, мкмоль/кг	1,75±0,15	2,13±0,21*	2,96±0,24***	3,45±0,29****	2,09±0,18****
Самиці (n=40)					
ДК, ум. од./г	1,03±0,10	1,25±0,11**	1,60±0,14****	1,97±0,18****	1,08±0,11****
ТБК-ап, мкмоль/кг	1,42±0,13**	1,71±0,15**	2,16±0,18***	2,85±0,19****	1,62±0,14****

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – різниця достовірна порівняно з контролем; ** – різниця достовірна порівняно із самцями; *** – різниця достовірна порівняно з 1-ю добою після нанесення травми; **** – різниця достовірна порівняно із 7-ю добою після нанесення травми; ***** – різниця достовірна порівняно з 14-ю добою після нанесення травми.

Вміст ТБК-ап у контролі був більшим у самців на 22,4 % ($p < 0,01$). Через 1 добу після нанесення травми у самців він зріс на 21,7 % ($p < 0,01$), а в самиць – на 20,4 % ($p < 0,01$). Показник був вищим у самців на 24,6 % ($p < 0,02$). Через 7 днів вміст зріс, порівняно з контролем, на 69,1 % ($p < 0,001$) у самців та на 52,1 % ($p < 0,001$) в самиць і був більшим у перших на 37,0 % ($p < 0,002$). Значення ТБК-ап у цей період було вищим порівняно з попереднім терміном дослідження: у самців – на 39,0 % ($p < 0,001$), в самиць – на 26,3 % ($p < 0,01$). Через 14 днів вміст ТБК-ап зріс, порівняно з контролем, на 97,1 % ($p < 0,001$) у самців та на 20,4 % ($p < 0,02$) в самиць і був більшим у перших на 21,0 % ($p < 0,02$). Значення ТБК-ап у цей період було вищим порівняно з попереднім терміном дослідження: у самців – на 16,5 % ($p < 0,05$), в самиць – на 31,9 % ($p < 0,01$), а порівняно з 1-ю добою – відповідно, на 62,0 % ($p < 0,001$) і 66,7 % ($p < 0,001$). Через 28 днів показник у самців був вищим, порівняно з контролем, на 19,4 % ($p < 0,05$), а в самиць значення ТБК-ап не відрізнялося достовірно від контролю, у самців воно було більшим на 29,0 % ($p < 0,01$). Вміст ТБК-ап у цей період не відрізнявся від показника, який було відмічено через 1 добу. Значення ТБК-ап у цей період було меншим порівняно з попереднім терміном дослідження: у самців – на 65,1 % ($p < 0,001$), в самиць – на 75,9 % ($p < 0,001$), а порівняно із 7-ю добою – відповідно, на 41,6 % ($p < 0,002$) і 33,3 % ($p < 0,002$).

Відмічено зміни й активності ензимної ланки антиоксидантів у динаміці спостереження за щурами після нанесення травми (табл. 2). Так, у контролі СОД активність була вищою у самиць, порівняно із самцями, на 36,1 % ($p < 0,002$). Каталазна активність також виявилася більшою у самиць – на 29,4 % ($p < 0,01$).

Через 1 добу після нанесення травми СОД активність у самців збільшилася на 33,3 % ($p < 0,002$), а в самиць – на 34,7 % ($p < 0,002$). Показник був вищим у самиць на 37,5 % ($p < 0,002$). Каталазна активність у самців зросла

на 41,2 % ($p < 0,001$), а в самиць – на 31,8 % ($p < 0,01$). Показник був вищим у самиць на 20,8 % ($p < 0,02$).

Через 7 днів СОД активність у самців не відрізнялася від контролю і була нижчою, порівняно з попереднім терміном дослідження, на 37,1 % ($p < 0,002$). У самиць у цей період вона була вищою від контрольного показника на 26,5 % ($p < 0,01$) і не відрізнялася від попереднього терміну дослідження. Показник був більшим у самиць на 77,1 % ($p < 0,001$). Каталазна активність у самців була вищою, порівняно з контролем, на 29,4 % ($p < 0,01$) і не відрізнялася від попереднього терміну дослідження. У самиць у цей період вона була вищою від контрольного показника на 45,4 % ($p < 0,001$) і не відрізнялася від попереднього терміну дослідження. Показник був більшим у самиць на 45,4 % ($p < 0,001$).

Через 14 днів СОД активність у самців була нижчою від контролю на 33,3 % ($p < 0,002$) і меншою, порівняно з попереднім терміном дослідження, на 29,6 % ($p < 0,01$), а порівняно з 1-ю добою – на 77,8 % ($p < 0,001$). У самиць вона не відрізнялася від контрольного показника, але була меншою, порівняно з попереднім терміном дослідження, на 31,9 % ($p < 0,01$), а порівняно з 1-ю добою – на 40,4 % ($p < 0,01$), перевищувала значення самців на 74,1 % ($p < 0,001$). Каталазна активність у самців була нижчою від контролю на 30,8 % ($p < 0,01$) і меншою, порівняно з попереднім терміном дослідження, на 69,2 % ($p < 0,001$), а порівняно з 1-ю добою – на 84,6 % ($p < 0,001$). Каталазна активність у самиць була вищою від контрольного показника на 27,3 % ($p < 0,01$), але статистично достовірно не відрізнялася від попередніх термінів дослідження, перевищувала значення самців у 2,1 рази ($p < 0,001$).

Через 28 днів СОД активність у самців була нижчою від контролю на 24,1 % ($p < 0,02$), не відрізнялася від попереднього терміну дослідження, але була меншою, порівняно з 1-ю добою, на 65,5 % ($p < 0,001$), а порівняно із 7-ю – на

Таблиця 2 – Зміни активності антиоксидантів у гомогенаті серця щурів при скелетній травмі ($M \pm \sigma$)

Показник	Група				
	контроль (n=8)	скелетна травма			
		1 доба (n=8)	7 днів (n=8)	14 днів (n=8)	28 днів (n=8)
	Самці (n=40)				
Супероксиддисмутазна активність, ум. од./мг	0,36±0,03	0,48±0,04*	0,35±0,03***	0,27±0,02*.*.*.*.*	0,29±0,02*.*.*.*.*
Каталазна активність, мкат/кг	0,17±0,01	0,24±0,02*	0,22±0,02*	0,13±0,01*.*.*.*.*	0,15±0,01*.*.*.*.*
	Самиці (n=40)				
Супероксиддисмутазна активність, ум. од./мг	0,49±0,04**	0,66±0,06*.*	0,62±0,06*.*	0,47±0,04*.*.*.*.*	0,45±0,04*.*.*.*.*
Каталазна активність, мкат/кг	0,22±0,02**	0,29±0,02*.*	0,32±0,03*.*	0,28±0,02*.*	0,24±0,02*.*.*.*.*

20,7 % ($p < 0,05$). У самиць вона не відрізнялася від контрольного показника і попереднього терміну дослідження, але була нижчою, порівняно з 1-ю добою, на 46,7 % ($p < 0,001$), а порівняно із 7-ю – на 37,8 % ($p < 0,002$), перевищувала значення самців на 55,2 % ($p < 0,001$). Каталазна активність у самців була меншою від контролю на 13,3 % ($p < 0,05$), вищою від попереднього терміну дослідження на 15,4 % ($p < 0,05$), але нижчою, порівняно з 1-ю добою, на 60,0 % ($p < 0,001$), а порівняно із 7-ю – на 46,7 % ($p < 0,001$). Каталазна активність у самиць не відрізнялася від контрольного показника, була меншою, порівняно з 1-ю добою, на 20,8 % ($p < 0,05$), порівняно із 7-ю – на 33,3 % ($p < 0,01$),

порівняно з 14-ю – на 16,7 % ($p < 0,05$), перевищувала значення самців на 55,2 % ($p < 0,001$).

Отримані дані свідчать про те, що антиоксиданти забезпечують менше пошкодження кардіоміоцитів при розвитку скелетної травми.

Одержані дані щодо змін біохімічних показників узгоджуються з даними про морфологічні зміни, які вказують на більше пошкодження кардіоміоцитів у самців.

ВИСНОВКИ. Розвиток оксидативного стресу в серці щурів при скелетній травмі залежить від вихідної активності антиоксидантної системи і статі. Більш виражені пошкоджувальні зміни відмічено у самців. Вища активність антиоксидантів запобігає значному пошкодженню міокарда.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гурьев С. Е. Скелетная травма в структуре политравмы / С. Е. Гурьев, А. И. Цвях // Травма. – 2014. – **15**, № 6. – С. 7–10.

2. Гайко Г. В. Аналіз причин і факторів, що зумовлюють смертність постраждалих із травмами опорно-рухового апарату, отриманими під час ДТП / Г. В. Гайко, Р. В. Деркач // Наука і практика: міжвідомчий мед. журн. – 2014. – № 1. – С. 82–86.

3. Цвях А. І. Аналіз клінічних результативних ризиків у постраждалих із поєднаними травмами таза / А. І. Цвях, С. О. Гур'єв // Травма. – 2015. – **16**, № 4. – С. 35–40.

4. Corcoran A. Hypoxia-inducible factor signaling mechanisms in the central nervous system / A. Corcoran, J. J. O'Connor // Acta Physiol. (Oxf). – 2013. – **208**, No. 4. – P. 298–310.

5. Mensch A. cellular stress in the pathogenesis of muscular disorders-from cause to consequence / A. Mensch, S. Zier // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – **21** (16). – P. 5830.

6. Antioxidant and cytoprotective responses to redox stress / J. Mathers, J. A. Fraser, M. McMahon [et al.] // Biochem. Soc. Symp. – 2004. – No. 71. – P. 157–176.

7. Colombo M. L. An update on vitamin E, tocopherol and tocotrienol-perspectives / M. L. Colombo // Molecules. – 2010. – **15**, No. 4. – P.2103–2113.

8. Пат. на корисну модель 81107 Україна, МПК (2006.01) G09B 23/28. Спосіб моделювання політравми / Левчук Р. Д., Михайлюк І. А., Мерлев Д. І.; заявник і патентовласник ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”. – № u 2012 13575 ; заявл. 27.11.12 ; опубл. 25.06.13, Бюл. № 12.

9. Хышиктуев Б. С. Методы определения продуктов перекисного окисления липидов в конденсате выдыхаемого воздуха и их клиническое значение / Б. С. Хышиктуев, Н. А. Хышиктуева, В. Н. Иванов // Клинич. лаб. диагностика. – 1996. – № 3. – С. 13–15.

10. 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.

11. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

12. Лалач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лалач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

REFERENCES

1. Gurjev, S.Ye. & Tzvyakh, A.I. (2014). Skeletal trauma in the structure of polytrauma. Trauma, 15 (6), 7-10 [in Russian].

2. Haiko, H.V., & Deerkach, R.V. (2014). Analysis of the causes and factors that determine the mortality of victims with injuries of the musculoskeletal system,

received during a road accident. Science and Practice: An Interdisciplinary Medical Journal, 1, 82-86 [in Ukrainian].

3. Tzvyakh, A.I. & Gurjev, S.O. (2015). Analysis of clinical outcome risks in victims with combined pelvic injuries. Trauma, 16 (4), 35-40 [in Ukrainian].

4. Corcoran, A. & O'Connor, J.J. (2013). Hypoxia-inducible factor signaling mechanisms in the central nervous system. *Acta Physiol. (Oxf)*, 208 (4), 298-310.
5. Mensch, A., & Zierz, S. (2020). Cellular stress in the pathogenesis of muscular disorders-from cause to consequence. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(16), 5830.
6. Mathers, J., Fraser, J.A., McMahon, M., Saunders, R.D., Hayes, J.D. & McLellan, L.I. (2004). Antioxidant and cytoprotective responses to redox stress. *Biochem. Soc. Symp.*, 71, 157-176.
7. Colombo, M.L. (2010). An update on vitamin E, tocopherol and tocotrienol-perspectives. *Molecules*, 15 (4), 2103-2113.
8. Levchuk, R.D., Mikhailyuk, I.A., & Merlev, D.I. Method of modeling polytrauma: Pat. on utility model 81107 Ukraine, IPC (2006.01) G09B 23/28 No. u 2012 13575; applicant and patent owner of I. Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; stated 27.11.12; publ. 25.06.13, Bull. No. 12 [in Ukrainian].
9. Khyshiktyev, B.S., Khyshiktyeva, N.A. & Ivanov V.N. (1996). Methods for determination of lipid peroxidation products in exhaled air condensate and their clinical significance. *Clinical Laboratory Diagnostic*, 3, 13-15 [in Russian].
10. Chevvari, S., Chaba, I. & Sekei, I. (1985). The role of superoxide dismutase in the oxidative processes of the cell and the method for its determination in biological materials. *Laboratory Work*, 11, 678-681 [in Russian].
11. Korolyuk, M.A., Ivaniva, L.I., Majorova, I.G. & Tokarev, V.E. (1988). Metod for determination of katalaze activity. *Laboratory Work*, 1, 16-19 [in Russian].
12. Lapach, S.N., Chubenko, A.V. & Babich, P.N. (2000). Statistical methods in biomedical research using Excel. Kyiv: Morion [in Russian].

O. V. Denefil, T. Ya. Yaroshenko

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS IN THE HEART OF DIFFERENT SEXES RATS IN THE DYNAMICS OF THE DEVELOPMENT OF SKELETAL TRAUMA

Summary

Introduction. Recently, the number of people with polytrauma has increased significantly, but skeletal trauma remains relevant. Men with polytraumas are characterized by a higher risk in all clinical and nosological groups compared to women. Oxidative stress, affecting the development of cardiovascular pathology remains the leading link in the development of pathology.

The aim of the study – to evaluate the development of oxidative stress in the heart homogenate of rats of different sexes in different periods of development of skeletal trauma.

Research Methods. Experiments were performed on 80 outbred rats of different sexes weighing 180–220 grams. Animals were divided into 2 groups – control, skeletal trauma. Trauma was performed in animals under sodium thiopental anesthesia by a single dosed blow to the right thigh. Slaughter of animals was carried out in control, 1, 7, 14 and 28 days after injury. A heart sample was taken, in the homogenate of which diene conjugates (DC), TBA-active products (TBA-ap), superoxide dismutase (SOD) and catalase activity (Cat) were determined. A morphological study of the myocardium was carried out in Heidenhain-stained preparations.

Results and Discussion. In control rats-males, compared to females, lipid peroxide oxidation products predominated, but superoxide dismutase and catalase activities were lower. During the experiment, an increase in DC and TBA-ap indicators was noted to a greater extent in males, while SOD and Cat activity remained higher in females.

Conclusion. The development of oxidative stress in the heart of rats with skeletal trauma depends on the initial activity of the antioxidant system and gender. More pronounced damaging changes were noted in males. Greater activity of antioxidants prevents significant damage to the myocardium.

KEY WORDS: lipid peroxidation; antioxidant system; heart; skeletal trauma; rats of different sexes.

Отримано 22.04.22

Адреса для листування: О. В. Денефіль, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: denefil@tdmu.edu.ua.