

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ В РАННІЙ ТА ПІЗНІЙ ПЕРІОДИ ПІСЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ПОЛІТРАВМИ

Вступ. Останні десятиріччя характеризуються значним зростанням травматизму, особливо осіб молодого віку, який має різноманітні причини. Однією з патогенетичних ланок травматичної хвороби є порушення системи антиоксидантного захисту. Дані про зміни показників системи антиоксидантного захисту в осіб різного віку та в різні періоди травматичної хвороби розрізнені й суперечливі.

Мета дослідження – визначити активність показників антиоксидантного захисту в ранні та пізні терміни політравми у молодих, статевозрілих і старих щурів.

Методи дослідження. Політравму моделювали під тіопентал-натрієвим знеболюванням (60 мг/кг маси тіла тварини). В асептичних умовах у щурів викликали кровотечу зі стегнової вени (близько 20 % об'єму циркулюючої крові), 1 мл якої вводили в паранефральну клітковину для відтворення ендогенної інтоксикації. Далі з оперативного доступу щипцями Люера ламали ліву стегнову кістку, рану на стегні зашивали. Дослідження проводили на 1, 3, 24 годину та 14 добу після моделювання політравми. Активність супероксиддисмутази в сироватці крові визначали за методикою Чеварі, активність каталази в гомогенаті печінки та плазмі крові – за методикою М. А. Королюка і співавт., вміст церулоплазмину в сироватці крові – за методикою В. Г. Колба, В. С. Камишнікова.

Результати й обговорення. Моделювання політравми в 3-, 6- та 24-місячних щурів у ранній (1, 3 і 24 година) та пізній (14 доба) періоди травматичного ураження призвело до активації ферментів антиоксидантного захисту. У тварин з модельованою політравмою на 3 годину зростала активність супероксиддисмутази з подальшим різким її зниженням на 24 годину, особливо в молодих 3-місячних щурів. До 14 доби активність ферменту підвищувалася і наближалася до рівня інтактних тварин. Активність каталази в сироватці крові збільшувалася протягом усіх досліджуваних термінів раннього періоду політравми з максимальним значенням на 24 годину експерименту в щурів усіх груп з подальшою тенденцією до нормалізації на 14 добу. В печінці тварин активність ферменту виснажувалася, про що свідчило різке її зниження на 1, 3 та 24 годину (ранній період політравми) з наступним зростанням на 14 добу. Активність церулоплазмину в сироватці крові 3-, 6- та 24-місячних щурів збільшувалася протягом усього експерименту, причому найвищих значень вона досягнула на 24 годину після моделювання політравми.

Висновки. Активність досліджуваних ферментів антиоксидантного захисту зростала в усіх групах тварин, особливо 3-місячних щурів, у ранні терміни після моделювання політравми. На 14 добу (пізній термін) вона знижувалась.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: політравма; щури; вік; супероксиддисмутаза; каталаза; церулоплазмін.

ВСТУП. За останні десятиліття травматизм у різних країнах світу помолодшав і став однією з найактуальніших як медичних, так і соціальних проблем [1–6].

Згідно із сучасними уявленнями, патологічний процес, який розвивається у внутрішніх органах за умов моделювання тяжкої травми, характеризується порушенням структурно-функціональної цілісності мембрани гепатоцитів і дискоординацією діяльності ферментних систем. Більшість авторів [3, 4] вважає, що тим ін-

© С. Р. Підручна, Г. М. Степанова, Т. Я. Ярошенко, 2017.

тимним механізмом, який відіграє ключову роль у дезорганізації ультраструктури мембран, є активація реакцій вільнорадикального окиснення. Протидіє переокисненню ліпідів біомембран успішне функціонування системи антиоксидантного захисту. Дані літератури про зміни антиоксидантної системи за умов тяжкої травми розрізнені й суперечливі [7–9].

Мета дослідження – визначити активність показників антиоксидантного захисту в ранні та пізні терміни політравми у молодих, статевозрілих і старих щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Використано 112 нелінійних білих щурів-самців віком 3, 6 і 24 місяці.

Перша серія експериментів (40 нелінійних білих щурів-самців масою 0,10–0,280 кг) стосувалася вибору моделі тяжкої травми. До неї ставили дві основні вимоги: відповідність сучасним класичним моделям політравми; виживання більшості тварин протягом перших семи днів після травмування, які вважають найбільш критичними в ході політравми (Ельський и др., 2004).

У другій серії експериментів моделювали політравму під тіопентал-натрієвим знеболюванням (60 мг/кг маси тіла тварини). В асептичних умовах у щурів викликали кровотечу зі стегнової вени (близько 20 % об'єму циркулюючої крові), 1 мл якої вводили в паранефральну клітковину для відтворення ендогенної інтоксикації. Далі з оперативного доступу щипцями Люера ламали ліву стегнову кістку, рану на стегні зашивали [10]. Дослідження проводили на 1, 3, 24 годину та 14 добу після моделювання політравми. Активність супероксиддисмутази (СОД) в сироватці крові визначали за методикою Чеварі [11], активність каталази в гомогенаті печінки та плазмі крові – за методикою М. А. Королюка і співавт. [12], вміст церулоплазміну в сироватці крові – за методикою В. Г. Колба, В. С. Камишнікова [13].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як показали результати досліджень, на 1 годину після моделювання політравми в гомогенаті печінки 3-

6- та 24-місячних щурів підвищувалась активність СОД порівняно з інтактними тваринами (рис. 1).

У цей термін активність досліджуваного ферменту в печінці 3-, 6- і 24-місячних тварин зроста, відповідно, на 90, 63 та 36 %. Збільшення показника зафіксовано й на 3 години від початку експерименту: в 3-місячних щурів – на 135 %, у 6-місячних – на 113 %, у 24-місячних – на 94 %. На 24 годину після моделювання політравми зафіксовано достовірне зниження активності СОД у печінці тварин усіх вікових груп. Цей показник у 3-місячних щурів був на 43 % меншим, ніж у інтактних, а в 6- та 12-місячних – на 23 %. На 14 добу експерименту активність СОД збільшилася на 20 % у 3- та 6-місячних тварин порівняно з контрольною групою.

Як показали результати подальших досліджень, активність каталази – ферменту, який руйнує токсичний пероксид водню, достовірно змінювалася у вікових групах протягом експерименту (рис. 2).

У гомогенаті печінки травмованих тварин усіх вікових груп на 1 годину після моделювання політравми активність каталази зменшилась на 33 %. На 3 години вона суттєво знизилася в статевозрілих щурів 6-місячного віку (на 61 %). У травмованих 3- та 24-місячних тварин активність каталази була меншою від рівня контрольної групи на 56 і 41 % відповідно. На 24 годину експерименту спостерігали аналогічну тенденцію. Максимальне достовірне зниження активності каталази зафіксовано в гомогенаті печінки 6-місячних тварин (на 78 %). У травмованих 3- та 24-місячних щурів у цей термін дослідження активність ферменту знизилася, порівняно з ін-

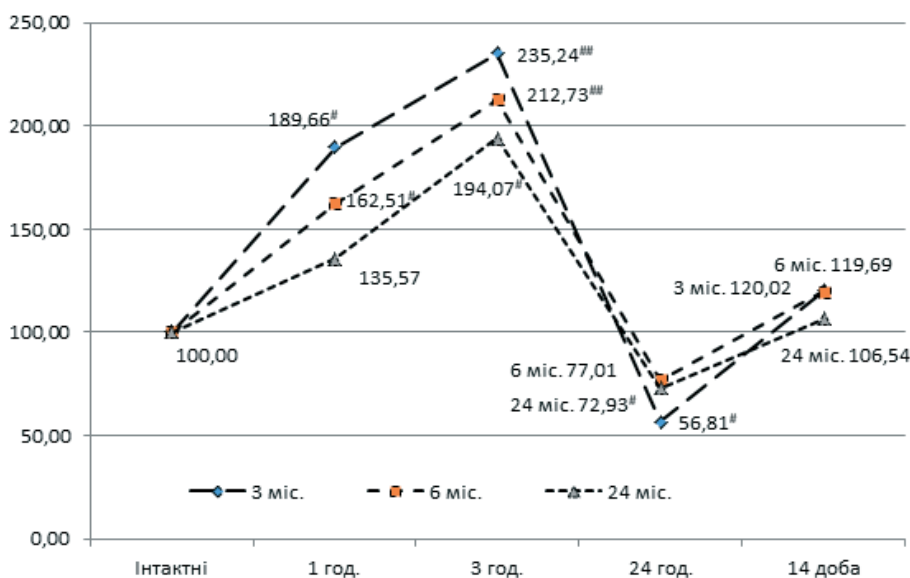


Рис. 1. Активність супероксиддисмутази (пит. од./мг) у печінці щурів різного віку після моделювання політравми (у відсотках до рівня інтактних тварин) у динаміці.

Примітка. # – $p < 0,05$; ### – $p < 0,001$.

тактними тваринами, на 67 і 50 %. На 14 добу в усіх вікових групах спостерігали зростання активності каталази – у 3-місячних тварин цей показник став на 22 % меншим, ніж в інтактних щурів, у 6-місячних – на 18 %, а у 24-місячних – на 11 %.

Якщо в печінці піддослідних тварин активність каталази в ході експерименту зменшувалася, то в крові, навпаки, зростала (рис. 3).

На 1 годину після моделювання політравми активність каталази в сироватці крові 3- та 6-місячних щурів зросла на 190 і 124 %, а у 24-місячних – лише на 33 %. На 3 годину в 3-місячних щурів вона достовірно збільшилася на 321 % від рівня контрольної групи тварин, а в 6- та 24-мі-

сячних – на 210 і 77 %. Найвищу активність ферменту зафіксовано на 24 годину після моделювання політравми. У 3-місячних щурів активність каталази в цей термін на 374 % перевищувала показник контрольної групи тварин, а в 6- та 24-місячних – на 283 і 117 %. На 14 добу експерименту в усіх вікових групах активність каталази в крові зменшилася. У 3-місячних тварин вона досягнула рівня, на 138 % більшого, ніж у інтактних тварин, у 6-місячних – на 91 %, а у 24-місячних – лише на 19 %.

Вміст церулоплазміну – ферменту, який каталізує реакції окиснення, достовірно змінювався у вікових групах протягом експерименту (рис. 4).

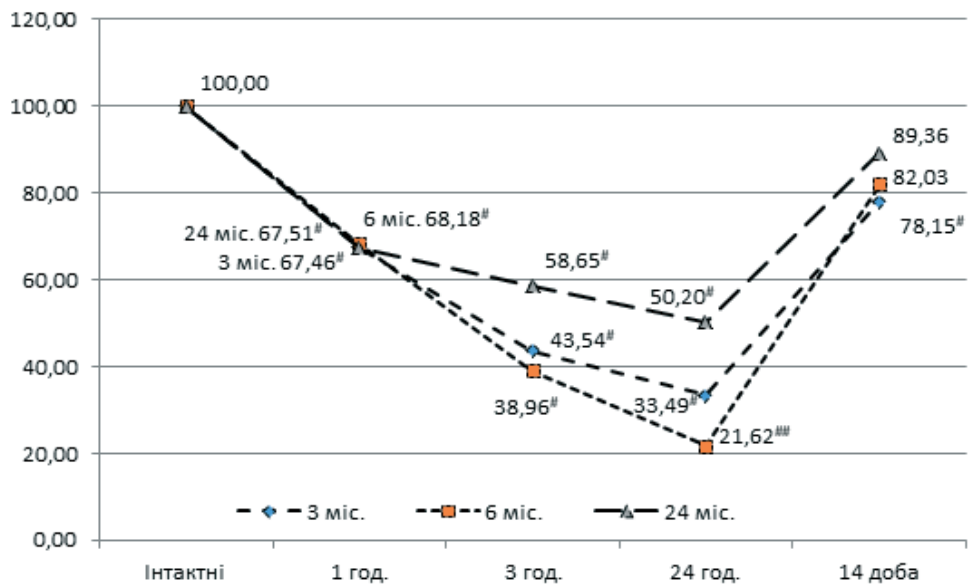


Рис. 2. Вміст каталази (мккат/кг) у печінці щурів різного віку після моделювання політравми (у відсотках до рівня інтактних тварин) у динаміці.

Примітка. # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,002$.

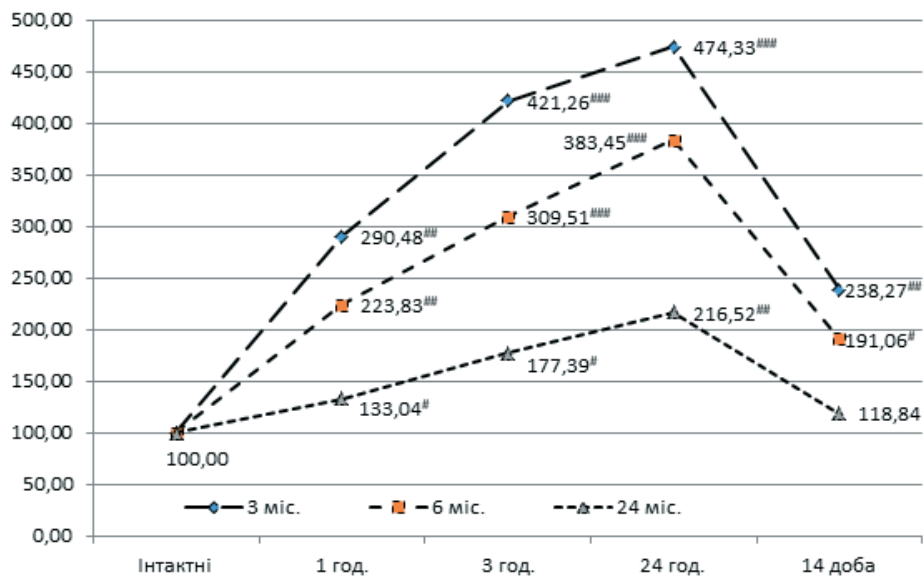


Рис. 3. Вміст каталази (мккат/л) у крові щурів різного віку після моделювання політравми (у відсотках до рівня інтактних тварин) у динаміці.

Примітка. # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,002$; ### – $p < 0,001$.

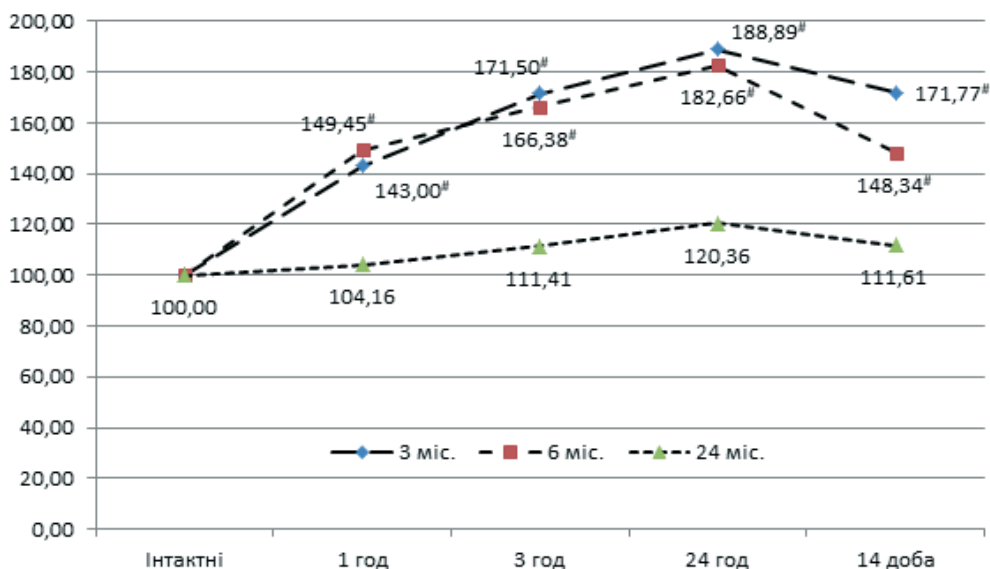


Рис. 4. Вміст церулоплазміну (г/л) у крові щурів різного віку після моделювання політравми (у відсотках до рівня інтактних тварин) у динаміці.

Примітка. # – $p < 0,05$.

На 1 годину від початку експерименту в 3-місячних щурів вміст церулоплазміну збільшився, порівняно з інтактними тваринами, на 43 %, у 6-місячних – на 49 %. На 3 годину після моделювання політравми він продовжував зростати в 3-місячних тварин і перевищував рівень контрольної групи на 72 %. У 6- та 24-місячних щурів вміст досліджуваного показника збільшувався дещо меншою мірою і перевищував рівень інтактної групи на 66 та 11 %. На 24 годину після моделювання політравми в 3-місячних тварин він був на 89 % більшим, ніж у інтактних, а в 6- та 24-місячних – на 83 і 20 %. На 14 добу вміст досліджуваного ферменту в 3-місячних щурів достовірно перевищував рівень інтактних на 72 %, а в 6- та 24-місячних – на 48 і 12 %.

ВИСНОВКИ. У тварин з модельованою політравмою на 3 годину зростала активність су-

пероксиддисмутази з подальшим різким її зниженням на 24 годину, особливо в молодих 3-місячних щурів. До 14 доби активність ферменту підвищувалася і наближалася до рівня інтактних тварин. Активність каталази в сироватці крові збільшувалася протягом усіх досліджуваних термінів раннього періоду політравми з максимальним значенням на 24 годину експерименту в щурів усіх груп з подальшою тенденцією до нормалізації на 14 добу. В печінці тварин активність ферменту виснажувалася, про що свідчило різке її зниження на 1, 3 та 24 годину (ранній період політравми) з наступним зростанням на 14 добу. Активність церулоплазміну в сироватці крові 3-, 6- та 24-місячних щурів збільшувалася протягом усього експерименту, причому найвищих значень вона досягнула на 24 годину після моделювання політравми.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Анализ госпитальной летальности и качества клинической диагностики у пострадавших с политравмой / Т. В. Левченко, С. А. Кравцов, А. Н. Корнев [и др.] // Политравма. – 2014. – № 3. – С. 24–40.
2. Шаталин А. В. Основные факторы, влияющие на летальность у пациентов с политравмой, транспортированных в специализированный травматологический центр / А. В. Шаталин, С. А. Кравцов, В. В. Агаджанян // Политравма. – 2012. – № 3. – С. 17–36.

3. Experimental traumatic brain injury [Електронний ресурс] / Christiane Albert-Weissenberaer, Anna-Leena Siren // Experimental & Translational Stroke Medicine. – 2010. – № 2. – Р. 16. – Режим доступу до журн.: <http://www.etsmjournal.com/content/2/1/16>
4. Identification and description of a novel murine model for polytrauma and shock / L. F. Gentile, D. C. Nacionales, A. G. Cuenca [et al.] // Crit. Care Med. – 2013. – 41 (4). – Р. 1075–1085.

5. Mortality in severe traumatic brain injury / J. Verchere, S. Blanot, E. Vergnaud [et al.] // *Lancet Neurol.* – 2013. – **12** (5). – P. 426–427.

6. Traumatic brain injury and fracture / O. Ek, M. Muhr, A. L. Hulting, K. A. Jansson // *Lancet.* – 2013. – **381** (9869). – P. 874.

7. Меньшикова Е. Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньшикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков. – М. : Слово, 2006. – 553 с.

8. Гончарук Є. Г. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля / Є. Г. Гончарук, М. М. Коршун // *Журн. АМН України.* – 2004. – **10**, № 1. – С. 131–150.

9. Политравма: патофизиологические и клинические аспекты, лечебная тактика и принципы организации помощи больным / В. В. Бойко, В. Г. Рынденко,

А. Е. Зайцев [и др.] // *Международ. мед. журн.* – 2002. – **8**, № 3. – С. 68–74.

10. Пат. на корисну модель 30028 Україна, МПК 2006 G 09 В 23/00. Спосіб моделювання політравми / Секела Т. Я., Гудима А. А.; заявник і патентовласник Терноп. держ. мед. ун-т. – № U 2007 10471; заявл. 21.09.07; опубл. 11.02.08, Бюл. № 3.

11. 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.

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

13. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.

REFERENCES

1. Levchenko, T.V., Kravtsov, S.A., & Kornev, A.N. (2014). Analiz hospitalnoy letalnosti i kachestva klinicheskoy diagnostiki u postradavshikh s politravmoy [Analysis of hospital lethality and quality of clinical diagnostics in the injured with polytrauma]. *Politravma – Polytrauma*, (3), 24-40 [in Russian].

2. Shatalin, A.V., Kravtsov, S.A., & Agadzhanian, V.V. (2012). Osnovnye faktory, vliyayushchie na letalnost u patsientov s politravmoy transportirovannykh v spetsializirovannyi travmatologicheskii tsentr [The main factors influencing mortality in patients with polytrauma transported to a specialized traumatology center]. *Politravma – Polytrauma*, (3), 17-36 [in Russian].

3. Christiane Albert-Weissenberaer & Anna-Leena Siren (2010). Experimental traumatic brain injury [Electronic resource]. Experimental & Translational Stroke Medicine, (2), 16. – Режим доступу до журн.: <http://www.etsmjournal.com/content/2/1/16>

4. Gentile, L.F., Nacionales, D.C., & Cuenca, A.G. (2013). Identification and description of a novel murine model for polytrauma and shock. *Crit. Care Med.*, **41** (4), 1075-1085.

5. Verchere, J., Blanot, S., & Vergnaud, E. (2013). Mortality in severe traumatic brain injury. *Lancet Neurol.*, **12** (5), 426-427.

6. Ek, O., Muhr, M., Hulting, A.L., & Jansson, K.A. (2013). Traumatic brain injury and fracture. *Lancet*, **381** (9869), 874.

7. Menshikova, E.B., Lankin, V.Z., & Zenkov, N.K. (2006). *Okislitelnyy stress. Prooksidanty i antioksidanty [Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants]*. Moscow: Slovo [in Russian].

8. Goncharuk, Ye.H., & Korshun, M.M. (2004). Vilnoradikalne okyslennia yak universalni nespetsyficnyi

mekhanizmy poshkodzhuyuchoi dii shkidlyvykh chynnykiv dovkillia [Free radical oxidation as a universal non-specific mechanism of damaging the harmful factors of the environment]. *Zhurn. AMN Ukrainy – Journal of AMS of Ukraine*, **10** (1), 131-150 [in Ukrainian].

9. Boyko, V.V., Ryнденko, V.G., & Zaytsev, A.E. (2002). Politravma: patofiziologicheskie i klinicheskie aspekty, lechebnaya taktika i printsipy organizatsii pomoshchi bolnym [Polytrauma: pathophysiological and clinical aspects, therapeutic tactics and principles of patient care organization]. *Mezhdunar. med. zhurn. – International Medical Journal*, **8** (3), 68-74 [in Russian].

10. Sekela, T.Ya., & Hudyma, A.A. Patent na korysnu model 30028 Ukraina MIZh 2006 G 09 V 23/00. Sposib modeliuвання politravmy; zaiavnyk i patentovlasnyk Ternopil'skyi medychnyi universytet. – № U 2007 10471; zayavl. 21.09.2007; opubl. 11.2.08, Byul. № 3 [in Ukrainian].

11. Chevare, S., Chaba, I., & Sokey, I. (1985). Rol superoksididismutazy v okislitelnykh protsessakh kletki i metod opredeleniya ee v biologicheskikh materialakh [The role of superoxide dismutase in the oxidative processes of the cell and the method for its determination in biological materials]. *Laboratornoe delo – Laboratory Case*, (11), 678-681 [in Russian].

12. Korolyuk, M.A., Ivanova, L.I., Mayorova, I.G., & Tokarev, V.E. (1988). Metod opredeleniya aktivnosti katalazy [Method of determination of catalase activity]. *Laboratornoe delo – Laboratory Case*, (1), 16-19 [in Russian].

13. Kolb, V.G. & Kamyshnikov, V.S. (1982). *Spravochnik po klinicheskoy khimii [Guidelines on Clinical Chemistry]*. Minsk: Belarus [in Russian].

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА В РАННИЙ И ПОЗДНИЙ ПЕРИОДЫ ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПОЛИТРАВМЫ

Резюме

Вступление. Последние десятилетия характеризуются значительным ростом травматизма, особенно лиц молодого возраста, который имеет различные причины. Одним из патогенетических звеньев травматической болезни является нарушение системы антиоксидантной защиты. Данные об изменениях показателей системы антиоксидантной защиты у лиц разного возраста и в разные периоды травматической болезни разрозненные и противоречивые.

Цель исследования – определить активность показателей антиоксидантной защиты в ранние и поздние сроки политравмы у молодых, половозрелых и старых крыс.

Методы исследования. Политравму моделировали под тиопентал-натриевым обезболиванием (60 мг/кг массы тела животного). В асептических условиях у крыс вызывали кровотечение из бедренной вены (около 20 % объема циркулирующей крови), 1 мл которой вводили в паранефральную клетчатку для воспроизведения эндогенной интоксикации. Далее с оперативного доступа щипцами Люэра ломали левую бедренную кость, рану на бедре зашивали. Исследования проводили на 1, 3, 24 час и 14 суток после моделирования политравмы. Активность супероксиддисмутазы в сыворотке крови определяли по методике Чевари, активность каталазы в гомогенате печени и плазме крови – по методике М. А. Королюка и соавт., содержание церулоплазмينا в сыворотке крови – по методике В. Г. Колба, В. С. Камышникова.

Результаты и обсуждение. Моделирование политравмы у 3-, 6- и 24-месячных крыс в ранний (1, 3 и 24 час) и поздний (14 суток) периоды травматического поражения привело к активации ферментов антиоксидантной защиты. У животных с моделируемой политравмой на 3 час возрастала активность супероксиддисмутазы с последующим резким ее снижением на 24 час, особенно у молодых 3-месячных крыс. До 14 суток активность фермента повышалась и приближалась к уровню интактных животных. Активность каталазы в сыворотке крови увеличивалась на протяжении всех исследуемых сроков раннего периода политравмы с максимальным значением на 24 час эксперимента у крыс всех групп с последующей тенденцией к нормализации на 14 суток. В печени животных активность фермента истощалась, о чем свидетельствовало резкое ее снижение на 1, 3 и 24 час (ранний период политравмы) с последующим ростом на 14 суток. Активность церулоплазмينا в сыворотке крови 3-, 6- и 24-месячных крыс увеличивалась в течение всего эксперимента, причем самых высоких значений она достигнула на 24 час после моделирования политравмы.

Выводы. Активность исследуемых ферментов антиоксидантной защиты росла во всех группах животных, особенно 3-месячных крыс, в ранние сроки после моделирования политравмы. На 14 суток (поздний срок) она снижалась.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: политравма; крысы; возраст; супероксиддисмутаза; каталаза; церулоплазмин.

S. R. Pidruchna, H. M. Stepanova, T. Ya. Yaroshenko
I. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN LABORATORY RATS OF DIFFERENT AGES IN THE EARLY AND LATE STAGES OF POLYTRAUMA SIMULATION

Summary

Introduction. The last decades are characterized by a significant increase in traumatism, especially among young people, which has various causes. One of the pathogenetic links of traumatic disease is a violation of the antioxidant defense system. Data on changes in the indicators of the antioxidant system in people of different ages and at different periods of traumatic illness are disparate and contradictory.

The aim of the study – to determine the activity of antioxidant protection indicators in the early and late stages of polytrauma in young, mature and old rats.

Research Methods. Simulation of polytrauma was performed under the thiopental-sodium anesthesia (60 mg per kilogram of mass). In aseptic conditions, the animals caused bleeding from the femoral vein (about 20 % of the

volume of circulating blood), 1 ml of which was injected into the paranephric cellulose to reproduce endogenous intoxication. Then, from the operative access by the forceps of Liera the left femur was broken, wound on the thigh was sewed. The research was conducted after 1, 3, 24 hours and 14 days after the polytraumatic modeling. The activity of superoxide dismutase in serum was determined by Chevri's method. The activity of catalase in liver homogenate and blood plasma was determined by the method of M. A. Koroliuk and co-authors. The content of ceruloplasmin in serum was determined according to the method of V. H. Kolb, V. S. Kamyshnikov.

Results and Discussion. Polytrauma simulation in 3, 6, and 24-month old rats in the early (1, 3 and 24 hours) and late (14 days) periods of traumatic injury led to the activation of antioxidant defense enzymes. Investigation of the activity of antioxidant enzymes in animals with simulated polytrauma was accompanied by an increase in the activity of superoxide dismutase for 3 hours and with a further sharp decrease in activity for 24 hours, especially for young three-month-old animals. Till 14th day, the activity of the enzyme grew and approached the level of intact animals. The activity of catalase in serum increased during all investigated terms of the early period of polytrauma with a maximum value of 24 hours of experiment in animals of all studied groups with a subsequent tendency to normalize for 14 days. In the liver of experimental animals, the activity of the enzyme was depleted, as evidenced by a sharp decrease in its activity during 1, 3, and 24 hours (early polyarthritiform period), followed by an increase in activity for 14 days. The activity of ceruloplasmin in serum of 3, 6, and 24-month old animals increased throughout the experiment, with the highest values reaching 1 day after polytrauma.

Conclusion. The activity of the studied antioxidant enzymes increased in all groups of animals, especially in 3 month-old, in the early stages after the polytrauma simulation. At the 14th day (late stage) it was reduced.

KEY WORDS: polytrauma; rats; age; superoxide dismutase; catalase; ceruloplasmin.

Отримано 02.08.17

Адреса для листування: С. Р. Підручна, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: pidruchna@tdmu.edu.ua.