

ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПАТОГЕНЕЗІ ПРОЯВІВ ТРАВМАТИЧНОЇ ХВОРОБИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ

Досліджено динаміку показників антиоксидантного захисту у відповідь на травму. Виявлено, що застосування тіотриазоліну в щурів при розвитку травматичної хвороби на пізніх етапах (з 14 до 28 доби) супроводжується меншими відхиленнями стосовно нелікованих тварин. Активність супероксиддисмутази, як і каталази, у печінці є нижчою вже на 14-ту добу, на 21-шу підвищується, залишаючись на цьому ж рівні на 28-му добу. Їх величина у всі терміни спостереження менша від рівня нелікованих тварин. Вміст SH-груп у тканині печінки на 14-ту добу більший, ніж у нелікованих тварин, на 21-шу зростає з наступним зменшенням на 28-му добу, проте в останній термін суттєво перевищує даний показник у групі нелікованих щурів. Вміст у сироватці крові церулоплазмину на 14-ту добу істотно перевищує рівень контролю і нелікованих тварин, проте в подальшому знижується і стає істотно меншим, ніж у групі, яка не отримувала тіотриазолін.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: політравма, каталаза, супероксиддисмутаза, церулоплазмін, SH-групи, тіотриазолін, печінка.

ВСТУП. Травматизм – одна з основних медичних і соціальних проблем третього тисячоліття. У структурі смертності він займає третє місце після серцево-судинних і онкологічних захворювань, а в осіб до 40 років – перше [1, 7]. Дослідження, що стосуються тяжкої травми, в основному зосереджені на початкових періодах травматичної хвороби: гострої реакції на травму та ранніх проявів, які характеризуються значною летальністю [4, 9]. Незважаючи на те, що недостатність печінки на тлі тяжкої травми рідко буває безпосередньою причиною смерті, її дисфункція створює несприятливий ґрунт для одужання. На сьогодні встановлено, що в печінці виникають альтеративні зміни, які відповідають тяжкості попередніх порушень гемодинаміки. При тривалій гіпотензії закономірно з'являються обширні некрози у III зоні печінкових ацинусів, які можуть сягати до 48 % паренхіми. Це супроводжується значним наростанням ендогенної інтоксикації [10]. Антиоксидантну систему вважають однією з найважливіших і перших систем, що забезпечують захист від пошкодження за даних умов. Дисфункція печінки на тлі тяжкої скелетної травми є постійним компонентом її перебігу і вимагає патогенетично обґрунтованих засобів корекції залежно від періоду травматичної хвороби. Механізми дисфункції печінки в © С. М. Придруга, 2013.

ранній посттравматичний період (1–14 доби) досить широко розкрито у ряді публікацій, тоді як особливості антиоксидантного захисту та, особливо, функціонального стану печінки у віддалений період вивчено недостатньо [3]. Враховуючи це, доцільно дослідити гепатопротектори, в основі дії яких лежить не тільки протекторний вплив на печінку, але й здатність долати ряд патологічних порушень, що виникають при травматичній хворобі. Тому метою даної роботи було з'ясувати вплив політравми на морфофункціональний стан печінки та розробити методи патогенетичної терапії у період пізніх проявів травматичної хвороби.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Травму моделювали шляхом нанесення дозованого удару по кожному стегну. Сила удару була встановлена емпірично і дозволяла при одноразовому нанесенні отримувати закритий перелом стегнової кістки. Процедура виконували за умов тіопентало-натрієвого наркозу (40 мг·кг) із дотриманням загальних правил і положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001), Закону України “Про захист тварин від жорстокої поведінки” (2006). Для досліджень застосовували сироватку крові

та 10 % гомогенат печінки. Експерименти виконано на трьох групах тварин: 1-ша група – контрольна; 2-га – тварини з політравмою; 3-тя – тварини з політравмою+корекція тіотриазоліном. Корекцію проводили шляхом внутрішньочеревного введення тіотриазоліну у вигляді 2,5 % розчину в дозі $9,07 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$, яка відповідає середньодобовій дозі 100 мг для дорослої людини [5]. Препарати вводили одноразово в один і той самий час у першій половині дня. Курс введення складав 7 днів: з 7 до 14 діб.

Для оцінки вмісту SH-груп у гомогенаті печінки використовували реактив Елмана [2]. Принцип методу полягає у взаємодії 5,5'-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) із SH-групами досліджуваного субстрату. При цьому утворюється тіонітрофенільний аніон, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп. Їх концентрацію виражали в мілімолях на кілограм тканини печінки (відповідно, $\text{ммоль} \cdot \text{кг}^{-1}$).

Вміст у сироватці крові церулоплазміну (ЦП) визначали за методикою, описаною в довіднику [6]. Принцип методу ґрунтується на окисненні *p*-фенілендіаміну за присутності церулоплазміну, що призводить до утворення забарвлених продуктів. Кількість церулоплазміну ($\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$) прямо пропорційна інтенсивності забарвлення.

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали у гомогенаті печінки. Принцип методу базується на здатності ферменту інгібувати відновлення нітротетразолію синього. Кількість ферменту, яка здатна інгібувати відновлення нітротетразолію синього на 50 %, брали за 1 ум. од. активності [8].

Активність каталази визначали у сироватці крові за методикою М. А. Королюка і співавт. (1988). Принцип ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс, інтенсивність якого обернено пропорційна активності каталази у досліджуваному субстраті. Результат виражали в мілікаталах на літр ($\text{мкат} \cdot \text{л}^{-1}$).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать отримані нами результати, які наведено на рисунках 1 та 2, на 14-ту добу політравма зумовлювала істотне стосовно контролю підвищення активності СОД у тканині печінки – більше ніж у 3 рази ($p < 0,001$), каталази – більше ніж у 2 рази ($p < 0,001$). Натомість статистично достовірно зменшувався вміст SH-груп – на 39,1 % ($p < 0,001$) (рис. 3), а в сироватці крові зростав рівень ЦП – на 11,2 % ($p < 0,05$) (табл.). Через 21 добу після політравми суттєво знижувалась, порівняно з попереднім терміном

спостереження, активність СОД і каталази у тканині печінки (відповідно, на 82,8 і 22,9 %, $p < 0,001$). Натомість більш ніж у 2 рази зростав у тканині печінки вміст SH-груп ($p < 0,001$) та в сироватці крові – ЦП на 47,6 % ($p < 0,001$). На 28-му добу розвитку модельованої патології підвищувалась активність СОД і каталази у тканині печінки. Однак тільки зростання величини СОД виявилось статистично достовірним (на 54,3 %, $p < 0,001$). Вміст у тканині печінки SH-груп і ЦП у сироватці крові знижувався, проте лише відхилення вмісту сульфгідрильних груп було статистично достовірним – на 53,4 % ($p < 0,001$).

Таким чином, на тлі збільшеного рівня пероксидного окиснення ліпідів у тканині печінки вищою була активність ферментів антиоксидантного захисту СОД і каталази, а в сироватці крові – ЦП. Крім цього, у тканині печінки зниженим виявився вміст сульфгідрильних груп. У подальшому (на 21-шу добу) активність СОД і каталази різко зменшилася, натомість вміст сульфгідрильних груп та ЦП (рис. 4) збільшився. На 28-му добу активність каталази та ЦП не змінювалася стосовно попереднього терміну спостереження, однак активність СОД стрімко зростає, а вміст SH-груп знизився, проте не досягнув рівня, зафіксованого на 14-ту добу.

Застосування тіотриазоліну з метою корекції перебігу модельованої патології призводило до менших відхилень досліджуваних показників антиоксидантного захисту. Так, на 14-ту добу активність СОД у тканині печінки була лише на 39,9 % вищою від рівня контролю ($p < 0,001$) і в 2 рази нижчою від рівня нелікованих тварин ($p < 0,001$). Активність каталази у тканині печінки в цей термін суттєво не відрізнялася від контролю ($p > 0,05$) і була у 2,1 раза меншою від рівня нелікованих щурів ($p < 0,001$). Хоча вміст SH-груп на тлі тіотриазоліну був достовірно на 12,1 % меншим від контролю ($p < 0,05$), однак даний показник на 44,5 % перевищував рівень у нелікованих тварин. Аналогічно значно більшим від рівня контролю і нелікованих щурів на тлі застосування тіотриазоліну виявився вміст у сироватці крові ЦП (відповідно, на 72,9 і 55,4 % ($p < 0,001$ в обидвох випадках)). Використання для корекції тіотриазоліну призводило до менших відхилень показників антиоксидантного захисту в динаміці пізніх проявів травматичної хвороби. Так, активність СОД у тканині печінки на 21-шу добу стосовно попереднього терміну спостереження збільшилася всього на 23,7 % ($p \leq 0,05$) і залишалася на такому ж рівні на 28-му добу. Даний результат був статистично

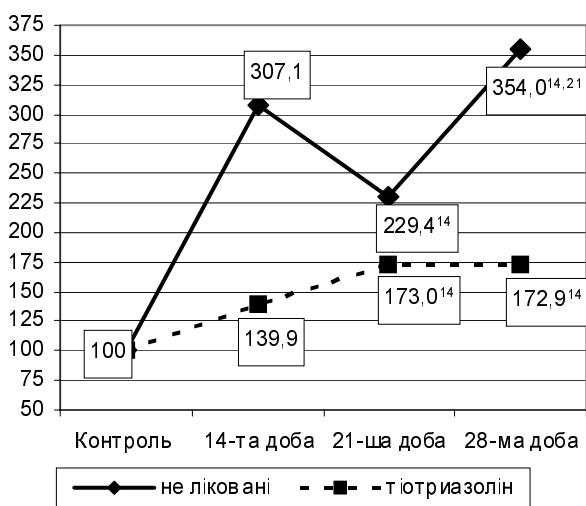


Рис. 1. Ступінь відхилення активності СОД гомогенату печінки (у відсотках стосовно контролю) в період пізніх проявів політрави.

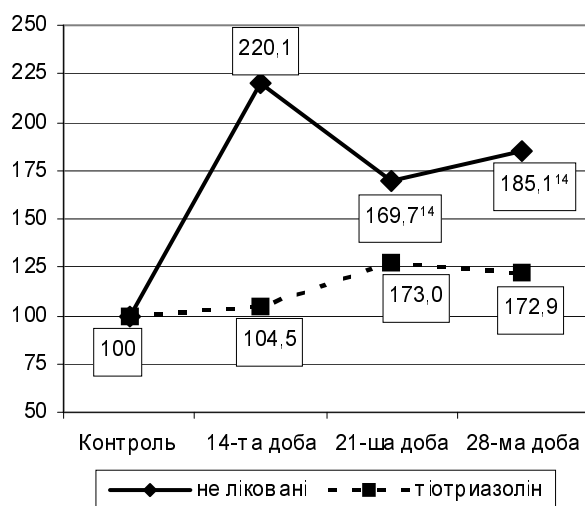


Рис. 2. Ступінь відхилення активності каталази гомогенату печінки (у відсотках стосовно контролю) в період пізніх проявів політрави.

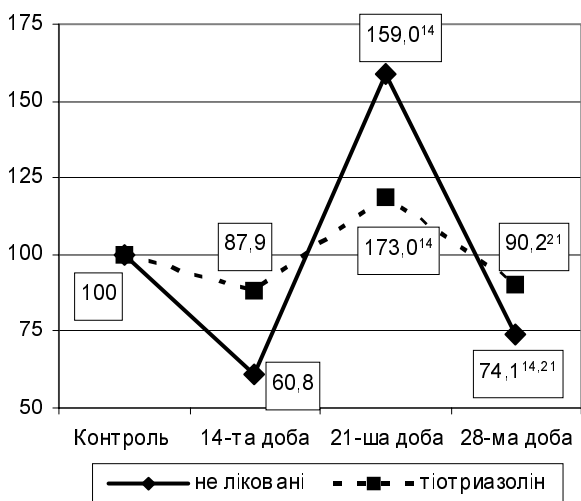


Рис. 3. Ступінь відхилення вмісту SH-груп гомогенату печінки (у відсотках стосовно контролю) в період пізніх проявів політрави.

28-му – на 51,1 % ($p < 0,001$). Активність каталази у тканині печінки на 21-шу і 28-му доби теж перевищувала рівень контролю, відповідно, на 27,3 ($p < 0,10$) і 22,0 % ($p < 0,01$). Величина активності даного ферменту в ці терміни спостереження була статистично достовірно нижчою, ніж у нелікованих тварин, – на 25,0 ($p < 0,10$) і 34,1 % ($p < 0,001$). На тлі застосування тіотриазоліну істотно на 21-шу добу підвищувався вміст SH-груп у тканині печінки – на 34,9 % стосовно попереднього терміну спостереження ($p \leq 0,05$), на 28-му добу величина даного показника поверталася до рівня 14-ї доби (про це свідчила відсутність достовірної відмінності між групами ($p > 0,05$)). На 21-шу добу спостереження вміст SH-груп був статистично достовірно більшим від рівня контролю – на 18,6 % ($p < 0,01$). На 28-му добу його величина ставала меншою від контрольного рівня – на 9,8 % ($p < 0,05$). Незважаючи на це, вміст у тканині печінки SH-груп був на 21-шу добу

достовірно меншим стосовно нелікованих тварин: на 21-шу добу – на 24,6 % ($p < 0,01$), на

Таблиця – Величина показників антиоксидантного захисту в динаміці періоду пізніх проявів політрави у сироватці крові ($M \pm m$)

Показник	Умова досліджу	Контроль	Політрава		
			14-та доба	21-ша доба	28-ма доба
СОД, мкат·кг ⁻¹	Не ліковані	0,296±0,018	0,909±0,013***	0,679±0,031***	1,048±0,025***
	Тіотриазолін		0,414±0,010***	0,512±0,022***	0,512±0,023***
	p		<0,001	<0,01	<0,001
Каталаза, мкат·кг ⁻¹	Не ліковані	1,790±0,067	3,940±0,114***	3,037±0,331***	3,314±0,127***
	Тіотриазолін		1,871±0,143	2,278±0,253#	2,183±0,098**
	p		<0,001	<0,10	<0,001
SH-групи, ммоль·г ⁻¹	Не ліковані	1,382±0,042	0,841±0,034***	2,197±0,130***	1,024±0,063***
	Тіотриазолін		1,215±0,051*	1,639±0,068**	1,246±0,018*
	p		<0,001	<0,001	<0,05
ЦП, мг·л ⁻¹	Не ліковані	7,96±0,16	8,85±0,35*	13,21±0,27***	12,58±0,38***
	Тіотриазолін		13,76±0,50***	9,93±0,55**	10,01±0,28***
	p		<0,001	<0,001	<0,001

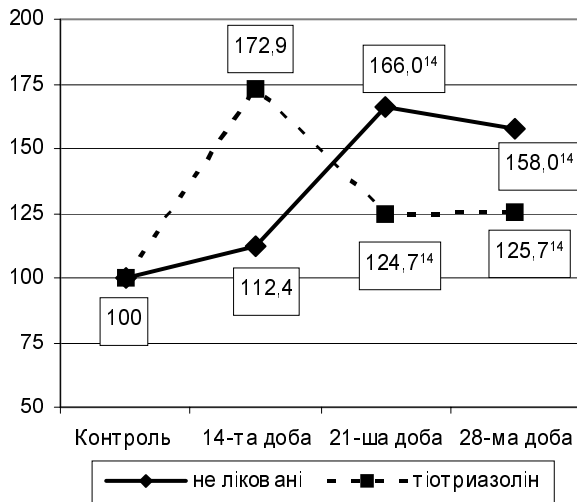


Рис. 4. Ступінь відхилення вмісту ЦП гомогенату печінки (у відсотках стосовно контролю) в період пізніх проявів політравми.

розвитку травматичної хвороби на 25,4 % меншим ($p < 0,001$), а на 28-му добу – на 21,7 % більшим ($p < 0,05$) стосовно групи нелікованих тварин.

У свою чергу, вміст ЦП у сироватці крові на тлі корекції тіотриазоліном на 21-шу добу стосовно попереднього терміну спостереження знижувався (на 27,8 %, $p < 0,05$) і практично залишався на такому ж рівні на 28-му добу,

що було істотно меншим стосовно групи нелікованих тварин: на 21-шу добу – на 24,8 % ($p < 0,001$), на 28-му добу – на 20,4 % ($p < 0,001$).

ВИСНОВКИ. Показники антиоксидантного захисту у відповідь на травму і застосування тіотриазоліну супроводжувалися меншими відхиленнями стосовно нелікованих тварин у динаміці періоду пізніх проявів травматичної хвороби. Активність СОД у тканині печінки є нижчою вже на 14-ту добу, на 21-шу – підвищується, залишаючись на цьому ж рівні на 28-му добу. Її величина у всі терміни спостереження менша від рівня нелікованих тварин. Активність каталази в тканині печінки на 14-ту добу істотно не відрізняється від рівня контролю й аналогічно підвищується на 21-шу і 28-му добу. Амплітуда коливань є суттєво меншою порівняно з нелікованими тваринами. Вміст SH-груп у тканині печінки на 14-ту добу більший, ніж у нелікованих тварин, на 21-шу – зростає з наступним зниженням на 28-му добу, проте в останній термін суттєво перевищує такий у нелікованих щурів. Вміст у сироватці крові ЦП на 14-ту добу істотно перевищує рівень контролю в групі нелікованих тварин, проте в подальшому знижується і стає істотно меншим, ніж у групі, яка не отримувала тіотриазолін.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Апарцин К. А. МОСТ: мониторинг травматизма при сочетанных механических повреждениях / К. А. Апарцин, А. П. Зайцев, А. В. Новожилов // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – № 3. – С. 112–114.
2. Вережкина И. В. Колориметрический метод определения SH-групп и SS-связей в белках при помощи 5,5-дифитиобис (2-нитробензойной) кислоты / И. В. Вережкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова // Совр. методы биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 223–231.
3. Гудима А. А. Порушення морфофункціонального стану печінки в умовах локальної кріодеструкції шкіри та його корекція / А. А. Гудима, О. Б. Сван, Т. В. Дацко // Здобутки клініч. і експерим. мед. – 2007. – № 2. – С. 183–188.
4. Ельський В. Н. Травматическая болезнь: некоторые спорные и нерешенные вопросы / В. Н. Ельський, С. Е. Золотухин, А. Т. Денисов // Ортопедия, травматология и протезирование. – 1988. – № 2. – С. 67–70.
5. Клиническое применение тиотриазолина в терапии / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман [и др.] // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 1. – С. 71–74.
6. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
7. Непроизводственный городской травматизм как медико-социальная проблема / А. Н. Косинец, В. П. Дейкало, М. А. Никольский, В. В. Сиротко // Новые технологии в военно-полевой хирургии и хирургии поврежденных мирного времени: международная конференция: материалы конф. – СПб., 2006. – С. 336–337.
8. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах [Текст] / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
9. Multiple organ failure still a major cause of morbidity but not mortality in blunt multiple trauma / D. Nast-Kolb, M. Aufmkolk, S. Rucholtz [et al.] // J. Trauma. – 2001. – 51, № 5. – P. 835–841.
10. Real-time assessment of hepatic function is related to clinical outcome in critically ill patients after polytrauma / K. Dresing, V. W. Armstrong, C. L. Leip [et al.] // Clin. Biochem. – 2007. – 40, № 16–17. – P. 1194–1200.

ОСОБЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРОЯВЛЕНИЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ

Резюме

Исследована динамика показателей антиоксидантной защиты в ответ на травму. Выявлено, что применение тиотриазолина у крыс при развитии травматической болезни на поздних этапах (с 14 по 28 сутки) сопровождается меньшими отклонениями по отношению к животным без лечения. Активность супероксиддисмутазы, как и каталазы, в печени ниже уже на 14-е сутки, на 21-е повышается, оставаясь на этом же уровне на 28-е сутки. Их величина во все сроки наблюдения ниже уровня животных без коррекции. Содержание SH-групп в ткани печени на 14-е сутки выше, чем у нелеченных животных, на 21-е возрастает с последующим уменьшением на 28-е сутки, однако в последний срок существенно превышает данный показатель в группе крыс без коррекции. Содержание в сыворотке крови церулоплазмينا на 14-е сутки существенно превышает уровень контроля и нелеченных животных, однако в дальнейшем снижается и становится существенно меньше, чем в группе, которая не получала тиотриазолин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: политравма, каталаза, супероксиддисмутаза, церулоплазмин, SH-группы, тиотриазолин, печень.

S. M. Prydruha

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

PECULIARITIES OF ANTIOXIDANT DEFENSE AT THE PATHOGENESIS OF TRAUMATIC DISEASE MANIFESTATION AND THEIR CORRECTION

Summary

The dynamic of antioxidant defense at the response to injury was investigated. The application of thiotriazolin in rats during the development of traumatic disease at later stages (from 14 to 28 days) is followed by less deviations in relation to untreated animals. Activity of superoxide dismutase and catalase in the liver is lower at the 14th day, increased at the 21st day, remained at this level at 28th day. Their value in all periods of observation is lower than level of untreated animals. The concentration of SH-groups in liver tissue at 14th day is higher than untreated animals, at the 21st day rised with subsequent reduction at 28th day, but at the last term it considerably more than the figure in the group of untreated animals. Concentration of ceruloplasmin in the blood serum at the 14th day is significantly more than in the control and untreated animals, but further it decreased and become significantly lower than in untreated group.

KEY WORDS: polytrauma, catalase, superoxide dismutase, ceruloplasmin, SH-group thiotriazolin, liver.

Отримано 27.12.12

Адреса для листування: С. М. Придруга, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.