

УДК 617.51/616.831–001.3+616.379–008.64]–06:612.015.11–092.9

© В. М. МЕРЕЦЬКИЙ, М. М. КОРДА

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

## Особливості ліпідного обміну у тварин з експериментальною черепно-мозковою травмою на тлі цукрового діабету

V. M. MERETSKYI, M. M. KORDA

SHEI “Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky”

### PECULIARITIES OF LIPID METABOLISM IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL BRAIN INJURY AGAINST THE BACKGROUND OF DIABETES MELLITUS

У роботі наведено аналіз дослідження ліпідного обміну та ферментативного спектра крові у щурів з експериментальною черепно-мозковою травмою, стрептозототиніндукованим цукровим діабетом та при їх поєднанні. Показано, що порушення жирового обміну та гіперферментемія супроводжують перебіг посттравматичного періоду і є ланкою патогенезу стрептозототиніндукованого ЦД. Виявлені зміни більш виражені за умов комбінування ЧМТ і ЦД.

The paper presents an analysis of study of lipid metabolism and enzymatic spectrum in rats with experimental brain injury, streptozotocin-induced diabetes mellitus and at their combination. It is shown that disruption of lipid metabolism and hyperenzymemia accompany the course of post-traumatic period and is a part of pathogenesis of streptozotocin-induced diabetes mellitus. The identified changes are more pronounced under conditions of combining traumatic brain injury and diabetes mellitus.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** За даними ВООЗ, серед причин смертності травми посідають третє, а серед населення до 40 років – перше місце. Відомо [1], що викликані травмою порушення функцій життєво важливих органів і параметрів гомеостазу мають пролонгований характер, особливості патогенезу, які виходять за рамки традиційних уявлень про травматичний шок. Так, травматичне ураження головного мозку не обмежується локальним руйнуванням структур, але запускає серію пов'язаних у просторово-часовому відношенні реакцій, що призводять до вторинної загибелі неушкоджених нейронів і глії. Вторинні патологічні зміни після первинної механічної травми включають петехіальні крововиливи, ензиматичний ліпідний гідроліз із продукцією ейкозаноїдів, вільнорадикальне ліпідне окиснення, яке супроводжується виникненням токсиніндукованого цитолітичного ефекту, розвитком ендотоксикозу, а також інфлюкс  $Ca^{2+}$ , збільшення протеазної активності, накопичення збуджувальних амінокислот, кінінів, серотоніну, динорфіну, ішемію з результатом у вигляді зменшення напруження кисню у тканинах і запальним нейрофагоцитозом поліморфноядерними лейкоцитами та ін. [2, 3].

Множинність і комплексність процесів, які слідує за травматичним ураженням, утруднює оцінку ролі специфічного механізму у вторинному пошкодженні.

Цукровий діабет (ЦД) – одне з найпоширеніших ендокринних захворювань, яке на даний час за медико-соціальною вагомістю займає одне з чільних місць поруч із серцево-судинною та онкологічною патологією. ЦД – ендокринно-обмінне захворювання, що проявляється порушенням вуглеводного, а потім і інших видів обміну [4].

Черепно-мозкова травма (ЧМТ), поряд з іншими зовнішніми впливами на організм, більшою або меншою мірою являє собою стресову ситуацію і належить до екстремальних станів, внаслідок яких у тварини і людини розвиваються значні порушення в обмінних процесах. У комплексі патофізіологічних механізмів при екстремальних станах особливе місце посідає динаміка розвитку порушень ліпідного обміну.

**Мета роботи:** визначення основних показників ліпідного обміну та ензиматичної активності за умов експериментальної ЧМТ, стрептозототиніндукованого ЦД та їх поєднання.

**Матеріали і методи.** Експерименти проводили на білих нелінійних щурах-самцях, поділених на експериментальні групи: I – інтактні тварини (контроль), II – щури, яким моделювали черепно-мозкову травму, III – щури з експериментальним цукровим діабетом, IV – щури, яким моделювали ЧМТ на тлі ЦД. Тварин утримували у стандартних умовах віварію відповідно до санітарно-гігієнічних норм та вимог GLP [5].

Експериментальний ЦД моделювали одноментним введенням стрептозотоцину (Sigma, США) в черевну порожнину в дозі 60 мг/кг [6]. Діабетиками вважали тварин із рівнем глюкози понад 14–16 ммоль/л. Закрити ЧМТ моделювали за допомогою розробленої нами методики [7]. Тварин виводили з експерименту через 3 і 24 год (період гострої реакції на травму), 5 і 14 діб (період ранніх проявів) після травми [8] в умовах тіопентало-натрієвого наркозу (40 мг/кг) шляхом тотального кровопускання із серця.

Рівень загального холестерину (ЗХ), тригліцеридів (ТГ), вільних жирних кислот (ВЖК), холестерин ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) і холестерин ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) в плазмі крові визначали колориметричним ферментативним методом.

Ензиматичний спектр охоплював визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ), аспаратамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази

(ЛФ) і кислій фосфатази (КФ) за допомогою набору реактивів для колориметричного визначення.

Кількісне визначення фосфоліпідів у сироватці крові проводили за [9]. Визначення активності фосфоліпази А2 ґрунтується на здатності відщеплювати жирну кислоту від лецитину [10].

Результати досліджень опрацьовували статистично із застосуванням t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок.

**Результати досліджень та їх обговорення.**

Моделювання ЧМТ не змінювало рівень загального холестерину як у період гострої реакції на травму, так і в період ранніх проявів (табл. 1). Подібну динаміку відзначали щодо рівня ЛПВЩ, ЛПНЩ. Спостерігали незначне зниження рівня тригліцеридів порівняно з тваринами контрольної групи, яке досягало свого максимуму через 24 год після нанесення ЧМТ. В умовах екстремального стану, яким для щурів стала ЧМТ, спостерігали мобілізацію ВЖК зі статистично вірогідним збільшенням їх кількості у крові, а саме на 57,4, 85,3, 54,5 і 17,6 % через 3, 24 год, 5 і 14 діб після травми відповідно.

Фосфоліпіди є важливим структурним компонентом біомембран, що активно бере участь у формуванні ліпідного бішару і зумовлює його структурно-функціональну активність. Спрямованість динаміки змін сумарних фосфоліпідів у крові щурів

**Таблиця 1. Показники ліпідного обміну у тварин із черепно-мозковою травмою, стрептозотоциндукованим цукровим діабетом та при їх поєднанні (M±m)**

Показник	Контроль (n=10)	ЦД (n=10)	Група	Час після травми (n=10)			
				3 год	24 год	5 діб	14 діб
ЗХ, ммоль/л	1,97±0,25	2,63±0,27	ЧМТ	2,03±0,30	2,10±0,26	2,05±0,28	1,96±0,20
			ЧМТ+ЦД	4,15±0,50 <sup>^###</sup>	5,30±0,56 <sup>^^###</sup>	5,24±0,62 <sup>^^###</sup>	4,82±0,55 <sup>^^###</sup>
ЛПВЩ, ммоль/л	0,51±0,06	0,40±0,02	ЧМТ	0,48±0,05	0,54±0,08	0,53±0,07	0,56±0,05
			ЧМТ+ЦД	0,31±0,08	0,25±0,06 <sup>^###</sup>	0,24±0,07 <sup>^###</sup>	0,35±0,03 <sup>###</sup>
ЛПНЩ, ммоль/л	1,28±0,09	2,07±0,13 <sup>*</sup>	ЧМТ	1,25±0,12	1,16±0,14	1,21±0,10	1,30±0,07
			ЧМТ+ЦД	2,10±0,09	2,12±0,10	2,17±0,12	2,13±0,14
Тригліцериди, ммоль/л	0,72±0,08	0,69±0,11	ЧМТ	0,64±0,07	0,58±0,04	0,61±0,10	0,73±0,05
			ЧМТ+ЦД	0,57±0,09	0,49±0,10	0,48±0,13	0,60±0,09
ВЖК, ммоль/л	0,68±0,05	1,33±0,20 <sup>*</sup>	ЧМТ	1,07±0,16 <sup>*</sup>	1,26±0,14 <sup>**</sup>	1,05±0,12 <sup>**</sup>	0,80±0,10
			ЧМТ+ЦД	2,14±0,25 <sup>^###</sup>	2,95±0,32 <sup>^^###</sup>	2,77±0,41 <sup>^^###</sup>	2,29±0,28 <sup>^###</sup>
Фосфоліпіди, г/л	2,04±0,31	1,52±0,15	ЧМТ	1,73±0,24	1,56±0,28	1,68±0,60	2,11±0,53
			ЧМТ+ЦД	1,20±0,22	0,96±0,15 <sup>^</sup>	0,94±0,20 <sup>^</sup>	1,13±0,18
Фосфоліпаза А2, ×10 <sup>3</sup> Од/л	1,43±0,17	2,31±0,26 <sup>*</sup>	ЧМТ	2,42±0,31 <sup>**</sup>	2,24±0,28 <sup>*</sup>	1,85±0,30	1,50±0,14
			ЧМТ+ЦД	4,59±0,53 <sup>^###</sup>	4,35±0,61 <sup>^###</sup>	3,64±0,47 <sup>^###</sup>	2,75±0,22 <sup>###</sup>

Примітки:

1) \* – достовірність змін щодо показників у контрольних тварин;

2) # – достовірність змін щодо показників у тварин із ЧМТ;

3) ^ – достовірність змін щодо показників у тварин із ЦД (\*#<sup>^</sup> – p<0,05; \*\*##<sup>^^</sup> – p<0,01; \*\*\*###<sup>^^^</sup> – p<0,001).

при ЧМТ була з тенденцією до зниження (табл. 1). Максимальне зниження цього показника спостерігали через 24 год – на 23,5 % і через 5 діб – на 17,6 % порівняно з вихідними даними. Через 3 год після ЧМТ спостерігали підвищення на 69,3 % активності фосфоліпази А-2 – ферменту, що гідролізує фосфоліпіди. У подальшому її активність дещо знижувалась, проте перевищувала контрольні показники на 56,6 і 29,4 % через 24 год і 5 діб після травми.

На фоні стрептозотоциніндукованого ЦД спостерігали зростання ЗХ на 33,5 %, ЛПНЩ – на 61,7 %, ВЖК – на 95,6 %. Фракція ЛПВЩ зменшилась на 21,6 %. Майже не змінювався рівень ТГ за умов експериментального ЦД. ЦД супроводжувався зниженням кількості фосфоліпідів на 25,5 % та статистично вірогідним зростанням активності фосфоліпази А2 на 61,5 %.

ЧМТ на тлі експериментального ЦД викликала ряд змін у ліпідному обміні, які проявлялися зростанням кількості ЗХ на 104,4, 152,4, 155,6 і 145,9 % на 3, 24 год, 5 і 14 доби посттравматичного періоду порівняно з аналогічними показниками у тварин після ЧМТ. Майже не змінювався рівень ЛПНЩ, спостерігали зниження рівня ТГ на 10,9, 15,5, 21,3 і 17,8 % відповідно до термінів і знизився рівень ЛПВЩ у тварин із поєднанням цих патологій на

35,4, 53,7, 54,7 і 37,5 % щодо показників тварин з ізольованою ЧМТ.

При визначенні кількості фосфоліпідів у сироватці крові тварин, які отримали травму на тлі цукрового діабету, встановлено їх зниження на 30,6, 38,4, 44 і 46,4 % через 3, 24 год, 5 і 14 діб після травми відповідно. У даних експериментальних групах спостерігали зростання активності фосфоліпази А2 на 89,7, 94,2, 96,8 і 83,3 % відповідно до термінів експерименту.

На рисунках 1 і 2 наведено динаміку активності амінотрансфераз у плазмі крові тварин. Спостерігали вірогідне підвищення рівнів індикаторних ферментів трансаміназ АсАТ на 115,6 і 176,5 % через 3 і 24 год після ЧМТ та АлАТ – на 93,5 і 128,4 % відповідно. У період ранніх проявів після травми відзначали повернення активності цих ферментів до вихідного рівня. Підвищення вмісту біохімічних маркерів ураження печінкової тканини на тлі введення стрептозотоцину свідчило про структурно-функціональні зміни гепатоцитів із розвитком синдрому цитолізу при експериментальному ЦД. Так, активність АсАТ зросла на 86,4 % і АлАТ – на 102,7 % ( $p < 0,001$ ).

Про розвиток цитолітичного синдрому свідчило зростання активності АсАТ на 136,6, 112,7, 149,6 і 119,2 %, АлАТ – на 162,3, 155, 135,9 і 116,8 % відпо-

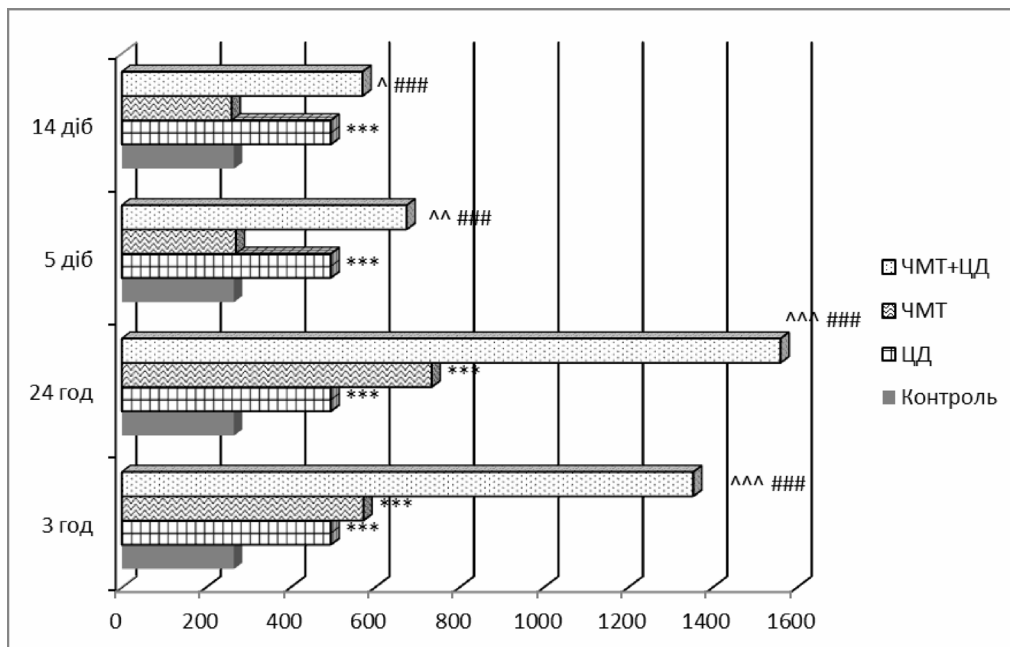


Рис. 1. Динаміка зміни активності АсАТ у плазмі крові шурів із черепно-мозковою травмою та стрептозотоциновим цукровим діабетом (по осі значень – активність АсАТ, ум. од.; по осі категорій – час після травми).

Примітки (на рис. 1, 2):

- 1) \* – достовірність змін щодо показників у контрольних тварин;
- 2) # – достовірність змін щодо показників у тварин із ЧМТ;
- 3) ^ – достовірність змін щодо показників у тварин із ЦД (\*#^ –  $p < 0,05$ ; \*\*##^ –  $p < 0,01$ ; \*\*\*###^^ –  $p < 0,001$ ).

відно до термінів експерименту у тварин, які отримали ЧМТ на тлі стрептозотоциніндукованого ЦД порівняно з травмованими тваринами без ЦД.

Активність лужної (маркерного ферменту цитоплазматичних мембран) і кислої (внутрішньоклітинного ферменту) фосфатаз була підвищеною впродовж усього посттравматичного періоду (рис. 3 і 4). Найбільш висока активність ЛФ була відзначена через 24 год після травми – на 171,8 % і КФ – на 180,1 %.

У тварин з експериментальним ЦД теж спостерігали підвищення активності фосфатаз: ЛФ – на 70,6 %, КФ – на 32,6 %. У тварин із модельованою

ЧМТ на тлі діабету динаміка цих показників була аналогічною щодо тварин після травми, проте активність ферментів була кількісно більш вираженою. Спостерігали зростання активності ЛФ на 80,3, 85, 101 і 107,2 % і КФ на 38,8, 43,2, 52,8 і 66,7 % через 3, 24 год, 5 і 14 діб порівняно з цими ж показниками після ЧМТ.

За даними [11], ліпопротеїди у процесі екстремального впливу на організм піддаються різноманітним та значним змінам через багатоконпонентність їх складу. При всіх патологічних станах розвиваються структурні зміни тканин і з'являється енергетичний дефіцит, ліпідам при цьому

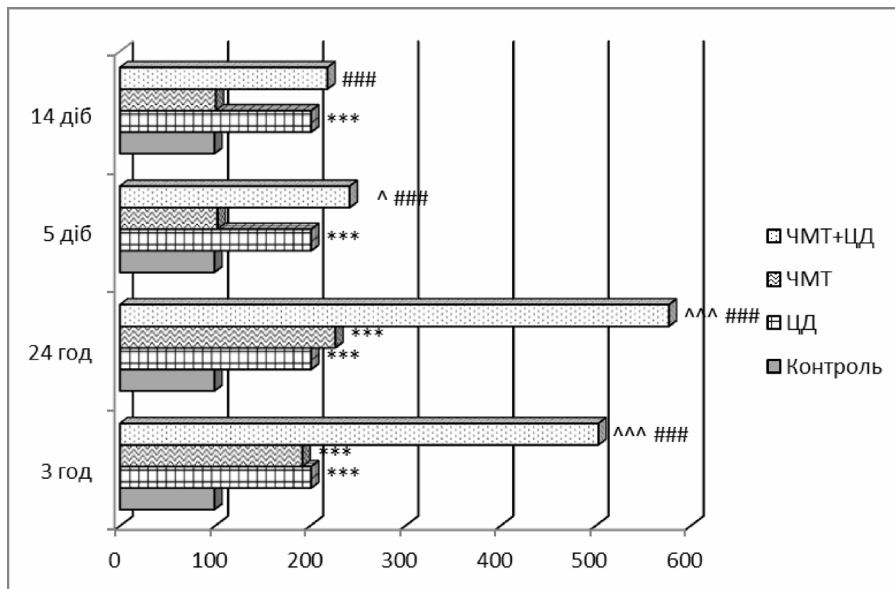


Рис. 2. Динаміка зміни активності АлАТ у плазмі крові щурів із черепно-мозковою травмою та стрептозотоциновим цукровим діабетом (по осі значень – активність АлАТ, ум. од.; по осі категорій – час після травми).

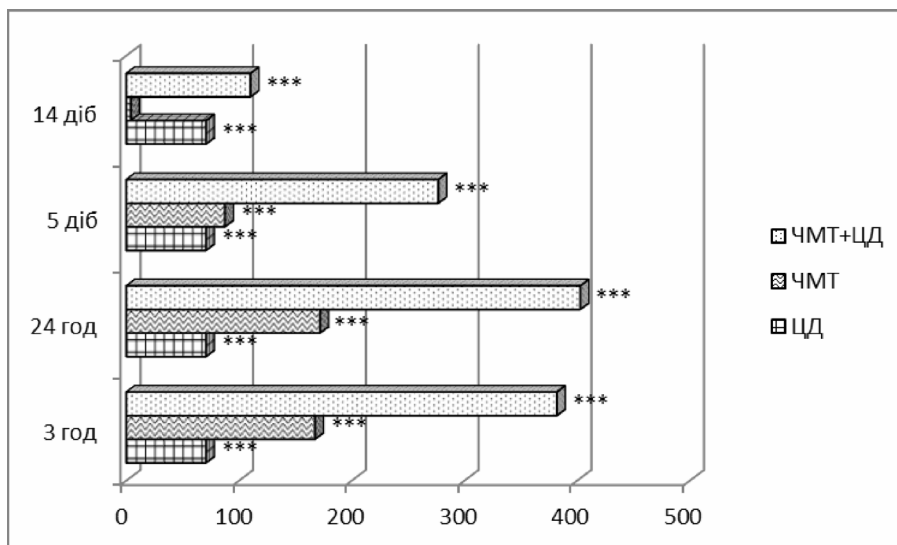


Рис. 3. Динаміка активності ЛФ у плазмі крові щурів із черепно-мозковою травмою та стрептозотоциновим цукровим діабетом (по осі значень – % від контрольного рівня; по осі категорій – час після травми); \*\*\* –  $p < 0,001$  при порівнянні середніх величин з контрольною групою).

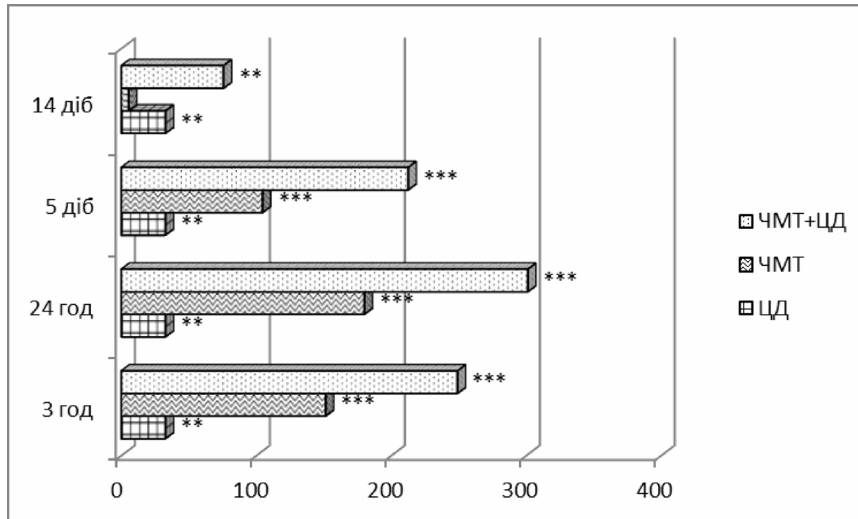


Рис. 4. Динаміка зміни активності КФ у плазмі крові щурів із черепно-мозковою травмою та стрептозоточиновим цукровим діабетом (по осі значень – % від контрольного рівня; по осі категорій – час після травми; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  при порівнянні середніх величин із контрольною групою).

відводиться особлива роль. Згідно з концепцією адаптаційної ролі ліпідів, яка була сформульована Е. М. Крепсом у 1981 р., всі компенсаторно-приспосувальні процеси в організмі супроводжуються модифікацією метаболізму ліпідів, відображенням чого є якісні й кількісні зміни фракцій ліпопротеїдів сироватки крові і клітинних мембран [2, 11]. Наявні метаболічні порушення на рівні клітинних мембран у ліпідному обміні зумовлені напруженням компенсаторних механізмів, спрямованих на підтримання гомеостазу організму. Зокрема, одночасну активацію у крові кислоти та лужної фосфатази слід розглядати як ознаку глибоких альтеруючих змін не тільки цитоплазматичних, але й внутрішньоклітинних (лізосомаль-

них) мембран і розвитку ланцюгового цитолітичного процесу [8].

**Висновки.** Встановлено особливості змін ліпідного обміну і ферментного спектра крові за умов експериментальної ЧМТ, ЦД та їх поєднання. Показано, що порушення жирового обміну та гіперферментемія супроводжують перебіг посттравматичного періоду і є ланкою патогенезу стрептозоточиніндукованого ЦД. Виявлені зміни більш виражені за умов комбінування ЧМТ і ЦД.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчення змін білкового та вуглеводного обмінів за умов вказаних патологій.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Калинин О. Г. К патогенезу травматической болезни / О. Г. Калинин, А. О. Калинин // Проблемы военного здравоохранения. – К. : Янтар, 2002. – С. 34–43.
2. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме / под ред. А. Н. Коновалова, Л. Б. Лихтермана, А. А. Потапова. – М. : Антидор, 1998. – Т. 1–3.
3. Madikians A. A. Clinician's Guide to the Pathophysiology of Traumatic Brain Injury / Andranik Madikians, Christopher C. Giza // Indian Journal of Neurotrauma (IJNT). – 2006. – Vol. 3, No. 1. – P. 9–17.
4. Дедов И. И. Сахарный диабет : руководство для врачей / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М. : ИКЦ Универсум Паблишинг, 2003. – 445 с.
5. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за редакцією чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
7. Пат. 74935 Україна, МПК G 09 B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання черепно-мозкової травми / Мерещкий В. М.; заявник і патентовласник Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. – № u2012 06594; заявл. 30.05.2012; опубл. 12.11.2012, Бюл. № 21.
8. Ельский В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев. – Донецк : Изд-во "Новый мир", 2008. – 140 с.
9. Определение фосфолипидов по образованию гидрофобного комплекса с ферритиоцианатом аммония / А. А. Пентюк, В. И. Гуцол, О. А. Яковлева [и др.] // Лаб. дело. – 1987. – № 6. – С. 457–459.
10. Гутилин С. А. Метод определения фосфолипазы А в сыворотке крови / С. А. Гутилин, А. И. Салуенья // Лаб. дело. – 1975. – № 6. – С. 35–39.
11. Курашвили Л. В. Липидный обмен при неотложных состояниях / Л. В. Курашвили, В. Г. Васильков. – Пенза, 2003. – 198 с.

Отримано 20.12.12