

СТАН ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ПЕРЕКІСНОГО ОКИСНЕННЯ У ЩУРІВ З ГОСТРОЮ КРОВОВТРАТОЮ

© С. С. Чернадчук, А. О. Рустамова, С. А. Петров, О. К. Будняк

Проведено дослідження показників перекісного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в різних тканинах щурів при гострій крововтраті. В результаті роботи було виявлено, що в умовах крововтрати збільшується кількість продуктів ПОЛ на фоні зниження активності антиоксидантних ензимів у всіх досліджуваних органах щурів

Ключові слова: перекісне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, гостра крововтрата

A study of lipid peroxidation parameters and antioxidant systems in different tissues of rats with acute blood loss is conducted. As a result, it has been found that lipid peroxidation products increase in conditions of blood loss against the background of decreased activity of antioxidant enzymes in all investigated organs of rats

Keywords: lipid peroxidation, antioxidant system, acute blood loss

1. Вступ

В даний час дослідження процесів, що відбуваються в організмі при гострій крововтраті набуває особливої актуальності. Це пов'язано як з численними пораненнями наших бійців в зоні АТО, так і з високим рівнем побутового та виробничого травматизму.

Сучасні медичні методи лікування таких хворих зводяться до крововідновленої терапії. При цьому не враховуються зміни біохімічних процесів в організмі, що мають місце при крововтраті.

Нам здається дуже важливим встановлення таких механізмів, що дозволить більш ефективно лікувати хворих.

2. Постановка проблеми

Метою дослідження було визначення головних біохімічних показників ПОЛ-АОС в різних органах щурів з гострою крововтратою в динаміці розвитку патології.

3. Літературний огляд

Гостра крововтрата (ГК) патофізіологічно супроводжується синдромом гіпоксії. Складний патогенез гіпоксичного синдрому на фоні ГК, обумовлений на початковому етапі низьким вмістом сироваткового заліза. Як відомо, гіпоксичні стани супроводжуються на клітинному та субклітинному рівні комплексом біохімічних порушень, які полягають у порушенні енергетичного обміну – переходу метаболізму на більш стійкі гліколітичні шляхи [1–4]. Як наслідок, з'являються ознаки лактат ацидозу, посилення вільно-радикальних процесів на фоні недостатньої активності антиоксидантної системи, порушення структури та функції біомембран [5, 6].

Пошкоджуюча дія гіпоксії при ГК характеризується лавиноподібним накопиченням недоокисне-

них продуктів з появою високотоксичних вільних радикалів, що, в свою чергу, призводить до дезорганізації дихального ланцюга і енергетичного дефіциту в клітинах [7].

Як відомо, надмірне накопичення активних форм кисню (АФК) контролюється діяльністю антиоксидантних ферментів. До цих ферментів відносяться супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза. Ферменти антиоксидантної дії забезпечують пряме знешкодження активних форм кисню, зводять до мінімуму концентрацію перекису водню, супероксидного радикалу і різко зменшують утворення токсичного радикалу $\text{OH}\cdot$ [8–11].

Керована модель ГК дозволяє отримати динамічну характеристику наростаючого процесу, а також визначити в розвитку неокровілля періоди, істотні для розуміння її механізмів, що, в свою чергу, дозволяє направлено вибирати терміни для поглибленого дослідження енергетичного режиму. У цих умовах можна виявити регуляторну спрямованість у зміні метаболічної адаптації в загальному комплексі гіпоксичних порушень. Керована модель дозволяє виявити інтеграцію між кисневим режимом системи та її метаболічною відповіддю.

4. Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на безпородних статевозрілих щурах-самцях масою 150–200 г, вирощених в умовах віварію при вільному доступі до їжі і води, а також природному чергуванні добової освітленості.

При експерименті усі біоетичні норми згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах»,

ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та дотриманням принципів гуманності, викладеними у директиві Європейської Спільноти [12] були збережені.

Слід відмітити, що з метою вивчення механізму виникнення анемії, процесів регенерації крові, виявлення недостатності кровотворної системи і розробки методів терапії штучно відтворювалося недокрів'я у тварин.

Досліди проводили на тваринах, з ГК в результаті крововтрати з кінчика хвоста в кількості 7–15 % крові від загального обсягу, або 0,5–1 % від загальної маси досліджуваної тварини.

Тварин поділяли на 2 групи:

1 група – інтактні тварини (Контроль);

2 група – тварини, у яких викликали гостру крововтрату (ГК).

Показники ПОЛ-АОС визначали в тканинах мозку, серця, печінки та нирок. Вміст дієнових кон'югатів (ДК), основ Шиффа (ШО), малонового діальдегіду (МДА), активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази визначали за Горячковським (1995) [13].

Результати опрацьовували статистично за допомогою пакету програм Statistica 6.0, Microsoft Excel for Windows XP. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Ст'юдента.

5. Апробація результатів дослідження

На першому етапі досліджень, був проведений аналіз показників ПОЛ-АОС в тканинах печінки, серця,

мозку та нирок контрольної групи щурів які перебували на стандартному раціоні віварію (табл. 1, 2).

В результаті було виявлено наступне: максимальний вміст ДК спостерігали в тканинах печінки, вміст ШО та МДА максимально реєструвався в тканинах нирок. Активність ферментів антиоксидантної системи була теж максимальною в тканинах печінки та нирок.

Такий розподіл продуктів ПОЛ та активності ферментів антиоксидантної системи пов'язаний з специфічними функціями, які виконують досліджені органи.

Характер і перебіг анемії залежать від величини крововтрати та регенераторної здатності кровотворної тканини. При багаторазових кровопусканнях посилення кровотворення може змінитися пригніченням у зв'язку з виснаженням кровотворної тканини. Після втрати 7-15 % об'єму крові відновлення фізіологічних та біохімічних показників організму настає через 20-25 днів [14].

У зв'язку, з вище сказаним показники перекісного окиснення ліпідів в тканинах щурів з ГК вивчали в динаміці протікання вивчаємої патології (табл.1).

Згідно з отриманими результатами, вплив анемії призводить до різнопланових змін вмісту ДК та ШО у всіх досліджуваних тканинах у порівнянні з контролем (в залежності від дослідної тканини).

Так вміст ДК, в дослідних тканинах на 3-ю добу після ГК практично не змінювався, в порівнянні з показниками контрольної групи щурів (табл. 1).

Таблиця 1

Показники перекісного окиснення ліпідів в тканинах щурів з гострою крововтратою (n=50)

ТКАНИНИ	СЕРІЇ ДОСЛІДУ	Вміст дієнових кон'югатів, од. ІО	Вміст Основ Шиффа, од. ІО	Вміст МДА, нмоль/г тканини
нирки	Контроль	3,01±0,3	8,41±0,9	44,34 ± 4,87
	ГК 3 доби	3,01±0,3	9,01±0,9	45,04 ± 4,05
	ГК 7 діб	5,08±0,3*	10,02±0,9*	48,87 ± 5,06
	ГК 14 діб	5,99±0,4*	11,67±0,9*	45,31 ± 4,9
	ГК 21 доба	4,71±0,4*	9,89±0,9*	45,4 ± 4,9
печінка	Контроль	3,52±0,7	4,31±0,4	21,01 ± 3,97
	ГК 3 доби	3,87±0,7	4,5±0,4	23,08 ± 3,9
	ГК 7 діб	3,91±0,8	5,68±0,6*	38,1 ± 4,01*
	ГК 14 діб	3,74±0,4	5,89±0,6*	29,4 ± 3,0*
	ГК 21 доба	3,54±0,4	4,89±0,5	24,01 ± 1,9
серце	Контроль	2,61±0,4	4,44±0,4	18,6 ± 1,01
	ГК 3 доби	2,67±0,4	4,4±0,4	24,98 ± 2,09*
	ГК 7 діб	3,91±0,6*	6,03±0,5*	36,1 ± 4,93*
	ГК 14 діб	3,04±0,6*	6,04±0,5*	32,7 ± 4,0*
	ГК 21 доба	2,87±0,7	5,67±0,4*	26,72 ± 2,07*
мозок	Контроль	2,60±0,4	4,44±0,4	36,4 ± 2,9
	ГК 3 доби	2,8±0,4	4,78±0,5	39,8 ± 3,65
	ГК 7 діб	3,04±0,7	5,3±0,5	54,2 ± 4,9*
	ГК 14 діб	2,91±0,6	6,09±0,5*	46,5 ± 2,77*
	ГК 21 доба	2,64±0,6	5,45±0,5	47,48 ± 4,67*

Примітка: * – достовірна різниця по відношенню до контрольної групи тварин ($P \leq 0,05$)

На 7-у та 14-ту добу після ГК, ми спостерігали достовірне збільшення вмісту ДК в тканинах нирок на 84 %, в тканинах серця – на 32 %, по відношенню до контролю. Подальший перебіг анемії характеризувався зменшенням вмісту ДК, по відношенню до показників більш ранніх термінів, тобто вміст ДК характеризувався відновленням до значень контрольної групи щурів.

Слід відмітити, що вміст ДК в тканинах печінки та мозку не мав достовірних змін, по відношенню до контрольних значень.

При вивченні вмісту ШО, ми спостерігали аналогічні зміни, які відбувалися при вивченні вмісту ДК, тобто на 3-ю добу після ГК вміст ШО значно не змінювався, по відношенню до показників контрольної групи щурів (табл. 1).

На 7-у та 14-у добу перебігу анемії, ми спостерігали достовірне збільшення вмісту ШО в тканинах нирок та мозку на 28 %, в тканинах печінки – на 33 %, та в тканинах серця – на 36 %, по відношенню до контролю. Подальший перебіг анемії характеризувався зменшенням вмісту ШО, по відношенню до показників більш ранніх термінів перебігу анемії, тобто вміст ШО характеризувався відновленням до значень контрольної групи щурів.

Вміст МДА, в дослідних тканинах, вже на 3-ю добу після ГК, мав тенденцію до збільшення (табл. 1).

На 7-у добу після ГК, ми спостерігали достовірне збільшення вмісту МДА в тканинах мозку на 48 %, по відношенню до контролю, в тканинах печінки – на 81 % та в тканинах серця – на 94 %.

Подальший перебіг анемії характеризувався зменшенням вмісту МДА, по відношенню до показників більш ранніх термінів перебігу анемії, тобто вміст МДА характеризувався відновленням до значень контрольної групи щурів. Але в деяких тканинах вміст МДА залишався на високому рівні, по відношенню до значень контрольної групи щурів, так на

21 добу перебігу анемії вміст МДА в тканинах мозку залишався достовірно більшим на 30 %, по відношенню до контролю, в тканинах серця – на 43 %.

Отримані в результаті експериментів дані показали, що під впливом гострої крововтрати спостерігається порушення систем перехоплення і генерації супероксидних радикалів в досліджуваних органах і тканинах. Порушення при ГК направлені в бік збільшення генерації радикалів. Підвищення вмісту ДК, ШО та МДА свідчить про збільшення кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів, що свідчить про напружену роботу захисних сил клітини, таким чином, вказує на зниження антиоксидантного захисту організму. Отримані дані свідчать про те, що при ГК порушується здатність організму адекватно відповідати на такий стресовий фактор як гімічна гіпоксія, про що свідчать різнонаправлені зміни активності процесів ПОЛ при гімічній гіпоксії в тканинах досліджуваних щурів.

Отримані в результаті експериментів дані показали, що під впливом ГК спостерігається порушення систем перехоплення супероксидних радикалів в досліджуваних органах і тканинах.

Згідно з отриманими результатами, вплив анемії призводить до зменшення активності СОД та каталази у всіх досліджуваних тканинах у порівнянні з контролем (табл. 2).

На 7-ий та 14-тий день після ГК, ми спостерігали достовірне зменшення активності СОД в тканинах мозку на 35 %, по відношенню до контролю, в тканинах нирок – на 50 %, в тканинах серця – на 45 %.

Подальший перебіг анемії характеризувався відновленням активності СОД до контрольних значень. При вивченні активності каталази, ми спостерігали, що в тканинах мозку та серця активність ензиму на 3 день після ГК збільшувалась на 23 % та 50 %, відповідно по відношенню до контролю (табл. 2).

Таблиця 2

Показники антиоксидантної системи в тканинах щурів з гострою крововтратою (n=50)

ТКАНИНИ	СЕРП ДОСЛІДУ	СОД, од. акт./г тканини	Каталаза, мМ/г тканини
нирки	Контроль	5126±661	4,51±0,4
	ГК 3 доби	4700±530	3,99±0,4
	ГК 7 діб	3100±270*	3,03±0,3*
	ГК 14 діб	2967±251*	4,83±0,4
	ГК 21 доба	4567±313	4,42±0,4
печінка	Контроль	6780±260	4,77±0,5
	ГК 3 доби	6500±523	4,14±0,4
	ГК 7 діб	6346±501	4,58±0,4
	ГК 14 діб	6124±408	4,57±0,4
	ГК 21 доба	6612±398	4,10±0,4
серце	Контроль	647±36	1,32±0,2
	ГК 3 доби	600±38	1,99±0,9
	ГК 7 діб	312±27*	1,18±0,9
	ГК 14 діб	398±20*	0,26±0,3*
	ГК 21 доба	589±45	0,95±0,9
мозок	Контроль	746±44	4,04±0,3
	ГК 3 доби	689±37	4,99±0,5
	ГК 7 діб	448±32*	2,36±0,2*
	ГК 14 діб	500±42*	2,78±0,2*
	ГК 21 доба	678±37	3,01±0,2

Примітка: * – достовірна різниця по відношенню до контрольної групи тварин ($P \leq 0,05$)

Так активність СОД, в дослідних тканинах, вже на 3-ю добу після ГК, мала тенденцію до зменшення (табл. 2).

Що стосується активності каталази в тканинах нирок та печінки, то ми спостерігали зменшення цього показника в середньому на 12 % по відношенню до контролю (табл. 2).

На 7-у добу після ГК нами було відмічено достовірне зниження активності каталази в тканинах мозку на 50 %, тканинах нирок – на 33 %, по відношенню до показників контролю, що стосується активності каталази в тканинах печінки та серця, то достовірних змін, по відношенню до контролю, ми не спостерігали (табл. 2).

Подальший перебіг анемії характеризувався відновленням активності каталази до контрольних значень, однак активність каталази на 21-ий день після ГК в тканинах мозку та серця була менша на 26 %, по відношенню до контролю.

Слід відмітити, що активність каталази, як і активність СОД, в тканинах печінки при розвитку некрозів не мала достовірних змін, по відношенню до контрольних значень.

Зниження активності антиоксидантних ензимів свідчить про напружену роботу захисних сил клітини, і таким чином, вказує на зниження антиоксидантного захисту організму.

При підведенні підсумків наших досліджень стає очевидним, що при ГК в тканинах білих щурів вірогідно знижується активність СОД та каталази на 7-у добу, в порівнянні з нормою. Ймовірно, в умовах патологічного процесу ферментативна ланка антиоксидантної системи пригнічується і накопичуються токсичні продукти перекисного окиснення.

6. Висновки

Дефіцит кисню в умовах ГК призводить до швидкого розладу функціонування прооксидантної і антиоксидантної систем, які в нормі формують стабільний енергетичний гомеостаз.

Література

1. Kurtoglu, E. Effect of iron supplementation on oxidative stress and antioxidant status in iron deficiency anemia [Text] / E. Kurtoglu // Biological Trace Element Research. – 2003. – Vol. 96, Issue 1-3. – P. 117–124. doi: 10.1385/bter:96:1-3:117
2. Кения, М. П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе [Текст] / М. П. Кения, А. И. Лукаш, Е. П. Гуськов // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, № 4. – С. 456–468.
3. Булгакова, Е. Б. Перекисное окисление липидов мембран [Текст] / Е. Б. Булгакова // Успехи химии. – 2004. – Т. 54. – С. 1540–1558.
4. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах [Текст] / Ю. А. Владимиров // Соросовский Образовательный журнал. – 2000. – № 12. – С. 13–19.
5. Воскресенский, О. Н. Перекиси липидов в живом организме [Текст] / О. Н. Воскресенский, А. П. Левицкий // Вопр. мед. химии. – 2003. – Т. 16, № 6. – С. 563–583.
6. Осипов, А. Н. Активные формы кислорода и их роль в организме [Текст] / А. Н. Осипов, О. А. Азизова, Ю. А. Владимиров // Успехи соврем. Биологии. – 2003. – Т. 31. – С. 180–208.
7. Петрович, Ю. А. Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса

[Текст] / Ю. А. Петрович // Патол. физиол. и екперим. терапия. – 2005. – № 5. – С. 85–92.

8. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты [Текст] / Ю. А. Владимиров // Вестник РАМН. – 2001. – № 8. – С. 43–51.

9. Тимочко, М. Ф. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль [Текст] / М. Ф. Тимочко, Л. І. Кобильська // Мед. Хімія. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 19–24.

10. Abiaka, C. Effect of Prolonged Storage on the Activities of Superoxide Dismutase, Glutathione Reductase, and Glutathione Peroxidase [Text] / C. Abiaka, F. Al-Awadi, S. Olusi // Clinical Chemistry. – 2003. – Vol. 46, Issue 4. – P. 560–576.

11. Тиунов, Л. А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты [Текст] / Л. А. Тиунов // Вестн. РАМН. – 1995. – № 3. – С. 9–13.

12. Official Journal of the European Union L276/33 [Text] / Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 86/609/EC.20.10.2010.

13. Горячковский, А. Г. Клиническая биохимия [Текст] / А. Г. Горячковский; под. ред. А. Г. Горячкового. – Одесса: Астропринт, 1998. – 572 с.

14. Выштакалюк, А. Б. Противоянеческая активность полиметаллокомплексов пектиновых полисахаридов с Fe^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} при различном соотношении d-металлов [Текст] / А. Б. Выштакалюк, А. Н. Карасева, В. В. Карлин, С. Т. Минзанова, В. Ф. Миронов, А. И. Коновалов // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – Т. 42, № 6. – С. 3–6.

References

1. Kurtoglu, E. (2003). Effect of iron supplementation on oxidative stress and antioxidant status in iron deficiency anemia. Biological Trace Element Research, 96 (1-3), 117–124. doi: 10.1385/bter:96:1-3:117
2. Kenya, M. P., Lukas, A. I., Guscov, E. P. (1993). Nyzkomolekulyarnie antioxidant role in oxidative stress [The role of low molecular weight antioxidants in oxidative stress]. Successes Modern biology, 113 (4), 456–468.
3. Bulgakov, E. B. (2004). Perekysnoe oxidation lypydov membranes [Lipid peroxidation of membranes]. Successes chemistry, 54, 1540–1558.
4. Vladimirov, Y. A. (2000). Svobodny radicals in biology systems [Free radicals in biological systems]. Soros Educational Journal, 12, 13–19.
5. Voskresensciy, O. N. (2003) Peroxide lypydov in zhyvom organism [Lipid peroxides in vivo]. Problems. med. chemistry, 16 (6), 563–583.
6. Osipov, A. N., Azizova, A. A., Vladimirov, Y. A. (2003). Active forms of oxygen and ih role in the body [Reactive oxygen species and their role in the body]. Modern successes. Biology, 31, 180–208.
7. Petrovich, Y. A. (2005). Svobodnoradykalnoe oxidation & its role in the pathogenesis of inflammation, and stress yshemy [Free radical oxidation and its role in the pathogenesis of inflammation, ischemia and stress]. Pathology. fyzyol. and екperim. Therapy, 5, 85–92.
8. Vladimirov, Y. A. (2001). Svobodny radicals and antyoksydanti [Free radicals and antioxidants]. Journal of Medical Sciences, 8, 43–51.
9. Tymochko, M. F., Kobylska, L. I. (2002). Vilnoradicalni reactions and their metabolic role [Free radical reactions and their metabolic role]. Med. Chemistry, 1 (1), 19–24.
10. Abiaka, C., Al-Awadi, F., Olusi, S. (2003). Effect of Prolonged Storage on the Activities of Superoxide Dismutase, Glutathione Reductase, and Glutathione Peroxidase. Clinical Chemistry, 46 (4), 560–576.
11. Tyunov, L. A. (1995). Mechanisms estestvennoy detoxification and antioxidant protection [Mechanisms of natural detoxification and antioxidant protection]. Vestn. RAMS, 3, 9–13.

12. Official Journal of the European Union L276/33. Directive 2010/63 / EU of the European parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 86/609 / EC.20.10.2010.

13. Horyachkovskiy, A. G. (1998). Clinical biochemistry [Clinical biochemistry]. Odessa: Astroprint, 572.

14. Vyshtakalyuk, A. B. (2008). Protivooanemicheskaya activity Polymetal International pectin complexes polisaharidov with Fe_2^+ , Co_2^+ , Cu_2^+ at razlychnom sootnoshenyy d-metals [Protivooanemicheskim activity polymetal pectic polysaccharides complexes with Fe_2^+ , Co_2^+ , Cu_2^+ at various ratios of d-metals]. Chemical and Pharmaceutical Journal, 42 (6), 3–6.

Дата нахождения рукопису 28.03.2015

Чернадчук Сніжана Сергіївна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра біохімії, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65000

E-mail: chuk32@yandex.ru

Рустамова Алія Октай Гизи, кафедра біохімії, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65000

E-mail: elxanpiraliyev@mail.ru

Будняк Олександр Костянтинович, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра біохімії, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65000

E-mail: budnyak2005@ukr.net

Петров Сергій Анатолійович, доктор біологічних наук, професор, кафедра біохімії, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65000