

**ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ТКАНИНІ СЕРЦЯ ТА КРОВІ ЩУРІВ
У ПОСТКОМПРЕСІЙНОМУ ПЕРІОДІ СИНДРОМУ ТРИВАЛОГО СТИСНЕННЯ****Тернопільський національний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль, Україна)**

yuryk_ya@ukr.net

Ендотоксикоз та реперфузійна токсемія в посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення є причиною розвитку поліорганної недостатності та смерті потерпілих. За умов активації пероксидного окиснення ліпідів стан антиоксидантної системи організму відіграє важливу роль після декомпресії та потребує вивчення в різні періоди розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому. Метою роботи було з'ясувати особливості антиоксидантного захисту в тканині серця та крові за умов ендогенної інтоксикації у посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення. Дослідження проведено на 60 білих лабораторних щурах. Експериментальну групу склали 48 тварин, які було поділено на чотири підгрупи по 12 особин у кожній, яких виводили з експерименту через 24 години, 3, 7 та 14 діб після моделювання СТС. Контрольну групу становили 12 інтактних щурів. СТС моделювали шляхом стискання м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки за умов знеболення шляхом внутрішньочеревинного введення кетаміну гідрохлориду (100 мг/кг маси тіла) у сконструйованому нами пристрої, сила компресії становила 7 кг/см² на 5 см² протягом 6 годин без ушкодження магістральних судин та кісток. Активність каталази сироватки крові та гомогенату серця досліджували спектрофотометричним методом. У гомогенаті серця визначали активність супероксиддисмутази. У сироватці крові визначали концентрацію церулоплазміну. Достовірність отриманих цифрових даних оцінювали за допомогою непараметричного критерію Краскела-Уолліса. У ранньому посткомпресійному періоді СТС встановлено максимальне зростання активності каталази, супероксиддисмутази та концентрації церулоплазміну. Активність супероксиддисмутази в тканині серця через 3 доби дослідження зросла на 58%, а концентрація церулоплазміну в сироватці крові – на 67% порівняно з аналогічними показниками у інтактних щурів. Порівнюючи активність каталази в сироватці крові та гомогенаті серця у інтактних та експериментальних тварин нами встановлено максимальне зростання останньої в сироватці крові через 3 доби дослідження у 4,1 рази, а у тканині серця цей показник зріс через 1 добу у 3,7 рази, а через 3 доби статистично недостовірно знизився на 2,3%, тобто практично не змінився. Починаючи з 7 доби і до завершення експерименту активність каталази, супероксиддисмутази та концентрація церулоплазміну односпрямовано знижувалися.

Ключові слова: антиоксидантний захист, синдром тривалого стиснення, кров, серце.

Зв'язок публікації з плановими науководослідними роботами. Дослідження проводили

в рамках планової теми «Особливості структурної реорганізації кровоносних русел внутрішніх органів за умов впливу екзо- і ендогенних негативних чинників у експерименті», № державної реєстрації 0118U000360.

Вступ. У інтактних тварин джерелом утворення активних форм кисню є мембраноасоційовані NADH оксидази, ендотеліоцити та цитохром b 558. Каталаза і пероксидаза перетворюють пероксид водню на воду та кисень. За умов ішемії тканин при синдромі тривалого стиснення (СТС) страждають структури клітинних мембран та ферментних систем, що призводить до швидкого накопичення вільних радикалів кисню та зниження протиоксидантної здатності тканини [1]. Реперфузія стиснених тканин після звільнення потерпілих і відновлення артеріального кровотоку посилюють утворення активних форм кисню, але слабкість антиоксидантної активності спричинена гіпоксією та ішемією не забезпечує їх інактивації [2]. У тяжких випадках за умов високої концентрації продуктів пероксидного окиснення відбувається їхня деструктивна дія безпосередньо в місці компресії, а також кров'ю вони розносяться по різних органах та системах, зокрема спричиняють реперфузійне ураження серця. В роботі M. Sgarby et al. [3] доказано, що при експериментальному СТС тканина легень, печінки, лімфатичні вузли інфільтруються нейтрофілами, лімфоцитами та моноцитами, які утворюють клітинні агрегати, в м'язах, печінці та легенях зростає рівень мієлопероксидази, а у плазмі крові – рівень ненасичених жирних кислот та молекул середньої маси [4]. Ділянки некрозу м'язів в місцях стиснення поєднуються з ішемічними зонами, в яких утворюються кислі продукти анаеробного обміну, які всмоктуються в кров та спричиняють системну запальну реакцію [5]. Активація пероксидного окиснення ліпідів в кінцевому результаті призводить до синтезу та виділенням клітинами ІЛ-1β, ІЛ-6, ІЛ-8, фактору некрозу пухлин (TNF), молекул міжклітинної адгезії ICAM-1, VCAM-1. У кров виходять у великих кількостях продукти арахідонової кислоти, а саме простагландини, тромбоксани, лейкотрієни, гістамін, оксид азоту, ацетилхолін, молочна кислота. Генералізований ендотоксикоз та реперфузійна токсемія є головними чинниками, які призводять до ураження всіх органів і систем, розвитку поліорганної недостатності та є причиною смерті у потерпілих [6].

Мета дослідження – визначити особливості антиоксидантного захисту в тканині серця та крові за умов ендогенної інтоксикації у посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 60 білих лабораторних щурах вагою 240-270 грам. Піддослідні тварини були розділені на такі

групи : 1 – інтактні тварини (12 особин); 2 – 1-ша доба спостереження (12 особин); 3 – 3-тя доба спостереження (12 особин); 4 – 7-ма доба спостереження (12 особин) та 5 – 14-та доба спостереження (12 особин), що відповідало періодам розвитку СТС. СТС моделювали шляхом стискання м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки за умов знеболенням шляхом внутрішньо-очеревинного введення кетаміну гідрохлориду (100 мг/кг маси тіла) у сконструйованому нами пристрої, сила компресії становила 7 кг/см² на 5 см² протягом 6 годин без ушкодження магістральних судин та кісток [7]. Активність каталази сироватки крові та гомогенату серця досліджували спектрофотометричним методом [8]. В гомогенаті серця визначали активність супероксиддисмутази (СОД) [9]. В сироватці крові визначали концентрацію церулоплазміну (ЦП) [10]. Евтаназію тварин здійснювали кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу. При роботі з тваринами дотримувались правил поводження з експериментальними тваринами згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [11, 12]. Достовірність отриманих цифрових даних оцінювали за допомогою непараметричного критерію Краскела-Уолліса.

Результати дослідження та їх обговорення. Ішемія тканин та венозний застій у посмугованих м'язах, які мають місце за умов розвитку синдрому тривалого стиснення, у посткомпресійному періоді доповнюються реперфузійною токсемією, міоглобулінемією, що призводить до розвитку генералізованого ендотоксикозу та поліорганної недостатності. Важливе значення для прогнозу важкості стану потерпілих є стан антиоксидантної системи сироватки крові та серця.

Основною функцією каталази є відновлення гідрогенпероксиду до води та молекулярного кисню. У сироватці крові каталазна активність у посткомпресійному періоді СТС вірогідно збільшувалася через 1 добу у 3,1 рази, через три доби – у 4,1 рази, що було статистично достовірно ($p < 0,001$). Починаючи з 7 доби ми відмітили тенденцію до зниження активності каталази. Порівняно з аналогічним показником через 3 доби зниження активності каталази становило 14,8% через 7 дів та 33,5% через 14 дів посткомпресійного періоду СТС, що було статистично достовірно ($p < 0,001$).

У гомогенаті серця активність каталази статистично вірогідно зросла у 3,7 рази через одну добу ($p < 0,001$), через три доби вона залишилася практично на тому самому рівні, знизившись лише на 2,3%, що не було статистично достовірно. Проте, тенденція до змен-

Таблиця – Динаміка змін показників антиоксидантного захисту у посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення ($M \pm m$; $n=12$)

Показник	Групи тварин				
	Інтактні тварини	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Сироватка крові					
Каталаза, мкат/л	0,215±0,01	0,670±0,004 ($p_1 < 0,001$)	0,890±0,003 ($p_1 < 0,001$) ($p_2 < 0,001$)	0,758±0,008 ($p_1 < 0,001$) ($p_3 < 0,001$)	0,592±0,008 ($p_1 < 0,001$) ($p_4 < 0,001$)
ЦП, мг/л	2,22±0,08	3,42±0,05 ($p_1 < 0,001$)	3,71±0,03 ($p_1 < 0,001$) ($p_2 < 0,001$)	3,14±0,11 ($p_1 < 0,001$)	2,63±0,10 ($p_1 < 0,05$)
Гомогенат серця					
Каталаза, мкат/кг	0,156±0,01	0,575±0,007 ($p_1 < 0,001$)	0,562±0,007 ($p_1 < 0,001$) ($p_2 > 0,05$)	0,368±0,009 ($p_1 < 0,001$) ($p_3 < 0,001$)	0,310±0,009 ($p_1 < 0,001$) ($p_4 < 0,001$)
СОД, ум. од./мг	0,290±0,002	0,399±0,003 ($p_1 < 0,001$)	0,458±0,002 ($p_1 < 0,001$) ($p_2 < 0,001$)	0,419±0,009 ($p_1 < 0,001$) ($p_3 < 0,001$)	0,384±0,01 ($p_1 < 0,001$) ($p_4 > 0,05$)

Примітки: p_1 – достовірність відносно показників інтактних щурів; p_2 – достовірність показників через 1 та 3 доби спостереження; p_3 – достовірність показників через 3 та 7-му дів спостереження; p_4 – достовірність показників через 7 та 14 дів спостереження.

шення цього показника в тканині серця зберігалася і через 7 дів, коли каталазна активність зменшилася порівняно з показником на третю добу на 34,5%, але залишалася вищою порівняно з інтактними щурами у 2,35 рази. Через 14 дів каталазна активність продовжувала знижуватися по відношенню до максимального значення на 45%, але була вищою порівняно з аналогічним показником у інтактних тварин майже у 2 рази (табл.).

Порівнюючи активність каталази в сироватці крові та гомогенаті серця у інтактних та експериментальних тварин нами встановлено максимальне зростання останньої в сироватці крові через 3 доби дослідження у 4,1 рази, а у тканині серця цей показник зріс через 1 добу у 3,7 рази, а через 3 доби статистично недостовірно знизився на 2,3 %, тобто практично не змінився. Починаючи з 7 доби експерименту активність каталази односпрямовано знижувалася (рис.).

У гомогенаті серця визначали активність супероксиддисмутази. Через добу у посткомпресійному періоді експериментального СТС активність СОД статистично достовірно ($p < 0,001$) зростала порівняно з аналогічним показником у інтактних тварин майже у 1,4 рази, або на 37,5%. Через три доби активність СОД у нашому дослідженні набула найвищого зна-

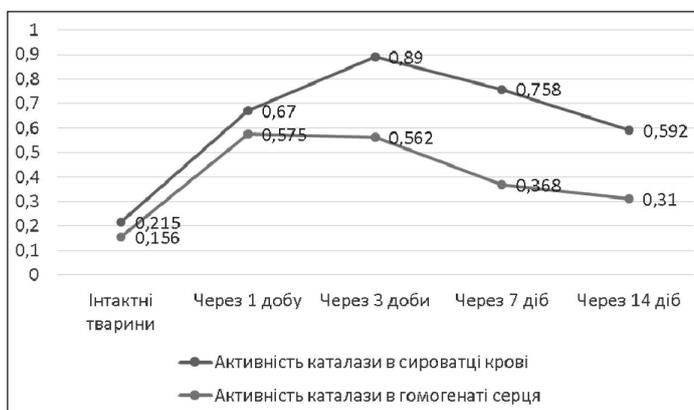


Рисунок – Показники активності каталази в сироватці крові та гомогенаті серця в посткомпресійному періоді СТС.

чення і становила $0,458 \pm 0,002$ ум. од./мг, що було більше, ніж у інтактних щурів майже у 1,6 рази, або на 58% ($p < 0,001$). Через 7 діб посткомпресійного періоду активність супероксиддисмутази почала активно зменшуватися і порівняно з аналогічним показником через 3 доби, коли він був максимальним, зниження становило 8,5% ($p < 0,001$). Тенденція до падіння активності СОД в тканині серця зберігалася до закінчення експерименту і через 14 діб, коли вона статистично достовірно знизилася порівняно з цим же показником через 3 доби на 16,2% ($p < 0,001$).

Важливим маркером антиоксидантного захисту є вміст у крові білка церулоплазміну. Концентрація його в крові підвищується внаслідок посиленого його виходу з гепатоцитів, що є проявом деструктивного впливу ендогенної інтоксикації в посткомпресійному періоді СТС на клітинні мембрани. Через 24 години у посткомпресійному періоді СТС у сироватці крові вміст ЦП статистично достовірно зростав на 54%, або у 1,5 рази порівняно з аналогічним показником у інтактних тварин. Через 3 доби концентрація церулоплазміну зростає на 67%, або у 1,7 рази порівняно з такою у інтактних щурів ($p < 0,001$). Через 7 діб вміст

ЦП у сироватці крові знижується статистично достовірно на 16,4% ($p < 0,001$), а через 14 діб – на 29,1% ($p < 0,001$) порівняно з максимальним значення через 3 доби експерименту (табл.).

Висновки.

1. Компресійний стрес за умов синдрому тривалого стиснення зумовлює активацію системи антиоксидантного захисту, яка проявляється максимальним зростанням активності каталази, супероксиддисмутази та концентрації церулоплазміну в ранньому посткомпресійному періоді СТС.

2. У проміжному посткомпресійному періоді СТС має місце пригнічення ефективності антиоксидантного захисту, що проявляється зниженням активності ферментної ланки антиоксидантного захисту та концентрації білка церулоплазміну у піддослідних тварин.

Перспективи подальших досліджень. Доповнити та уточнити існуючі дані про структурно-морфологічні зміни в тканині серця, зумовлені компресійним стресом за умов експериментального синдрому тривалого стиснення.

Література

- Volotovska NV, Zarichna OI, Kuzmak IP. Aktyvnist' katalazy ta superoksyddysmutazy na tli eksperymental'noyi ishemiyi-reperfuziyi kintsivky. Shpytal'na khirurhiya. Zhurnal imeni L. YA. Koval'chuka. 2019;2:53-59. DOI: <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2019.2.10418>. [in Ukrainian].
- Nebylitsin YuS, Lazuko SS, Kutko EA. Sindrom ishemii-reperfuzii nizhnikh konechnostey. Vestnik VGMU. 2018;17(6):18-31. DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2018.6.18>. [in Russian].
- Sgarbi MW, Silva BAJr, Peres CM, Alba TC, Curi R, Soriano FG, et al. Leukocyte infiltration in lung, muscle and liver after limb compression in rats. Pathophysiology. 2013 Apr;20(2):111-6. DOI: 10.1016/j.pathophys. 2012.12.001.
- Popadynets OH, Ersteniuk AM. Vzaiemozviazok strukturnykh zmin u stints sechovoho mikhura pid vplyvom riznomanitnykh faktoriv iz biokhimichnymy protsesamy. Arkhiv klinichnoi medytsyny. 2012;1:72-7. [in Ukrainian].
- Sever MS, Vanholder R. Management of crush victims in mass disasters: highlights from recently published recommendations. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2013 Feb;8(2):328-35. DOI: 10.2215/CJN.07340712.
- Manson J, Thiemermann C, Brohi K. Trauma alarmins as activators of damage-induced inflammation. Br. J. Surg. 2012 Jan;99(1):12-20. DOI: 10.1002/bjs.7717.
- Yuryk Yal, Kryvyi PD, Bodnar Yala, Yuryk II, Petrechko IR, Sharyk MV, vynakhidnyky; Ternopil'skyi natsionalnyi medychnyi universytet imeni I. Ia. Horbachevskoho MOZ Ukrainy, patentovlasnyk. Prystrii rehulovanoi kompresii dia eksperymental'nogo modeliuвання syndrome tryvaloho stysnennia i travmatychnoho shoku. Patent Ukrainy № 146513. 2021 Liut 25. [in Ukrainian].
- Koroljuk MA, Ivanova LI, Majorova IG, Tokarev VE. Metod opredelenija aktivnosti katalazy. Laboratornoe delo. 1988;1:16-8. [in Russian]
- Chevari S, Chaba I, Sekej J. Rol' superoksidreduktazy v oksiditel'nykh processah kletki i metod opredelenija ee v biologicheskome materiale. Laboratornoe delo. 1985;11:678-81. [in Russian].
- Kolb VG, Kamyshnikov VS. Opredelenie aktivnosti ceruloplazmina v krvi. Minsk: Belarus'; 1976. 312 s. [in Russian].
- 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. Official Journal of the European Union. 2010;276:33-79. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063>
- National Research Council (US), Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. Washington: The National Academies Press; 2011. 246 p. DOI: 10.17226/12910.

ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ТКАНИНІ СЕРЦЯ ТА КРОВІ ЩУРІВ У ПОСТКОМПРЕСІЙНОМУ ПЕРІОДІ СИНДРОМУ ТРИВАЛОГО СТИСНЕННЯ

Юрик Я. І.

Резюме. Компресійний стрес за умов синдрому тривалого стиснення проявляється активацією пероксидного окиснення ліпідів що є проявом ендогенної інтоксикації. Відповідно можна припустити, що у відповідь на це активується система антиоксидантного захисту, але зазначене гіпотетичне твердження потребує уточнення.

Метою роботи було з'ясувати особливості антиоксидантного захисту в тканині серця та крові за умов ендогенної інтоксикації у посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 60 білих лабораторних щурах. Експериментальну групу склали 48 тварини, які було поділено на чотири підгрупи по 12 особин у кожній, яких виводили з експерименту через 24 години, 3, 7 та 14 діб після моделювання СТС. Контрольну групу становили 12 інтактних щурів. СТС моделювали шляхом стискання м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки за умов знеболення шляхом внутрішньо-очеревинного введення кетаміну гідрохлориду (100 мг/кг маси тіла) у сконструйованому нами пристрої, сила компресії становила 7 кг/см² на 5 см² протягом 6 годин без ушкодження магістральних судин та кісток. Активність каталази сироватки крові та гомогенату серця досліджували спектрофотометричним методом. У гомогенаті серця визначали активність супероксиддисмутази. У сироватці

крові визначали концентрацію церулоплазміну. Достовірність отриманих цифрових даних оцінювали за допомогою непараметричного критерію Краскела-Уолліса.

Результати. Компресійний стрес за умов синдрому тривалого стиснення зумовлює активацію системи антиоксидантного захисту, яка проявляється максимальним зростанням активності каталази, супероксиддисмутази та концентрації церулоплазміну в ранньому посткомпресійному періоді СТС. Активність супероксиддисмутази в тканині серця через 3 доби дослідження зросла на 58%, а концентрація церулоплазміну в сироватці крові – на 67% порівняно з аналогічними показниками у інтактних щурів. Порівнюючи активність каталази в сироватці крові та гомогенаті серця у інтактних та експериментальних тварин нами встановлено максимальне зростання останньої в сироватці крові через 3 доби дослідження у 4,1 рази, а у тканині серця цей показник зріс через 1 добу у 3,7 рази, а через 3 доби статистично недостовірно знизився на 2,3%, тобто практично не змінився. Починаючи з 7 доби експерименту активність каталази, супероксиддисмутази та концентрація церулоплазміну односпрямовано знижувалися.

Ключові слова: антиоксидантний захист, синдром тривалого стиснення, кров, серце.

PECULIARITIES OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN HEART AND BLOOD TISSUE RATS IN THE POSTCOMPRESSION PERIOD OF CRUSH SYNDROME

Yuryk Ya. I.

Abstract. Compression stress under crush syndrome leads to the activation of lipid peroxidation, which causes the development of endogenous intoxication. In response, the antioxidant defence system is activated.

The *aim of the study* was to elucidate the features of antioxidant protection in heart and blood tissue under conditions of endogenous intoxication in the postcompression period of crush syndrome.

Object and methods of research. The study was performed on 60 white laboratory rats. The experimental group consisted of 48 animals, which were divided into four subgroups of 12 individuals each, which were removed from the experiment 24 hours, 3, 7 and 14 days after simulation of crush syndrome. The control group consisted of 12 intact rats. Crush syndrome was simulated by compressing the soft tissues of the right pelvic limb under conditions of anesthesia by intraperitoneal injection of ketamine hydrochloride (100 mg/kg body weight) in a specially designed device, the compression force was 7 kg/cm² per 5 cm² for 6 hours without damage main vessels and bones. The activity of serum catalase and heart homogenate was studied spectrophotometrically. Superoxide dismutase activity was determined in the heart homogenate. The concentration of ceruloplasmin was determined in the blood serum. The reliability of the obtained digital data was evaluated using the non-parametric Kruskal-Wallis test.

Results. Compression stress under the conditions of crush syndrome causes the activation of the antioxidant defence system, which is manifested by the maximum increase in catalase activity, superoxide dismutase and ceruloplasmin concentration in the early postcompression period of crush syndrome. The activity of superoxide dismutase in heart tissue after 3 days of the research increased by 58%, and the concentration of ceruloplasmin in serum – by 67% compared with similar indicators in intact rats. Comparing the activity of catalase in serum and homogenate of the heart in intact and experimental animals we found the maximum increase of the letter in serum after 3 days of research in 4,1 times, and in heart tissue this indicator increased after 1 day in 3,7 times, and after 3 days statistically insignificantly decreased by 2,3%, that is practically has not changed. Starting from the 7 th day of the experiment catalase activity, superoxide dismutase and ceruloplasmin concentration decreased unidirectionally.

Key words: antioxidant protection, crush syndrome, blood, heart.

ORCID автора та його внесок до статті:

Yuryk Ya. I.: 0000-0001-7690-9307^{ABCD}

Адреса для кореспонденції

Юрик Ярослав Ігорович

Тернопільський національний медичний університет

ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України

Адреса: Україна, 46008, м. Тернопіль, вул. Руська 12

Тел.: 0980173044

E-mail: yuryk_ya@ukr.net

A – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Небесна З. М.

Стаття надійшла 28.06.2021 року

Стаття прийнята до друку 14.11.2021 року