



УДК 616-001.17

© 2007

К. І. Бардахівська, Н. М. Гуріна, В. Г. Ніколаєв

Біохімічні показники крові щурів у динаміці опікової хвороби

(Представлено академіком НАН України В. Ф. Чехуном)

The burn disease in rats has three main periods which are characterized by changes in the parameters of lipid peroxidation and antioxidant protection, as well as the protein and lipid metabolism. From the first hours after burn injury and till 7–9 days of burn disease in rats, the changes typical of oxidative stress were observed, including the increase in the malonic dialdehyde concentration in blood plasma by 2.5 times and the decrease of the contents of reduced glutathione and natural antioxidants and the catalase activity by 25, 65, and 70%, respectively.

У патогенезі опікової хвороби важливу роль відіграє інтенсифікація процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [1, 2]. Активація ПОЛ призводить до зменшення вмісту в крові і тканинах природних антиоксидантів, зниження активності основних ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази та каталази), підвищення проникності клітинних мембран [1]. Термічна травма викликає метаболічні зрушення в організмі, що виявляються у розпаді білків, посиленні процесу ліполізу як міри компенсації енергетичних потреб в умовах опікової токсемії, для якої характерні також порушення процесів тканинного дихання і роз'єднання дихання з фосфорилуванням, зсув співвідношення окиснених та відновлених форм НАД.

Відомо, що посилення процесів ПОЛ в організмі корелює з тяжкістю стану хворих з опіками [3]. Збільшення вмісту ліпоперекисів у плазмі відбувається на початку токсемії, на 3-тю — 4-ту добу, а також на 8-му — 11-ту добу після отримання опіку. Ці піки збігаються з періодами різкого посилення клінічних проявів інтоксикації, оскільки продукти, що утворюються при активації ПОЛ (малоновий діальдегід, шифові основи, дієнові кон'югати), є високотоксичними сполуками для клітин організму.

На сьогодні в комбустіології актуальним є раціональне поєднання специфічних методів лікування опіку з комплексом детоксикаційних заходів (як екстракорпоральних, так і місцевих), які вкрай необхідно застосовувати, оскільки саме тяжка токсемія може стати для хворого критичною. Тому важливо в експериментальних дослідженнях визначитися з термінами пікових проявів ендогенної інтоксикації організму при опіковій хворобі.

Мета роботи — дослідження показників ПОЛ та антиоксидантного захисту, а також білкового та ліпідного обміну в крові щурів у динаміці розвитку експериментальної опікової хвороби.

Досліди проведені на білих нелінійних щурах обох статей масою 230–260 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію і були розподілені на контрольні та дослідні групи. Після лабораторного обстеження тваринам дослідних груп в області спини наносили дозований термічний опік за методом [4].

У плазмі крові тварин контрольних та дослідних груп у відповідні терміни після нанесення опіку визначали: вміст гемоглобіну (набори Реакім НВО “Біолар”, Росія), загального білка з використанням біуретового реактиву [5], альбуміну (набори “Simko Ltd”, Україна), загальних ліпідів та фосфоліпідів (набори “BioMerieux”, Франція), загального холестерину за методом Ілька (набори АТ “Реагент”, Україна), тригліцеридів (набори “Lachema”, Чехія), відновленого глутатіону за [6], антиоксидантів за Глевіндом [7, 8], малонового діальдегіду [9], активність каталази [10].

Одержані результати обробляли за методом варіаційної статистики з використанням *t*-критерію Стьюдента.

Протягом першої доби після опіку спостерігали збільшення вмісту гемоглобіну в крові щурів на 23% і зменшення вмісту загального білка та альбуміну відповідно на 17 та 13%, пов'язане перш за все зі значним зневодненням організму та плазмовтратою (табл. 1). У другому періоді розвитку опікової хвороби (3-тя — 7-ма доба) фіксували анемію з вірогідним зменшенням вмісту гемоглобіну на 14–18%. На 5-ту — 7-му добу після нанесення опіку спостерігали все ще знижені концентрації загального білка та альбуміну в сироватці крові щурів, які наближалися до норми, починаючи з 9-ї доби.

На 6-й годині після нанесення опіку було відмічено зниження вмісту загальних ліпідів та фосфоліпідів у плазмі крові відповідно на 30 та 27% з одночасним підвищенням вмісту холестерину та тригліцеридів на 23,5 та 84% (див. табл. 1). У період з 3-ї до 9-ї доби хвороби вказані показники ліпідного обміну залишались практично на тому ж рівні і наближалися до показників у інтактних тварин лише в третьому періоді опікової хвороби, тобто на 14-ту — 21-шу добу.

Інтенсивність вільнорадикального окиснення оцінювали за накопиченням одного з кінцевих молекулярних продуктів ліпідної пероксидації — малонового діальдегіду, концентра-

Таблиця 1. Вміст білків та ліпідів у крові щурів при опіковій хворобі ($M \pm m$; $n = 7$)

Група тварин; час після нанесення опіку	Гемо- глобін, г/л	Загаль- ний білок, г/л	Аль- бумін, г/л	Загальні ліпіди, г/л	Фосфо- ліпіди, ммоль/л	Холесте- рин, ммоль/л	Триглі- цериди, ммоль/л
Інтактні тварини	141 ± 6	86 ± 2,6	45 ± 2,2	6,2 ± 0,4	2,2 ± 0,16	3,4 ± 0,3	1,16 ± 0,09
1 год	156 ± 12	82 ± 1,1	42 ± 1,3	4,8 ± 0,2*	2,0 ± 0,1	3,8 ± 0,3	1,31 ± 0,04
6 год	173 ± 10*	82 ± 1,4	41 ± 2,3	4,3 ± 0,4*	1,6 ± 0,1*	3,8 ± 0,3	2,13 ± 0,14*
24 год	140 ± 4	71 ± 1,8*	39 ± 1,6*	5,1 ± 0,4*	1,8 ± 0,1*	4,2 ± 0,3	1,16 ± 0,08
3-тя доба	116 ± 5*	84 ± 1,2	43 ± 1,8	4,8 ± 0,6*	2,1 ± 0,2	4,5 ± 0,2*	0,60 ± 0,04*
5-та доба	121 ± 6*	77 ± 1,4*	39 ± 1,9*	4,1 ± 0,1*	1,6 ± 0,1*	3,8 ± 0,3	1,21 ± 0,11
7-ма доба	122 ± 7*	85 ± 2,8	43 ± 3,1	3,9 ± 0,3*	1,5 ± 0,1*	3,8 ± 0,3	1,60 ± 0,19*
9-та доба	144 ± 5	85 ± 1,7	45 ± 2,8	3,6 ± 0,3*	1,6 ± 0,1*	3,6 ± 0,3	1,52 ± 0,14*
14-та доба	145 ± 3	83 ± 2,1	42 ± 1,3	5,5 ± 0,3	2,0 ± 0,1	3,6 ± 0,2	1,21 ± 0,08
21-ша доба	140 ± 4	86 ± 1,2	44 ± 1,1	6,2 ± 0,2	2,1 ± 0,1	3,4 ± 0,1	1,17 ± 0,08

* $p < 0,05$ щодо показників групи інтактних тварин.

Таблиця 2. Показники пероксидного окиснення ліпідів крові щурів у динаміці опікової хвороби ($M \pm m$; $n = 7$)

Група тварин; час після нанесення опіку	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Антиоксиданти, мккв/мл	Малоновий діальдегід, мкмоль/л	Каталаза, мкатал/л
Інтактні тварини	4,2 ± 0,4	0,30 ± 0,02	4,8 ± 0,3	295 ± 8
1 год	3,6 ± 0,3	0,14 ± 0,01*	5,3 ± 0,4	276 ± 5
6 год	3,8 ± 0,3	0,07 ± 0,01*	12,1 ± 1,1*	216 ± 15*
24 год	3,9 ± 0,3	0,06 ± 0,01*	4,1 ± 0,1	366 ± 23*
3-тя доба	3,0 ± 0,3*	0,06 ± 0,01*	8,9 ± 0,3*	65 ± 12*
5-та доба	3,2 ± 0,4*	0,08 ± 0,01*	7,9 ± 0,5*	105 ± 18*
7-ма доба	3,1 ± 0,3*	0,15 ± 0,02*	8,8 ± 0,9*	89 ± 14*
9-та доба	3,5 ± 0,1*	0,21 ± 0,02*	9,4 ± 1,1*	336 ± 17*
14-та доба	4,3 ± 0,2	0,26 ± 0,02	4,9 ± 0,1	392 ± 31*
21-ша доба	4,2 ± 0,2	0,29 ± 0,02	4,8 ± 0,2	270 ± 9

* $p < 0,05$ щодо показників групи інтактних тварин.

цію якого визначали за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою. Накопичення малонового діальдегіду в крові свідчить про розвиток оксидативного стресу в організмі тварин. Встановлено, що вже через 6 год після опікової травми концентрація малонового діальдегіду в плазмі крові щурів зростала в 2,5 раза і зберігалась на високому рівні до 9-ї доби (табл. 2).

Стан системи антиоксидантного захисту оцінювали за рівнем вмісту відновленого глутатіону та антиоксидантів і активністю одного з ключових ферментів — каталази (К.Ф.1.11.1.6). Зниження активності каталази свідчить про виснаження антиоксидантної системи, а саме про зниження її функціональної здатності до інактивації пероксиду водню, надлишок якого утворюється внаслідок ферментативної і неферментативної дисмутації кисню. Практично вже у перші години після нанесення опікової травми знижувався вміст відновленого глутатіону та природних антиоксидантів у плазмі крові дослідних тварин, але найнижчими за рівнем ці показники були в період з 1-ї до 7-ї доби (див. табл. 2). Так, вміст відновленого глутатіону в цей час вірогідно знижувався на 24–29%, а антиоксидантів — на 50–80% у порівнянні з показниками контрольних щурів. Паралельно з цим активність каталази знижувалась на 64–78%.

На 14-ту добу всі показники пероксидного окиснення ліпідів крові щурів нормалізувались (див. табл. 2). Більше того, активність каталази на 9–14-ту добу перевищувала показники інтактних тварин на 14–33%, що певною мірою свідчило про поступове відновлення функціональної здатності системи антиоксидантного захисту організму.

Таким чином, опікова травма викликає комплекс патологічних змін в організмі експериментальних тварин, які перш за все виявляються в посиленні розпаду білків та окисненні ліпідів. Фактично, перебіг опікової хвороби в нашій моделі на щурах має три періоди, характер яких добре збігається з перебігом опікової хвороби у людей. Слід відзначити, що стан оксидативного стресу при цьому спостерігається протягом значного часу — від перших годин після нанесення опіку до 7–9-ї доби захворювання. Саме у цей період рівень ендогенної інтоксикації найвищий, у зв'язку з чим необхідним є застосування інтенсивних детоксикаційних заходів.

1. Horton J. W. Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy // *Toxicology*. – 2003. – **189**, No 1–2. – P. 75–88.
2. Hosnuter M., Gurel A., Babuccu O. et al. The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury // *Burns*. – 2004. – **30**, No 2. – P. 121–125.

3. Бабская Ю. В., Лавров В. А., Оленина Н. А. Интенсивность свободнорадикального окисления липидов в острый период ожоговой болезни // Хирургия. – 1985. – № 11. – С. 95–97.
4. Sakhno L., Sarnatskaya V., Zinovieva M. et al. Deliganded albumin as a liquid adsorbent in the treatment of burn toxemia // Technol. Health. Care. – 1998. – 6, No 2–3. – P. 125–130.
5. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. – Москва: Высш. шк., 1971. – С. 310–311.
6. Кузьминская У. А., Кокаровцева М. Г., Овсянникова Л. М. и др. Биохимические, иммунологические и биофизические методы в токсикологическом эксперименте: Метод. руководство. – Киев, 1989. – 184 с.
7. Blois M. S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical // Nature. – 1958. – 181. – P. 1199–1200.
8. Glavind J. Antioxidants in animal tissue // Acta chem. scand. – 1963. – No 6. – P. 1635–1640.
9. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
10. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // Там же. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 06.06.2006

УДК 617.741-004.1:543.544:577.125.8:[617.764.1-008.8:612.111.

© 2007

О. В. Яценко, Т. С. Брюзгіна, Г. М. Вретік

Аналіз патохімічних змін в оці при віковій катаракті методом газорідинної хроматографії

(Представлено академіком НАН України В. П. Широбоковим)

The results of the gas chromatography test of the fat acid spectrum of lipids of blood erythrocytes, lens, and eliminate from the eyes of patients with senile cataract are given. The conducted investigations allowed us to recommend eliminate as a new noninvasive material under clinical conditions for the estimation of lipid metabolism breaks in eyes.

Вікова катаракта є найбільш поширеним захворюванням очей, яке вражає не тільки людей похилого віку, а й осіб працездатного віку [1]. Подальше вивчення патохімічних змін у кришталіку ока при катаракті і пошук нових методів ранньої діагностики цього захворювання є актуальною проблемою сучасної офтальмології.

Наукові дослідження останніх років створюють основу для біохімічного прогнозування характеру та швидкості розвитку вікової катаракти [2, 3], але вони базуються на біохімічному дослідженні крові хворих, що не може бути рекомендовано у широку практику профілактичних оглядів у зв'язку з тим, що вони здійснюються за допомогою інвазійних методів. Неінвазійні методи та біологічні об'єкти, які отримані неінвазійним шляхом, поки ще займають незначне місце. Але значення цих методів та об'єктів у медицині важко переоцінити [4]. Можливість прижиттєвого вивчення патохімічних процесів в оці за допомогою методу електролімінації обґрунтована у роботі [5]. Наявність великої кількості теорій катарактогенезу свідчить про те, що механізми розвитку катаракти остаточно не розкриті. Патогенез вікової катаракти останнім часом розглядається з тих самих позицій, що і процес старіння