

УДК 616.711/714-001-085.361:611.013-06:616-008.9]-092.9

*Р. М. Борис<sup>1</sup>  
А. І. Гоженко<sup>1</sup>  
А. А. Гудима<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ДП “Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України”, м. Одеса

<sup>2</sup>ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”

## ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ПЕРІОД РАННІХ І ПІЗНІХ ПРОЯВІВ ТРАВМАТИЧНОЇ ХВОРОБИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ КРАНІО-СКЕЛЕТНОЇ ТРАВМИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ КЛІТИННОЮ ТЕРАПІЄЮ

**Ключові слова:** краніоскелетна травма, пероксидне окислення ліпідів, печінка, клітинна терапія.

**Резюме.** Вивчено інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у динаміці експериментальної краніоскелетної травми та корегувальний вплив терапії кріоконсервованими фетальними нервовими клітинами. Встановлено, що у відповідь на краніоскелетну травму істотно зростає в гомогенаті печінки вміст ТБК-активних продуктів пероксидного окиснення ліпідів та дієнових кон'югатів, який досягає максимального рівня на 14 добу експерименту і статистично достовірно перевищує контроль упродовж 25 діб спостереження. Застосування кріоконсервованих фетальних нервових клітин зумовлює виражений антиоксидантний вплив у період ранніх проявів травматичної хвороби – через 3 і 7 діб посттравматичного періоду в основному за рахунок зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації. Враховуючи, що саме в цей період травматичної хвороби виникають виражені порушення функції життєво-важливих органів і систем, зроблено припущення, що терапія кріоконсервованими фетальними нервовими клітинами здатна не тільки проявляти антиоксидантний вплив, але й долати системні відхилення, які при цьому виникають і може стати перспективним засобом попередження розвитку поліорганної дисфункції та недостатності.

### Вступ

Пероксидному окисненню ліпідів (ПОЛ) як елемент патогенезу будь-якої травми на сьогодні приділяється особлива увага. У ранній стадії хвороби активація процесів ліпопероксидації носить адаптивний характер, помірно збільшуючи проникність клітинних мембран, полегшуючи роботу мембранним білкам [8]. При неконтрольованому посиленні цей процес набуває патологічного значення. Доведено, що рівень протікання процесів ПОЛ значно підвищується при ускладненому перебігу захворювання і відповідає за часом найбільшій інтенсивності запальної фази перебігу травматичного процесу [1]. Остання за умов тяжкої травми може носити системний характер, зумовлюючи розвиток поліорганної дисфункції і недостатності, що вважається основною причиною смерті пацієнтів [9] і націлює на пошук принципово нових підходів до лікування цього недугу.

Враховуючи той факт, що в основі патогенезу травматичної хвороби лежать системні відхилення на рівні цілісного організму, значний інтерес викликає застосу-

вання фетальних нервових клітин, які належать до “поліфункціональних” модуляторів надсистемної дії [3]. Як свідчать дані летартури, на сьогодні є всі підстави вважати, що терапевтичний потенціал стовбурових клітин зумовлений широким спектром продукованих ними біологічно активних речовин, що володіють ангіогенним, антиапоптозичним, антиоксидантним і мітогенним ефектами [7], що робить їх перспективним засобом зниження інтенсивності системної реакції організму на запалення, у тому числі – вільнорадикального окиснення ліпідів за умов тяжкої травми і вимагає спеціального дослідження.

### Мета дослідження

З'ясувати динаміку показників ПОЛ у період ранніх і пізніх проявів травматичної хвороби за умов експериментальної краніоскелетної травми та її корекції клітинною терапією

### Матеріал і методи

Експерименти виконано на 104 нелінійних білих щурах-сацях масою 180-200 г, яких утриму-

вали на стандартному раціоні віварію. Тварин розділили на три групи: контрольну і дві дослідні. У контрольну групу ввійшли 8 інтактних тварин. В обох дослідних групах – по 48 тварин під тіопентало-натрієвим наркозом ( $40 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$  маси тіла) моделювали закриту черепно-мозкову травму за методикою [5] у власній модифікації. Енергія удару становила  $0,375 \text{ Дж}$ , що відповідало травмі середнього ступеня тяжкості. Крім цього, спеціально розробленим пристроєм наносили однократний удар по кожному стегну, що викликало закритий перелом стегнових кісток.

Через 12 год після травмування в одній із дослідних груп внутрішньочеревно вводили суспензію кріоконсервованих фетальних нервових клітин щура в дозі  $5 \times 10^6$  клітин на  $100 \text{ г}$  маси тварини [2]. Суспензію фетальних нервових клітин виготовляли в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків) шляхом ошадної механічної дисоціації фрагментів мозку ембріонів щурів 11-ти діб гестації і кріоконсервування на програмному заморожувачі УОП-6. Відігрівання зразків проводили на водяній бані при температурі  $37^\circ \text{C}$ . В іншій дослідній групі внутрішньочеревно вводили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

У тварин, які вижили, оцінювали стан ПОЛ за вмістом у гомогенаті печінки ТБК-активних продуктів ПОЛ та дієнових кон'югатів [4].

Достовірність відмінностей між дослідними і контрольною групами оцінювали з використанням програми STATISTICA 6.0 ("StatSoft, Inc.", США).

Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувалися міжнародних вимог про гуманне поводження з тваринами відповідно до правил "Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою" (European Convention, 1984); методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України про "Доклінічні дослідження лікарських засобів" (2001). Евтаназію щурів в усіх експериментах проводили шляхом тотального кровопускання з серця після попереднього тіопентало-натрієвого наркозу ( $60 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$  маси тіла тварини внутрішньочеревно).

#### Обговорення результатів дослідження

Вміст досліджуваних продуктів ПОЛ у всі терміни спостереження в посттравматичному періоді був істотно вищим, ніж у контролі (табл.).

Так, через 3 доби після краніоскелетної травми, порівняно з контролем, відмічено зростання ТБК-активних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки у 2,67 раза ( $p < 0,001$ ), через 7 діб – у 3,15 раза ( $p < 0,001$ ), через 14 діб – у 4,21 раза ( $p < 0,001$ ),

через 25 діб – у 3,66 раза ( $p < 0,001$ ). Як видно з отриманих результатів, до 14 доби відбувалося статистично достовірне накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ: в 1,78 раза стосовно 3 доби і в 1,34 раза стосовно 7 доби ( $p < 0,05$ ). Через 25 діб, порівняно із 14, відмічено достовірне зниження ТБК-активних продуктів ПОЛ на 13,2 % ( $p < 0,05$ ), але результат істотно перевищував аналогічний, отриманий на 3 і 7 добу ( $p < 0,05$ ).

При корекції досліджуваної патології за допомогою клітинної терапії вміст досліджуваних продуктів ПОЛ гомогенату печінки у всі терміни посттравматичного періоду продовжував залишатися істотно вищим, порівняно з контролем, проте на 3 і 7 доби виявився статистично достовірною меншим, ніж у некорегованих тварин: відповідно на 35,6 і 40,3 % ( $p < 0,001$ ). Через 14 діб даний показник підвищувався й ставав на 13,5 % більшим, ніж у групі не корегованих тварин, однак результат виявився статистично не достовірним. Через 25 діб його величина досягала рівня некорегованих тварин ( $p > 0,05$ ).

Вміст у гомогенаті печінки дієнових кон'югатів на 3 добу після краніо-скелетної травми, порівняно з контролем, був вищим у 2,35 раза ( $p < 0,001$ ), на 7 добу – у 2,91 раза ( $p < 0,001$ ), на 14 – у 3,81 раза ( $p < 0,001$ ), на 25 – у 3,17 раза ( $p < 0,001$ ). Динаміка цього показника нагадувала відхилення вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ: до 14 доби відбувалося статистично достовірне накопичення дієнових кон'югатів із наступним зниженням через 25 діб.

Вміст у гомогенаті печінки дієнових кон'югатів при застосуванні клітинної терапії на 3 добу після краніо-скелетної травми, порівняно з контролем, був вищим у 2,39 раза ( $p < 0,001$ ), на 7 добу – у 2,71 раза ( $p < 0,001$ ), на 14 – у 4,50 раза ( $p < 0,001$ ), на 25 – у 3,44 раза ( $p < 0,001$ ). Звертає на себе увагу той факт, що даний показник групи без корекції та із застосуванням клітинної терапії статистично достовірною не відрізнявся у всі терміни спостереження за виключенням 14 доби. У цей період вміст дієнових кон'югатів у корегованих тварин істотно перевищував аналогічний у тварин без корекції (на 18,1 %,  $p < 0,05$ ).

Отримані результати свідчать, що в динаміці краніоскелетної травми відмічалось істотне накопичення як первинних, так і вторинних продуктів ПОЛ, яке досягало максимуму через 14 діб посттравматичного періоду з подальшим зниженням через 25 діб, що відповідає сучасним уявленням про патогенез тяжкої травми [6]. Застосування клітинної терапії зумовлювало виражений антиоксидантний вплив у період ранніх проявів травматичної хвороби – через 3 і 7 діб посттравматич-

Таблиця

## Динаміка показників пероксидного окиснення ліпідів у відповідь на краніоскелетну травму, кореговану клітинною терапією (M±m)

Умови експерименту	3 доба	7 доба	14 доба	25 доба
ТБК-активні продукти ПОЛ				
Контроль = (0,645±0,018) мкмоль·л <sup>-1</sup> (n=8)				
Без корекції	1,722±0,100 <sup>***</sup> (n=6)	2,032±0,079 <sup>***</sup> (n=6)	2,718±0,146 <sup>***</sup> (n=6)	2,359±0,067 <sup>***</sup> (n=7)
Клітинна терапія	1,109±0,032 <sup>***</sup> (n=8)	1,214±0,066 <sup>***</sup> (n=8)	3,085±0,137 <sup>***</sup> (n=8)	2,267±0,130 <sup>***</sup> (n=7)
p	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05
Дієнові кон'югати				
Контроль = (0,398±0,016) ум.од.·г <sup>-1</sup> (n=8)				
Без корекції	0,937±0,056 <sup>**</sup> (n=6)	1,157±0,059 <sup>**</sup> (n=6)	1,517±0,066 <sup>**</sup> (n=6)	1,261±0,076 <sup>**</sup> (n=7)
Клітинна терапія	0,950±0,039 <sup>***</sup> (n=8)	1,080±0,052 <sup>***</sup> (n=8)	1,791±0,080 <sup>***</sup> (n=8)	1,369±0,075 <sup>***</sup> (n=7)
p	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05

**Примітка.** \* – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи (\* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001); p – достовірність відмінностей стосовно між групами корегованих і не корегованих тварин

ного періоду в основному за рахунок зниження вторинних продуктів ПОЛ. Враховуючи, що саме в цей період травматичної хвороби виникають виражені порушення функції життєво-важливих органів і систем, створюються основні передумови розвитку поліорганної недостатності, можна припустити, що терапія кріоконсервованими фетальними нервовими клітинами здатна не тільки проявляти антиоксидантний вплив, але й долати системні відхилення, які при цьому виникають. В основі механізму цього ефекту, ймовірно, лежить стимуляція функціональних резервів організму. Свідченням цьому є ознаки їх помірного виснаження, які настають через 14 діб і проявляються підвищенням вмісту продуктів ПОЛ. Однак, до 25 доби показники в обох дослідних групах вирівнюються. Можна припустити, що завдяки клітинній терапії за умов травми залучаються механізми захисту різного рівня організації живої тканини, що вимагає подальшого вивчення.

### Висновки

1. У відповідь на краніо-скелетну травму істотно зростає в гомогенаті печінки вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ, який досягає максимального рівня на 14 добу експерименту і статистично достовірно перевищує рівень контролю впродовж 25 діб спостереження.

2. Застосування кріоконсервованих фетальних нервових клітин зумовлює менше накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ у період ранніх

проявів травматичної хвороби – через 3 і 7 діб із моменту нанесення травми.

### Перспективи подальших досліджень

У подальшому перебачається розширити спектр досліджень системного впливу клітинної терапії в умовах тяжкої травми.

**Література.** 1. Генинг Т. П. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в системе "сыворотка крови – эритроцит" при острой циркуляторной гипоксии / Т. П. Генинг, Д. А. Ксейко // *Успехи современного естествознания*. – 2004. – № 4. – С. 17–20. 2. Гольцев А. Н. Апоптотические процессы в тимусе и головном мозге при развитии экспериментального аллергического энцефаломиелита до и после лечения фетальными нервными клетками / А. Н. Гольцев, Е. А. Порожан, Н. Н. Бабенко, М. В. Останков // *Патология*. – 2001. – Т. 8, № 2. – С. 69–72. 3. Гольцев А. Н. Экспериментальный аллергический энцефаломиелит как модельная патология изучения коррегирующей активности эмбриональных нервных клеток / А. Н. Гольцев, Н. Н. Бабенко, М. А. Сироус, Л. В. Останкова // *Имунология та алергологія*. – 2005. – № 3. – С. 76–77. 4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с. 5. Ельський В. Н., Зяблицев С. В. Моделирование черепно-мозговой травмы. – Донецк: Изд-во "Новый мир", 2008. – 140 с. 6. Избранные аспекты патогенеза и лечения травматической болезни / [В. Н. Ельський, В. Г. Климовицкий, С. Е. Золотухин и др.]. – Донецк: ООО "Лебедь", 2002. – 360 с. 7. Лебединец Д. В. Терапия фетальными нервными клетками в остром периоде экспериментального ишемического инсульта (антиоксидантный эффект) / Д. В. Лебединец, С. Е. Овсянников, В. В. Лебединец и др. // *Проблемы криобиологии*. – 2010. – Т. 20, №3. – С. 338–347. 8. Петухова О. В. Содержание липопротеидов и продуктов перекисного окисления липидов у больных в остром периоде политравмы / О. В. Петухова, И. М. Устьянцева, В. В. Агаджанян // *Политравма*. – 2006. – № 3. – С. 65–68. 9. Рошін Г. Г. Надання медичної допомоги постраждалим з політравмою на догоспітальному етапі: методичні рекомендації / [Г. Г. Рошін, Ю. О. Гайдаєв, О. В. Мазуренко та ін.]. – К., 2003. – 33 с.

**ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО  
ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПЕРИОД РАННИХ И  
ПОЗДНИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ  
БОЛЕЗНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ  
КРАНИО-СКЕЛЕТНОЙ ТРАВМЫ И ЕЕ  
КОРРЕКЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИЕЙ**

*Р. Н. Борис, А. И. Гоженко, А. А. Гудыма*

**Резюме.** Изучены интенсивность перекисного окисления липидов в динамике экспериментальной кранио-скелетной травмы и коррегирующее влияние терапии криоконсервированными фетальными нервными клетками. Установлено, что в ответ на кранио-скелетную травму существенно возрастает в гомогенате печени содержание ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов и диеновых конъюгатов, который достигает максимального уровня на 14 сутки эксперимента и статистически достоверно превышает контроль в течение 25 суток наблюдения. Применение криоконсервированных фетальных нервных клеток обуславливает выраженное антиоксидантное влияние в период ранних проявлений травматической болезни – через 3 и 7 суток посттравматического периода в основном за счет снижения содержания вторичных продуктов липопероксидации. Учитывая, что именно в этот период травматической болезни возникают выраженные нарушения функции жизненно важных органов и систем, сделано предположение, что терапия криоконсервированными фетальными нервными клетками способна не только проявлять антиоксидантное влияние, но и преодолевать системные отклонения, возникающие при этом, и может стать перспективным средством предупреждения развития полиорганной дисфункции и недостаточности.

**Ключевые слова:** кранио-скелетная травма, перекисное окисление липидов, печень, клеточная терапия.

**THE DYNAMICS OF LIPID PEROXIDATION  
INDICES DURING EARLY AND LATE  
MANIFESTATIONS OF TRAUMATIC DISEASE  
UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL CRANIO-  
SKELETAL INJURY AND ITS CORRECTION BY  
CELL THERAPY**

*R. M. Borys, A. I. Gozhenko, A. A. Gudyma*

**Background.** At traumatic disease the level of lipid peroxidation (LPO) increases and in complicated clinical course of the disease conditions it reaches the highest intensity of systemic inflammatory response, which may be accompanied by multiple organ failure. Recently, much attention is paid to the treatment with fetal nerve cells belonging to “polyfunctional” modulators of supersystemic action. However, in severe injuries their effectiveness has not been investigated.

**The aim of the study.** To recognize the dynamics of lipid peroxidation indexes during early and late manifestations of traumatic disease in the experimental cranio-skeletal injury and its correction by cell therapy.

**Materials and methods.** Experiments were performed on 104 white male rats, weighing 180-200 g. A closed head injury and closed fracture of the femur in was modelled in the experimental groups under thiopental sodium anesthesia (40 mg x kg<sup>-1</sup> of body weight). In 12 hours after the injury the animals of one experimental group were intraperitoneally injected the suspension of cryopreserved fetal rat nerve cells at a dose of 5x10<sup>6</sup> cells per 100 g of body weight. The animals, that survived, were evaluated for condition of LPO by content of TBA-active products of lipid peroxidation and diene conjugates in liver homogenate.

**Results.** The significant accumulation of primary and secondary lipid peroxidation products, which reaches a maximum levels after 14 days of post-traumatic period, followed by a decrease after 25 days has been found in the dynamics of cranio-skeletal injury. The use of cell therapy has resulted in a pronounced antioxidant impact during the early manifestations of traumatic disease – after 3 and 7 days of post-traumatic period, mainly due to lowering the secondary products of lipid peroxidation.

**Conclusions:** The use of cryopreserved fetal nerve cells in cranio-skeletal injury causes a pronounced antioxidant impact during the early manifestations of traumatic disease.

**Key words:** cranio-skeletal injury, lipid peroxidation, liver, cell therapy.

**SE Ukrainian Research Institute of Transport Medicine  
of MPH of Ukraine (Odessa)  
SHEE “I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical  
University”, MPH of Ukraine**

*Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol.12, №2 (44). - P.31-34.*

*Надійшла до редакції 17.05.2013*

*Рецензент – проф. В.Л.Васюк*

*© Р. М. Борис, А. І. Гоженко, А. А. Гудыма, 2013*