

**В. М. Єльський, Т. Л. Заведя, О. В. Богатирьова,
С. В. Колеснікова**

Вплив іонолу, α -токоферолу та ліпіну на стан процесів пероксидації при синдромі тривалого розчавлювання

В динамике развития синдрома длительного раздавливания (СДР) мягких тканей задних конечностей крыс наблюдали интенсификацию свободно-радикальных процессов, о чем свидетельствовало накопление продуктов пероксидации – малонового диальдегида и диеновых конъюгатов ненасыщенных жирных кислот в тканях сердца на клеточном и субклеточном уровнях и крови на клеточном уровне на фоне снижения активности антиоксидантной системы. Наблюдалось снижение активности антиоксидантов как ферментного звена – супероксиддисмутазы, так и концентрации антиоксидантов неферментативного звена α -токоферола, глутатиона и аскорбиновой кислоты. Совместная инфузия искусственного (ионола) и природного (α -токоферола) антиоксидантов, а также препарата липина оказали влияние на протекание процессов пероксидации липидов: снизилась концентрация исследуемых продуктов пероксидации липидов, возросла активность супероксиддисмутазы, концентрация эндогенного α -токоферола и глутатиона, нормализовалась концентрация аскорбиновой кислоты. Применение антиоксидантов и препарата липина привело к увеличению продолжительности жизни травмированных животных.

Вступ

Синдром тривалого розчавлювання (СТР) м'яких тканин відноситься до найбільш важких форм травми [8]. У вугільній промисловості травматизм у чотири рази вищий, ніж в інших галузях, тому проблема патогенезу, профілактики та лікування СТР привертає особливу увагу теоретиків і клініцистів. Не вирішені питання патогенезу СТР, що стримує розробку нових, патогенетично обґрунтованих методів лікування. До кінця не визначено ролі у патогенезі СТР процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), особливості змін обміну циклічних нуклеотидів. Проте встановлено, що надмірна активація ПОЛ у деяких органах при СТР спричиняє мембранодеструктивні процеси клітин і вихід лізосомальних ферментів [16]. Це може зумовлювати виникнення зрушень метаболізму і порушення енергетичного обміну. Антиоксидантна система (АОС) виявляє стабілізуючий вплив на процеси ПОЛ. При недостатності біогенних антиоксидантів для корекції порушень ПОЛ використовують синтетичні та природні антиоксиданти [2]. Спільне застосування антиоксидантів не має ефекту сумарного впливу на процеси пероксидації [1]. Це дає підставу для вивчення нових аспектів використання антиоксидантів.

Дослідження впливу антиоксидантів і нового перспективного вітчизняного препарату фосфатидилхолінових ліпосом на процеси ПОЛ сприяє розробці патогенетично обґрунтованих методів профілактики та лікування

© В. М. Єльський та ін.

СТР [14]. Мета нашої роботи — вивчити вплив іонолу та α -токоферолу (ТФР), а також фосфатидилхолінових ліпосом у вигляді препарату «Ліпін» на стан ПОЛ при СТР.

Методика

Дослідження проведено на 360 білих статевозрілих щурах масою 150—200 г. СТР моделювали розчавлюванням м'яких тканин задніх кінцівок щурів протягом 4 год у станках-дозиметрах з манометричним контролем (4 кг/см²) за методикою Кулагіна у модифікації Єльського [4]. Тварин декапітували після усунення компресії та через 2 і 24 год декомпресії. Для дослідження забирали тканини серця та кров. Контрольну групу складали інтактні щури. Клітинні фракції отримували гомогенізацією тканин серця, субклітинні — методом деференційного центрифугування [17] з наступною електронно-мікроскопічною ідентифікацією фракцій лізосом і мітохондрій. Визначали концентрацію дієнових кон'югатів ненасичених жирних кислот (ДК НЖК) у гомогенатах і фракціях лізосом і мітохондрій серця (у одиницях екстинції на 1 г) [10] та в крові (у одиницях екстинції на 1 мл) [3], вміст малонового діальдегіду (МДА; у наномолях на 1 г) [11]. Вивчали стан АОС за вмістом ТФ (у мкмольях на 1 л) [5], глутатіону (у мкмольях на 1 л) [5], активність супероксиддисмутази (СОД; у відсотках) [13], концентрацію аскорбінової кислоти (у тканинах у мікромольях на 1 г, у крові в мікромольях на 1 л) [9].

Препарати вводили внутрішньоочеревинно: іонол (20 мг/кг) з ТФ (3 мг/кг) і ліпін (100 мг/кг). Вплив іонолу та ТФ на процеси пероксидації досліджували на клітинному рівні, ліпіну — на субклітинному.

Результати та їх обговорення

Слід зазначити, що 4-годинна компресія, а також 2-годинна декомпресія м'яких тканин задніх кінцівок щурів призвели до інтенсифікації процесів ПОЛ і збільшення вмісту токсичних продуктів ліпідної пероксидації — ДК НЖК і МДА — у клітинних і субклітинних фракціях тканин серця та клітинних у крові (табл. 1).

Вміст ДК НЖК збільшився у тканинах серця та крові майже у 3,5—4 рази, у субклітинних фракціях мітохондрій і лізосом тканин серця — у 1,5—1,8 рази порівняно з контролем. Концентрація МДА збільшилася у тканинах серця та крові у 2,5—3,5 рази, у фракціях мітохондрій і лізосом у 1,2—1,5 рази. У період добової декомпресії вміст продуктів ПОЛ зменшився, але залишився на достатньо високому рівні порівняно з контролем. Так, вміст ДК НЖК у цей період був вищим від контрольних значень у 2,5—3 рази у тканинах серця та крові, у 1,5 рази у субклітинних фракціях серця; МДА — вдвічі у тканинах серця та крові, майже на 50 % у субклітинних фракціях серця.

Стан антирадикального захисту у тканинах серця та крові при СТР оцінювали за визначенням найбільш важливих його компонентів ферментної (СОД) і неферментної (ТФ, аскорбінова кислота, глутатіон) ланок.

У період компресії виявлено зниження у крові вмісту ендogenous антиоксиданта ТФ вдвічі та майже у 4 рази у субклітинних фракціях лізосом і мітохондрій серця порівняно з контролем. Концентрація ТФ не змінилася

Таблиця 1. Ліпідна пероксидація на клітинному та субклітинному рівнях у тканинах серця та на клітинному рівні крові в динаміці синдрому тривалого розчавлювання ($M \pm m, n = 10$)

Об'єкт дослідження	Контроль	Компресія	Декомпресія	
		4 год	2 год	24 год
Дієнові кон'югати				
Серце				
тканини	0,68±0,04	4,52±0,19*	4,38±0,21*	3,14±0,13*
мітохондрії	0,25±0,09	1,30±0,21*	2,30±0,24*	1,04±0,24*
лізосоми	0,21±0,04	2,35±0,21*	2,40±0,25*	1,80±0,17*
Кров	0,62±0,05	5,30±0,43*	5,50±0,23*	4,32±0,37*
Малоновий діальдегід				
Серце				
тканини	22,06±1,43	81,56±4,22*	94,00±3,36*	75,37±1,43*
мітохондрії	17,20±0,98	28,20±1,35*	28,47±2,21*	25,03±1,81*
лізосоми	11,08±0,08*	29,95±1,01	22,75±0,38*	20,30±2,18
Кров	1,35±0,24	3,85±0,82*	4,99±0,51*	3,29±0,63*
α -токоферол				
Серце				
мітохондрії	0,89±0,02	0,20±0,01*	0,18±0,01*	0,20±0,04*
лізосоми	0,94±0,03*	0,24±0,02*	0,23±0,02*	0,19±0,04*
Кров	2,60±0,47	0,45±0,10*	0,51±0,05*	0,92±0,05*
Супероксиддисмутаза				
Серце				
мітохондрії	26,31±1,19	19,37±1,14*	16,26±1,01*	20,52±0,98*
лізосоми	28,02±1,39	16,98±0,90*	17,47±1,53*	18,14±1,26*
Кров	40,75	10,62±0,63*	6,84±0,72*	16,48±0,79*
Аскорбінова кислота				
Серце				
тканини	0,21±0,09	0,07±0,01*	0,05±0,01*	0,09±0,01*
Кров	15,31±0,98	9,63±1,33*	3,54±0,15*	5,40±0,50*
Глутатіон				
Кров	2,80±0,21	1,28±0,07*	0,80±0,05*	1,33±0,12*

Примітка. Тут і в табл. 2 і 3* $P < 0,05$ достовірна різниця порівняно з контролем.

порівняно з компресією у період 2- та 24-годинної декомпресії як у крові, так і в субклітинних фракціях лізосом і мітохондрій серця.

Активність СОД також зменшилася: у період 4-годинної компресії у крові у 4 рази, на 35–40 % у субклітинних фракціях серця. Подальше зниження активності СОД спостерігалось під час 2-годинної декомпресії. При 24-годинній декомпресії активність СОД підвищилась у крові та у фракціях мітохондрій серця, залишаючись значно нижчою від контролю.

Концентрація аскорбінової кислоти та глутатіону зменшувалася протягом 4-годинної та 2-годинної декомпресії. Концентрація аскорбінової кислоти була в 3–4 рази нижчою у тканинах серця, і у крові – в 2–3 рази порівняно зі значеннями у контрольних тварин. Вміст глутатіону у цей період був також на 50 % нижчим відносно контролю. Під час 24-годинної декомпресії вміст аскорбінової кислоти у тканинах серця і крові та глутатіону у крові підвищується, але не до контрольних значень.

Отримані результати дають підставу вважати, що зрушення клітинного метаболізму тканин серця та крові при експериментальному СТР зумовлені

не тільки збільшенням продукції вільних радикалів, але й порушеннями механізмів антирадикального захисту: порушення процесів інгібування утворення продуктів ПОЛ, що здійснюється ланцюгом глутатіон – аскорбат – ТФ системи, яка постачає електрони від поновлених піридиннуклеотидів до вільних радикалів. Такі порушення заважають утримуватись стаціонарно низькому рівню вільнорадикальних реакцій. Виявлене зменшення активності та концентрації антиоксидантів спричинило збільшення вмісту продуктів ПОЛ, інтенсифікацію його процесів.

Вплив антиоксидантів на процеси пероксидації ліпідів у тканинах серця та крові досліджували за введенням природного антиоксиданта ТФ і штучного – іонолу, спільно застосованих, а також препарату ліпіну.

Слід зазначити, що введення препаратів призвело до суттєвих змін концентрації та активності антиоксидантів ферментної та концентрації неферментної ланок АОС (табл. 2, 3). Інфузія ліпіну викликала неоднозначні зміни у період ранньої декомпресії. Так, вміст ДК НЖК залишався на достатньо високому рівні у мітохондріях серця, а у лізосомальній фракції серця був значно вищим від контрольних значень. Але в цілому в лізосомальній і мітохондріальній фракціях вміст ДК НЖК під впливом ліпіну зменшився й залишався на рівні раннього декомпресійного періоду групи тварин, яким його не вводили. Ліпін мало вплинув на концентрацію МДА у мітохондріях серця. Але ж у лізосомах серця через 2 год декомпресії у групі тварин, які отримували препарат, вміст МДА був удвічі нижчим порівняно зі значенням у тварин, яким не робили ін'єкцію ліпіну.

З боку антирадикального захисту відбулись істотні зміни. Через 2 год декомпресії під впливом ліпосом вміст ТФ у лізосомах серця збільшився вдвічі, хоч і не досягнув до норми. У мітохондріях серця під впливом препарату концентрація ТФ збільшилася майже в 3 рази. Активність СОД у мітохондріях і в лізосомах серця через 2 год декомпресії підвищилась у тварин, яким вводили ліпін.

Через 24 год декомпресії ліпін продовжував впливати на процеси ліпідної пероксидації. В цей період у субклітинних фракціях серця вміст ДК НЖК зменшився, хоча і не досяг норми. Введення ліпіну у період 24-годинної декомпресії призвело до нормалізації вмісту МДА у субклітинних фракціях.

Таблиця 2. Вплив іонолу та α -токоферолу на ліпідну пероксидацію у тканинах серця та крові у динаміці синдрому тривалого розчавлювання (M \pm m, n = 10)

Об'єкт дослідження	Контроль	Декомпресія	
		2 год	24 год
Дієнові кон'югати			
Серце	0,63 \pm 0,03	0,89 \pm 0,03*	0,81 \pm 0,05*
Кров	0,68 \pm 0,04	1,34 \pm 0,26*	1,01 \pm 0,18*
Малоновий діальдегід			
Серце	21,98 \pm 1,23	33,29 \pm 1,85*	35,15 \pm 1,32*
Кров	1,58 \pm 0,21	1,96 \pm 0,24	1,99 \pm 0,52
Супероксиддисмутаза			
Кров	39,98 \pm 2,44	28,03 \pm 0,84*	29,02 \pm 0,72*
α -токоферол			
Кров	2,49 \pm 0,44	1,95 \pm 0,42*	1,88 \pm 0,33*
Аскорбінова кислота			
Серце	0,21 \pm 0,05	0,23 \pm 0,03	0,22 \pm 0,05
Кров	15,83 \pm 0,97	14,98 \pm 1,08	15,0 \pm 1,12
Глутатіон			
Кров	2,72 \pm 0,36	2,06 \pm 0,08	2,1 \pm 0,1

Таблиця 3. Вплив ліпосом на ліпідну пероксидацію у мітохондріях і лізосомах серця у динаміці синдрому тривалого розчавлювання ($M \pm m, n = 10$)

Об'єкт дослідження	Контроль	Декомпресія	
		2 год	24 год
Дієнові кон'югати			
Мітохондрії	1,55 \pm 0,09	2,71 \pm 0,22*	2,84 \pm 0,07*
Лізосоми	1,11 \pm 0,04	1,81 \pm 0,16	1,90 \pm 0,03
Маленовий діальдегід			
Мітохондрії	17,20 \pm 0,98	19,90 \pm 1,01	20,12 \pm 2,21
Лізосоми	11,08 \pm 0,08	11,15 \pm 1,88	18,51 \pm 1,10
α -токоферол			
Мітохондрії	0,89 \pm 0,02	0,96 \pm 0,03*	0,76 \pm 0,08*
Лізосоми	0,94 \pm 0,03	0,39 \pm 0,04*	0,89 \pm 0,01*
Супероксиддисмутаза			
Мітохондрії	26,31 \pm 1,19	31,95 \pm 0,60*	50,90 \pm 0,28*
Лізосоми	28,02 \pm 1,39	33,86 \pm 0,57*	48,82 \pm 0,19*

ДК НЖК і МДА у тканинах серця була вищою лише вдвічі щодо контролю, у період 24-годинної декомпресії — продовжувала зменшуватись, однак не досягла контрольних значень.

Вміст природних антиоксидантів та їх активність на тлі спільної інфузії іонолу та ТФ у тканинах серця та крові підвищився, але досягли норми лише концентрація аскорбінової кислоти та глутатіону. Вміст ТФ на тлі інфузії препаратів у крові залишився на 50 % нижчим від контрольних значень як у період ранньої, так і пізньої декомпресії.

Летальність щурів знижувалася до 4 % при введенні ліпіну, іонолу та ТФ разом — до 6 %, у той же час, як без введення препаратів, вона становила 84 %. Тобто дія на процеси пероксидації ліпідів ліпіну та іонолу разом із ТФ при СТР досить ефективна.

Отримані результати підтверджують важливу роль антиоксидантної системи в адаптаційній перебудові організму при експериментальному СТР [12]. Введення іонолу та ТФ, а також ліпіну зменшує продукцію перекисів ліпідів, забезпечує відсоток тривалості життя та зменшує летальність тварин.

Враховуючи антиоксидантну недостатність тканин серця, визначену при розвитку патологічного процесу при експериментальному СТР, слід звернути увагу на стан серцево-судинної системи, що створює основу до направленої терапевтичної модуляції факторів антиоксидантного захисту клітини, особливо субклітинних структур — лізосом і мітохондрій.

V. M. Elskiy, T. Z. Zavedeja, E. V. Bogatirjova, S. V. Kolesnicova

EFFECTS OF IONOL, α -TOCOPHEROL AND LIPIN ON THE PROCESSES OF PEROXIDATION AT THE SYNDROME OF PROLONGED CRUSH

Experimental investigations of the influence of ionol and α -tokoferol in combined usage and liposomes on the processes of lipids peroxidation in the heart and blood at the cellular and subcellular level during crush syndrom were made. The injection of

ionol and alfa-tokoferol combined and lipin decreases the production of lipids peroxidation and increase antioxidation organism status and as a result the survival abilities of animals. These data, refeected antioxidation provision of the heart and blood under cruch syndrom at the cellular and subcellular levers are given. Low antioxidation provision of the heart must be taken in consideration, that grounds the necessity of taking into account of the antioxidation cellular defence modulations factors under the complex therapy working out.

*Donetsk Medical University
Ministry of Public Health of Ukraine*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Абрамова Ж.И., Оксигендлер Р.И.* Человек и противокислительные вещества. — Л.: Наука, 1985. — 230 с.
2. *Биленко М.В.* Применение антиоксидантов для профилактики острых ишемических и реоксигенационных повреждений в формах. — В кн.: Тезисы Всесоюзного совещания «Биоантиоксидант». — Черноголовка: Редакционно-издательский отдел ОИ ХФО АН СССР, 1983. — С.96-97.
3. *Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И.* Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб.дело. — 1983. — № 3. — С.33-36.
4. *Ельский В.Н.* Функция гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и обмен биогенных аминов при шоке от длительного раздавливания мелких тканей : Автореф. ... д-ра мед. наук. — М., 1977. — 32 с.
5. *Зернов Н.Г., Юрков Ю.А.* Биохимические исследования в педиатрии. — М.: Медицина, 1969. — С.92-94.
6. *Киселевич Р.Ш., Скварко С.И.* Об определении витамина Е в крови // Лаб. дело. — 1972. — №8. — С.21-24.
7. *Меерсон Ф.З.* Патогенез и предупреждение стрессовых и ишемических повреждений сердца. — М.: Медицина, 1974. — 270 с.
8. *Проценко В.А., Богадельников И.В., Харченко В.З., Шпак С.И.* Шок: патогенез и экспериментальная терапия. — К.: Здоровье, 1988. — 154 с.
9. *Соколовский В.Н.* Окислительно-восстановительные процессы в биохимическом механизме неспецифической реакции организма на действие экстремальных факторов внешней среды // Антиоксиданты и адаптация. — Сб. науч. трудов. — Л, 1984. — С.5-19.
10. *Стальная И.Д., Гаршивили Т.Г.* Современные методы в биохимии. — М.: Наука, 1977. — С.66-67.
11. *Строев Е.А., Макарова В.Г.* Практикум по биологической химии. — М.: Высш. школа, 1986. — С.231.
12. *Цебржинский О.И.* Некоторые аспекты антиоксидантного статуса. — В кн.: Физиология и патология перекисного окисления липидов, гомеостаза и иммуногенеза. — Полтава, 1993. — С.120-155.
13. *Чевари С., Чабан И., Секай И.* Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее биохимических материалах // Лаб. дело. — 1985. — № 11. — С. 678-681.
14. *Amudson B., Jennische E., Haljamal H.* Correlative analysis of microcirculatory and cerebral metabolic events in skeletal muscle during hemorrhagic shock // Acta Physiol. Scand. — 1980. — **108**, N 2. — P. 147-157.
15. *Bekemeier H., Bakathir H.A., Giessler A.J. et al.* Liposomes: From Physical Structure to Therapeutic Application // Agents and Actions.-1981.- 11, N2. — P. 563-565.
16. *Bond R.F.* Mediator mechanisms in shock // Introduction Fed. Proc. — 1985. — 44, N2. — P. 273-274.
17. *De Duve C.* An integrated view of lisosom function // Molekular Basis of Biological Reproductiv Process. — 1978. — N 4. — P.25-38.

*Донец. мед. ун-т ім. Горького М-ва
охорони здоров'я України*

*Матеріал надійшов
до редакції 15.09.98*