

Н.В. Волотовська**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИВНОСТІ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРА НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОГО СИНДРОМУ КІНЦІВКИ**

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського
кафедра фізіології з біоетикою і біобезпекою
(зав. – д. мед. н., проф. С.Н. Вадзюк)
майдан Волі, 1, Тернопіль, 46002, Україна
Ternopil National Medical University
Department of Physiology, Bioethics and Biosafety
Volia sq., 1, Ternopil, 46002, Ukraine
e-mail: volotovskanv@tdmu.edu.ua

Цитування: Медичні перспективи. 2020. Т. 25, № 4. С. 39-47

Cited: Medicni perspektivi. 2020;25(4):39-47

Ключові слова: ішемічно-реперфузійний синдром, печінка, травма, крововтрата, гемостатичний джгут, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система

Ключевые слова: ишемически-реперфузионный синдром, печень, травма, кровопотеря, гемостатический жгут, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система

Key words: ischemia-reperfusion syndrome, liver, trauma, blood loss, haemostatic tourniquet, lipid peroxidation

Реферат. Сравнительная характеристика активности перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в печени крысы на фоне экспериментального ишемически-реперфузионного синдрома конечности. Волотовская Н.В. Реакция организма на патогенные факторы, которыми может быть кровопотеря и ишемия, проявляется как на системном уровне, так и на ультраструктурном. Применение кровоостанавливающего жгута локально активирует перекисное окисление липидов конечности. Однако системное влияние турникета до сих пор изучено недостаточно. Данное исследование проведено с целью выявления изменений, возникающих в печени на фоне ишемически-реперфузионного синдрома конечности. В нашем эксперименте животные были разделены на 5 групп, в которых изучали влияние ишемии-реперфузии конечности, кровопотери, механической травмы бедренной кости и их сочетания на концентрацию малонового диальдегида и активность глутатионпероксидазы. Биохимическое исследование печени показало, что каждый из этих видов вмешательства вызывал активацию перекисного окисления липидов в исследуемом органе и соответствующее ему увеличение активности фермента антиоксидантной защиты в крови. Особенностями реакции было такое повышение первого показателя, который был самым высоким среди всех экспериментальных групп – на фоне кровопотери, сопряженной с применением кровоостанавливающего жгута; при этом зафиксировано и максимальное подавление антиоксидации. Именно здесь установлено 2 периода истощения раненого организма – 3 и 14 сутки. При этом содержание малонового диальдегида было выше в группе, где сочеталось наложение жгута с механической травмой, по сравнению с изолированной механической травмой бедра, что указывает на роль турникета как фактора, который усугубляет течение посттравматического периода в связи с развитием ишемического реперфузионного синдрома. Понимание патогенеза травматической болезни позволит по-новому воспринимать последствия декомпрессии конечности, бороться с оксидативным стрессом и успешно проводить лечение полиорганной недостаточности.

Abstract. Comparative characteristics of lipid peroxide oxidation activity and antioxidant protection in rat's liver on the background of experimental ischemic-reperfusion limb syndrome. Volotovska N.V. The organism's reaction to pathogenic impacts such as blood loss and ischemia can appear either on systemic or on ultrastructural level. The tourniquet inflation pressure on the extremity triggers local lipid peroxidation. However, the systemic influence of tourniquet is not completely studied. This experiment was dedicated to study of the changes that occur in the liver on the background of ischemic-reperfusion syndrome of the limb. In our experiment the animals were divided into 5 groups, in which the effect of ischemia-limb reperfusion, blood loss, mechanical injury of the thigh bone and their combination on the concentration of malonic dialdehyde and glutatoin peroxidase activity was studied. Biochemical

investigation of the liver has shown that each of these experimental interventions had caused activation of lipid peroxidation in the liver and proper increase of the activity of the antioxidant protection enzyme in the blood. The peculiarities of the reaction were an increase of the first index, which was the highest among all experimental groups – on the background of blood loss combined with the use of a tourniquet; at the same time the critical suppression of antioxidation was noted as well. Besides 2 periods of exhaustion of the wounded organism were established – on the 3rd and 14th day. At the same time, the content of malonic dialdehyde was higher in the group where the imposition of the tourniquet was combined with mechanical trauma, comparatively to isolated mechanical trauma of the thigh, this indicated the role of the tourniquet as a factor complicating the course of posttraumatic period due to ischemic reperfusion syndrome. Understanding the pathogenesis of traumatic disease will allow to find a new way of valuing of the effects of limb decompression, to cope with oxidative stress and more successfully treat multiple organ failure.

З давніх часів і дотепер перша медична допомога, яка полягає в накладанні кровоспинного джгута, є тим фактором, який може зберегти життя пораненому [17]. При цьому травми та крововтрати, які є неминучим наслідком військових конфліктів як у світі, так і на території України, потребують прискіпливого вивчення механізмів ішемічно-реперфузійного синдрому внаслідок застосування турнікета. Наслідки інтенсивного викиду в системний кровотік токсинів після декомпресії кінцівки – це оксидативний стрес, який не лише сприяє пероксидному окисненню в місці, перетиснутому джгутом, а й порушує обмін речовин і є тригером відповідних захисних реакцій організму загалом [11].

Суть ішемічно-реперфузійного синдрому в тому, що після зняття гемостатичного джгута в циркуляторне русло надходять шкідливі біологічно активні речовини, при цьому зростає функціональне навантаження печінки [9], що в умовах гіпоксії, спричиненої крововтратою, перешкоджає її повноцінній ауторепарації. І хоча загалом у доступних джерелах інформації є результати, що висвітлюють патогенний вплив ішемічно-реперфузійного синдрому (ІРС) на печінку та інші внутрішні органи, проте відомості про активність процесів пероксидації в її тканині на цьому тлі порівняно зі змінами антиоксидантної відповіді, так само, як і вивчення закономірностей ІРС на тлі модифікацій травми – відсутні.

Зростання перекисного окиснення ліпідів супроводжується наростанням активності антиоксидантної системи [12] – глутатіонпероксидази. За даними літератури, неповноцінне функціонування антиоксидантної системи сприяє прогресуванню перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окисної модифікації білків, що призводить до некротично-апоптичних змін у тканинах, які страждають від ішемії-реперфузії [6].

Про особливості реакції глутатіонової системи, зокрема в печінці, нирках, повідомлено вченими, проте достатньої кількості даних про вплив ІРС на системний вміст цих ферментів ще немає.

Мета дослідження – порівняльна характеристика змін, що виникають у головній залозі детоксикації організму – печінці – на тлі ішемічно-реперфузійного синдрому та на тлі модифікацій травми.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експеримент виконано на 260 білих нелінійних щурах-самцях (5-5,5 місяців), що утримувалися в традиційних умовах віварію. Для досягнення мети було сформовано шість експериментальних груп (ЕГ): тварин контрольної групи (КГ) виводили з експерименту без втручання; ЕГ1 – накладання кровоспинного джгута на стегно протягом 2 год. (ізолювана ішемія-реперфузія); ЕГ2 – моделювання крововтрати; ЕГ3 – поєднання ішемії-реперфузії з крововтратою; ЕГ4 – нанесення на стегнову кістку механічної травми з метою моделювання перелому за допомогою апарата ЩП-1; ЕГ-5 – поєднання ішемії-реперфузії з механічною травмою.

Експеримент здійснено в умовах тіопенталонатрієвого знеболення (40 мг/кг) з дотриманням загальних правил і положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Резолюції Першого національного конгресу біоетики (Київ, 2011) та закону Міністерства здоров'я України № 690 від 23 вересня 2009 р. [5]. Так, ішемічно-реперфузійний синдром моделювали, наклавши на верхню 1/3 стегна смужку гумового джгута шириною 1 см, розраховуючи силу натиску під контролем маркування, нанесеного на джгут. Залишали на 2 год., після чого тварину звільняли. Для моделювання крововтрати здійснювали забір крові зі стегнової вени в об'ємі 40% від об'єму циркулюючої крові. Тварин виводили з експерименту через 1 год. після декомпресії чи інших втручання, на 1, 3, 7 і 14 добу після травми шляхом тотальної кровотечі із серця.

Для виявлення ТБК-активних продуктів (продуктів обміну, що вступають в реакцію з тіобарбітуровою кислотою) з тканини печінки готували 10% гомогенат. Відомо, що вторинні

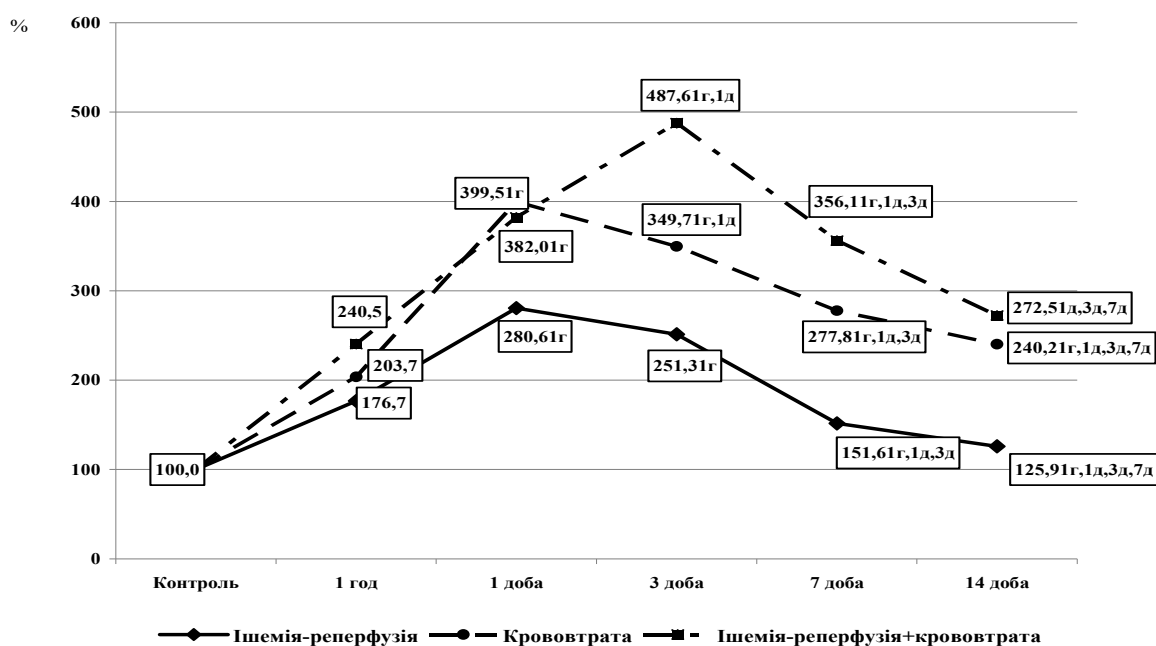
продукти перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), а саме малоновий діальдегід (МДА), при взаємодії з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) за умов високої температури і ацидотичного рН мають властивість формувати забарвлений комплекс із оптичною щільністю, можливою для реєстрації, при довжині хвилі 532 нм. Кількість МДА розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції забарвленого комплексу, який дорівнює $1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ м}^{-1}$, і виражали в мкмоль/л сироватки крові або мкмоль/кг тканини [7]. Активність глутатіонпероксидази визначали спектрофотометрично за підвищенням вмісту окисненого глутатіону – рутинним методом, описаним Г.О. Кругліковою та У.М. Штутманом [8]. Статистичну обробку одержаного цифрового матеріалу проводили з використанням комп'ютерних програм Statistica 6.1 (StatSoftInc., серійний номер AGAR909E415822FA) і “Microsoft Excel” (Open License 67528927). Вірогідність різниці показників визначали з використанням t-критерію Стьюдента [1]. Відмінності вважали достовірними при вірогідності нульової гіпотези не більше 5% ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно із сучасними науковими дослідженнями, кровоспинний джгут спричиняє не лише тимчасову ішемію, але може спричинити такі ускладнення, як порушення кровопостачання та ушкодження нервів у зоні тиску джгута, набряк кінцівки, збліднення шкіри, слабкість м'язів без

паралічу, біль [19]. У нашому експерименті ми звернули увагу на процеси пероксидації в печінці. Хоча кровоспинний джгут є ефективним засобом для зупинки критичної крововтрати, проте його використання протягом 2-3 годин може запустити незворотні процеси в тканинах саме через відсутність кровопостачання і в найскладніших випадках – призвести до ампутації кінцівки [18].

Таким чином, динаміка ПОЛ у печінці була такою. Як видно з рисунка 1, в умовах моделювання ішемії вміст ТБК-активних продуктів суттєво зростає. Так, на тлі ізолюваної ішемії-реперфузії (ЕГ1) через 1 год., на 1, 3 і 7 доби цей показник був більшим від аналогічного показника контрольної групи (КГ) відповідно на 76,7%, у 2,8 раза, у 2,5 раза і на 51,6% ($p < 0,05$). На 14 добу показник до вихідного рівня не повернувся, перевищуючи контроль на 25,9% ($p > 0,05$). На тлі ізолюваної крововтрати (ЕГ2) вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ через 1 год. був вищим від цього показника в КГ у 2 рази, на 1 добу після втручання – в 4 рази, на 3 добу – у 3,5 раза, на 7 добу – у 2,8 раза, на 14 добу – у 2,4 раза ($p < 0,05$). В умовах ішемії-реперфузії, поєднаної з крововтратою (ЕГ3), зростання активності ПОЛ було найбільш вираженим, порівняно з попередніми групами: через 1 год. показник перевищив контроль у 2,4 раза, на 1, 3, 7 і 14 доби – був вищим у 3,8 раза, у 4,9 раза, у 3,6 раза і у 2,7 раза ($p < 0,05$) відповідно.



Примітка: тут і на інших рисунках 1г, 1д, 3д, 7д – відмінності стосовно 1 год., 1 доби, 3 доби і 7 діб спостереження статистично вірогідні ($p < 0,05$).

Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у печінковому 10% гомогенаті (відсотки відносно контрольної групи) на тлі ізолюваної ІРС кінцівки, крововтрати та їх поєднання

Схожа динаміка, яка підтвердила патогенний вплив ІРС кінцівки, виявлена і в наступних групах порівняння. Так, на тлі ізольованої механічної травми (МТ) стегна (ЕГ4) через 1 годину після втручання активність ПОЛ зросла на 32,8% ($p > 0,05$). Достовірне підвищення ПОЛ зафіксовано на 1, 3, 7 доби після травми, коли, порівняно з контролем, показник був вищим на 65,6%, на 86,2%, на 54,5% ($p < 0,05$). На 14 добу показник

достовірно не відрізнявся від контролю. При цьому активність ПОЛ на тлі МТ, поєднаної з накладанням джгута (ЕГ5), була вищою. Так, уже через 1 год. показник був вищим за аналогічний у КГ на 66,1%, далі, на 1 і 3 доби, залишався на одному рівні – був більшим за показник КГ у 2,8 раза і в 2,9 раза, а на 7 та 14 доби – перевищував його відповідно на 86,2% і на 31,8% ($p < 0,05$).

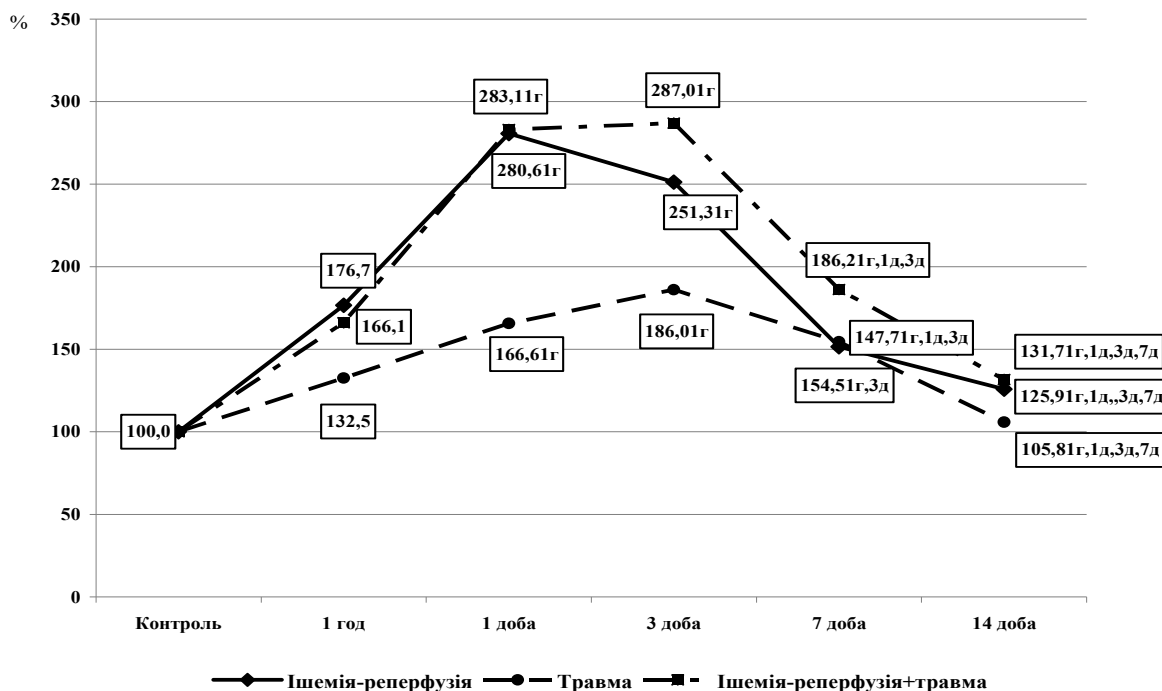


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у печінковому 10% гомогенаті (відсотки відносно контрольної групи) на тлі ізольованого ІРС кінцівки, механічної травми та їх поєднання

При порівнянні концентрації досліджуваного показника між групами з різним ступенем тяжкості втручання встановлено, що вже через 1 годину показники розподілилися таким чином. Показник в ЕГ3 був вищим за аналогічний в ЕГ1 і ЕГ2 на 36,2% і на 18,9% відповідно ($p < 0,05$). Крім цього, показник в ЕГ5 був статистично достовірно вищим на 6% за дані ЕГ1 і на 25,1% за дані ЕГ4 відповідно ($p < 0,05$). На 1 добу показник в ЕГ3 перевищив дані ЕГ1 на 38,3% ($p < 0,05$) і був нижчим за дані ЕГ2 на 4,4% ($p > 0,05$), а також показник ЕГ5 був вищим за дані ЕГ1 на 2,5% ($p > 0,05$) і на 70,9% вищим порівняно з ЕГ4 ($p < 0,05$). На 3 добу зафіксовано подальше зростання активності ПОЛ в ЕГ3 і ЕГ5 групах і зниження в ЕГ1, ЕГ2 і ЕГ4. Показник ЕГ3 був вищим за аналогічний в ЕГ1 і в ЕГ2 на 94,1% і на 39,5% ($p < 0,05$) відповідно. Також показник в ЕГ5 виявився вищим за дані ЕГ1 і ЕГ4 на 14,3% і на 52,3% відповідно ($p < 0,05$). На

7 добу динаміка полягала в різкому зниженні показника в усіх досліджуваних групах, при цьому активність ПОЛ в ЕГ3 залишалась вищою від аналогічного в ЕГ1 та ЕГ2 в 2,3 раза і на 28,2% відповідно ($p < 0,05$). Що стосується даних ЕГ5, то показник був вищим за дані ЕГ1 і ЕГ4 на 24,4% і на 20,5% відповідно ($p < 0,05$). На 14 добу показник в ЕГ3 перевищив показники ЕГ1 і ЕГ2 груп у 2,2 раза ($p < 0,05$) і на 13,5% ($p > 0,05$) відповідно. Що стосується ЕГ5, то її показник був вищим за дані ЕГ1 на 4,6% ($p > 0,05$) і дані ЕГ4 на 24,5% ($p < 0,05$).

У нашому дослідженні отримані результати, які показують різке зростання ПОЛ у тканині печінки, непрямо вказують на виснаження антиоксидантних ферментів у залозі детоксикації – печінці. Групою вчених, які досліджували вплив на тілову ланку інших патогенних факторів, встановлено, що зазвичай зменшується концентрація фермента глутатіонпероксидази [10].

Таблиця 1

Вміст ТБК-активних продуктів (у мкмоль/кг) ПОЛ у 10% гомогенаті печінки після ішемії-реперфузії кінцівки та крововтрати (Me (LQ;UQ)) – медіана (нижній і верхній квартилі)

Дослідна група	Термін реперфузійного періоду				
	1 год	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Контроль = 1,89 (1,69; 2,05) (n=10)					
<i>EG1</i> Ізольований ІРС	3,34 (3,27; 3,32) [*] (n=10)	5,22 (4,91; 5,41) [*] (n=10)	4,75 (4,72; 4,78) [*] (n=10)	2,87 (2,84; 2,92) [*] (n=10)	2,38 (2,29; 2,52) [*] (n=10)
<i>EG2</i> Ізольована крововтрата	3,85 (3,45; 4,04) [*] (n=7)	7,55 (7,37; 7,68) [*] (n=7)	6,61 (6,34; 6,80) [*] (n=6)	5,25 (5,06; 5,78) [*] (n=7)	4,54 (4,22; 4,91) [*] (n=7)
<i>EG3</i> ІРС, поєднаний з крововтратою	4,55 (4,21; 50,6) [*] (n=6)	7,22 (7,05; 7,31) [*] (n=6)	9,22 (8,74; 9,59) [*] (n=6)	6,73 (6,46; 6,99) [*] (n=6)	5,15 (5,10; 5,21) [*] (n=5)
<i>p₁₋₃</i>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
<i>p₂₋₃</i>	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05
<i>EG4</i> Ізольована травма	2,51 (2,26; 2,63) [*] (n=10)	3,13 (2,87; 3,36) [*] (n=10)	3,52 (3,17; 3,73) [*] (n=10)	2,92 (2,63; 3,02) [*] (n=10)	2,00 (1,86; 2,20) [*] (n=10)
<i>Група 5</i> ІРС, поєднаний з травмою	3,14 (2,94; 3,30) [*] (n=9)	5,35 (5,08; 5,45) [*] (n=9)	5,43 (5,17; 5,62) [*] (n=8)	3,52 (3,48; 3,68) [*] (n=9)	2,49 (2,40; 2,60) [*] (n=9)
<i>p₁₋₅</i>	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05
<i>p₄₋₅</i>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Примітки: 1.^{*} – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні (p<0,05); 2. *p₁₋₃* – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 1 і 3; 3. *p₂₋₃* – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 2 і 3; 4. *p₁₋₅* – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 1 і 5; 5. *p₄₋₅* – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 4 і 5.

Як видно з таблиці 2, активність глутатіонпероксидази найбільше виснажувалася до 3 доби на тлі ІРС, поєднаного з крововтратою. При порівнянні активності ГП між експериментальними групами встановлено такі закономірності: через 1 годину після втручання величина концентрації ГП в EG3 була нижчою порівняно з EG1 і EG2 в 3 рази та на 34,2% (p<0,05); також показник EG5 був нижчим порівняно з EG1 і з EG4 на 23,3% і на 42,4% (p<0,05). На 1 добу показник EG3 був нижчим за дані EG1 і EG2 в 4,5 і в 3,8 рази відповідно (p<0,05); також показник в EG5 виявився нижчим за показник EG1 і EG4 на 34,5% і на 25,9% (p<0,05). Що стосується 3 доби,

коли відзначено найбільше припущення фермента в усіх досліджуваних групах, крім EG3, – то показник EG3 був нижчим за дані EG1 і EG2 в 2,6 та на 23,9% (p<0,05), а в EG5 він був нижчим порівняно з даними EG1 і EG4 на 48,4% і на 30,5% відповідно (p<0,05). На 7 добу, коли активність ПОЛ знижувалася, ресурс ГП почав відновлюватися і мав такі особливості: в EG3 був нижчим за дані EG1 і EG2 на 46,8% і на 22,1% відповідно, а також був нижчим в EG5 порівняно з EG1 і EG4 на 42,1% і на 31,1% відповідно (p<0,05). На 14 добу після втручання показник ГП, хоч і підвищувався порівняно з попередніми дослідними періодами, проте й надалі не досягав

рівня контрольної групи і в ЕГЗ був нижчим за показники ЕГ1 і ЕГ2 на 36,5% ($p < 0,05$) і на 9,8% ($p > 0,05$); також показник в ЕГ був нижчим за дані ЕГ1 і ЕГ4 на 21,2% і на 12,3% ($p < 0,05$)

Таблиця 2

Вміст глутатіонпероксидази (ммоль/(хв·кг⁻¹)) після ішемії-реперфузії кінцівки, крововтрати та механічної травми (Me (LQ;UQ)) – медіана (нижній і верхній квартилі)

Дослідна група	Термін реперфузійного періоду				
	1 год	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Контроль = 0,290 (0,271; 0,302) (n=10)					
Група 1 Ішемія-реперфузія	0,287 (0,283; 0,308) (n=10)	0,233* (0,217; 0,250) (n=10)	0,225* (0,214; 0,236) (n=10)	0,233* (0,214; 0,242) (n=10)	0,274 (0,260; 0,299) (n=10)
Група 2 Крововтрата	0,146* (0,140; 0,160) (n=7)	0,196* (0,180; 0,204) (n=7)	0,113* (0,099; 0,122) (n=6)	0,159* (0,149; 0,183) (n=7)	0,193* (0,181; 0,217) (n=7)
Група 3 Ішемія-реперфузія+ крововтрата	0,096* (0,088; 0,098) (n=6)	0,052* (0,048; 0,058) (n=6)	0,086* (0,073; 0,093) (n=6)	0,124* (0,120; 0,128) (n=6)	0,174* (0,165; 0,193) (n=5)
p ₁₋₃	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
p ₂₋₃	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
Група 4 Травма	0,382* (0,245; 0,409) (n=10)	0,205* (0,189; 0,219) (n=10)	0,167* (0,155; 0,192) (n=10)	0,196* (0,192; 0,197) (n=10)	0,246* (0,243; 0,254) (n=10)
Група 5 Ішемія-реперфузія+ травма	0,220* (0,207; 0,234) (n=9)	0,152* (0,149; 0,155) (n=9)	0,116* (0,103; 0,126) (n=8)	0,135* (0,124; 0,146) (n=9)	0,216* (0,187; 0,225) (n=9)
p ₁₋₅	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
p ₄₋₅	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Примітки: 1.* – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні ($p < 0,05$); 2. p₁₋₃ – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 1 і 3; 3. p₂₋₃ – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 2 і 3; 4. p₁₋₅ – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 1 і 5; 5. p₄₋₅ – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 4 і 5.

Аналіз сучасної літератури показав, що розвиток ішемічно-реперфузійного синдрому, спричинений застосуванням кровоспинного джгута, й, очевидно, як наслідок, недостатність функції печінки можуть відігравати значну роль при впливі на загальний стан організму. Той факт, що печінка залучається в патологічний процес – це передбачувана реакція, яка також є частиною синдрому поліорганної недостатності. Визначення ІРС як причини таких патогенних ефектів на організм було доведено багатьма вченими [16]. Крім цього, раніше нами вивчався вплив крововтрати та механічної травми на стегнову кістку – і все це теж призводило до

підвищення ліпопероксидації, яке проявлялося в статистично доведеному порушенні функції печінки, а саме жовчоутворювальної її функції [2].

Таким чином, отримані нами результати засвідчують активацію ПОЛ на тлі різних чинників, які спричиняли ішемію: кровоспинний джгут та крововтрата. Поєднання ж обох цих факторів протягом 2 годин, загальноновизнаних як безпечні (саме стільки тривала компресія джгутом кінцівки), все ж у подальшому проявлялося посиленням дегенерації клітинних мембран. У нашому експерименті це було чітко видно – коли досліджуваний показник саме в ЕГЗ перевищує дані всіх інших груп у відповідні часові проміжки.

Також серед результатів інших вчених є доведене зростання в скелетних м'язах гліколітичних метаболітів і вмісту високоенергетичних фосфатів, що відбувалося на тлі ішемії, спричиненої застосуванням турнікету під час операції на знекровленій ділянці. На тлі помірного зростання в ішемізованій кінцівці фосфокреатиніну виявлено виражене (в 4-5 разів) зростання лактату. Очевидно, причиною помірного зростання глюкози і глюкозо-6-фосфату була активація глікогенолізу у випадках, коли ішемія тривала 30-90 хвилин. Проте навіть коли вона тривала лише 5 хвилин, схожі зміни знову були виявленими [15].

Підсумовуючи вищезазначене, однією з головних причин, що активують патогенетичний ланцюг ішемічно-реперфузійного ушкодження, є рабдоміоліз та гіпоксія. Перший – проявляється в надмірному раптовому надходженні в системний кровотік токсинів після декомпресії кінцівки. Причиною рабдоміолізу, своєю чергою, є набряк м'язів з подальшим розвитком гіповолемії, гемоконцентрації і масивного звільнення зі стиснутих тканин міоглобіну. Калій та біологічно активні речовини, своєю чергою, теж здатні запускати мультиорганне ушкодження [13]. Гіперконцентрація міоглобіну в ниркових тубулах в умовах зсуву рН до ацидозу провокує внутрішньоканальцеву обструкцію і порушення функції нирок [4]. Інший фактор – гіпоксія – відомий як причина, що стимулює ПОЛ і в нашому експерименті це було спровоковано двома факторами – крововтратою та турнікетом, які викликали локальну і системну ішемію, яка, своєю чергою, спричиняє не лише нестачу кисню, а й локальний тиск з подальшим рабдоміолізом. Таким чином і формується замкнене патологічне коло.

Динаміка ПОЛ у печінці вважається нами захисною реакцією, адже стимулює АОЗ. Найтяжчий період ПОЛ з піком на 1 добу був зафіксований в ЕГ1, ЕГ2 та ЕГ4 – та тлі ізольованих ІРС, крововтрати чи механічної травми, а також на 3 добу на тлі ІРС, поєднаного з крововтратою в ЕГ3 та ІРС, поєднаному з механічною травмою в ЕГ5. Підтвердження цього є в поданих статистичних матеріалах. Це також

вказує на чинник, який запустив ПОЛ мембран гепатоцитів – це повинні бути токсини і гіпоксія.

Також у наших попередньо опублікованих дослідженнях реакція з боку системи АОЗ печінки була справді наявною [3]. Наші результати узгоджуються з досягненнями групи інших вчених. Орлова Е. та інші встановили, що найвищою СОД активність є в печінці, ураження якої є результатом турнікетної компресії кінцівки і сигналізує про ймовірність ураження й інших органів унаслідок розвитку ІРС кінцівки [14].

Отримані знання з цієї теми є важливими, адже в умовах сьогодення кількість ситуацій, які поєднуються з кровотечею з магістральних судин, суттєво зросла. Як наслідок цього – масивна крововтрата стає однією з перших причин смертності в таких умовах. І використання кровоспинного джгута все ще залишається одним із найпростіших і найважливіших способів контролювати крововтрату. Тому важливість його не може бути заперечена, але побічні ефекти, доведені нами, і їхній патогенний вплив на системному рівні вимагає більш прискіпливої уваги наукової спільноти.

ПІДСУМОК

Таким чином, отримані результати засвідчили зростання активності ПОЛ у печінці на тлі факторів, що спричиняли ішемію, таких як кровоспинний джгут та крововтрата. Поєднання їх протягом визнаного як безпечний періоду ще більше посилює ліпідну пероксидацію клітинних мембран. Серед причин, які активізували ланки патогенезу ішемічно-реперфузійного синдрому, можна виділити вплив токсинів як результат рабдоміолізу, що надмірно надійшли в системний кровотік після звільнення кінцівки від джгута. Своєю чергою, напруження функції печінки є захисною реакцією на патогенний чинник. Критичним періодом зростання активності ПОЛ стала 1 доба – у групах з ізольованим ІРС, чи ізольованою крововтратою, чи травмою (1, 2 і 4 ЕГ) і 3 доба – у групах поєднаного впливу – ІРС з крововтратою (ЕГ3) та ІРС з механічною травмою (ЕГ5).

Конфлікт інтересів. Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антомонов М. Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Киев, 2017. С. 19.
2. Волотовська Н. В., Гудима А. А. Роль гемічної гіпоксії в патогенезі порушень жовчоутворювальної і жовчовидільної функції печінки на тлі скелетної травми в ранньому періоді. *Здобутки клін. і експеримент. медицини*. 2011. Т. 15, № 2. С. 31-38.
3. Волотовська Н. В., Зарічна О. Й., Кузьмак І. П. Активність каталази та супероксиддисмутази на тлі експериментальної ішемії-реперфузії кінцівки. *Штум. хірургія. Журнал ім. Л. Я. Ковальчука*. 2019. № 2. С. 53-59. DOI: <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2019.2.10418>
4. Ехалов В. В., Стус В. П., Моисеєнко Н. П. Синдром Бойуотерса. Острое повреждение почек.

Urology. 2020. Т. 24, № 1. С. 68-93.
DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-5279.24.1.2020.199505>

5. Закон Міністерства здоров'я України № 690.
URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1010-09#Text>

6. Іскра Р. Я. Активність антиоксидантної системи в організмі кролика за дії сполук хрому. *Біологічні студії*. 2012. Т. 6, № 1. С. 77-86.
DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.0601.201>

7. Колесова О. Е., Маркин А. А., Федорова Т. Н. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах. *Лабораторное дело*. 1984. № 9. С. 540-546.

8. Круглікова Г. О., Штутман У. М. Методи визначення активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази. *Укр. біохімічний журнал*. 1976. Т. 68, № 2. С. 223-228.

9. Кузьмінський І. В. Вплив ішемічно-реперфузійного синдрому кінцівок на відхилення показників цитолітичного синдрому. *Здобутки клін. і експеримент. медицини*. 2018. № 3. С. 176-181.
DOI: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2018.v0.i3.9351>

10. Любівич О. Є., Кліщ І. М. Особливості змін антиоксидантної системи в динаміці мобілізаційного стресу на тлі гіпотиреозу. *Вісник наукових досліджень*. 2018. № 4. С. 175-179.

11. Небылицин Ю. С., Лазуко С. С., Кутько Е. А. Синдром ишемии-реперфузии нижних конечностей. *Вест. Витебского гос. мед. университета*. 2018. № 17(6). С. 18-31.
DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2018.6.18>

12. Семененко А. І., Кондрацький Б. О. Зміни показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги на фоні інфузійної терапії при ішемії-реперфузії головного мозку. *Медицина невідкладних станів*. 2015. Т. 65, № 2. С. 116-119.

13. Синдром длительного сдавления / В. Н. Бордаков и др. *Военная медицина*. 2013. №1. С. 6-32.
URL: <http://rep.bsmu.by/handle/BSMU/2213>

14. Цимбалюк Г. Ю. Стан добового діурезу нирок в умовах ішемічно-реперфузійного синдрому кінцівок, травми органів черевної порожнини, ускладненої гіповолемічним шоком, та їх поєднання у ранньому періоді травматичної хвороби. *Здобутки клін. і експеримент. медицини*. 2018. № 3. С. 163-169.

15. Effect of hyperbaric oxygen and ozone preconditioning on oxidative/nitrosative stress induced by tourniquet ischemia/reperfusion in rat skeletal muscle / K. Koca et al. *Acta Orthopædica et Traumatologica Turcica*. 2010. 1 Nov. (Vol. 44, No. 6). P. 476-83.
DOI: <https://doi.org/10.3944/AOTT.2010.2327>

16. Fukuda I., Chiyoya M., Taniguchi S., Fukuda W. Acute limb ischemia: contemporary approach. *General Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2015. Vol. 63, No. 10. P. 540-548. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11748-015-0574-3>

17. Kauvar D. S., Dubick M. A., Walters T. J., Kragh J. J. Systematic review of prehospital tourniquet use in civilian limb trauma. *Journal of trauma acute care surgery*. 2018. Vol. 84, No. 5. P. 819-825.
DOI: <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000001826>

18. Vaishya R., Agarwal A.K., Vijay V., Tiwari M.K. Short term outcomes of long duration versus short duration tourniquet in primary total knee arthroplasty: a randomized controlled trial. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*. 2018. Vol. 9, No. 1. P. 46-50.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcot.2017.11.016>

19. Volotovska N. V., Godovana A. Yu., Appiah D. Nkansah. Morphological and metabolic changes caused by syndrome of ischemia-reperfusion, and features of its therapeutic influence. *Здобутки клін. і експеримент. медицини*. 2018. № 4. P. 26-41.
DOI: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2018.v0.i4.9733>

REFERENCES

1. Antomonov M. [Mathematical processing and analysis of medical and biological data]. Kyiv; 2017. p. 19. Russian.

2. Volotovska NV, Hudyma A. [The role of hemic hypoxia in the pathogenesis of disorders of biliary and biliary function of the liver on the background of skeletal trauma in the early period]. *Achievements of clinical and experimental medicine*. 2011;2(15):31-38. Ukrainian.

3. Volotovska NV, Zarichna OI, Kuzmak IP. [Catalase and superoxide dismutase activity on the background of experimental ischemia-reperfusion of the limb]. *Shpytalna hirurhiia, Journal of them. Lya Kovalchuk*. 2019;2:53-59. Ukrainian.
doi: <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2019.2.10418>

4. Ehalov VV, Stus VP, Moiseenko NP. [Boywaters Syndrome. Acute kidney injury]. *Urology*. 2020;24(1):68-93. Russian.
doi: <https://doi.org/10.26641/2307-5279.24.1.2020.199505>

5. [Law of the Ministry of Health of Ukraine No. 690]. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1010-09#Text>

6. Iskra RIa. [The activity of the antioxidant system in the rabbit under the action of chromium compounds]. *Biological studies*. 2012;6(1):77-86. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.0601.201>

7. Kolesova OE, Markin AA, Fedorova TN. [Lipid peroxidation and methods for determining lipid peroxidation products in biological media Kolesova]. *Laboratory work*. 1984;9:540-6. Russian.

8. Kruglikova GO, Shtutman UM. [Methods for determining the activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase]. *Ukrainian Biochemical Journal*. 1976;68(2):223-8. Ukrainian.

9. Kuzminskyi IV. [Influence of ischemic-reperfusion syndrome of limbs on deviations of indicator of cytolytic syndrome]. *Achievements of clinical and experimental medicine*. 2018;3:176-81.
doi: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2018.v0.i3.9351>

10. Liubovych OYe, Klishch IM. [Features of changes in the antioxidant system in the dynamics of mobilization stress on the background of hypothyroidism]. *Bulletin of Scientific Research*. 2018;4:175-9. Ukrainian.

11. Nebylitsin YuS, Lazuko SS, Kutko EA. [Lower limb ischemia-reperfusion syndrome]. Vitebsk State Medical University Bulletin. 2018;17(6):18-31. Russian. doi: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2018.6.18>
12. Semenenko AI, Kondratskyi BO. [Changes in oxidative-antioxidant balance on the background of infusion therapy in cerebral ischemia-reperfusion]. Emergency medicine. 2015;2(65):116-9. Ukrainian.
13. Bordakov BN, Alekseev SA, Chumanevich OA, Patsay DI, Bordakov PV. [Prolonged compression syndrome]. Military medicine. 2013;1:6-32. Russian. Available from: <http://rep.bsmu.by/handle/BSMU/2213>
14. Tsymbaliuk HYu. [The state of daily renal diuresis in the conditions of ischemic-reperfusion syndrome of the extremities, trauma of the abdominal organs complicated by hypovolemic shock, and their combination in the early period of traumatic illness]. Achievements of clinical and experimental medicine. 2018;3:163-9. Ukrainian.
15. Kosa K, Yurttas Y, Yildiz C, Cayci T, Uysal B, Korkmaz A. Effect of hyperbaric oxygen and ozone preconditioning on oxidative/nitrosative stress induced by tourniquet ischemia/reperfusion in rat skeletal muscle. Acta Orthopædica et Traumatologica Turcica. 2010;44(6):476-83. doi: <https://doi.org/10.3944/AOTT.2010.2327>
16. Fukuda I, Chiyoya M, Taniguchi S, Fukuda W. Acute limb ischemia: contemporary approach. General Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2015;63(10):540-8. doi: <https://doi.org/10.1007/s11748-015-0574-3>
17. Kauvar DS, Dubick MA, Walters TJ, Kragh JJ. Systematic review of prehospital tourniquet use in civilian limb trauma. J Trauma Acute Care Surg. 2018;84(5):819-25. doi: <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000001826>
18. Vaishya R, Agarwal AK, Vijay V, Tiwari MK. Short term outcomes of long duration versus short duration tourniquet in primary total knee arthroplasty: a randomized controlled trial. Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma. 2018;9(1):46-50. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcot.2017.11.016>
19. Volotovska NV, Godovana AYu, Appiah D. Nkansah. Morphological and metabolic changes caused by syndrome of ischemia-reperfusion, and features of its therapeutic influence. Zdobutki klinichno i experimental medicine. 2018;4:26-41. doi: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2018.v0.i4.9733>

Стаття надійшла до редакції
09.07.2020

